

О Т З Ы В

официального оппонента на диссертационную работу

Черкашиной Ксении Дмитриевны

«Микроэкстракционное выделение и концентрирование тетрациклинов из биологических жидкостей для их последующего хроматографического определения», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2 – аналитическая химия

Рецензируемая работа посвящена решению одной из **актуальных задач** современной аналитической химии – повышению чувствительности определения органических аналитов (лекарственных препаратов) посредством их извлечения и микроэкстракционного концентрирования. Поэтому цель настоящей работы и заключалась в разработке **новых** эффективных способов микроэкстракционного выделения и концентрирования тетрациклинов из сложных объектов (биологических жидкостей) для их последующего определения. Последнее реализовано с применением различных вариантов жидкостной хроматографии, которая способствует решению и другой, не менее важной и **актуальной** аналитической задаче, повышению селективности определения органических соединений. В качестве аналитов в работе исследуются представители антибиотиков тетрациклинового ряда (тетрацилин, окситетрацилин, хлортетрацилин и доксицилин), которые широко применяются в современной медицине и ветеринарии. Известно, что дозировка любых фармпрепаратов является важнейшим критерием для оценки не только достигаемого терапевтического эффекта, но и вероятного побочного (негативного) воздействия на организм человека, животных. Зачастую констатируют переход вышеуказанных антибиотиков в сельхозпродукцию (мясо, молоко и др.).

Диссертационная работа Черкашиной К.Д. посвящена систематическому изучению различных вариантов жидкостной и твердофазной **микроэкстракции** вышеуказанных антибиотиков при вариации природы экстрагентов из объектов со сложной матрицей (биожидкости) с последующим количественным и селективным их хроматографическим определением. Эти обстоятельства отражают не только **актуальность** и **перспективность** работы, но и **научную новизну** полученных результатов.

Структура и объем работы. Диссертационная работа содержит все обязательные компоненты кандидатской диссертации и состоит из введения, пяти глав, порядок следования которых отражает логику выполненного исследования, выводов, списка сокращений и условных обозначений, а также списка цитируемой литературы (202 источника, преимущественно зарубежных). Работа изложена на 116 страницах, содержит в основном тексте 43 рисунка и 25 таблиц.

Во **введении** (5 страниц) изложена актуальность проведенного исследования,

сформулированы цели и задачи диссертационной работы, ее научная новизна, практическая значимость и положения, выносимые на защиту.

Первая глава диссертации (30 страниц), представляет собой систематизацию известных работ отечественных и преимущественно иностранных ученых, посвященных химическим и фармакокинетическим свойствам тетрациклинов, методам их определения. Наиболее подробно рассмотрены способы извлечения и концентрирования тетрациклинов из объектов со сложной матрицей, таких как биологические жидкости, ткани и др. В конце главы приводится заключение, которое базируется на обзоре данных литературы, и отражает текущее состояние проблемы, ее актуальность. Это позволило автору сформулировать основные задачи исследований в диссертационной работе.

Во **второй главе** (8 страниц) охарактеризованы объекты (моча, плазма и сыворотка крови, молоко) анализа, реактивы, материалы и средства измерений, а также методы исследования. Приведено подробное описание техники проведения микроэкстракции исследованных антибиотиков, методик синтеза магнитных наночастиц магнетита и приготовление эвтектических растворителей на основе тимола и карбоновых кислот ($C_6 - C_{18}$), схемы пробоотбора и предварительной подготовки проб биологических жидкостей и соответствующих расчетов.

Третья глава диссертации (19 страниц) посвящена установлению закономерностей микроэкстракции исследованных антибиотиков мицеллярными фазами на основе первичных алкиламинов с длиной углеводородной цепи C_8-C_{10} , формируемыми неорганическими высаливателями (натриевые соли соляной, серной, угольной и фосфорной кислот), а также органическими полярными растворителями (ацетонитрил, метанол, изопропанол) с дополнительным центрифугированием.

