

«Утверждаю»

Проректор Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Московский государственный
университет имени М.В.Ломоносова»


А.А.Федянин

2021 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» на диссертационную работу Попова Александра Юриевича на тему «Синтез и свойства нанопористого сверхсшитого полистирола для твёрдофазной экстракции биомаркеров», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности: 1.4.7. Высокомолекулярные соединения

Сверхсшитые полистиролы (ССП) являются пористыми материалами с высокой удельной поверхностью, способными к эффективной и обратимой неизбирательной сорбции разнообразных органических соединений из водных растворов. Благодаря этому свойству СПП вошли в обычную практику аналитических лабораторий как коммерчески доступные сорбенты для твердофазной экстракции (ТФЭ) в анализе объектов окружающей среды, оценке качества пищевых продуктов, а также для определения фармпрепаратов в биологических жидкостях. Однако оптимизация структуры СПП для универсальной экстракции низкомолекулярных соединений из биологических матриц ранее была проведена не в полной мере. Это особенно важно в контексте рассмотрения СПП как материала ограниченного доступа (Restricted access material, RAM), способного поглощать низкомолекулярные органические соединения,

но не белки и другие соединения с большой молекулярной массой. Схемы химического анализа на основе систем с on-line ТФЭ, использующие RAM, остаются достаточно сложными и пока широко не применяются.

Работа Попова А.Ю. направлена на создание сверхсшитого сорбента ограниченного доступа с оптимизированной структурой и свойствами, подходящего для ТФЭ с помощью классических и миниатюризированных патронов. **Актуальность работы** обусловлена тем, что в настоящее время не описаны высокоэффективные RAM для использования в простых off-line системах ТФЭ.

Для достижения поставленной в диссертационной работе цели были синтезированы гелевые сополимеры стирола с дивинилбензолом, где содержание дивинилбензола определяло степень первичной сшивки сетки. Затем полученные сополимеры были сшиты монохлордиметиловый эфиром, количество которого определяло степень вторичной сшивки полимера. В работе была изучена связь степени первичной и вторичной сшивки полученного гидрофобного сверхсшитого полистирола с пористой структурой, величинами набухания и сорбции белков и различных низкомолекулярных соединений. Благодаря изученным закономерностям удалось оптимизировать условия синтеза и впервые получить нанопористый гидрофобный сверхсшитый полистирольный материал ограниченного доступа, что, несомненно, является **научной новизной** рассматриваемой работы.

Помимо научной новизны, диссертационная работа характеризуется ценностью для практики химического анализа. В диссертации решена аналитически значимая задача определения фенолкарбоновых кислот в сыворотке крови человека с применением простой и надежной процедуры их извлечения и концентрирования. Фенолкарбоновые кислоты являются перспективными ранними маркерами сепсиса, а их определение в крови является актуальной задачей, что и обосновывает высокую **практическую значимость** работы.

Диссертационная работы Попова А.Ю. хорошо структурирована. Она состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов и их обсуждения, заключения и выводов, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы. Работа изложена на 149 страницах машинописного текста, содержит 36 рисунков, 17 таблиц и 4 схемы. Список цитируемой литературы включает 303 источника.

Во **введении** автор формулирует актуальность, цели и задачи исследования, научную новизну и практическую значимость работы, личный вклад автора, сведения об

апробации работы, указывает число публикаций по теме исследования и декларирует объём и структуру работы.

В **обзоре литературы** автор рассматривает теоретические основы ТФЭ, описывает её типы и их особенности. Освещены идеи, лежащие в основе создания материалов RAM, и приведены классические методы синтеза RAM на основе силикагеля и полимеров с молекулярными отпечатками. Далее рассмотрены принципы синтеза сверхшитых сорбентов, указаны их основные представители и подходящие сшивающие агенты. Подробно рассмотрены способы синтеза сверхшитого полимера на основе полистирола, его сополимеров и их производных. Особое внимание уделено свойствам, химической и пористой структуре ССП. Заканчивается обзор литературы рассмотрением накопленного практического опыта использования ССП в различных форматах ТФЭ в анализе биологических жидкостей. Автор обращает внимание на то, что при использовании ССП стадию депротенизации часто не проводят, что указывает на наличие свойств RAM у сверхшитых сеток. Таким образом, диссертационное исследование является логическим продолжением опубликованных ранее работ.

