

«УТВЕРЖДАЮ»  
Заместитель директора  
Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки  
Физико-технического института  
им. А.Ф.Иоффе РАН  
доктор физ.-мат. наук  
П.Н.Брунков  
03 марта 2023 г



### **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

на диссертационную работу Гладчука Алексея Сергеевича  
«Исследование механизма формирования самоорганизующихся  
регулярных монослоев Ленгмюра на поверхности твердой подложки  
для анализа амфифильных соединений методом МАЛДИ-МС»,  
представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук  
по специальностям 1.3.2. «Приборы и методы экспериментальной физики» и  
1.4.2. «Аналитическая химия»

#### **Актуальность темы выполненной работы**

Использование нанотехнологий для повышения аналитических характеристики современных методов анализа. в том числе масс-спектрометрии является магистральным путем развития современного физического эксперимента. Диссертационная работа А.С. Гладчука посвящена разработке и исследованию метода формирования самоорганизующихся регулярных монослоев, состоящих из бариевых солей амфифильных соединений, непосредственно на поверхности МАЛДИ мишени за счет адаптации технологии Ленгмюра к полусферической поверхности водной субфазы для увеличения эффективности анализа амфифильных соединений методом масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (МАЛДИ-МС).

Амфифильные соединения представляют собой широкий класс веществ, обладающих способностью к самоорганизации в водных средах и широко распространенных в биологических системах. Анализ таких соединений может быть востребован как при контроле качества пищевых продуктов, лекарственных средств и биологически активных добавок, так и в медицине, в том числе при диагностике заболеваний. Важно отметить, что прямой масс-спектрометрический анализ с использованием мягких методов ионизации ряда амфифильных соединений, например, таких как свободные жирные кислоты (СЖК) и полипrenoлы, зачастую характеризуется низкой эффективностью ввиду крайне слабой способности к ионизации данных классов соединений. В связи с этим, весьма актуальной представляется разработка простых, селективных и высокочувствительных методов анализа подобных соединений, которые позволили бы повысить чувствительность и производительность масс-спектрометрического анализа таких соединений.

Использованный в работе метод МАЛДИ-МС характеризуется высокой чувствительностью и экспрессностью, однако анализ низкомолекулярных аналитов с использованием классических органических матриц зачастую затруднен, ввиду присутствия в масс-спектре в диапазоне низких значений  $m/z$  ( $m/z < 1000$ ) сигналов матричных ионов. Разработанная и апробированная в работе методика дает возможность проводить дериватизацию амфифильных соединений с образованием их бариевых солей непосредственно на МАЛДИ мишени, что позволяет, с одной стороны, сдвинуть сигнал аналита в область более высоких значений  $m/z$ , а, с другой стороны, увеличить выход ионов в ходе МАЛДИ-МС анализа за счет введения в состав молекулы хорошо ионизируемой группы.

### **Основные результаты, полученные автором диссертации**

В ходе исследования были получены следующие новые результаты:

1. Разработан метод формирования монослоев бариевых солей амфифильных соединений на поверхности МАЛДИ мишени за счет адаптации технологии Ленгмюра к полусферической поверхности водной субфазы для дальнейшего масс-спектрометрического анализа, позволяющий сократить время пробоподготовки и увеличить выход ионов при анализе амфифильных соединений методом МАЛДИ-МС.

2. Доказано, что технология Ленгмюра, адаптированная к поверхности капли, позволяет формировать мультимолекулярные структуры на основе коллапсированных самоорганизующихся регулярных монослоев стеарата бария в пределах ячейки МАЛДИ мишени по механизму самопроизвольного перемещения монослоев с полусферической поверхности водной субфазы на подложку под действием силы тяжести.

3. Продемонстрировано, что нанесение смеси свободных жирных кислот в *n*-гексане приводит к образованию регулярного монослоя монокарбоксилатов бария, что позволяет проводить профилирование свободных жирных кислот методом МАЛДИ-МС с высокой чувствительностью, точностью и воспроизводимостью.

4. Установлено, что при МАЛДИ-МС анализе амфифильных соединений в виде их солей бария основным механизмом образования иона  $[M-H+Ba]^+$  является отщепление нежирного кислотного остатка (или гидроксильной группы) под воздействием лазерного импульса.

5. На примере полипренолов с помощью метода МАЛДИ-МС показано, что образование солей амфифильных соединений, относящихся к неионогенным ПАВ, происходит на границе раздела фаз при нанесении *n*-гексанового раствора ПАВ на поверхность водной субфазы, содержащей ионы металла.

6. Определены условия проведения эффективного МАЛДИ-МС анализа амфифильных соединений в виде их солей бария. Показано, что использование в качестве водной субфазы водного раствора ацетата бария в концентрации 0,25

мг/мл, содержащего органическую матрицу, 2,5-дигидроксibenзойную кислоту, в концентрации 0,25 мг/мл, позволяет проводить эффективный масс-спектрометрический анализ свободных жирных кислот и жирных спиртов в составе монослоев, сформированных на МАЛДИ мишени. Установлено, что пределы обнаружения для смеси стандартов 5 насыщенных СЖК составили от 10 до 50 фмоль, а пределы количественного определения СЖК не превышали 500 фмоль. Для полипrenoлов предел обнаружения составил 6 пг смеси полипrenoлов, выделенных из пихты сибирской.

