

ОТЗЫВ

Официального оппонента кандидата химических наук
Румянцевой Валентины Дмитриевны
на диссертационную работу Пугачёва Дмитрия Евгеньевича
на тему “Синтез и свойства гетероциклических комплексов
лантаноидов для иммунофлуоресцентного анализа”,
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 02.00.03 – Органическая химия.

По имеющимся данным в научной литературе, синтезировано и описано достаточно большое количество органических комплексов, образующих интенсивно люминесцирующие комплексы с ионами лантаноидов. Комплексы ионов лантаноидов обладают уникальными люминесцентно-спектральными свойствами: большой Стоксов сдвиг, длительное время жизни люминесцентного состояния, узкие полосы эмиссии; все это позволяет проводить анализ биологических образцов с использованием временной задержки при детектировании люминесцентного сигнала для улучшения соотношения сигнал/фон. Наибольший интерес вызывают комплексы, имеющие гетероциклические сопряженные фрагменты в качестве скаффолдов, обладающие высокой экстинкцией и позволяющие гибко и разнообразно изменять архитектуру получаемых соединений. В связи с этим, диссертационная работа Пугачёва Д. Е. по синтезу и поиску гетероциклических комплексов лантаноидов для иммунофлуоресцентного анализа является актуальной.

Целью диссертационной работы Пугачёва Д. Е. являлась разработка методов и синтеза бензогетероциклических комплексов редкоземельных элементов, ранее не известных и не апробированных в иммунофлуоресцентном анализе (ИФА) с временным разрешением. В процессе работы над поставленными задачами было реализовано 3 направления, по которым было проведено комплексное исследование методов получения бензогетероциклических комплексов и изучение свойств их комплексов с ионами лантаноидов.

Структура диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы – 1 глава, обсуждения результатов исследования – 2 глава, экспериментальной части – 3 глава, заключения, списка использованных сокращений и условных обозначений, списка использованных источников и приложения.

В главе 1, посвященной анализу литературных данных, Д. Е. Пугачёв описывает развитие химии органических лигандов в ИФА с временным разрешением и одновременно обозначает синтетические особенности в синтезе применяемых и исследованных реагентов. В главе находятся 4 подраздела, в которых приводятся данные по спектральным особенностям ионов лантаноидов, в частности европия (III) и тербия (III) и требования, определяющие оптимальный дизайн органических лигандов. Автором приведено 198 оригинальных работ, из которых основная часть зарубежных авторов, а также патентов.

В обсуждении результатов диссертационной работы Д. Е. Пугачёва содержится три подраздела посвященные фторсодержащим енаминонам на основе бензофурана, фторированных тетракетонам на основе карбазола и карбазолсодержащим производным дипиколиновой кислоты.

В подразделе посвященном получению и свойствам бензофуранилтрифторметилсодержащих енаминонов автор отмечает, что прямое взаимодействие β -дикетонных с аминами не приводит к получению целевых соединений. В дальнейшем синтез енаминонов из дикетонных осуществляли по двухстадийной схеме, при этом примененная автором двухстадийная методика через промежуточные хлор- или бромноны, позволили получить соединения с различной региоселективностью. Доказательства структур региоизомеров осуществляли методом ЯМР-спектроскопии. Полученные региоизомеры енаминонов, имеющие разное положение енаминной функции изучались автором спектрально. Спектральные характеристики как полученных соединений, так и их комплексов с европием (III) в первую очередь сравнивались с исходным бензофуранилтрифторметилдикетонном. В результате изучения было высказано предположение, что изомеры енаминонов, независимо от положения группы, подвергаются гидролизу, что как отмечает автор не совсем соотносится с данными, представленными в литературе.

