

ОТЗЫВ

на диссертацию Мясниковой Дины Андреевны
«Получение, свойства и применение для определения биологически
активных органических соединений пленок {целлюлоза–ионная жидкость}»
на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 02.00.02 – аналитическая химия

Диссертация Д.А. Мясниковой посвящена получению оптически прозрачных целлюлозных пленок с нековалентно иммобилизованными аналитическими реагентами на основе микрокристаллической целлюлозы с применением ионных жидкостей для определения биологически активных аналитов, что определяет ее актуальность и практическую значимость. Диссертационная работа представляет собой подробное изложение большого объема экспериментального материала, (автор описывает 15 методик), критическое осмысление полученных результатов, обладающих научной новизной, выявление потенциальных возможностей их применения в аналитической химии. Автор тщательно обосновывает выбор каждого реагента и определяемого соединения, ответственно относится к каждому полученному результату, объясняя его на основе литературных данных, либо на основе дополнительных опытов с использованием комплекса современных физико-химических методов, что подтверждает достоверность полученных результатов.

Диссертация Д.А. Мясниковой имеет традиционное строение и состоит из введения, семи глав, заключения, выводов, списка литературы, включающего 250 библиографических источников, и приложений.

Во *Введении* сформулированы цели и задачи исследования, положения, составляющие научную новизну и практическую значимость исследования, а также положения, выносимые на защиту. Дана общая характеристика структуры диссертации и охарактеризована ее апробация на конференциях, съездах и симпозиумах различного уровня.

Обзор литературы включает две главы. Первая глава посвящена обсуждению различных аспектов применения ионных жидкостей в оптических сенсорных технологиях. Ценность представленной главы состоит в попытке автора на основании критического анализа литературы выделить роли, которые исследователи отводят ионным жидкостям при создании оптических сенсоров, а также в обосновании, в том числе и с привлечением статистических данных, научного интереса к ионным растворителям нового поколения для решения актуальных задач химического анализа. Особое внимание уделено способам приготовления с помощью гидрофильных ионных жидкостей целлюлозных пленок, модифицированных органическими реагентами и ферментами, что вполне оправдано, поскольку получение пленок {целлюлоза–ионная жидкость} для определения органических соединений является конечной целью проводимых в работе исследований.

Во второй главе обзора литературы систематизированы и подробно обсуждены известные к настоящему времени спектрофотометрические и люминесцентные системы для определения артемизинина, эндопероксидного соединения растительного происхождения, обладающего выраженной антималярийной активностью, а также его полусинтетических аналогов. Особо следует отметить обобщающую таблицу 3, в которой приведены химические

реакции, условия их проведения, а также аналитические характеристики спектроскопических методик определения артемизинина в растительном лекарственном сырье, фармацевтических препаратах и биологических жидкостях. Представленный материал весьма полезен в связи с поиском новых индикаторных систем для определения артемизинина и тем инструментарием, который автор использовал в собственных экспериментах. Отдельное внимание уделено физико-химическим и оптическим свойствам артемизинина и его производных, что дает полное представление о сложностях определения соединений класса терпенов. Представленный обзор литературы дает адекватное представление о современных аспектах применения ионных жидкостей в оптических сенсорных системах и устройствах, а также оптических системах и методах определения артемизинина.

Глава 3 «Исходные вещества, посуда, аппаратура, методики эксперимента, обработка результатов измерений» содержит детальное описание условий проведения эксперимента и использованного инструментария, достаточное для того, чтобы считать полученные результаты достоверными, а установленные количественные закономерности – статистически значимыми.

Глава 4 «Обоснование выбора индикаторной системы» рассматривает причины, по которым автор выбрал в качестве матрицы для иммобилизации аналитических реагентов микрокристаллическую целлюлозу, а ее растворителем ионные жидкости: ацетат и хлорид 1-бутил-3-метилимидазолия, $[BMIm][AcO]$ и $[BMIm][Cl]$; аргументирует выбор использованных в работе реагентов (ферментов, синтетических красителей и флуоресцирующих комплексов), а также разъясняет подходы к их применению в составе целлюлозной пленки для определения целевых соединений: артемизинина и билирубина. Поскольку указанная глава содержит, прежде всего, описание литературных данных, вопрос ее размещения в экспериментальной части может быть дискуссионным, тем не менее приведенные в главе 4 сведения позволяют ясно и четко представить последовательность и объем исследований, которые автор планирует реализовать. В дальнейшем, в гл. 5-7, автор активно использует материал гл. 4 при рассмотрении и обсуждении полученных им результатов.