В **экспериментальной части** работы приведена информация о реактивах и оборудовании, методы синтеза монохлордиметилового эфира, сополимеров стирола с дивинилбензолом и метод их сшивки. Далее описаны методы изучения физико-химических и структурных свойств полученных сверхшитых материалов.

Раздел **«Результаты и их обсуждение»** состоит из 10 частей, в первых двух частях рассматривается синтез гидрофобных нанопористых сверхшитых полистирольных сорбентов, в следующих трёх частях рассматривается структура и набухание полученных сеток, затем рассматриваются сорбционные свойства ССП и приводится разработанный метод ТФЭ фенолкарбоновых кислот из сыворотки крови и их хроматографического определения.

В частности, обсуждены особенности суспензионного синтеза гелевого полимера предшественника – сополимера стирола с дивинилбензолом, варианты сшивки сополимера хлороформом, диметоксиметаном и монохлордиметиловым эфиром, используя в качестве катализаторов SnCl_4 , FeCl_3 и AlCl_3 . Химическое строение полученных сеток охарактеризовано с помощью ИК-спектроскопии, а пористая структура с помощью измерений кажущейся плотности полимера и низкотемпературной адсорбции азота. Выявлена зависимость весового и объёмного набухания синтезированных сеток от степени первичной и вторичной сшивки.

Автор детально описывает сорбционные свойства полученных сорбентов по отношению к молекулам разной природы и размера: двум белкам, цитохрому и альбумину, а также витаминам В6, В12 и С и сосудистому препарату пентоксифиллину. Сделан вывод, что наиболее перспективны в качестве РАМ сверхсшитые сорбенты на основе сополимеров, содержащих 2% дивинилбензола, т.к. они не сорбируют белки, но хорошо поглощают низкомолекулярные соединения, включая достаточно крупный витамин В12. Кроме того, изучена селективность конкурентной сорбции смеси шести фенилкарбоновых кислот в зависимости от степеней сшивки. Показано, что с увеличением степени вторичной сшивки сорбция полярной 3,4-дигидроксibenзойной кислоты растёт, а сорбция кислот, не содержащих гидроксильного заместителя в ароматическом ядре, падает.

В диссертационной работе подробно рассмотрено удерживание полярной 3,4-дигидроксibenзойной кислоты и гидрофобной 3-фенилпропионовой кислоты при перфузии раствора кислот через картриджи, упакованные 30 мг сорбента, и особенности последующего элюирования кислот подщелочённым метанолом. Автор приходит к выводу, что наибольшую степень концентрирования фенилкарбоновых кислот способен обеспечить сорбент на основе сшитого на 200% сополимера с 2% дивинилбензола. Проведена ТФЭ семи фенилкарбоновых кислот из модельного раствора человеческого сывороточного альбумина в сочетании с определением методом ВЭЖХ с УФ-детектором.

Особо следует отметить десятую часть раздела «Результаты и их обсуждение», в которой автор приводит метод определения фенилкарбоновых кислот в сыворотке крови здорового донора путем ТФЭ на полученном РАМ сорбенте и последующего анализа экстракта методом ВЭЖХ с диодноматричным детектором.

Работу выгодно отличает глубокая междисциплинарность, автор помимо научной цели синтеза сверхсшитых сорбентов ставит практическую задачу определения ФКК в такой сложной биологической матрице как сыворотка крови человека. В ходе работы автор проводит необходимые эксперименты для выявления сорбента наиболее эффективно решающего поставленную задачу. Впервые представлен метод одновременного определения семи фенилкарбоновых кислот в крови человека методом ВЭЖХ.

