

**ОТЗЫВ официального оппонента  
на диссертацию на соискание ученой степени  
кандидата химических наук Чикуровой Натальи Юрьевны  
на тему: «Новые высокоэффективные неподвижные фазы с амидными  
группами и макромолекулами в функциональном слое для  
гидрофильной хроматографии»  
по специальности 1.4.2 – «Аналитическая химия»**

Гидрофильная хроматография – современный метод определения и разделения полярных соединений, играющий незаменимую роль во многих областях и демонстрирующий неограниченный потенциал развития благодаря созданию различных неподвижных фаз. Актуальность гидрофильной хроматографии также определяется различной и альтернативной селективностью, низкой вязкостью используемых подвижных фаз, высокой чувствительностью в сочетании с масс-спектрометрией, упрощением пробоподготовки. Несмотря на то, что уже известно несколько десятков и классических неподвижных фаз для гидрофильной хроматографии, и полученных относительно недавно, по-прежнему существует постоянный спрос на новые сорбенты, которые бы обладали другими свойствами для решения появляющихся аналитических задач или их получение включало бы инновационные методы, характеризующиеся простотой выполнения. Создание новых функциональных слоёв на поверхности силикагеля, а также использование альтернативных матриц позволяет обеспечивать иную селективность за счёт дополнительных взаимодействий, увеличивать диапазон рН и температурной стабильности. Кроме того, следует отметить, что большинство лекарственных препаратов являются высокополярными и хиральными веществами, разработка новых хиральных фаз для гидрофильной хроматографии и их всестороннее изучение или тестирование имеющихся фаз в гидрофильном режиме может быть крайне актуальна особенно для фармацевтической промышленности. Таким образом, разработка новых гидрофильных сорбентов может обеспечить более чувствительный и селективный анализ сложных биологических образцов, объектов пищевой и

фармацевтической промышленности и является бесспорно актуальной задачей.

Диссертантом предложены новые способы синтеза гидрофильных сорбентов на основе силикагеля и сополимера стирола и дивинилбензола для ГИХ. Предложен вариативный подход к созданию новых фаз с помощью клик-реакции Уги для формирования гидрофильного функционального слоя, позволяющий вводить разные функциональные группы в слой сорбентов. Показано, что с помощью предложенного подхода можно управлять хроматографическими свойствами получаемых фаз. Получены сорбенты на основе силикагеля с новыми полимерными функциональными слоями, характеризующиеся повышенной степенью экранирования матрицы и стабильностью. Высокоэффективные неподвижные фазы получены с использованием сополимера акриловой и малеиновой кислот с большой молекулярной массой звена. Продемонстрирована стратегия формирования функционального слоя с использованием эремомицина с пространственным удалением слоя, позволяющая значительно увеличить ее гидрофильность для разных типов матриц. Полученные сорбенты на основе полистирол-дивинилбензола, модифицированные антибиотиком, являются многофункциональными и позволяют реализовывать режимы гидрофильной, обращенно-фазовой и хиральной хроматографии. Продемонстрированы параметры, с помощью которых можно оценить свойства аминофаз: гидрофильность по тесту Танака для прогнозирования удерживания соединений с преобладающим распределительным механизмом удерживания, а также содержание азота согласно элементному анализу для веществ с преимущественно адсорбционным механизмом. Показано, что с помощью зависимости факторов удерживания веществ кислотной природы от анионообменной селективности можно ориентировочно предсказывать удерживание данных веществ в отличных от теста Танака условиях, в свою очередь по предложенным параметрам — оценивать анионообменную селективность фаз. Таким образом, предложенные подходы и установленные

закономерности представляют несомненную научную новизну диссертационной работы.

### **Теоретическая и практическая значимость работы.**

Найдены способы получения новых высокоэффективных сорбентов для гидрофильной хроматографии с применением реакции Уги. Разработанные фазы характеризуются разными свойствами — ионообменной селективностью и гидрофильностью, что важно для выбора конкретных сорбентов с целью решения определенных аналитических задач. На полученных сорбентах показана возможность разделения с высокой селективностью соединений различных классов (сахара, азотистые основания и нуклеозиды, amino- и органические кислоты). Отмечено, что синтезированные гидрофильные сорбенты не уступают по хроматографическим свойствам коммерчески доступным колонкам, также в отдельных случаях превосходят их по селективности и эффективности и могут дополнить собой круг основных неподвижных фаз. Синтезированные сорбенты с лучшими характеристиками были применены для анализа реальных объектов: витаминных комплексов, напитков (кофе, вино, тонизирующий напиток, детоксикационный кисель), фармацевтических препаратов и почв методом гидрофильной хроматографии. Полученные результаты характеризуют высокую **практическую значимость** выполненной работы.