Собственные результаты Д.А. Мясниковой разделены на три главы в соответствии с логикой проведения эксперимента: разработка методик приготовления целлюлозных пленок в отсутствие и в присутствии иммобилизованных в них аналитических реагентов; изучение индикаторных систем в растворе и пленках; создание методик определения артемизинина в модельных растворах и фармацевтических препаратах.

Глава 5 «Условия получения и функциональные характеристики целлюлозных пленок на основе растворов $\{целлюлоза-[BMIm][AcO]\}$ и $\{целлюлоза-[BMIm][Cl]\}$ » посвящена подробному рассмотрению всех этапов приготовления целлюлозных пленок (пока без аналитических реагентов) с помощью ацетатной и хлоридной ионных жидкостей, с особым вниманием к поиску и обоснованию рабочих условий, обеспечивающих получение оптически прозрачных, прочных и гибких пленок как основы будущих оптических сенсоров. Необходимо отметить, что представленные автором цветные фотографии наглядно иллюстрируют все детали эксперимента, создают для читателя «эффект присутствия» при его выполнении, вселяют уверенность в воспроизведении всех экспериментальных шагов. Выбранные условия получения целлюлозных пленок с помощью ацетатной ионной жидкости (соотношение содержаний ионная жидкость : целлюлоза, время и

температура растворения, природа антирастворителя и условия промывания пленок для удаления избыточных количеств ионной жидкости) экспериментально обоснованы и не вызывают сомнений. Представлены результаты изучения прозрачности, физико-механических свойств целлюлозных пленок двух видов, а также морфологии их поверхности методом сканирующей электронной микроскопии, в результате чего выявлены преимущества предложенных автором пленок {целлюлоза-[BMIm][AcO]} перед их аналогом, пленками {целлюлоза-[BMIm][Cl]}, в прочности, эластичности, устойчивости к действию водных растворов различной кислотности, полярных молекулярных органических растворителей; при этом пленки двух видов практически сопоставимы по прозрачности и обладают губчатой структурой.

Глава 6 «Целлюлозные пленки с иммобилизованными аналитическими реагентами» посвящена разработке методик нековалентной иммобилизации в целлюлозные пленки, приготовленные с помощью ацетатной и хлоридной ионных жидкостей, выбранных автором в гл. 4 аналитических реагентов: растительных пероксидаз, синтетических красителей и флуоресцентных комплексов. Сложность получения целлюлозных пленок с иммобилизованными реагентами состояла в необходимости их закрепления в целлюлозной матрице с сохранением не только оптических свойств реагентов, но и приемлемых прочности и гибкости материала. Автор последовательно и подробно рассматривает особенности иммобилизации каждого из перечисленных типов реагентов в целлюлозные пленки обоих видов.

При иммобилизации пероксидаз хрена и сои в целлюлозные пленки, приготовленные с помощью ацетатной ионной жидкости, было обнаружено ее инактивирующее действие на ферменты. Ацетатная ионная жидкость ингибировала обе пероксидазы по неконкурентному механизму уже при содержании 10 об.%. Напротив, в пленках, полученных с использованием хлоридной ионной жидкости, растительные пероксидазы сохраняли каталитическую активность на уровне не менее 50% от ее исходной величины в водном растворе. Полученные автором ферментные препараты превосходили по своей активности известные из литературы иммобилизованные препараты лакказы по меньшей мере в 3 раза, благодаря чему ферментативные реакции с участием пероксидаз протекали в течение 1-2 мин, а не 12 ч. Важным достижением автора можно считать не только высокую каталитическую активность, но и высокую стабильность пероксидаз в составе пленки {целлюлоза-[BMIm][Cl]} при хранении. Успех иммобилизации, как установил автор, зависел, главным образом, от природы ионной жидкости. Важным с теоретической точки зрения результатом представляется выявленная автором зависимость эффективности пероксидазного катализа в гидрофильных ионных жидкостях и молекулярных органических растворителей от их полярности, а также от природы аниона ионной жидкости. С методической точки зрения интересны результаты, полученные Д.А. Мясниковой при изучении зависимости скорости растворения биокатализаторов в растворе целлюлоза-ионная жидкость от величины их изоэлектрической точки, в результате чего было установлено, что катионные белки (пероксидаза хрена, гемоглобин) растворяются быстрее, чем анионные биокатализаторы (пероксидазы сои и арахиса).

