

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной деятельности
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)
Федеральный университет», д.г.-м.н., профессор

Нургалиев Д.К.

2018 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Яркаевой Юлии Анатольевны «Хиральные
вольтамперометрические сенсоры и сенсорные системы для распознавания и
определения энантиомеров пропранолола и триптофана», представленную на
соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 –
аналитическая химия

Актуальность темы исследования. Большинство биологически активных органических соединений являются оптически активными, при этом их образование в природе и в технологических процессах радикально отличается по составу оптических изомеров. Вплоть до недавнего времени этому аспекту тонкого органического синтеза большого внимания не уделялось, поскольку считалось, что использование рацематов вместо оптически чистых изомеров в худшем случае приведет к некоторому снижению брутто-эффекта препарата. Однако выяснилось, что применительно к фармацевтическим препаратам различия могут быть фатальными и приводить не просто к увеличению дозы, но к опасным для здоровья побочным эффектам. В результате подавляющее большинство новых лекарственных средств, вводимых в фармакопейную практику в настоящее время, являются оптически чистыми изомерами. Вместе с тем, вопрос выявления и последующего разделения оптических изомеров представляет собой сложную в техническом отношении задачу, требующей специальных реагентов – селекторов и дорогостоящего оборудования. В связи с этим актуальна задача поиска и реализации новых принципов определения энантиомеров, реализуемых в сенсорном формате и доступных для использования вне лабораторной базы. Такие энантиосенсоры могут быть весьма полезны при выявлении контрафактных и фальсифицированных препаратов, скрининге определенной фармакологической активности и при контроле основных производственных процессов получения энантиомеров, особенно при использовании в медицине и фармацевтике. В

свете вышесказанного тема диссертации Яркаевой Ю.А., посвященной исследованию и разработке новых хиральных вольтамперометрических сенсоров для определения энантиомеров пропранолола и триптофана, является *актуальной, научно и практически значимой*.

Для достижения поставленной цели были поставлены и решены задачи модификации угольно-пастовых и стеклоуглеродных электродов различными полимерными соединениями и рецепторами, способными к селективному связыванию аналитов, а также изучения морфологии и электрохимических характеристик модифицированных электродов, и наконец, вольтамперометрического определения пропранолола и триптофана. Представленный план исследования соответствуют сложившейся практике электроанализа на модифицированных электродах, он базируется на известных из литературных данных и собственных исследований соискателя закономерностях поведения органических соединений на модифицированных электродах и соответствует трендам современного электрохимического анализа, сочетающего традиционный инструментарий электрохимика с активным применением молекулярно-динамического моделирования взаимодействий аналита и модификатора и исследования поверхности сенсора с помощью зондовой микроскопии.

Диссертация Яркаевой Ю.А, изложена на 141 странице текста компьютерной верстки и состоит из введения, трех глав, заключения, списка сокращений и списка использованных библиографических источников, содержащего 171 библиографическое описание работ отечественных и зарубежных авторов. Диссертация содержит 69 рисунков и 13 таблиц.

Во **Введении** обоснована актуальность проведенного исследования, сформулированы цель и задачи, дана краткая характеристика степени разработанности темы исследования, сформулированы положения, составляющие научную новизну и практическую значимость исследования. Также приведены положения, выносимые на защиту, обоснование достоверности полученных результатов и сведения об апробации диссертации на конференциях различного уровня, ее структуре и публикациях по теме диссертации.

Глава 1 «Литературный обзор» начинается с общего описания понятий и терминов, связанных с оптической изомерией. Автором приведены впечатляющие примеры различия в фармакологической активности оптических изомеров ряда известных лекарств. После этого приводятся современные представления о способе определения энантиомеров с использованием универсальных физико-химических

методов анализа и химических сенсоров. Среди последних логично внимание, уделенное автором модификаторам, впоследствии использованным для получения собственных вольтамперометрических сенсоров (химия комплексов «гость-хозяин», особенности самоорганизации наноматериалов, циклодекстринов, получение и применение для разделения энантиомеров самоорганизующихся слоев и полимеров с молекулярными отпечатками). Обзор завершается рассмотрением мультисенсорных систем и методов хеометрики для описания их сигнала.