### **Структура диссертационной работы.**

Диссертационная работа состоит из введения и 9-ми глав: литературного обзора, экспериментальной части, семи глав обсуждения результатов, заключения и выводов, а также списка принятых сокращений и списка цитируемой литературы. Работа представлена на 188 страницах, содержит 95 рисунков и 37 таблиц.

Автором диссертации проведена большая работа по изучению литературы, о чем свидетельствует библиографический список, содержащий 167 наименований. В обзоре литературы систематизированы сведения о неподвижных фазах для гидрофильной хроматографии, отмечены

современные тенденции получения новых гидрофильных сорбентов и представлена информация о наиболее перспективных матрицах для синтеза неподвижных фаз. Особое внимание уделяется рассмотрению подходов для формирования гидрофильных функциональных слоев (использование клик-химии, в том числе многокомпонентной реакции Уги, применение полимеров и антибиотиков) и характеристики неподвижных фаз для гидрофильной хроматографии. Отмечено, что для описания свойств разрабатываемых фаз основными подходами являются применение теста Танака и полярных веществ нескольких разных классов в качестве модельных для дополнения сведений в разных хроматографических условиях и одновременной оценки практической значимости новых сорбентов. На основании обзора литературы сделаны выводы, подтверждающие актуальность выбранной темы исследования и способов решения поставленных задач.

Для реализации поставленных задач на первом этапе автору необходимо было осуществить выбор исходной партии сорбента аминопропилсиликагеля для дальнейшего модифицирования. На этом этапе выявлены параметры, позволяющие более точно оценивать свойства неподвижных фаз. Установлена корреляция содержания азота в разных партиях аминофаз, оцененного методом элементного анализа, и факторов удерживания веществ, для которых характерен адсорбционный механизм. С другой стороны, факторы удерживания аналитов с преимущественно распределительным механизмом лучше коррелируют с параметром гидрофильности, определенного по тесту Танака, а селективность по витаминам кислотной природы коррелирует с анионообменной селективностью сорбентов. Эти параметры были в дальнейшем использованы для характеристики сорбентов с новыми покрытиями.

На следующем этапе автором были исследованы возможности реакции Уги для создания функционального слоя новых фаз на основе 3-аминопропилсиликагеля. Изучены факторы, влияющие на выход реакции при модификации поверхности сорбента, такие как условия реакции Уги,

пространственное удаление функционального слоя от поверхности матрицы, природа изоцианида, карбонильного компонента и кислотного соединения. Проведен выбор оптимальных условий реакции. Автором установлено, что использование наиболее гидрофильного изоцианида (2-морфолиноэтилизотиоцианида) и карбонильного соединения (2-ацетилпиррола) в реакции Уги в случае формирования мономерного функционального слоя приводит к получению сорбентов с высокой разделяющей способностью и эффективностью до 60000 тт/м. Получена серия фаз по реакции Уги с использованием в качестве кислотного компонента реакции гидрофильных кислот, таких как аминокислоты и поликислоты - полимолочная кислота, полиакриловая кислота, сополимеры акриловой кислоты и ее натриевой соли. Сорбенты с большей гидрофильностью были получены путем увеличения числа карбоксильных групп в функциональном слое при использовании сополимера акриловой и малеиновой кислот. Установлены интересные факты, что улучшение разделяющей способности сорбентов с полимерами возможно за счет введения гидрофильных групп, что способствует увеличению селективности по полярным веществам, а также благодаря использованию полимеров с большими молекулярными массами, приводящему к увеличению эффективности. Отмечено, что при введении полимерной кислоты фазы показали предпосылки реализации обращенно-фазового режима разделения.

Следующий этап диссертационной работы посвящен получению сорбентов на основе различных матриц (на основе силикагеля, 3-аминопропилсиликагеля и сополимеров стирола и дивинилбензола), модифицированных антибиотиком эремомицином. Отмечено увеличение гидрофильности всех полученных сорбентов и факторов удерживания полярных веществ, что доказывает перспективность использования антибиотиков для гидрофилизации поверхности различных матриц. Однако, установлено уменьшение эффективности практически по всем классам рассматриваемых веществ для фаз с объемным эремомицином на основе силикагеля и полимерной матрицы. Диссертантом было найдено эффективное

решение этой проблемы: закрепление эремомицина с пространственным удалением групп и повышенная степень экранирования гидрофильной матрицы благодаря наличию спейсера 1,4-БДДГЭ. Это обеспечило сохранение эффективности.

