

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета **Зенкевича Игоря Георгиевича** на диссертацию **Андросовой Анастасии Витальевны** на тему «Новые подходы к электрофоретическому определению лекарственных препаратов в объектах со сложной матрицей с применением полифункциональных покрытий кварцевого капилляра на основе ионных жидкостей», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2. Аналитическая химия.

Метод капиллярного электрофореза в его современной реализации занимает особое положение среди других методов разделения. С одной стороны он весьма прост в инструментальном исполнении, но, с другой, он концептуально значительно сложнее, например, высокоэффективной жидкостной хроматографии. Причиной этого является многообразие способов ввода проб в сочетании с различными приборными режимами, составов фонового электролита и вариантов модификации внутренних поверхностей капилляров. Количество варьируемых параметров настолько велико, что современный капиллярный электрофорез фактически соответствует «уровню» уникальных условий разделения для достаточно узких групп анализов. Подобный период был в истории газовой хроматографии до появления высокоэффективных капиллярных колонок (1960-70-е гг.). В настоящий момент сложно предсказать дальнейшие тенденции развития капиллярного электрофореза, но, тем не менее, подробная характеристика его уникальных возможностей и приложений представляет заметный интерес. В этом направлении и выполнена диссертационная работа А.В. Андросовой.

Актуальность работы обусловлена дальнейшим расширением числа модификаторов фонового электролита, а именно алкилимидазолиевых солей, в том числе содержащих β -циклодекстриновые фрагменты. Из различных обсуждаемых в работе предпосылок необходимости реализации именно такого подхода стоит отметить появление собственной электрофоретической подвижности макроцикла, и, полагаю, впервые выявленного синергизма при одновременном введении в состав электролита двух модификаторов, ионных жидкостей и циклодекстринов. Здесь стоит заметить, что в электролит вводят именно ионную жидкость, но после этого про ее присутствие в его составе говорить уже нельзя, так как там содержатся только образующие ее катионы и анионы. По этой причине, по мнению автора отзыва, предпочтительны формулировки не «на основе ионных жидкостей», а «на основе катионов имидазолия». Важно заметить, что это известно автору, поскольку на стр. 30 отмечен факт терминологических дискуссий по этому поводу. В качестве объектов выбраны биогенные амины, некоторые аминокислоты и стероидные гормоны, образующие достаточно представительный набор. Однако поскольку это далеко не

все возможные лекарственные препараты, то в названии работы вполне можно было бы предусмотреть, как минимум, слово «некоторые».

В пункте Введения «**Степень разработанности темы**» автор приводит ссылки на публикации, подтверждающие интерес к одновременному использованию в составе фонового электролита алкилимидазолиевых солей и циклодекстринов. Из приведенной информации логично следуют **цели и задачи работы**, в том числе:

- разработка способа синтеза ковалентного покрытия внутренних стенок капилляров, содержащего алкилимидазолиевые катионы, и последующее определение электрофоретических характеристик таких капилляров;

- альтернативный подход, предполагающий синтез модификатора фонового электролита, содержащего алкилимидазолиевые катионы и циклодекстриновые фрагменты, опять-таки с подробным рассмотрением их возможностей;

- определение характеристик выбранных аналитов во всех вариантах электрофоретического разделения, в том числе эффективности разделения энантиомеров, и их использование для анализа реальных образцов биологических жидкостей.

Научную новизну работы фактически определяют формулировки ее цели и задач. Иными словами, продемонстрированы возможности, преимущества и, в некоторых случаях, ограничения объединения алкилимидазолиевых и циклодекстриновых фрагментов в качестве модификаторов капилляров и псевдостационарных фаз для разделения выбранных гидрофильных и гидрофобных аналитов. Впервые экспериментально подтвержден факт изменения порядка миграции энантиомеров кетопрофена в системах, содержащих два разных хиральных селектора. Важно отметить, что все «составляющие» научной новизны без принципиального изменения их формулировок подтверждают **теоретическую значимость работы**. Если же количественно резюмировать **практическую значимость работы**, то примененные в ней способы ввода проб по данным автора обеспечили значительное снижение пределов обнаружения биологически активных соединений, а именно до 1-2 пг/мл для биогенных аминов, до 30-50 нг/мл для кортикостероидных гормонов и до 12-57 нг/мл для энантиомеров кетопрофена, что достаточно для определения этих соединений в биологических жидкостях (моча и плазма крови человека).

