

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора химических наук, профессора Гармонова Сергея Юрьевича на диссертацию Черкашиной Ксении Дмитриевны на тему: «Микроэкстракционное выделение и концентрирование тетрациклинов из биологических жидкостей для их последующего хроматографического определения», представленную в диссертационный совет 24.2.288.07 при Воронежском государственном университете на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2 – аналитическая химия

### **Актуальность темы диссертационной работы.**

Диссертационная работа Черкашиной К.Д. представляет собой исследования в области методов разделения и концентрирования в аналитической химии, направленных на создание высокочувствительных, селективных способов микроэкстракционного выделение и концентрирования тетрациклинов из биологических жидкостей для их последующего хроматографического определения. Эти антибиотики широко применяются в медицине и ветеринарии, а также могут накапливаться в пищевой продукции животного происхождения. В ряду современных направлений в данной научной области особенное значение имеет поиск новых эффективных экстракционных систем и сорбентов, а также развитие подходов по автоматизации микроэкстракции. При этом мицеллярные фазы и эвтектические растворители демонстрируют перспективные возможности как экологически безопасные и эффективные экстрагенты.

Представленная работа является продолжением цикла научных исследований, выполняемых в ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» на кафедре аналитической химии под руководством профессора Булатова А.В. в области микроэкстракционных процессов и практической апробации новых способов на их основе для эффективного выделения и концентрирования аналитов из проб сложного состава (биологические жидкости, пищевые продукты, лекарственные препараты, нефтепродукты). Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты: 16-33-00037 мол\_а, 19-33-90007 АСП\_2019, 18-33-20004 мол\_а\_вед), Правительства Санкт-Петербурга (распоряжение Комитета по науке и высшей школе от 25.09.2018 № 124). Все это свидетельствует об актуальности и важности темы диссертационной работы Черкашиной К.Д.

### **Новизна исследования и полученных результатов.**

Основные достижения диссертанта, определяющие их новизну, состоят в том, что для микроэкстракционного выделения и концентрирования тетрациклинов из биологических жидкостей предложены новые экстракционные системы: мицеллярные фазы первичных аминов и эвтектические растворители на основе терпеноидов и карбоновых кислот; при этом установлено инициирование фазового разделения в системах на основе первичных аминов посредством введения электролита или полярного органического растворителя. Эвтектические растворители на основе терпеноидов и высших карбоновых

кислот успешно использованы в качестве экстрагентов для выделения тетрациклина, хлортетрациклина и доксициклина.

Другим немаловажным достижением в диссертации является способ жидкостной микроэкстракции тетрациклина, окситетрациклина и доксициклина из сыворотки, плазмы крови и мочи в мицеллярную фазу *n*-октиламина, образующуюся при введении изопропанола. Немаловажно, что предлагаемый подход исключает необходимость применения «высаливающих» агентов для разделения фаз и обеспечивает возможность устранения мешающего влияния белков и повышения коэффициентов концентрирования лекарственных веществ.

Диссертантом в рамках представленного исследования также изучены закономерности сорбционного выделения тетрациклина, окситетрациклина и доксициклина из биологических жидкостей на магнитных наночастицах (МНЧ) магнетита, модифицированных ПАВ. Установлено, что такая модификация позволяет повысить эффективность сорбции, а время модификации при этом не превышает 10 мин. На этой основе разработан оригинальный способ магнитной твердофазной микроэкстракции тетрациклинов из сыворотки крови на МНЧ магнетита, модифицированных цетилтриметиламмоний бромидом, для их последующего ВЭЖХ-УФ определения. Композиция МНЧ позволила выполнять элюирование аналитов водным раствором этидроновой кислоты без применения органических растворителей с низкими значениями пределов обнаружения тетрациклинов до 0,03 мг/л.

Полученные диссертантом результаты убедительно свидетельствуют о том, что поставленные задачи были успешно решены.

#### **Значение результатов диссертационной работы для науки и практики.**

Диссертационная работа Черкашиной К.Д. расширяет представления о возможностях использования микроэкстракции для эффективного выделения и концентрирования лекарственных веществ из биологических жидкостей, обеспечивая последующее высокочувствительное определение аналитов в условиях высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием. Результаты исследования имеют очевидное практическое значение:

- разработан автоматизированный способ микроэкстракции тетрациклина из мочи в мицеллярную фазу *n*-октиламина с высаливанием для его последующего ВЭЖХ-УФ определения, при этом для автоматизации микроэкстракции была разработана гидравлическая схема на принципах ЦИА;

- разработан высокочувствительный способ микроэкстракционного выделения тетрациклинов из молока в фазу эвтектического растворителя (тимол-октановая кислота) для их последующего ВЭЖХ-УФ определения;

- предложена методика выделения тетрациклинов из сыворотки крови на МНЧ магнетита, модифицированных ПАВ для последующего ВЭЖХ-УФ определения.

Эти высокочувствительные и селективные способы определения тетрациклинов в биологических жидкостях потенциально могут быть использованы для мониторинга применения лекарственных средств и имеют несомненную перспективу для контроля качества пищевой продукции.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций.** Достоверность результатов, полученных в работе, обеспечена применением современных и надежных физико-химических методов анализа, включающих высокоэффективную жидкостную хроматографию с УФ и масс-спектрометрическим детектированием, ЦИА, ИК-Фурье спектроскопию, методы динамического рассеяния света и вибрационной магнитометрии, проникающей электронной микроскопии, дифференциально-сканирующей калориметрии. Проведенные исследования выполнены на высоком техническом уровне с помощью современного оборудования. Правильность результатов анализа подтверждена с помощью референтных методов.