К незначительным недостаткам литературного обзора можно отнести некоторые неточности терминологии, особенно в части хеометрики (не квадрат коэффициент корреляции, а коэффициент детерминации, не оффсет, а свободный член линейной зависимости), использование ряда аббревиатур параллельно в русскоязычной и английской номенклатуре (ПЛС – PLS). Кроме того, раздел 1.4 «Энантиоселективные сенсорные системы» фактически содержит только описание методов хеометрики применительно к вольтамперометрии.

Литературный обзор хорошо структурирован, написан ясным современным языком. Он отражает существующий уровень исследований в области вольтамперометрического электроанализа лекарственных препаратов на модифицированных электродах и подтверждает правильность выбора темы диссертации.

Глава 2 «Аппаратура и техника эксперимента» содержит описание оборудования, средств измерения и программного обеспечения, использованных для получения результатов и их обработки. В качестве незначительного замечания следует указать на то, что поскольку полиариленфталид – пленкообразователь сенсора – не является коммерческим реактивом, необходимо дать либо ссылку на описание его синтеза и доказательство структуры, либо кратко привести их в приложении к диссертации. Также неудачно название «стеклянное основание УПЭ» для стеклянной трубки – корпуса электрода (рис.6). Глава содержит описание разработанных способов модификации электродов и измерений их сигнала. Подробность их описания вполне достаточна, чтобы сделать заключение о *достоверности* полученных научных результатов и их обсуждения.

Глава 3 «Результаты и обсуждение» посвящена собственным результатам соискателя и их интерпретации в рамках задачи энантиоселективного определения пропранолола и триптофана.

В случае пропранолола в качестве хирального селектора были использованы супрамолекулярные продукты самоорганизации урацила, вносимого в угольную

пасту. Возможность образования таких супрамолекулярных структур была подтверждена молекулярно-динамическим моделированием. Используя в качестве подложки графен, было показано различие в числе водородных связей, образованных R- и S-изомерами аналита. Различия в прочности связывания соответствовали наблюдаемым в эксперименте соотношениям потенциалов пика необратимого окисления пропранолола. Использование постоянноточковой вольтамперометрии позволяет проводить определение пропранолола в интервале концентраций 1 – 10 мкМ с пределами обнаружения 0.224 и 0.47 мкМ для S- и R-изомеров. Распознавание двух энантиомеров проводили по дифференциальной вольтамперной кривой с использованием метода главных компонент (МГК).

После экспериментов с угольно-пастовым электродом аналогичная задача была решена с помощью стеклоуглеродного электрода, покрытого гибридным материалом из пленкообразователя полиарилефталата и меламина или циануровой кислоты. Как и в случае урацила, возможность такого распознавания была подтверждена с помощью молекулярно-динамического моделирования, установившего различия в энергии взаимодействия R- и S-изомеров пропранолола с указанными материалами. Сами покрытия характеризовали с помощью вольтамперометрии и спектроскопии электрохимического импеданса по сигналам феррицианид-ионов, добавляемых в раствор. Включение меламина и циануровой кислоты в состав гибридной пленки полиарилефталата было также подтверждено с помощью атомно-силовой микроскопии. Электродные процессы с участием пропранолола на модифицированном стеклоуглеродном электроде в целом мало отличались от описанных ранее на угольно-пастовом электроде: аналит давал один диффузионный пик переноса двух электронов, который выходил на насыщение при увеличении продолжительности контакта с раствором и был максимален в кислой области. Линейная область градуировочного графика была достаточно узкой (0.02 – 0.9 мМ), однако различия в положении пиков R- и S-изомеров пропранолола и их высоте оказались больше, чем в случае разделения указанных соединений на урациле в графитовой матрице угольно-пастового электрода. Распознавание оптических изомеров проводили, используя двухэлектродную систему с меламином и циануровой кислотой. Результаты разделения продемонстрированы графиками счетов МГК. По результатам разделения показана высокая степень дифференциации растворов, содержащих только один из энантиомеров.

