

**Отзыв официального оппонента
на диссертационную работу
Федоровой Ирины Александровны
«ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ И СМЕШАННЫЕ СОРБЕНТЫ НА ОСНОВЕ
ЭРЕМОМИЦИНА ДЛЯ ХИРАЛЬНОЙ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ
ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ»,
представленную на соискание ученой степени
кандидата химических наук
по специальности 02.00.02 - Аналитическая химия**

Разделение оптических изомеров веществ является важной аналитической задачей в различных областях. Наибольшее распространение среди методов разделения энантиомеров хиральных соединений получил метод хиральной высокоэффективной жидкостной хроматографии. Диссертационная работа Федоровой И.А. посвящена синтезу сорбентов для ВЭЖХ с макроциклическим антибиотиком эремомицином в качестве хирального селектора, и получению на его основе новых смешанных хиральных сорбентов с бычьим сывороточным альбумином (БСА) и ванкомицином, изучению их свойств, закономерностей элюирования и разделения энантиомеров различных классов веществ. Отличительной особенностью коммерческих колонок для разделения энантиомеров является их узкая область применения и высокая стоимость, поэтому расширение возможностей энантиоразделения имеющихся сорбентов и разработка новых хиральных сорбентов является **актуальной задачей**. Большое внимание в работе уделено практическому применению синтезированных хиральных неподвижных фаз в области анализа фармацевтических субстанций и готовых лекарственных форм.

Диссертационная работа Федоровой И.А. изложена на 181 странице машинописного текста, содержит 56 рисунков, 37 таблиц. Состоит из введения, 3 глав обзора литературы, 1 главы экспериментальной части, 3 глав обсуждения результатов, общих выводов и списка цитируемой литературы (153 наименования).

В **1-2 главах** обзора литературы автор описывает использование макроциклического антибиотика эремомицина и белков (в частности бычьего сывороточного альбумина) в качестве хиральных селекторов в методах

высокоэффективной жидкостной хроматографии и капиллярного электрофореза для разделения энантиомеров аминокислот, производных аминокислот, карбоновых кислот и профенов. **Глава 3** посвящена использованию неподвижных фаз со смешанными хиральными селекторами, применение которых, как отмечено автором, в литературе освещено мало, особенно для метода ВЭЖХ. Тогда как, именно использование смешанных фаз может позволить расширить круг энантиоразделяемых веществ для одного типа сорбента. Литературный обзор написан грамотно и последовательно, на его основании автор показывает перспективность использования бинарных хиральных сорбентов в ВЭЖХ для разделения энантиомеров веществ и формулирует основные задачи исследования.

Глава 4 содержит описание используемых реактивов, хиральных селекторов, тестовых соединений, методик приготовления растворов и оборудования. Автор подробно описывает методики синтеза сорбентов с антибиотиками и БСА (силикагель, модифицированный эремомицином; эремомицином и БСА; эремомицином и ванкомицином; БСА; а также аминированный силикагель, модифицированный эремомицином и ванкомицином), а также модифицирование силикагеля наночастицами золота и антибиотиками. В этой же главе проведено изучение характеристик полученных сорбентов разнообразными физико-химическими методами (элементный анализ, спектрофотометрия, сканирующая электронная микроскопия, метод низкотемпературной адсорбции азота, рентгенофлуоресцентный анализ с полным внешним отражением, спектроскопия диффузного отражения), с помощью которых подтверждается модифицирование поверхности селекторами. На основании полученных данных, автором выдвигается предположение, что макроциклические антибиотики закреплены на поверхности силикагеля ковалентно, а бычий сывороточный альбумин в результате физической адсорбции.

Основные экспериментальные результаты исследования приведены в 5-7 главах. В **главе 5** автор описывает расширение энантиоселективных возможностей силикагеля, модифицированного эремомицином. **Главу 6** Федорова И.А. посвятила исследованию разделения энантиомеров на смешанных сорбентах на основе эремомицина, **главу 7** - альтернативному способу закрепления антибиотика на силикагеле через наночастицы золота.

На сорбенте, модифицированном эремомицином, проведено систематическое изучение удерживания и разделения энантиомеров бензилоксикарбонил-, бензоил-, трет-бутоксикарбонил- производных аминокислот в обращенно-фазовом режиме ВЭЖХ. Получено, что времена удерживания, разрешение пиков изомеров и селективность увеличиваются по мере усложнения структуры производного и аминокислоты. Предложены методики определения энантиомерной чистоты ряда лекарственных средств.

