

ОТЗЫВ

официального оппонента Нестеренко Павла Николаевича на диссертационную работу Климовой Яны Анатольевны «Закономерности энантиоселективного удерживания дипептидов на адсорбентах с привитыми амфолитными хиральными селекторами на основе гликопептидных антибиотиков и производных хининовых алкалоидов», представленной на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4 – Физическая химия

Работа Климовой Яны Анатольевны посвящена изучению закономерностей удерживания дипептидов на различных хиральных неподвижных фазах (ХНФ) и пониманию неординарных процессов динамики энантиоселективной адсорбции в условиях высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). **Актуальность данной работы** связана не только с необходимостью разделения и выделения биологически активных субстанций с определенной стереохимической конфигурацией, но и с выяснением особенностей хирального распознавания или многоточечного взаимодействия таких субстанций с иммобилизованными производными алкалоидов хинина и хинидина, и макроциклическими гликопептидными антибиотиками ристоцетином, тейкопланином и ванкомицином. Безусловно, данная работа представляет ценность для исследователей, работающих в области биохимии, медицинской химии и фармакологии, а также химиков синтетиков, практикующих использование препаративной ВЭЖХ для выделения энантиомеров биологически активных соединений.

Новизна работы определяется не только совокупностью экспериментальных данных по удерживанию дипептидов на новых ХНФ, но и применением новых современных моделей к описанию полученных результатов. Следует отметить, что 5 из 8 изученных в работе сорбентов не выпускаются промышленностью и рассмотрены впервые. Новым и интересным подходом к оценке свойств полученных сорбентов является измерение адсорбции водно-органических смесей на ХНФ, а также данные по динамике адсорбции дипептидов. Высокую **теоретическую значимость** представляют результаты по установлению механизма адсорбции, параметров массообмена и роли вкладов вихревой диффузии и скорости адсорбции/десорбции в необычные по виду зависимости эффективности от скорости потока подвижной фазы (кривые ван Деемтера).

Практическая значимость работы Я.А. Климовой связана с разработкой принципов достижения максимальной энантиоселективности разделения и оптимальных условий разделения энантиомеров, что может быть использовано для контроля оптической чистоты дипептидов, а также очистки и выделения энантиомерных субстанций в научно-исследовательских лабораториях и на производстве.

Результаты работы представлены на 36 рисунках и в 23 таблицах, при этом общий объем работы составляет 152 страницы. Работа написана по классической схеме и включает введение, экспериментальную часть, три главы с результатами, выводы и список литературы.

Во введении дается обоснование актуальности проведенного исследования, описаны научная новизна, практическая и теоретическая значимость полученных результатов, методология и методы исследования, сформулированы цель и задачи исследования, а также выдвинуты положения, выносимые на защиту.

Первая глава (литературный обзор) изложена на 63 страницах, что составляет примерно половину диссертации (без учета списка литературы), и представляет исключительно полезное изложение современных взглядов на хиральное распознавание в ВЭЖХ, специфику разделения и используемые варианты разделения энантиомеров, краткие сведения о хиральных неподвижных фазах. Большой объем главы не вызывает вопросов, поскольку в ней подробно рассмотрены современные модели, описывающие механизмы удерживания в хиральной хроматографии и динамики адсорбции, которые активно используются автором для интерпретации полученных результатов. В этой части содержание первой главы перекликается со **второй главой** (экспериментальная часть), в которой дополнительно рассмотрены практические аспекты используемых методов исследования, а также описаны объекты исследования.

Третья глава посвящена изучению адсорбции бинарных растворителей на ХНФ с привитыми макроциклическими антибиотиками. Получены важные данные, характеризующие насыщенность поверхностного слоя компонентами подвижной фазы и проведена оценка коэффициентов активности в адсорбционной фазе. Несомненно, эти данные представляют большую ценность для некоторых вариантов ВЭЖХ, например, жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий (HILIC).