В работе изучены возможности реализации различных режимов разделения с использованием сорбентов, модифицированных эремомицином. Наличие гидрофобной матрицы ПС-ДВБ позволяет реализовать дополнительный тип взаимодействий аналитов с такой архитектурой новых неподвижных фаз на ее основе, благодаря чему стало возможным разделение гидрофобных соединений в режиме ОФ ВЭЖХ. С другой стороны, закрепление хирального селектора в слое сорбента обеспечило его энантиоселективность. Автором показано на полученных фазах разделение энантиомеров аминокислот и 4-хлорфенилаланина с высокой селективностью.

Важным этапом работы является оценка основных параметров, характеризующих синтезированные фазы: гидрофильность согласно тесту Танака, эффективность при разделении соединений различных классов и стабильность фаз. Диссертантом проведено сравнение с коммерчески доступными аналогами, обладающими на сегодняшний день лучшей разделяющей способностью в отношении полярных веществ, для оценки преимуществ разработанных гидрофильных сорбентов автором.

На последнем этапе работы подтверждена применимость синтезированных фаз к анализу реальных объектов на примере определения углеводов, аминокислот и витаминов, азотистых оснований и нуклеозидов в препаратах и напитках (кофе, вино, тонизирующий напиток, кисель), а также аминокислот в почве.

**Достоверность результатов.** Достоверность полученных результатов обеспечивается использованием современных методов исследования, тщательной характеристикой свойств новых сорбентов, полученных диссертантом, с использованием теста Танака и путем исследования хроматографических параметров удерживания модельных смесей полярных

веществ различной природы, применением аттестованных стандартных образцов и согласованностью литературных и экспериментальных данных. Результаты диссертационного исследования опубликованы в международном (1 статья) и российских журналах (4 статей) и доложены на представительных всероссийских и международных научных конференциях (25 тезисов). Содержание автореферата и опубликованных трудов диссертанта в полном объеме отражают содержание диссертации.

По работе возник ряд вопросов:

1. При использовании аминокислот в качестве кислотного компонента в реакции Уги отмечено отсутствие ожидаемого увеличения гидрофильности по сравнению с матрицей. Как объяснить этот факт?
2. Предварительно автором установлено, что наиболее перспективным является использование 2-ацетилпиррола в качестве карбонильного соединения в реакции Уги. Чем обусловлен тогда выбор ацетона в качестве карбонильного компонента при синтезе серии фаз с аминокислотами?
3. Какова причина меньшей степени модификации поверхности сорбента с использованием сополимеров поликислот с солями по сравнению с применением непосредственно полимерной кислоты?
4. Какие еще использовали характеристики сорбента наряду с параметрами удерживания сахаров для оценки степени модификации сорбента?

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертационное исследование Чикуровой Натальи Юрьевны является цельной и завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему, связанную с приоритетными направлениями и программами развития отечественной фундаментальной и прикладной науки с использованием современных концепций и экспериментальных методологий и содержит решение важной задачи, состоящей в разработке новых подходов формирования функциональных слоев для создания новых фаз для гидрофильной хроматографии и изучении их свойств. По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, степени обоснованности положений и выводов диссертационная работа Чикуровой Натальи Юрьевны

полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.4.2 – «Аналитическая химия» (по химическим наукам), а также критериям, определенным Положением о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Чикурова Наталья Юрьевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2 – «Аналитическая химия».

Официальный оппонент:

Кандидат химических наук,  
доцент кафедры органической химии  
Института химии

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский Государственный Университет»

БЕССОНОВА Елена Андреевна

14.11.2023 г

Контактные данные:

Тел.: + \_\_\_\_\_; e-mail: \_\_\_\_\_

Специальность, по которой официальным оппонентом

защищена диссертация: 02.00.02 – Аналитическая химия

Адрес места работы: 198504, Россия, Санкт-Петербург, г.  
Петергоф, Университетский просп., д. 26, ФГБОУ ВО  
«Санкт-Петербургский Государственный Университет»  
Институт химии

Тел.: +7 921 364 58 36; e-mail: [e.bessonova@spbu.ru](mailto:e.bessonova@spbu.ru)

Подпись сотрудника

*Е.А. Бессонова*