На сорбенте, модифицированном эремомицином и БСА, исследовано влияние состава подвижной фазы на параметры удерживания и разделения оптических изомеров бензилоксикарбонил-, бензоил-, трет-бутоксикарбонил- производных аминокислот, профенов и бензоина. По сравнению с сорбентом, модифицированным только эремомицином, при наличии БСА удается добиться разделения энантиомеров бензоина с высоким разрешением и оптических изомеров профенов даже в присутствии маркерных белков биологических жидкостей.

Для энантиомеров класса β -блокаторов и аминокислот выбраны оптимальные условия разделения с использованием сорбента силикагель/эремомицин-ванкомицин, показано, что за разделение β -блокаторов отвечает ванкомицин, аминокислот – эремомицин.

Научная новизна диссертации состоит в том, что в работе впервые синтезирован смешанный хиральный сорбент на основе силикагеля с двумя макроциклическими антибиотиками: эремомицином и ванкомицином. Проведено сравнение энантиоразделения на смешанном сорбенте и на сорбенте с ванкомицином. Получен хиральный сорбент, модифицированный эремомицином и бычьим сывороточным альбумином. Предложен способ закрепления эремомицина на силикагеле через спейсер с наночастицами золота. Все синтезированные сорбенты охарактеризованы физико-химическими методами, и исследованы на предмет энантиоселективности по отношению к различным классам соединений (аминокислот, β -блокаторов, α -фенилкарбоновых кислот и профенов в зависимости от типа сорбента) посредством изучения влияния состава элюента на удерживание и разрешение пиков оптических изомеров.

Практическая значимость диссертации определяется тем, что автор разработал методики определения энантиомерной чистоты ряда лекарственных препаратов на основе левалбутерола, пеметрекседа, N-ацетил-L-глутамината на сорбенте с эремомицином, расширил область применения данного сорбента для разделения α -фенилкарбоновых кислот и ряда производных аминокислот (БОК-, бензоил-, КБЗ-). Показана возможность разделения энантиомеров аминокислот и β -блокаторов на смешанном хиральном сорбенте с эремомицином и ванкомицином; энантиомеров аминокислот, профенов и бензоина на сорбенте с эремомицином и бычьим сывороточным альбумином. Продемонстрирована возможность применения сорбента, модифицированного эремомицином и БСА, для энантиоразделения аналитов в присутствии маркерных белков.

Автором проведен большой объем экспериментальных исследований. Важно, что Федорова И.А. детально проработала все этапы по созданию новых сорбентов, начиная от методики модифицирования силикагеля и характеристики полученных сорбентов разнообразными физико-химическими методами и заканчивая исследованием хроматографического поведения тестовых веществ в различных режимах хроматографии. Прделанная работа позволила выбрать лучшие условия разделения энантиомеров, в которых и решено несколько важных практических задач. В работе представлено сравнение энантиоразделения веществ на коммерческих и синтезированных автором сорбентах. Все предложенные методики определения энантиомерной чистоты веществ, применяемых в качестве фармацевтических субстанций и готовых лекарственных форм в большей части отвалидированы, полученные данные проанализированы и статистически обработаны. Достоверность полученных результатов и надежность выводов не вызывает сомнений.

К работе имеется несколько замечаний и вопросов:

- 1) По тексту работы встречаются неудачные выражения, например на стр. 69 «Этот же коллектив авторов в более поздней работе [113] более подробно исследовали....».
- 2) Возможность энантиоразделения соединений в присутствии белков, характерных для биологических жидкостей, без трудоемкой пробоподготовки очень полезна и интересна. Однако, выбор объекта (кетопрофен в моче), на мой взгляд, является не самым удачным, т.к. кетопрофен метаболизируется в печени и выводится преимущественно почками, главным образом в виде глюкуронового производного.
- 3) При описании хроматографического разделения пиков энантиомеров, автор в большей степени делает акцент на описание селективности, и не всегда упоминает об эффективности, тогда как, для удовлетворительного разделения важны оба фактора в совокупности, а именно разрешение пиков.
- 4) Автор упоминает о стабильности колонок, но не подтверждает данными.
- 5) Почему при сравнении двух колонок (с тейкопланином и эремомицином в качестве хиральных селекторов, привитых на неподвижную фазу) при определении энантиочистоты альбутерола автор выбрал условия отличные от прописанных в Американской фармакопее для данного соединения?