Целлюлозные пленки, приготовленные с помощью хлоридной ионной жидкости, оказались удобной матрицей и для иммобилизации синтетических красителей, индигокармина и, в особенности, пиронина Б, который практически не вымывался из пленки при ее промывании водой и сохранял свойственную ему

способность флуоресцировать. Пленки {целлюлоза-[BMIm][Cl]} удерживали не только пиронин Б, но и анионный ПАВ додецилсульфат натрия. Это свойство пленок оказалось весьма полезным в дальнейшем при определении артемизинина с их помощью. Ацетатная ионная жидкость в сочетании с целлюлозой изменяли оптические свойства индигокармина и заметно ослабляли окраску пиронина Б, что делало невозможным ее применение для иммобилизации указанных красителей. Однако благодаря выявленной способности пленок {целлюлоза-[BMIm][AcO]} к сорбции указанных красителей из их водных растворов автору удалось найти другое полезное применение пленкам – использовать их в качестве сорбента. Автор показал, что пленки, полученные с помощью ацетатной ИЖ, сорбируют не только синтетические, но и природные пищевые красители, такие как β -каротин, кармин и куркумин, условия сорбции которых также были подобраны Д.А. Мясниковой.

Возможность применения пленок {целлюлоза-ионная жидкость} в качестве матрицы для иммобилизации флуоресцирующих комплексов была изучена на примере дипиколината европия(III) и комплекса {Eu(III)-тетрациклин}. В результате проведенных исследований автор получил оптически прозрачные флуоресцирующие пленки состава {целлюлоза-[BMIm][AcO]-дипиколонат Eu(III)} и {целлюлоза-[BMIm][Cl]-Eu(III)-тетрациклин}, которые могут служить потенциальными чувствительными элементами флуоресцентных сенсоров в будущем. Невозможность использования предложенных пленок для определения артемизинина и билирубина в настоящей работе обусловлена необходимостью в детальном изучении механизма их влияния на сигнал флуорофоров как в растворе, так и в целлюлозной пленке. Полученные автором результаты могут служить надежным заделом для продолжения исследований описанных систем в будущем.

Глава 7 «Пленки {целлюлоза-[BMIm][Cl]} для флуориметрического определения артемизинина» посвящена изучению возможности использования индикаторных систем пиронин Б-микропероксидаза-11 и пиронин Б-Mn(II)-додецилсульфат натрия в растворе и в целлюлозной пленке для флуориметрического определения артемизинина и разработке методик определения этого эндопероксида в фармацевтических препаратах. Артемизинин способен окислять пиронин Б, вследствие чего его можно определять по уменьшению флуоресцентного сигнала красителя. Автором выполнен большой по объему эксперимент, в результате которого были выбраны условия определения артемизинина в указанных индикаторных системах, установлен динамический тип тушения флуоресценции пиронина Б артемизинином, показана предпочтительность применения биологического катализатора для определения эндопероксидного соединения в растворе. При переносе индикаторных систем в пленку {целлюлоза-[BMIm][Cl]} установлено, что для определения целесообразно использовать только синтетический катализатор, поскольку микропероксидаза-11 в ходе иммобилизации в целлюлозную пленку заметно теряла свою каталитическую активность. Автором разработаны чувствительные, селективные и довольно простые методики определения артемизинина с использованием предложенных новых индикаторных систем, которые позволяют определять эндопероксид на уровне его концентраций в фармацевтических препаратах и биологических жидкостях. Тщательно и детально проведена оптимизация стадий пробоподготовки двух фармацевтических препаратов. Выполнен их анализ на содержание

артемизинина, что подтверждает практическую ценность разработанных методик. Важным результатом проведенных Д.А. Мясниковой исследований на этом этапе и в диссертационной работе в целом является продемонстрированная автором возможность использования пленок {целлюлоза-[BMIm][Cl]} для определения артемизинина, органического соединения класса терпенов, обладающего не только антималярийной, но и антираковой активностью.