Аналогичные исследования были проведены с триптофаном, присутствующим в составе белков в виде L-энантиомера. В качестве селектора в данном случае использовали циклодекстрины, включаемые в пленку полиарилефталата. Переход к указанным селекторам был связан с тем, что молекулярно-динамическое моделирование в данном случае не показало преимущественного связывания какого-то изомера с изученными ранее меламинам, урацилом и циануровой кислотой.

Яркаева Ю.А. исследовала модификаторы с помощью циклической вольтамперометрии и спектроскопии электрохимического импеданса и поверхность пленки на электроде - с помощью атомно-силовой микроскопии. Интерпретация диаграмм Найквиста сомнений не вызывает и отвечает современным представлениям о влиянии на них природы лимитирующей стадии переноса заряда. Установлена связь между количествами вводимых циклодекстринов и размерами структурных элементов покрытия, что косвенно подтверждает предположение об агрегации данных модификаторов на границе электрод – раствор. С использованием дифференциально-импульсной вольтамперометрии интервал определяемых концентраций составил от 4.0 до 0.7 мкМ. Введение агрегатов циклодекстринов в состав полимерной пленки увеличивало разность сигналов энантиомеров триптофана. Возможность распознавания была установлена, используя МГК (двух- и трехсенсорные системы) и проекции на латентные структуры (ПЛС).

Разработанный способ различения энантиомеров триптофана был апробирован на примере фармацевтических препаратов разных производителей, содержащих только триптофан, и биологических добавок, в которых триптофан был одним из биологически активных компонентов. Результаты показали высокую надежность прогноза производителя.

Диссертация завершается *Заключением*, содержащим обобщение полученных результатов и закономерностей и перспективы дальнейшей разработки темы исследования, связанные с расширением перечня аналитов и биологических объектов, их содержащих. Заключение следует из представленных экспериментальных данных и их обсуждения, логично и полностью отражает проведенные исследования.

Характеризуя диссертационную работу Яркаевой Ю.А. в целом, необходимо сделать вывод, что это законченное самостоятельное исследование, в котором автор продемонстрировал понимание современной методологии электрохимического анализа на модифицированных электродах и методов многомерной оценки данных

мультисенсорных систем типа «электронный язык». Ему удалось, используя ограниченный перечень модификаторов электрода, показать возможность различения энантиомеров двух препаратов – пропранолола и триптофана, отличающихся чрезвычайной близостью электрохимических характеристик. В ходе исследования выдвинуто и обосновано утверждение о роли поверхностных специфических реакций модификаторов и аналитов в обеспечении разделения сигналов энантиомеров. а также о вкладе автоагрегации циклодекстринов в образование селекторных структур, участвующих в процессе за счет супрамолекулярных взаимодействий. К числу несомненных достоинств работы нужно отнести широкое применение современных методов анализа (спектроскопия электрохимического импеданса, атомно-силовая микроскопия) в сочетании с молекулярно-динамическим моделированием взаимодействия энантиомеров с модификаторами-селекторами, и грамотную интерпретацию статистических методов обработки многомерных данных (МГК, проекции на латентные структуры). Правильность определения индивидуальных соединений установлена с помощью метода «введено – найдено», различение реальных образцов, содержащих аналиты – с привлечением результатов оценки тестовых выборок, не участвующих на этапе обучения системы (установления дискриминирующих правил).