О **выносимых на защиту положениях**, чтобы не перечислять их в отзыве, можно сказать, что они полностью отражают содержание работы и согласованы с выводами. **Достоверность результатов**, по мнению автора отзыва, определяется не столько значительным объемом фактических данных, сколько вариациями экспериментальных параметров режимов разделения в широких пределах с целью выбора их оптимальных значений и сочетаний. **Результаты работы опубликованы** в шести статьях в представительных международных и российских журналах, индек-

сируемых в базах РИНЦ, Web of Science и Scopus, а ее **апробацию** более чем убедительно подтверждают тезисы 23 докладов на конференциях различного уровня.

Из необходимых формальных характеристик **структуры диссертационной работы** А.В. Андросовой следует отметить, что она включает введение, обзор литературы, экспериментальную часть, обсуждение результатов, заключение, список публикаций по теме диссертации и список литературы (всего 190 наименований). Диссертационная работа изложена на 152 страницах. Литературный обзор закономерно посвящен применению капиллярного электрофореза в медицинской химии и в фармацевтике, хиральному разделению с использованием циклодекстринов, и особенностям on-line фокусирования электрофоретических зон. К сожалению, один момент в обзоре представляется отраженным недостаточно подробно. Дело в том, что различные варианты модификации внутренних поверхностей капилляров были рассмотрены в предыдущих работах студентов и аспирантов научного руководителя (Л.А. Карцовой), так что непосредственное сравнение с ними результатов настоящей работы было бы весьма полезным.

На основании изложенного можно сформулировать вывод о **соответствии диссертационной работы паспорту научной специальности 1.4.2.** – Аналитическая химия, а именно пунктам 2 «Методы химического анализа», 8 «Методы маскирования, разделения и концентрирования», 10 «Анализ органических веществ и материалов» и 15 «Анализ лекарственных препаратов». Решаемые в диссертационной работе задачи полностью соответствуют указанной специальности.

Одной из важных функций рецензента является формулировка замечаний по рассматриваемой работе, что привело к следующим результатам:

Предмет изложения сложен. Косвенной иллюстрацией этого является список использованных в работе сокращений, который занимает 3.5 страницы. Поэтому не удивительно, что в некоторых случаях возникает словесная неразбериха, например на стр. 27: «К ним относятся, например, нестероидные противовоспалительные препараты из-за наличия ароматического имидазольного кольца в составе их молекул, вносящего вклад в энантиоразделение за счет π - π -взаимодействия между катионом имидазолия и лекарственным препаратом».

В экспериментальной части (стр. 56) при описании методики синтеза 6А-О-*p*-толуолсульфонил- β -циклодекстрина написано, что «продукт сушили под вакуумом и очищали двукратной перекристаллизацией из воды». Такая последовательность действий несколько нелогична. Далее отмечено, что структуру этого продукта подтверждали ЯМР ^1H и сравнивали с литературными данными, но никакие (ни собственные, ни литературные) данные не приведены. Это важно, так как остается неясным, насколько индивидуален продукт сульфирования CD в положение 6 (образуются ли другие изомеры)?

Про тозилат 3-метил-1 β -CD-имидазолия сказано, что он представляет собой белое твердое вещество. Такие соединения принято характеризовать температурами плавления (или ее отсутствием), а критерием протекания реакции был бы элементный анализ (содержание азота). То же относится к 3-бутильному производному.

Про тозилат 3-бутил-1 β -циклодекстринимидазолия (стр. 57) сказано, что «продукт характеризовали показателем преломления при 22 °С, что хорошо согласовывалось с литературными данными». Поскольку данные опять-таки не приведены, то непонятно, что именно согласовывалось.