Методами динамического рассеяния света, газовой хроматографии и К. Фишера исследован состав мицеллярной фазы *n*-октиламина. Рассчитаны соответствующие значения коэффициентов трансляционной диффузии и содержание воды, *n*-октиламина в ней. На примере микроэкстракционного выделения тетрациклина установлены оптимальные условия для эффективного массопереноса антибиотика при варьировании объема *n*-октиламина, природы высаливающего агента и его концентрации.

Для повышения прецизионности результатов определения антибиотиков (тетрациклин), автоматизации мицеллярной микроэкстракции разработана гидравлическая схема на принципах циклического инъекционного анализа. Время микроэкстракции при этом сокращено до 5 минут, что существенно сокращает трудозатраты на стадии пробоподготовки образцов для анализа, что отражает **практическую значимость** полученных соискателем результатов.

В **четвертой главе** диссертации (13 страниц) изложены результаты

применения одного из миниатюризованных вариантов твердофазной экстракции - магнитной дисперсионной твердофазной микроэкстракции - для эффективного извлечения исследованных тетрациклинов без дополнительных стадий центрифугирования и фильтрации. В качестве сорбента выбраны наночастицы магнетита, Fe_3O_4 , обладающие большой площадью поверхности и обеспечивающие быструю и эффективную сорбцию аналитов. Для повышения стабильности и уменьшения степени агрегирования магнитных наночастиц магнетита (МНЧ) автором предложена его модификация различными представителями ПАВ при варьировании их гидрофильно-липофильного баланса (ГЛБ) от 7,3 (цетилтриметиламмоний бромид) до 41,2 (октилсульфат натрия). Показано, что максимальная эффективность сорбции может быть достигнута варьированием массы сорбента и применением МНЧ, модифицированных наиболее гидрофобными ПАВ (цетилтриметиламмоний бромидом), которая в 3 раза превосходит сорбцию немодифицированным магнетитом. Предложены составы растворов для элюирования тетрациклинов из фазы модифицированного сорбента на основе Трилона Б, лимонной и этидроновой кислот.

В пятой главе диссертации (18 страниц) изложены результаты концентрирования тетрациклинов в малотоксичные (!реализован принцип «зеленой химии») и недорогие эвтектические растворители на основе терпеноидов (ментол, тимол, ванилин) и высших карбоновых кислот (гексановая, октановая, нонановая, олеиновая, тетрадекановая и октадекановая) из проб молока. Найдены оптимальные соотношения и природа эвтектических растворителей. Установлены экспериментальные значения коэффициентов распределения и синергизма. Высказаны соображения о механизме экстракции тетрациклинов в кислой среде с учетом специфических взаимодействий (водородная связь). Правильность результатов определения тетрациклинов в молоке на уровне содержаний ниже ПДК по нормам Европейского союза (100 мкг/кг) подтверждена референтным методом (ВЭЖХ-МС/МС).

Разработанные *методики* успешно *апробированы* на сложных реальных объектах, которые достаточно широко представлены в работе. Наряду с модельными растворами фармпрепаратов, – это и биологические жидкости (*урина, плазма и сыворотка крови*), а также пищевые продукты (*молоко*).

Полученные результаты также отражают их **практическую значимость** и отличаются своей **оригинальностью**. Их **достоверность** обеспечена грамотной постановкой эксперимента, применением более десятка современных методов исследования и анализа, в том числе и гибридных, непротиворечивостью результатов эксперимента по сравнению с известными в литературе данными, а также взаимной корреляцией результатов, их статистической проработкой.

Работа прошла *хорошую апробацию*. Результаты и выводы диссертации

доложены и обсуждены на пяти международных конференциях. Основное содержание диссертации изложено в 10 публикациях, в том числе 5 статьях, опубликованных в журналах, рекомендованных ВАК и входящих в базы цитирования Scopus и Web of Science. *Автореферат и публикации полностью отражают содержание диссертации.*

По *диссертационной работе и автореферату* можно сделать следующие **замечания**:

1. Некоторые выводы, сделанные в работе следовало бы конкретизировать. Так, в первом выводе указана возможность применения первичных аминов в качестве амфифилов. Это достаточно широкий класс органических соединений, следовало бы ограничиться реально применяемыми в работе соединениями, а именно первичными *n*-алкиламинами с длиной углеводородного радикала C₈-C₁₀. В четвертом выводе желательно было указать какими ПАВ осуществлена модификация МНЧ.