Данные замечания не имеют принципиального характера и не снижают положительной оценки работы в целом.

Материалы диссертации опубликованы в 12 печатных работах (в 5 статьях, 6 тезисах докладов и в 1 патенте). Содержание автореферата в полной мере соответствует тексту диссертации. По актуальности решаемых задач, научной новизне и практической значимости диссертация Федоровой И.А. является интересным, полноценным и законченным исследованием.

Диссертационная работа Федоровой И.А. «Индивидуальные и смешанные сорбенты на основе эремомицина для хиральной высокоэффективной жидкостной хроматографии» полностью соответствует требованиям пункта 9 Постановления Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание

ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия, а ее автор Федорова Ирина Александровна заслуживает присуждения степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Руководитель отдела
физико-химических методов анализа,
кандидат химических наук (02.00.02 – Аналитическая химия)

Лебедева Маргарита Владимировна

Общество с ограниченной ответственностью «ОЛФАРМ»
117105, г. Москва, ул. Нагатинская, 3А
Тел. +7 (499) 611-40-36 доб. 105, e-mail: m.lebedeva@olpharm.ru, <http://olpharm.ru>

Подпись Лебедевой М.В. заверяю.
Зам. генерального директора

Балабанова Жанна Владимировна

02.05.2017



В диссертационный совет Д 501.001.88.
при федеральном государственном бюджетном
образовательном учреждении высшего образования
«Московский государственный университет имени
М.В. Ломоносова»
от Лебедевой Маргариты Владимировны

Настоящим даю согласие выступить официальным оппонентом на защите диссертации Федоровой Ирины Александровны на тему: «Индивидуальные и смешанные сорбенты на основе эремомицина для хиральной высокоэффективной жидкостной хроматографии», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

О себе сообщаю следующие сведения:

1. Лебедева Маргарита Владимировна, гражданка РФ.
2. Кандидат химических наук (02.00.02 – Аналитическая химия), руководитель отдела физико-химических методов анализа.
3. Общество с ограниченной ответственностью «ОЛФАРМ».
4. Адрес места работы:
117105, г. Москва, ул. Нагатинская, 3А
Тел. +7 (499) 611-40-36 доб. 105
e-mail: m.lebedeva@olpharm.ru, <http://olpharm.ru>
5. Основные работы по профилю оппонируемой диссертации:

- *Лебедева М.В., Прохорова А.Ф., Шаповалова Е.Н., Шпигун О.А.* Электрофоретическое энантиоразделение профенов в водно-метанольных растворах с использованием эремомицина в качестве хирального селектора. // Вестн. Моск. ун-та Серия 2: Химия. 2013. Т. 54. № 5. С 247–251.

- *Lebedeva M.V., Bulgakova G.A., Prokhorova A.F., Shapovalova E.N., Chernobrovkin M.G., Shpigun O.A.* Azithromycin for Enantioseparation of Tetrahydrozoline in NACE. // Chromatographia. 2013. V. 76. № 7 – 8. P. 375–379.

- *Лебедева М.В., Прохорова А.Ф., Шаповалова Е.Н., Шпигун О.А., Староверов С.М., Кузнецов М.А.* Адсорбция эремомицина на стенках кварцевого и модифицированных капилляров при электрофоретическом разделении энантиомеров ароматических кислот. // Сорбц. хромат. процессы. 2011. Т. 11. № 5. С. 589–599.

- *Lebedeva M.V., Prokhorova A.F., Shapovalova E.N., Shpigun O.A.* Clarithromycin as a chiral selector for enantioseparation of basic compounds in nonaqueous capillary electrophoresis. // Electrophoresis. 2014. V. 35. № 19. P. 2759-2764.

- *Prokhorova A.F., Lebedeva M.V., Bulgakova G.A., Shapovalova E.N., Shpigun O.A.* Complexation of some chiral amines and amino alcohols with antibiotics in NACE. // 9th Balaton Symposium on High-Performance Separation Methods. Siofok, Hungary. 2013. P. 113.

Кандидат химических наук,
02.00.02 – Аналитическая химия,
руководитель отдела
физико-химических методов анализа

Подпись Лебедевой М.В. заверяю.
Зам. генерального директора



Лебедева М.В.

Балабанова Ж.В.