7. Показано, что разработанная методика анализа амфифильных соединений в виде их солей бария методом МАЛДИ-МС может быть успешно использована для профилирования свободных жирных кислот и полипrenoлов в составе биологических образцов различной природы.

### **Практическая значимость полученных результатов**

Практическая значимость диссертационной работы заключается в том, что предложенный метод формирования самоорганизующихся регулярных монослоев бариевых солей амфифильных соединений непосредственно на МАЛДИ мишени позволил увеличить чувствительность анализа амфифильных соединений методом МАЛДИ-МС, а также значительно сократить временные затраты на проведение пробоподготовки. Таким образом, полученные результаты могут быть использованы для повышения эффективности скрининга амфифильных соединений в целях контроля качества лекарственных средств, биологически активных добавок и продуктов питания, а также при разработке новых методов диагностики заболеваний. Разработанная методика анализа свободных жирных кислот в виде их монокарбоксилатов бария была внедрена и используется в лаборатории молекулярной токсикологии и экспериментальной терапии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России и в лаборатории раннего эмбриогенеза ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», что подтверждается соответствующими актами внедрения.

### **Структура диссертационной работы, публикации и апробация**

Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, списка литературы из 156 источников и 3 приложений. Работа изложена на 143 страницах, включает 47 рисунков и 12 таблиц.

Основные результаты диссертационной работы изложены в 16 публикациях, из них 4 в научных журналах, входящих в базы данных Web of Science или Scopus, и 1 в журнале, рекомендованном ВАК для защиты диссертаций.

Результаты работы докладывались и обсуждались на 11 международных и всероссийских конференциях.

### **Рекомендации по использованию результатов диссертации**

Результаты диссертационной работы, а также методика анализа амфифильных соединений методом МАЛДИ-МС могут быть рекомендованы для ознакомления и использования специалистами в области контроля качества лекарственных средств и продуктов питания, разработки методов диагностики заболеваний ведущих научно-исследовательских организаций и промышленных предприятий: АО «БИОКАД», ООО «ГРОТЕКС», ЗАО «Эвалар», ООО «НТФФ «Полисан», ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России, СПбПУ, Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России, ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», ФГБНУ «ИЭМ», ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России.

### **Замечания по диссертационной работе**

1. предложенный в работе физический механизм коллапсирования слоев Ленгмюра не в полной мере подтвержден экспериментально. В работе отсутствует детальное обсуждение альтернативных механизмов, что важно для понимания физической картины процесса.

2. В работе имеют термины, которые могут быть отнесены к научному жаргону. а также опечатки.

Сделанные замечания носят частный характер и не изменяют общую положительную оценку диссертационной работы соискателя, не снижают научной и практической значимости диссертации. Принимая во внимание полученные результаты и объем проведенных исследований, можно заключить, что диссертация является весомым научным трудом, содержащим в себе важные практические результаты.

### **Заключение**

Диссертационная работа Гладчука А.С. представляет собой завершённую научно-исследовательскую работу, выполненную автором на высоком научно-техническом уровне. Результаты и выводы диссертации являются достоверными и обоснованными. Автореферат достаточно полно отражает содержание диссертации, её основные положения и выводы. Публикации соискателя соответствуют тематике диссертационного исследования.

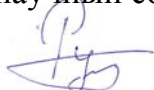
Тема диссертации, характер выполненных работ, а также сделанные по результатам исследований выводы полностью соответствуют паспортам специальностей 1.3.2. «Приборы и методы экспериментальной физики» (п.7 Разработка и создание лечебно-диагностических методик и аппаратурных комплексов для биомедицинских исследований) и 1.4.2. «Аналитическая химия» (п.2. Методы химического анализа (химические, физико-химические, атомная и молекулярная спектроскопия, хроматография, рентгеновская спектроскопия, масс-

спектрометрия, ядерно-физические методы и др.); п.14. Анализ природных веществ).

Диссертация Гладчука Алексея Сергеевича полностью удовлетворяет критериям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата технических наук согласно пунктам 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 (редакция от 26.01.2023), а ее автор, Гладчук Алексей Сергеевич, заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата технических наук по специальностям 1.3.2. «Приборы и методы экспериментальной физики» и 1.4.2. «Аналитическая химия».

Доклад соискателя по материалам диссертации и отзыв были обсуждены на научном семинаре лаборатории физики адсорбционно-десорбционных процессов ФТИ им. А.Ф.Иоффе РАН (протокол № 2 от 07.02.2023 г.).

доктор физико-математических наук, профессор  
ведущий научный сотрудник ФТИ им. А.Ф. Иоффе РАН



Рутьков Евгений Викторович

### **Сведения об организации**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе Российской академии наук  
194021, Санкт-Петербург, Политехническая ул., 26  
Тел./факс: 8 (812) 297-22-45  
<https://ioffe.ru/ru/>  
e-mail: [post@mail.ioffe.ru](mailto:post@mail.ioffe.ru)