Во втором подразделе главы 2 автором описывается получение замещенных по атому азота карбазолсодержащих фторированных тетракетонных. Эта часть работы является наиболее интересной с точки зрения синтетических и прикладных результатов. Были получены трифторметилсодержащие тетракетонные на основе карбазола содержащие различные заместители у азота. Исследование люминесцентно-спектральных свойств комплексов этих соединений с Eu^{3+} в присутствии триоктилфосфиноксида позволило сделать правомерные выводы о ауксохромном влиянии заместителей донорного типа. В ряду N-замещенных карбазолов отдельно выделено получение и изучение прикладных свойств N-спейсеросодержащих соединений с карбоксильными функциональными группами и перфторалкильными заместителями различной длины. Молекулярное

конструирование таких систем представляет зачастую достаточно сложную задачу. В данном случае осложнения при введении спейсерных заместителей были удачно решены автором для длинных и коротких систем. Для всех полученных соединений определялась устойчивость образующихся комплексов с ионом Eu^{3+} во времени и в сравнении с известными реагентами ароматического и гетероциклического типа. В условиях имитирующих иммуноанализ, автором проведена проверка стабильности люминесценции образующихся комплексов. Приведено описание получения нового иммунореагента – конъюгата стрептавидина со спейсерсодержащим карбазолом, который по степени мечения и интенсивности люминесценции может найти применение в медико-биологических технологиях. С целью разработки биочипов полученные реагенты в составе комплексов с европием изучены как компоненты силикатных наночастиц, полученных на основе аэрогенного Аэросила.

Третий подраздел посвящен методам получения и изучению 2,7- и 3,6-дизамещенных карбазолов, содержащих пиридин-2,6-дикарбоновую кислоту. В этой части работы изучен синтез многочисленных прекурсоров замещенных карбазолов с применением различных методов синтеза, в том числе реакций кросс-сочетания, циклизация с образованием карбазольного ядра, реакции метоксилирования гетероароматического цикла с использованием солей меди (I) и т.д. Для всех полученных соединений были исследованы спектральные свойства как индивидуальных соединений, так и водных растворов комплексов с Eu^{3+} и Tb^{3+} . В итоге некоторые комплексы с Tb^{3+} имеют наиболее удовлетворительные показатели квантового выхода с приемлемым коэффициентом светимости и полосой возбуждения > 330 нм, что позволяет в дальнейшем использовать данные комплексы в мультиплексном анализе наряду с комплексами Eu^{3+} .

Научная новизна исследования заключается в следующих направлениях:

- получены и оценены новые трифторметилсодержащие β -енамины на основе бензофурана, выявлены особенности их синтеза, приводящие к получению различных региоизомеров. Комплексы с европием (III) полученных соединения показали недостаточные значения интенсивности люминесценции, что корректно объяснено автором;

- Д. Е. Пугачёвым разработаны методы получения новых фторсодержащих тетракетонов на основе карбазола с заместителями различных типов: донорного и акцепторного характера. Оценено влияние данных заместителей на люминесцентно-спектральные свойства образующихся комплексов с ионом Eu^{3+} . Произведено сравнение с известными реагентами ряда гетероциклических и ароматических фторсодержащих β -дикетонов. Получен ряд N-спейсеросодержащих соединений с карбоксильными

функциональными группами с перфторалкильными радикалами различной длины и выявлены различия в их влиянии на спектральные характеристики водных растворов образующихся комплексов европием (III);

- разработан ряд методов получения новых симметричных и не симметричных 2,7- и 3,6-дизамещенных карбазолов, содержащих пиридин-2,6-дикарбоновую кислоту и исследованы люминесцентно-спектральные свойства комплексов этих соединений с европием (III) и тербием (III) в водных растворах для мультиплексного анализа. Выявлены закономерности влияния строения на характеристики полученных комплексов.

Автором представлен большой объем работы по химическому синтезу (72 соединения, 45 ранее не описанных), характеристике новых соединений, новизне, практическому и теоретическому вкладу в ИФА. Приведенные в диссертации результаты являются новыми, а их достоверность базируется на результатах, изложенных в экспериментальной части. При проведении экспериментальных исследований были использованы современные методы физико-химического анализа, что подтверждает достоверность результатов работы и обоснованность научных положений и выводов диссертации.

Практическое значение представленной диссертации состоит в разработке совокупности методов получения ряда новых N-замещенных карбазолсодержащих фторированных тетракетонов с препаративными выходами. Для комплексов с европием (III) полученных соединений определены высокие значения показателей люминесценции и устойчивость во времени, что обуславливает преимущества в сравнении с классическими применяющимися реагентами. По итогам работы с N-спейсерсодержащими производными карбазольных фторированных тетракетонов был создан универсальный аналитический реагент – стрептавидин, меченный комплексом спейсерсодержащего тетракетона с европием(III), который подан в виде заявки на изобретение № 2019127178 «N-Спейсерсодержащие 3,6-бис-β-дикарбонилзамещенные карбазолы с фторированными заместителями, для использования в качестве маркеров и комплексонов».