Наиболее важные экспериментальные результаты и их обсуждение представлены в **четвертой и пятой главах**, посвященных изучению удерживания и разделению дипептидов на ХНФ и динамики адсорбции дипептидов,

соответственно. Изучение удерживания дипептидов включает зависимости фактора удерживания от содержания органического растворителя (ацетонитрила или метанола) в подвижной фазе, присутствия солевой добавки (ацетата аммония) или ионной силы, и pH подвижной фазы. Осуществлена относительно успешная попытка описать полученные результаты с помощью современных моделей

По работе сделаны **4 вывода**, уместившиеся на одной странице.

Впечатляет глубина анализа научной литературы и опосредованность цитирования в тексте каждой из 305 ссылок, составляющих список литературы.

Работу отличает **высокий и современный экспериментальный уровень**, особенно в части моделирования непростых процессов происходящих в динамической сорбционной системе с разнообразными по природе взаимодействиями для сложных сорбатов, которыми являются дипептиды. Работа хорошо оформлена и легко читается, включая описание разнообразны моделей с большим количеством уравнений, сделанных допущений и непростых экспериментальных результатов. **Достоверность** полученных в работе результатов не вызывает сомнения, также как и определяющий **личный вклад** соискателя на всех этапах выполнения и написания диссертации.

Диссертационная работа Я.А. Климовой прошла **хорошую апробацию** в виде многочисленных докладов, сделанных на трех международных и всероссийских конференциях. По теме диссертации опубликовано 15 работ, из них 6 статей в рецензируемых журналах, включая высокорепутационные Journal of Chromatography A (Q1) и Chirality (Q2) по профилю работы. Публикации отражают основное содержание работы.

По работе имеется ряд замечаний:

1. В диссертации отсутствует в явном виде априорное описание модели хирального распознавания дипептидов с указанием природы возможных взаимодействий селеканд – селектор. Отрывочные данные о роли карбоксильной группы и объемных радикалах Leu и Phe можно найти в разных местах работы, но обсуждение всех возможных взаимодействий для конкретных ХНФ в одном месте облегчило бы понимание и объяснение экспериментально получаемых закономерностей удерживания.
2. Глава 3 посвящена изучению адсорбции бинарных растворителей на ХНФ с привитыми макроциклическими антибиотиками. С этой целью получены изотермы избыточной адсорбции воды, а также рассчитаны важные характеристики, такие как толщина адсорбционного слоя и коэффициенты активности в адсорбционной фазе. К сожалению, автор никак не комментирует важность полученных данных

для хиральной хроматографии, за исключением вывода (стр. 83) о гидрофильности изучаемых сорбентов, который можно было сделать на основе результатов относительно простого теста Танаки или измерения метиленовой селективности неподвижных фаз.

3. В работе несколько гипертрофирована роль сольватации в удерживании дипептидов и, особенно, для объяснения селективности разделения энантиомеров. Рассматриваемая в работе общая сольватация поверхности описывается с использованием модели Тсуи (ссылка 32), которая предложена для гораздо более однородных и поэтому простых поверхностей обращенно-фазовых сорбентов. В этом случае сольватация представляет собой обобщенную характеристику, не учитывающую различное влияние растворителя на разные по природе взаимодействия, составляющие хиральное распознавание. Точечная сольватация отдельных функциональных групп в составе привитых селекторов происходит в различной степени при изменении состава подвижной фазы (например, добавки метанола в ПФ будут по-разному влиять на образование водородные связи, электростатические взаимодействия между заряженными группами и на гидрофобные взаимодействия), что по-разному отражается на хиральном распознавании и результирующей селективности разделения. Хотя в ряде случаев обнаружена хорошая сходимость экспериментальных результатов с моделью Тсуи, но наличие подгоночных коэффициентов и отклонений смоделированных зависимостей (особенно при граничных содержаниях компонентов подвижной фазы) от экспериментально полученных точек свидетельствует о существующих ограничениях по применению данной модели для описания закономерностей удерживания в хиральной хроматографии.