Таким образом, в диссертационной работе получены новые экспериментальные результаты по синтезу гидрофобных нанопористых сверхсшитых полистирольных сорбентов ограниченного доступа и их свойствам, а также разработана методика

определения фенилкарбоновых кислот – маркёров сепсиса в сыворотке крови с помощью полученного сорбента, эти результаты имеют ярко выраженную научную и практическую значимость.

Диссертация обладает внутренним единством и написана грамотно. При выполнении работы использованы современные экспериментальные и теоретические методы исследования. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений, что подтверждается применением современных методов исследования, единообразием средств измерений, а также согласованностью между полученными результатами и с литературными данными. Научные положения, выдвигаемые в диссертации, выводы и рекомендации надежно обоснованы.

К другим достоинствам работы можно отнести систематичность проведенных исследований и грамотность интерпретации полученных данных, что позволило в итоге решить ряд важных с научной и практической точек зрения задач. Важными особенностями диссертационного исследования, свидетельствующими о высокой квалификации его автора, являются критическое отношение к результатам, попытки провести альтернативный эксперимент для подтверждения предварительных выводов и снятия кажущихся противоречий, опора на сведения из литературных источников при обосновании выводов из экспериментальных результатов, детальность и тщательность проработки эксперимента.

Отдавая должное высокому уровню диссертационной работы, следует, тем не менее, указать на некоторые замечания и вопросы:

- 1) Из результатов изучения сорбции белков и низкомолекулярных соединений сверхшитым полистиролом с различной степенью сшивки (табл. 9 диссертации) видно, что в серии полимеров на основе сополимера с 1 % ДВБ увеличение степени вторичной сшивки со 100 до 150 и далее до 200 % приводит росту степени извлечения низкомолекулярных веществ (от 95 до 100 %) и снижению сорбции белков (от 3 до < 1 %) даже для случая цитохрома С. Логично предположить, что дальнейшее увеличение степени вторичной сшивки позволило бы получить серию сорбентов, обеспечивающих максимальное отделение низкомолекулярных веществ от высокомолекулярных. Не вполне понятно, почему автор не воспользовался этой возможностью, а вместо этого посчитал оптимальными сорбенты на основе сополимера с 2 % ДВБ, для которых степени извлечения низкомолекулярных веществ в ряде случаев хуже.

- 2) Значения пределов определения фенолкарбоновых кислот не всегда согласуются с результатами анализа сыворотки крови по методу добавок. Например, для бензойной кислоты предел определения составляет $8.1 \cdot 10^{-7}$ М, что должно говорить о невозможности достоверного определения концентраций $2.9 \cdot 10^{-7}$ М и $7.9 \cdot 10^{-7}$ М, указанных в табл. 16 диссертации. Однако из таблицы видно, что оба значения концентрации были найдены с весьма небольшими погрешностями (относительное стандартное отклонение 0.06-0.07), что свидетельствует о более низком пределе определения, чем указано выше.
- 3) На рис. 25 диссертации ошибка в представлении степени сшивки по оси X: указано 1, 2, 3 и 4 % вместо 100, 200, 300 и 400 % соответственно. Кроме того, из сравнения этого рисунка с рис. 6 автореферата, складывается впечатление, что автор не до конца определился с наиболее удачным и физико-химически оправданным представлением вклада негидрофобных взаимодействий в адсорбционный потенциал – должна ли это быть величина $\log K/\log P$, как в диссертации, или $(\log K - \log P)/\log K$, как в автореферате.
- 4) Некоторые ссылки в списке литературы дублируют друг друга, например [103] и [215]; [162] и [164]. В фамилии автора монографии [33] допущена опечатка. Название работы [293] указано в списке литературы не полностью.
- 5) В тексте работы есть опечатки и неточности. В частности, на рис. 1 автореферата допущена ошибка в обозначении рядов гистограммы – сравнение его с рис. 15 диссертации показывает, что гелевому сополимеру стирола с дивинилбензолом отвечают более темные столбцы на рис. 1 автореферата; в формуле для расчета степени сорбции на стр. 73 диссертации допущены опечатки: правильный вариант $A\% = (ABS - ABS')/(ABS - ABS_0') \cdot 100\%$; в диссертации автор использует термин «молекулярно-отпечатанные полимеры». Более широко употребляемыми в отношении таких материалов являются термины «полимеры с молекулярными отпечатками» или «молекулярно-импринтированные полимеры».