На стр. 59 загадочна фраза «варьировали концентрация модифицирующего агента (от 25 до 750 г)». Только на стр. 72 находим ответ на этот вопрос: должно быть (от 25 до 750 мг/мл).

Выражение «нелекарственная плазма человека» (стр. 65), во-первых, требует разъяснений, а, во-вторых, все-таки, «плазма крови». На этой же стр. нужны дополнительные комментарии к фразе «Для предотвращения окисления аналитов к 5 мл образца мочи добавляли 1.2 мл 50 мМ водного раствора Na₂ЭДТА».

В начале обсуждения результатов (стр. 68) отмечено, что «...модификаторы на основе имидазолиевого катиона ... подходят для разделения большого количества биологически активных соединений благодаря наличию положительного заряда, ароматической системы и легкости введения в имидазолиевое кольцо различных заместителей». Последний довод в таком перечислении не согласуется с первыми двумя.

Особых комментариев заслуживает Табл. 9 (стр. 69), озаглавленная «Структуры исследуемых соединений ...». На самом же деле она включает объекты, не упоминаемые в диссертационной работе. Если эта таблица заимствована из других источников, то надлежит указать ссылку. Основная же проблема в том, что приведенные в ней структурные формулы индол-3-акриловой и индол-3-молочной кислот неверны (перепутаны местами). Кроме того, в этой таблице, непонятно по какой причине, вместо структурной формулы кортизона изображена структура ацетата кортизола. Это не так безобидно, так как из последующего текста следует, что разделение именно пары «кортизон – кортизол» оказывается наиболее критичным (см., например, стр. 82). Естественно, возникает вопрос, о кортизоне или о каком-то ином соединении идет речь?

На стр. 73 приведены данные о толщине покрытия – 18–20 нм. Это означает, что оно представляет собой не мономолекулярный слой, а какую-то более сложную конструкцию. Весьма желательны дополнительные комментарии.

Подпись к Рис. 27 содержит 42 слова (с повтором одного из них), что делает ее крайне сложно воспринимаемой. Вместо «кислотные аналиты» (подпись к Рис.

28) должно быть «кислые аналиты».

За фразой «Из литературных данных известно ...» (стр. 82) должна следовать соответствующая ссылка, которой нет. Многократно в тексте встречается выражение «Объем ввода пробы».

Вывод № 2 заканчивается фразой «... позволяет существенно снизить пределы обнаружения биогенных аминов (до 0.6-2.0 нг/мл)». Такая фраза должна содержать информацию «по сравнению с чем».

Из чисто редакторских комментариев следует отметить, что в публикации № 6 по теме диссертации не указаны выходные данные. Не следует злоупотреблять использованием возвратных частиц, например «пределы обнаружения рассчитывались», «оценка проводилась» (стр. 54) «варьировались параметры» (стр. 59), «проба разбавлялась» (стр. 119). Присутствует некоторое число опечаток (на стр. 6, 68, 96, 108, 113, ...) и нарушений согласования окончаний слов (стр. 10, 13, 59, ...).

Перечисленные комментарии и вопросы не могут повлиять на хорошее впечатление от диссертационной работы, отличающейся концептуальной сложностью и необходимостью оперирования с большими объемами информации.

Таким образом, диссертационная работа Анастасии Витальевны Андросовой на тему: «Новые подходы к электрофоретическому определению лекарственных препаратов в объектах со сложной матрицей с применением полифункциональных покрытий кварцевого капилляра на основе ионных жидкостей» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете». Соискатель – Анастасия Витальевна Андросова – заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2. – Аналитическая химия. Нарушения пунктов 9 и 11 указанного Порядка в диссертации не обнаружены.

Член диссертационного совета:

д.х.н., профессор,
 профессор кафедры органической химии
 Института химии
 Федерального государственного бюджетного
 образовательного учреждения высшего образования
 «Санкт-Петербургский государственный университет»



26.03.2024 г.

(Зенкевич Игорь Георгиевич)