4. На стр. 94 диссертации автор характеризует вклад Leu и Phe в составе дипептидов в хиральное распознавание просто как аминокислотных остатков с объемными гидрофобными заместителями. Однако, с точки зрения хирального распознавания эти два заместителя могут заметно отличаться по своему вкладу в распознавание, учитывая способность фенильного кольца к образованию π - π связей с ароматическими фрагментами. Косвенно, это следует из более высоких факторов селективности разделения энантиомеров, полученных для Gly-Phe, по сравнению с Gly-Leu (см. табл. 4.1 и 4.2).

5. Весьма необычно выглядит отсутствие в диссертации по хроматографии каких-либо реальных хроматограмм, показывающих успешные разделения энантиомеров дипептидов.

6. Стр. 7 диссертации. Один из пунктов научной новизны сформулирован как «установлены закономерности удерживания и разделения стереоизомеров дипептидов в условиях обращенно-фазовой жидкостной хроматографией». Данное положение требует уточнения, поскольку из представленных в работе результатов (например, U-образные зависимости удерживания от содержания органического растворителя) видно, что удерживание дипептидов на изученных гидрофильных ХНФ при высоких содержаниях органического растворителя в подвижной фазе соответствует механизму жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий или, более правильно, нормально-фазовой жидкостной хроматографии с водосовместимой подвижной фазой. Вероятно, с этим связано изменение порядка элюирования оптических изомеров Leu-Leu для ХНФ АК56 с увеличением содержания ацетонитрила в подвижной фазе. Безусловно, при изменении варианта хроматографии изменяется вклад отдельных взаимодействий (например, гидрофобных) не только в удерживание, но и хиральной распознавание дипептидов.

7. Выбор 1,3,5-три-трет-бутилбензола в качестве неудерживаемого маркера мертвого объема, а также его использование для оценки внутренней пористости (Табл. 2.3) сорбентов никак не обсуждается автором. Тем не менее, его использование вызывает вопросы. Так, для сорбентов с макроциклическими гликопептидными антибиотиками Chrobiotic R, T и V заметно существенное расхождение (см. Табл. 2.3) в значениях общей пористости, полученных для анализируемых веществ (0.61, 0.67 и 0.63) и доступных для растворителя (0.75, 0.77 и 0.73), соответственно. Из этого расхождения вытекает вопрос о доступности карманов этих хиральных селекторов для объемной молекулы 1,3,5-три-трет-бутилбензола. Также в разделе 2.3 не указано, какой из двух мертвых объемов используется на практике.

8. Раздел 2.1.1, стр. 64. Автор перепутал названия ХНФ и соответствующих селекторов, иммобилизованных на поверхности силикагеля.

Следует подчеркнуть, что приведенные выше замечания в основном носят дискуссионный или рекомендательный характер и не снижают общей положительной оценки выполненной диссертационной работы.

Таким образом, диссертационная работа Климовой Яны Анатольевны «Закономерности энантиоселективного удерживания дипептидов на адсорбентах с привитыми амфолитными хиральными селекторами на основе гликопептидных антибиотиков и производных хининовых алкалоидов» отвечает всем требованиям пунктов 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного

постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями постановления Правительства Российской Федерации № 335 от 21 апреля 2016 г.) и соответствует паспорту специальности 1.4.4 – Физическая химия (в п.п. 3, 4, 10), а ее автор, Климова Яна Анатольевна, безусловно заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4 – Физическая химия.

Официальный оппонент

Нестеренко Павел Николаевич



«28» апреля 2025 г.

доктор химических наук (02.00.02 – Аналитическая химия), профессор (02.00.02 – Аналитическая химия), ведущий научный сотрудник, кафедра физической химии, химический факультет, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова» (МГУ)

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»

Адрес: 119991, Россия, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, с. 3

E-mail: p.nesterenko@phys.chem.msu.ru

Телефон: +7(495)939-43-57