По материалам диссертации опубликовано 10 работ, включая 5 статей в рецензируемых изданиях, рекомендуемых для размещения материалов диссертаций и 5 тезисов докладов.

Степень обоснованности положений, выводов и рекомендаций не вызывает сомнений. Автореферат диссертации и опубликованные работы полностью отражают ее содержание.

**Оценка содержания диссертации.** Представленная на отзыв диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственных исследований, их обсуждения, выводов, списка литературы, включающего 202 источника. Работа изложена на 116 страницах машинописного текста, иллюстрирована 43 рисунками и 25 таблицами.

В первой главе, представляющей собой литературный обзор, анализируется современное состояние научной проблемы по тематике диссертации, рассматриваются методы определения тетрациклинов, обсуждаются тенденции развития микроэкстракционных методов и их применения для определения рассматриваемых органических соединений. Глубокий анализ публикаций в отечественной и зарубежной литературе позволил автору диссертационной обосновать актуальность разработки новых способов микроэкстракционного выделения и концентрирования тетрациклинов из биологических жидкостей. Следующие четыре главы составляют экспериментальную часть, содержат исчерпывающее описание выполненных экспериментов и дают основание полагать, что объем практических исследований достаточен для подтверждения выводов диссертации. Представленный материал включает обоснование возможности применения первичных аминов в качестве амфифилов для образования мицеллярных фаз в жидкостной микроэкстракции и способы инициирования фазового разделения; автоматизированные подходы микроэкстракционного выделения тетрациклина из мочи в мицеллярную фазу первичного амина для его последующего ВЭЖХ-УФ определения; изучение микроэкстракционного выделения тетрациклинов из мочи и сыворотки и плазмы крови в мицеллярную фазу первичного амина с инициированием фазового разделения в присутствии полярного растворителя; исследования по выделению тетрациклинов из сыворотки крови на МНЧ магнетита, модифицированных ПАВ, для их последующего ВЭЖХ-УФ определения; разработку методики микроэкстракционного выделения тетрациклинов из молока в эвтектический

растворитель на основе тимола и октановой кислоты для их последующего ВЭЖХ-УФ определения. Автоматизация занимает важное место в работе, что выражается в проведении экстракционных и измерительных процессов в проточных системах. Полученные результаты тщательно обсуждаются и представлены также в виде графиков и таблиц, что облегчает восприятие представленной информации.

Диссертация оставляет при чтении хорошее впечатление и хорошо оформлена. Возражений принципиального характера к диссертационной работе у оппонента нет. Вместе с тем необходимо высказать ряд замечаний и пожеланий к рецензируемой работе:

1. На с. 83, 84 автор описывает варьирование основных параметров, влияющих на эффективность экстракции, таких как объем пробы, время экстракции, рН, однако в подписях к рис. 40 не указан состав эвтектического растворителя. При этом возникает вопрос, с чем связана более низкая эффективность экстракции тетрациклина по сравнению с хлортетрациклином и доксициклином?

2. Что определяет отмеченное автором мешающее влияние мочевой кислоты и дигидрофосфатов на результаты определений и каковы способы его устранения, а также возможного присутствия белков?

3. Для оценки возможности использования способов определения тетрациклинов в крови и моче изучено влияние матричных компонентов, но не понятно, оказывают ли интерферирующее влияние при этом возможные метаболиты.

4. Для удобства восприятия режим градиентного элюирования при описании условий ВЭЖХ (с. 42,43) лучше было бы представить в табличном виде.

5. В работе имеются опечатки в тексте, отдельные неудачные выражения и сокращения.

Указанные замечания не снижают научной и практической ценности рецензируемой диссертации.

#### **Заключение.**

В целом диссертационная работа Черкашиной Ксении Дмитриевны на тему: «Микроэкстракционное выделение и концентрирование тетрациклинов из биологических жидкостей для их последующего хроматографического определения» по своей актуальности, научной новизне и практической значимости заслуживает высокой оценки. Работа является самостоятельным и законченным исследованием, выполненным на современном научном уровне, в которой решена актуальная задача микроэкстракционного выделения и концентрирования тетрациклинов для их последующего хроматографического определения в сложных объектах биомедицины.

Все основные результаты, полученные в диссертационной работе, обоснованы высоким теоретическим, методическим и экспериментальным уровнем проведенных исследований, имеют научное и практическое значение.

Актуальность поставленных задач, детальное обсуждение информации из научной литературы, высокий уровень экспериментальных исследований и

анализа полученных данных свидетельствует о том, что автором выполнено полноценное исследование, которое полностью соответствует п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденному постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Черкашина Ксения Дмитриевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2 – аналитическая химия.

### Официальный оппонент

Профессор кафедры аналитической химии,  
сертификации и менеджмента качества  
ФГБОУ ВО «Казанский национальный  
исследовательский технологический  
университет», доктор химических наук  
(15.00.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия),

профессор



Гармонов Сергей Юрьевич

420015, г. Казань,  
ул. Карла Маркса, д. 68  
тел.: +7 (843) 231-89-10  
Электронная почта: serggar@mail.ru

Подпись Гармонова с ю

удостоверяется.

Начальник Отдела ФГБОУ ВО «КНИТУ»



О.А. Переломов

« 22 09 »

