

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию на диссертационную работу **Попова Александра Юриевича** “Синтез и свойства нанопористого сверхсшитого полистирола для твёрдофазной экстракции биомаркеров”, представленную на соискание учёной степени кандидата химических наук по научной специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения.

Диссертационная работа Попова Александра Юриевича посвящена синтезу и применению нового гидрофобного нанопористого сверхсшитого полистирольного сорбента способного избирательно поглощать разнообразные низкомолекулярные соединения из белковых растворов.

Актуальность темы диссертации определяется практической задачей по разработке эффективных сорбентов для определения фармпрепаратов, наркотиков, пестицидов, инсектицидов, реагентов, а также собственных метаболитов организма и других низкомолекулярных соединений в биологических жидкостях, клеточных культурах и пищевых продуктах. Кроме того, в клинической практике требуется быстро и дешево определять биомаркеры всевозможных паталогических состояний. Особенно это касается определения низких концентраций матрично-связанных маркеров для ранней диагностики заболеваний. Развитие инструментальных методов анализа в сторону повышение их чувствительности предъявляет новые требования к пробоподготовке и концентрированию аналита. Это в свою очередь вызывает повышенный научный и практический интерес к разработке новых эффективных сорбентов для избирательного экстракционного концентрирования низкомолекулярных аналитов. Таким образом диссертационная работа **Попова Александра Юриевича** направлена на решение актуальной научной и практической задачи.

Логичным и обоснованным выглядит выбор материала для создания таких сорбентов. Автор выбрал именно сверхсшитый полистирол. Этот полимер широко применяется и зарекомендовал себя как универсальный материал для создания самых разнообразных ионообменников, сорбентов и пористых гелей для использования в аналитической химии, хроматографии, органическом синтезе и в даже медицинской практике для экстракорпорального удаления токсинов из крови.

Научная новизна результатов заключается в выявлении условий синтеза сверхсшитых пористых селективных сорбентов, которые эффективно экстрагируют низкомолекулярные органические соединения различного строения и полярности из сред, содержащих белки. Изучено влияние содержания дивинилбензола в гелевом предшественнике сорбента и степени

последующей вторичной сшивки на пористую структуру получаемого материала, его набухание и величины сорбции белков и низкомолекулярных соединений. На примере фенолкарбоновых кислот показано решающее влияние степени вторичной сшивки на селективность сорбции.

Продемонстрирована возможность использования полученных сорбентов как для очистки белков, так и для твёрдофазной экстракции фенолкарбоновых кислот из сыворотки крови, что и определяет **практическую значимость** обсуждаемой диссертационной работы.

Структура диссертационной включает введение, обзор литературы, содержащего 6 разделов, главы обсуждения результатов, содержащей 10 разделов, экспериментальной части, выводов, списка сокращений и условных обозначений, а так же списка цитируемой литературы.

Во введении автором сформулированы цели и задачи исследования, выделена научная новизна и решаемая практическая задача.

В первом разделе **обзора литературы** сформулирована проблема анализа биологических жидкостей. Приведены типичные концентрации важнейших аналитов и мешающих компонентов в плазме крови. Далее рассмотрены теоретические основы теории твёрдофазной экстракции в том объеме в котором это необходимо для понимания хода проведенных оалее исследований.

Основная часть обзора посвящена анализу работ по синтезу сверхсшитого полистирола, приведен анализ используемых растворителей, сшивающих агентов и катализаторов, используемых в синтезе. Далее автор рассмотрел современное состояние исследований структуры и основных свойств сверхсшитого полистирола. Заканчивает первую главу обзор имеющейся литературы, посвященной разработке методов твёрдофазной экстракции аналитов из сложных биологических матриц с применением сверхсшитых сорбентов.

Во второй главе, посвященной экспериментальным методикам и материалам, использованным автором, приведён список используемых в работе реактивов и оборудования. Описаны методики синтеза гелевых сополимеров стирола с дивинилбензолом, сшивающего агента монохлордиметилового эфира и методы, последующей сшивки полученных сополимеров синтезированным эфиром. С необходимой подробностью с указанием важных для понимания деталей изложены используемые в работе физико-химические методы анализа структуры и свойств полученных сорбентов.

В главе “Результаты и их обсуждение” изложены экспериментальные результаты полученные автором и проведён их анализ.