Работа отличается несомненной *научной новизной*. Она связана с обоснованием роли слабых нековалентных взаимодействий с подложкой при дифференциации отклика на энантиомеры одного и того же деполяризатора (по данным молекулярно-динамического моделирования), а также с выявлением условий, позволяющих различение и раздельное определение энантиомеров аналитов по данным вольтамперометрических сенсоров. *Практическая новизна* проведенного исследования связана с разработкой способов модификации электродов с достижением воспроизводимого отклика, чувствительного к оптическим свойствам аналитов, а также в протоколами экспрессного установления производителя триптофана в фармацевтических препаратах и лекарственных препаратов, содержащих его L-энантиомер.

Несмотря на общее положительное заключение о работе, к ней имеются замечания непринципиального характера.

1. Поскольку методы хемометрики вносят большой вклад в достижение конечной цели исследования, автору следовало более подробно рассказать о применявшихся алгоритмах, в частности, по какому алгоритму проводили свертку вольтамперограмм для последующего представления в МГК и как характеризовали исходную выборку данных на предмет оценки ее собственных статистических характеристик.

Также представляет интерес более подробная оценка прогнозных характеристик метода, достигаемых с помощью проекций на латентные структуры.

2. При обсуждении результатов измерения электрохимического импеданса Яркаева Ю.А. правильно интерпретирует элементы диаграммы Найквиста, однако не дает сами значения сопротивления переноса заряда и емкости слоя, а также показателя шероховатости. Было бы логично свести их в таблицы. Утверждение о том, что «в случае электропроводящих полимеров в качестве модификаторов используют схему Рэндлса» (с.90) неверно, эта схема не учитывает вклада электропроводности покрытия, да используемые полимеры и не относятся к электропроводящим.

3. Автор варьирует состав модифицирующего покрытия в достаточно узких пределах и не всех его компонентов. Хотелось бы узнать, каким образом определяли пределы изменения экспериментальных параметров при подборе рабочих условий, далее используемых в мультисенсорных системах.

4. Все градуировочные зависимости, включая графики и уравнения, приводятся без указаний доверительных интервалов (средних ошибок). Вместе с тем, точность и воспроизводимость результатов измерения сигналов сенсоров является критическим с точки зрения хемометрической обработки результатов измерения в мультисенсорных системах. Также следовало привести литературные данные об аналитических характеристиках определения триптофана и пропранолола с помощью других электрохимических сенсоров.

Указанные замечания не меняют общей благоприятной оценки работы. Основные полученные результаты опубликованы в 17 работах, включая одну статью в международном рецензируемом журнале, входящем в базы Scopus и Web of Science, и три статьи в российских рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК для опубликования результатов диссертационных исследований. Публикации и автореферат полностью отражают содержание диссертации.

Результаты исследований докладывали на многих конференциях различного уровня и известны научной общественности. Исследования были поддержаны рядом российских научных грантов.

Считаем, что диссертация Яркаевой Ю. А. «Хиральные вольтамперометрические сенсоры и сенсорные системы для распознавания и определения энантиомеров пропранолола и триптофана» удовлетворяет требованиям п.9-13 Положения о порядке присуждения ученых степеней, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

циям, как научно-квалификационная работа, в которой в которой содержится решение научной задачи, имеющей значение для электрохимических методов анализа органических соединений. Автор работы, Яркаяева Юлия Анатольевна, достойна присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Отзыв рассмотрен и утвержден на заседании кафедры аналитической химии Химического института им.А.М.Бутлерова ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» 23 октября 2018 г., протокол № 3.

Отзыв составили

Заведующий кафедрой аналитической химии

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»,

д.х.н., профессор

Геннадий Артурович Евтюгин

г.Казань, 420008, ул.Кремлевская, 18

тел. 8-843-2337491,

e-mail: Gennady.Evtugyn@kpfu.ru

Профессор кафедры аналитической химии

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»,

д.х.н., профессор

Будников Герман Константинович

г.Казань, 420008, ул.Кремлевская, 18

тел. 8-843-2337215,

e-mail: Herman.Budnikov@kpfu.ru

29 октября 2018 г.