Несмотря на высказанные замечания можно утверждать, что диссертационная работа Попова Александра Юриевиича «Синтез и свойства нанопористого сверхсшитого полистирола для твёрдофазной экстракции биомаркеров» представляет собой завершённое систематическое исследование и вносит фундаментальный вклад в химию высокомолекулярных соединений, а также имеет выраженную практическую значимость. Результаты работы опубликованы в четырёх статьях, включённых в

перечень ВАК, и доложены на трёх конференциях. Автореферат отражает содержание диссертации. Научные результаты являются достоверными и новыми.

Результаты диссертационного исследования представляют интерес для специалистов, работающих в области синтеза сорбентов, изучения их пористой структуры, морфологии и физико-химических характеристик, в медицинских организациях, исследующих острые состояния пациентов, такие как сепсис, а также для специалистов, занятых разработкой аналитических методик группового концентрирования и определения низкомолекулярных веществ. Результаты диссертационного исследования могут быть также использованы в Федеральных государственных бюджетных образовательных учреждениях высшего образования Российской Федерации: Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, Нижегородском государственном университете, Томском государственном университете, Российском химико-технологическом университете им. Д.И. Менделеева, Санкт-Петербургском государственном университете, а также в Федеральных государственных бюджетных учреждениях науки: в Институте высокомолекулярных соединений РАН, Институте синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова РАН, Институте нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН, Федеральном научно-клиническом центре реаниматологии и реабилитологии.

Результаты работы соответствуют проекту паспорта специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения по областям исследования: п. 3 “Основные признаки и физические свойства линейных, разветвленных, в том числе сверхразветвленных, и сетчатых полимеров, их конфигурация (на уровнях: звена, цепи, присоединения звеньев, присоединения блоков) и конформация. Учет влияния факторов, определяющих конформационные переходы. Роль межфазных границ. Надмолекулярная структура и структурная модификация полимеров.” и п. 9 “Целенаправленная разработка полимерных материалов с новыми функциями и интеллектуальных структур с их применением, обладающих характеристиками, определяющими области их использования в заинтересованных отраслях науки и техники.”

Диссертационная работа Попова А.Ю. является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, имеющей существенное значение для химии высокомолекулярных соединений, а именно: разработка полимерных сорбентов ограниченного доступа. Она соответствует требованиям п. 9–14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от

24 сентября 2013 г. № 842 (с изменениями, внесенными Постановлением Правительства РФ от 21 апреля 2016г. № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Диссертационная работа Попова Александра Юриевича по актуальности, научной и практической значимости удовлетворяет требованиям, предъявляемых к диссертациям на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.4.7 Высокомолекулярные соединения, а автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук.

Отзыв составил Апяри Владимир Владимирович
старший научный сотрудник кафедры аналитической химии химического факультета
ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»,
доктор химических наук
119991. г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3., Химический факультет МГУ

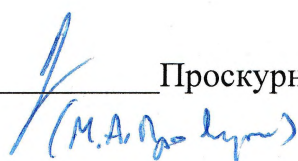
Тел. (495)939-46-08, E-mail: apyari@mail.ru _____ Апяри В.В.



15 октября 2021 г.

Диссертационная работа Попова А.Ю. была заслушана и обсуждена на заседании кафедры аналитической химии химического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (протокол № 11 от 20 октября 2021 г.)

Заведующий кафедрой аналитической химии
химического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова,
профессор, доктор химических наук

 Проскурнин М.А.

Зам. декана химического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова
профессор, доктор химических наук

 Зверева М.Э.