Экспериментальную часть завершает «Заключение», в котором автор подводит итог проведенным исследованиям, отмечает важность полученных на разных этапах результатов, критически обсуждает достоинства и недостатки предложенных целлюлозных пленок с иммобилизованными аналитическими реагентами, намечает пути дальнейшего совершенствования созданных целлюлозных материалов и разработанных на их основе новых индикаторных оптических систем.

Работа изложена хорошим научным языком, хорошо структурирована, отличается хорошим уровнем обобщения и критического анализа. Тем не менее, хочется обратить внимание на следующие моменты:

1. В рукописи очень подробно описаны не только положительные результаты, обеспечившие работе научную новизну и практическую значимость, но и эксперименты, приведшие к отрицательному результату. Объем рукописи можно уменьшить за счет сокращения последних.

2. Из схемы рис.7 на стр. 30 Литературного обзора диссертации следует, что координационное число лантанидов составляет 11. Для них наиболее характерны координационные числа от 7 до 10.

При обсуждении изменений в спектрах флуоресценции пленок различного состава автор не учитывает возможность восстановления Eu(III) до Eu(II) . Доказательств отсутствия в изученных системах примеси соединений Eu(II) в работе не приводится.

3. Для получения растворов железа(II) автор использовал сульфат железа(II) (с.64), который в водных растворах легко окисляется кислородом воздуха до железа (III). Почему автор не использовал для этих целей соль Мора?

4. На с.113 используется термин «хаотропичный анион». Видимо речь идет о хаотропном агенте. Следует пояснить, что имел в виду автор.

5. Непонятно, почему в табл.19 (с.170) уравнение градуировочной зависимости получено для $n = 8$, а величина стандартного относительного отклонения рассчитана для $n = 5$? В этой же таблице приведена величина s_r 0.008, т.е. меньше 1%. Как это соотносится с точностью выбранного метода? Табл. 27 на с.187, посвященная результатам определения артемизинина в БАД, не содержит сведений об s_r .

6. На с.194 автор пишет: "Воспроизводимости методик определения АМ в БАД с применением пленки и индикаторной системы в растворе, как показал тест Фишера, статистически значимо различаются". Такое сопоставление некорректно, т.к. объемы выборок различны.

7. В выводах 7 и 8 присутствует формулировка - " s_r при c_n ". Обычно наоборот величину нижней границы определяемых содержаний определяют при заданном s_r (0.33).

8. Список литературы оформлен не по ГОСТу.

Диссертация Д.А. Мясниковой в целом представляет собой законченное исследование. Результаты подробно описаны, проиллюстрированы большим количеством рисунков и таблиц. Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации.

Диссертация Д.А. Мясниковой является научно-квалификационной работой, в которой решена задача создания биосовместимых и биodeградируемых целлюлозных пленок с иммобилизованными реагентами для определения органических соединений, в частности, артемизинина - эндопероксида, проявляющего антималярийную активность, что может лечь в основу новых твердофазных сенсоров.

Диссертационная работа Д.А. Мясниковой «Получение, свойства и применение для определения биологически активных органических соединений пленок {целлюлоза-ионная жидкость}» соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного 24 сентября 2013 года Постановлением Правительства Российской Федерации № 842.

Автор работы, Мясникова Дина Андреевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Зав. кафедрой общей и аналитической
химии им. Н.Л.Глинки
Московского государственного
машиностроительного университета
(МАМИ)
д.х.н., проф.
107023, г. Москва, ул. Б.Семёновская,
д. 38.
Тел. 8 495 683 9969
Sofia-babkina@mail.ru

Бабкина

С.С.Бабкина

05.03.2015