2. Установленная в работе закономерность снижения эффективности экстракции тетрациклинов в мицеллярные фазы *n*-алкиламинов с увеличением степени их гидрофобности предвосхищает применение для этой цели *n*-гептиламина, или этот алкиламин уже не образует в предложенных автором условиях эксперимента мицеллярно-насыщенных фаз?

3. На солубилизацию мицеллярными растворами ПАВ (глава 3, супрамолекулярные среды на основе высших *n*-алкиламинов) органических аналитов значительное влияние оказывает рН. Этот фактор также влияет и на состояние тетрациклинов в растворах. Из работы не ясно... в каком интервале рН исследована микроэкстракция тетрациклинов, учитывая их амфотерный характер. Чем обоснован при этом выбор оптимального рН?

4. В автореферате не приводится структурная формула исследованных аналитов. Она была бы весьма кстати и удобна для интерпретации ряда полученных соискателем результатов.

5. Не совсем понятно, какую концентрацию хлорида натрия предполагает автор, приводя в исследованиях 30 %-ное его содержание? Если это массовая доля, то при коэффициенте растворимости NaCl 35,9 г на 100 г воды, массовая доля этой соли составляет 26,4%, но не более.

6. К сожалению, значения цифры средних величин в некоторых таблицах работы (например, табл. 13, стр.62 диссертации или табл.2, стр.12 автореферата не соответствуют доверительным границам.

7. Некоторые таблицы автореферата, например табл.2, стр.12, излишне миниатюризированы (сжаты) и плохо читаются. В тексте диссертационной работы встречаются некоторые стилистические неточности и опечатки.

Вышеуказанные замечания не снижают общей положительной оценки работы.

Результаты диссертационного исследования могут быть применены в проведении научных исследований в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова (г. Москва), Санкт-Петербургском государственном университете (г. Санкт-Петербург), Казанском государственном университете (г. Казань), Саратовском государственном университете им. Н.Г. Чернышевского (г. Саратов), Воронежском государственном университете (г. Воронеж), Самарском государственном университете и Самарском государственном техническом университете (г. Самара), ГЕОХИ имени В.И. Вернадского РАН и др., а также в учебных курсах по аналитической химии, фармацевтической химии, методам разделения и концентрирования, гибридным методам анализа. Результаты исследований также могут быть использованы в контрольно-аналитических и фармацевтических лабораториях.

Диссертация Черкашиной К.Д. является законченным научным исследованием и имеет значение для развития теоретических и практических основ создания эффективных экстракционных систем для предварительного извлечения, концентрирования и последующего количественного определения лекарственных веществ, в частности антибиотиков тетрациклинового ряда, в различных объектах со сложной матрицей. Научно-квалификационная работа соответствует специальности 1.4.2 – аналитическая химия, имеет как теоретическую, так и практическую направленность и, несомненно, представляет интерес для широкого круга специалистов. Работа полностью отвечает требованиям п. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. (№ 842), а ее автор, Черкашина Ксения Дмитриевна, безусловно, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2 – аналитическая химия.

Официальный оппонент



С.Ю. Доронин

Дата: 22.09.2021 г.

Доронин Сергей Юрьевич, профессор, доктор химических наук, профессор, ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского», профессор кафедры аналитической химии и химической экологии

410012, Саратов, ул. Астраханская, 83, СГУ, Институт химии, I корпус.

Тел. +7(8452)26-45-53, E-mail: doronin@mail.ru

Подпись профессора Доронина



Ученый секретарь СГУ, к.х.н., д.т.н.



И.В. Федусенко