Раздел 3.1 посвящен суспензионной полимеризации с получением сферических частиц сорбента необходимого размера ($d = 60-80$ мкм). В разделе 3.2 описаны методы сшивки гелевых сополимеров с получением пористого сорбента регулируемой пористости. Показано, что удовлетворяющий всем критериям материал получается при сшивке сополимера монохлордиметиловым эфиром в присутствии $FeCl_3$. В разделе 3.3 приведены результаты исследования синтезированных материалов методом Фурье ИК спектроскопии. Установлено, что при степени вторичной сшивки $< 300\%$ в структуре полимерной сетки присутствуют боковые фенильные заместители, не принимающие участия в образовании трехмерной структуры и не имеющие метиленовых сшивок.

В разделе 3.4 описывается изучение пористой структуры синтезированных сорбентов. Автором предложен способ формального теоретического расчёта незанятой цепями полимера свободного объёма сверхсшитой сетки. Для этого предложено использовать экспериментальные данных о плотности полимера и справочные данные о Ван-Дер-Ваальсовых объёмах фрагментов сетки. Полученную предельную величину пористости автор сравнивает с доступным для азота объёмом пор. Автор показал, что в наименее плотных сорбентах объём конденсированного азота равен вычисленному свободному объёму полимерной сетки. Оказалось, что пористость сорбентов тем выше, чем ниже содержание дивинилбензола в исходном сополимере и выше степень вторичной сшивки. Автор проводит анализ изотерм адсорбции азота при $77K$ и приходит к выводу, что размер пор сорбента определяется содержанием дивинилбензола, однако степень вторичной сшивки, видимо не оказывает значительного влияния на размер пор. При этом автором отмечено, что полученные результаты относятся к сухому несольватированному полимеру, и не соответствуют набухшей рабочей форме сорбента. В следующем разделе 3.5 продемонстрировано, что полученные сетки увеличивают свой объём при внесении их в растворители, воду, толуол и метанол.

В разделе 3.6 исследованы сорбционные свойства полученных сорбентов в статических условиях по отношению к белкам и витаминам. Наблюдаемый эффект эксклюзии крупных молекул, ограничивающий их сорбцию, согласуется с описанной ранее качественно зависимостью размера пор от содержания дивинилбензола в сополимере. Наиболее плотная сетка на основе форполимера с 3% ДВБ хорошо сорбирует небольшие молекулы с $MM < 300$ г/моль, но плохо поглощает относительно крупный витамин B_{12} . Сорбент с 2% ДВБ способен селективно сорбировать малые молекулы, не

сорбируя белки, а при дальнейшем уменьшении содержания ДВБ в исходном сополимере увеличиваются размеры молекул, способных проникать внутрь пор сорбента. Сорбент с 0.7% ДВБ уже способен сорбировать небольшой белок Цитохром С, а сорбент с 0.5% ДВБ частично поглощает относительно крупный человеческий сывороточный альбумин. Автору удалось выявить главный фактор, определяющий сорбцию сопоставимых по размеру молекул, которым является гидрофобность сорбата.

Следующий раздел 3.7 посвящён изучению сорбции фенолкарбоновых кислот, которые, как известно являются свидетелями процесса воспаления активно протекающего в организме и используются в диагностике сепсиса. Автором обнаружено увеличение селективности адсорбции полярных фенолкарбоновых кислот при увеличении степени вторичной сшивки полистирола монохлордиметиловым эфиром. Автор объясняет эту закономерность изменением вклада π - π взаимодействия между молекулами сорбента и сорбата.

В разделе 3.7 проведён анализ кривых проскока двух фенолкарбоновых кислот, полученных на небольшой колонке для твёрдофазной экстракции. Объём проскока 3,4-дигидроксibenзойной кислоты увеличивался при повышении степени вторичной сшивки сорбента вплоть до 400%. При этом, объём проскока 3-фенилпропионовой кислоты, напротив, был минимальным при этой степени сшивки. Учитывая эффективность сорбции и десорбции, автором предложен эффективный сорбент для твёрдофазной экстракции фенолкарбоновых кислот, содержащий 2% дивинилбензола в исходном сополимере, сшитом эфиром до 200%. Показано, что человеческий сывороточный альбумин не удерживается на колонке, набитой таким сорбентом.

Разделы 3.9 и 3.10 посвящены твёрдофазной экстракции фенолкарбоновых кислот из модельного альбуминового раствора и плазмы крови. Показано, что степень извлечения кислот из сложных матриц достигает 93%. В конце третьей главы приведена разработанная автором простая процедура определения фенолкарбоновых кислот в крови человека с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Стоит отметить, что предложенный автором подход не ограничен экстракцией фенолкарбоновых кислот и может быть применён для определения других аналитов, присутствующих в разнообразных биологических жидкостях.