Апробация работы. По материалам законченной диссертации выпущено 4 статьи в рецензируемых журналах, входящих в перечень рекомендованных ВАК РФ. Результаты работы апробированы на 6 международных и всероссийских конференциях.

К представленной на отзыв работе имеются определенные **замечания:** В целом работа достаточно грамотно написана современным научным языком, логично и доступно, но содержит небольшое количество неточностей:

1. Желательно нумерацию страниц приводить внизу, а не вверху;
2. При написании дробных чисел все химические журналы требуют ставить точки, а не запятые в тексте и в таблицах. ГОСТ 7.1 -2003;
3. Когда приводят т. пл. соединения, знак равенства обычно не пишут;
4. Опечатки на стр. 17, 23, 60, 75, 81, 108, 118;
5. На стр. 63 автор пишет, что не был найден растворитель для перекристаллизации. Может быть взять уксусную кислоту с диэтиловым эфиром, нитрометан или ацетонитрил? Неудачное выражение «смытый» раствор;
6. На стр. 111 не указано на каком адсорбенте проводили ТСХ;
7. На стр. 117 написано...прокаленная окись алюминия по Брокману... Лучше указывать степень активности по Брокману (I, II, III и т. д.).
8. На странице 158, 163-164 некорректное выравнивание текста;
9. У всех новых соединений отсутствуют данные масс-спектрометрии;
10. Некорректно оформлены таблицы (например, таблица 11 на стр. 54).
11. В таблице 13 на странице 102 формула соединения **175** не поместилась в графе;
12. На странице 45 заголовки без точки;
13. Нет данных RT при проведении ВЭЖХ.
14. Стр. 124 использованы разные аббревиатуры на русском и английском языках ДМФА и DMF;

В качестве пожелания хотелось бы отметить, что ряд соединений последнего раздела остались недостаточно изученными в спектральном плане. С другой стороны, соединения раздела 2.1 и 2.2 также не вовлекались в комплексообразование с ионами тербия.

Достоверность полученных результатов и обоснованность выводов подтверждены данными физико-химических исследований: ЯМР спектроскопией ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ИК-спектроскопией, высокоэффективной жидкостной хроматографии и элементным анализом. Данные спектральных исследований получены с применением современных физико-химических методов и методик, реализованных с использованием стандартного оборудования.

Диссертационная работа Пугачёва Д. Е. является завершённым исследованием, в котором описано получение новых бензогетероциклических комплексонов лантаноидов для иммунофлуоресцентного анализа с временным разрешением, соответствует заявляемой специальности 02.00.03 — Органическая химия. Диссертационная работа отвечает пунктам 1 «Выделение и очистка новых соединений», 3 «Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул» и 7 «Выявление закономерностей типа «структура -

свойство» паспорта специальности 02.00.03 — Органическая химия. Автореферат и публикации соответствуют содержанию диссертационной работы.

Диссертационная работа Дмитрия Евгеньевича Пугачёва по актуальности поставленной задачи, выполненным исследованиям и практической значимости соответствует требованиям пункта 9 постановления № 842 о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного Правительством Российской Федерации 24 сентября 2013 г, как научная квалификационная работа. Автор диссертации, **Дмитрий Евгеньевич Пугачёв**, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – Органическая химия.

Официальный оппонент

старший научный сотрудник кафедры химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии имени Н.А. Преображенского ФГБОУ ВО «МИРЭА - Российский технологический университет»,

кандидат химических

Румянцева В.Д.

Почтовый адрес: 119571, Москва, проспект Вернадского, д.86, стр. 3

Тел.: +7 (495) 246-05-55

Электронная почта: vdrum@mail.ru

Подпись официального оппонента

с.н.с. кафедры ХТБАСМиОХ имени Н.А. Преображенского ФГБОУ ВО «МИРЭА - Российский технологический университет», к.х.н. Румянцевой В.Д.

Трокопов Н.И.