Выводы корректны и отражают основные результаты проделанной работы.

Работа представлена на 148 страницах машинописного текста, содержит 36 рисунков, 4 схемы и 17 таблиц; список цитируемой литературы включает 303 наименований.

Диссертационная работа имеет логичную структуру, даёт полное представление о проделанной работе, информативно и полностью соответствует специальности 1.4.7. «Высокомолекулярные соединения». Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Основные результаты работы изложены в 4 статьях, включенных в перечень ВАК, которые отражают материал диссертации результаты работы доложены и обсуждены на 3 научных конференциях.

Достоверность полученных результатов обеспечивается грамотным дизайном исследования и применением необходимых методов физико-химического анализа таких, как ИК-спектроскопия, тепловая десорбция аргона, низкотемпературная адсорбция азота, высокоэффективная жидкостная хроматография с диодноматричным детектором, весовое и объёмное набухание, статическая и динамическая сорбция и десорбция. Результат определения фенолкарбоновых кислот полностью согласуется с ссылками, приведёнными в специализированной базе данных.

По работе можно сделать следующие замечания.

Автор утверждает, что действительная вторичная степень сшивки сорбента, **X**, соответствует мольному соотношению монохлордиметилового эфира и сополимера, подтверждая это измерением конверсий монохлордиметилового эфира, которая оказалась более 98%. Однако, даже при полной конверсии сшивающего нельзя с полной уверенностью утверждать о равенстве степени сшивки мольному соотношению реагентов. Возможно протекание побочных реакций особенно в такой активной каталитической системе. Автор в работе никак не оценил вклад побочных реакций, например гидролиза, в расходование эфира, так же автор не оценивал изменение степени сшивки по глубине полимерной частицы.

В обзоре литературы автор указывает, что классическая картриджная твёрдофазная экстракция используется с небольшими навесками сорбента, вплоть до 10-50 мг. Действительно, такие картриджи не являются редкостью и имеются в свободной продаже как с сорбентами на основе силикагеля, так и на основе сверхсшитого полистирола и других полимеров. Хотелось бы видеть сравнение сорбентов, предложенных автором с уже существующими.

В обзоре литературы кратко рассмотрены работы Паутовой А.К. в которых решалась задача экстракция фенолкарбоновых кислот из сыворотки крови как твёрдофазным, так и жидкостным методом. Автор не проводит

подробного сравнения со своими результатами. В чем преимущество метода экстракции, разработанного автором, перед опубликованными ранее методами твёрдофазной и жидкостной экстракции фенолкарбоновых кислот?

Как обычно есть и студенческие ошибки, например, в таблице 12 приведены результаты сорбции шести фенолкарбоновых кислот из смешанного раствора с точностью до десятых долей процента. Далее, в таблице 15 для результатов сходного эксперимента приведено значение стандартного отклонения 3-4%. Поэтому возникает вопрос, какая точность измерения (воспроизводимость) в первом эксперименте (таб. 12), и являются ли десятые доли процента значимым разрядом?

Небрежности тоже есть, например, на Рисунке 30 изображающей зависимость объёма удерживания ДГБК от концентрации кислоты в растворе не указано к каким сорбентам относится приведённые группы точек.

Сделанные замечания не носят принципиального характера и ни в коей мере не подвергают сомнению качество полученных автором результатов и высокую оценку выполненной квалификационной работы.

Диссертационная работа Попова А. Ю. является законченным научно-квалификационным исследованием, в котором решена важная научная и прикладная задача. Содержание работы полностью отвечает паспорту специальности. По объёму проведённых исследований, научной новизне и практической значимости рассматриваемая диссертационная работа соответствует всем требованиям «Положения о порядке присуждения учёных степеней, пп. 9-14», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, а её автор – Попов Александр Юриевич заслуживает присуждения ему учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.4.7 (высокомолекулярные соединения).

Официальный оппонент,
профессор РХТУ им. Д.И. Менделеева
доктор химических наук

Дятлов Валерий Александрович

«09» ноября 2021 г.

Адрес: 125047, г. Москва, Миусская пл., 9
Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева
Тел. +7 (910) 408-17-58, E-mail: dyatlov.va@mail.ru

Подпись Дятлова В.А. удостоверяю

ПРОРЕКТОР
ПО УЧЕБНОЙ
С. Н. ФИЛ

