

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Маркина Алексея Викторовича «Развитие спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния света для определения лекарственных веществ в биологических жидкостях человека», представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.2. Аналитическая химия

Современная медицина движется по пути персонализации, где одним из ключевых инструментов повышения эффективности и безопасности терапии является терапевтический лекарственный мониторинг. Необходимость поддержания концентрации препаратов в рамках «терапевтического окна» критически важна для предотвращения побочных эффектов и минимизации рисков возникновения антибиотикорезистентности.

В качестве перспективного метода для определения лекарственных веществ в биожидкостях человека выступает спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния (ГКР), обладающая уникальным сочетанием высокой чувствительности, экспрессности и возможности реализации на портативном оборудовании.

Однако, несмотря на высокий интерес к данному методу, остаются вопросы, относящиеся к реализации спектроскопии ГКР при анализе объектов со сложным составом из-за неспецифической адсорбции мешающих компонентов пробы на ГКР-подложках. Также существует выраженный дефицит универсальных методик ГКР-анализа, пригодных для мониторинга целых классов структурно родственных лекарственных веществ при медикаментозной терапии.

Наконец, вопрос доступности метода ГКР напрямую связан со стоимостью расходных материалов. Изучение потенциала медных наноструктур как более дешевой альтернативы золоту и серебру, а также разработка композитных сорбентов, совмещающих функции твердофазной экстракции и усиления сигнала, является своевременным и востребованным направлением.

Таким образом, **актуальность** диссертации обусловлена необходимостью преодоления фундаментального разрыва между теоретическим потенциалом метода ГКР и практическими требованиями терапевтического лекарственного мониторинга. Работа направлена на развитие научно обоснованных подходов по улучшению селективности и точности ГКР-анализа в сложных биоматрицах, что имеет прямое значение для развития аналитической химии.

Основные результаты, определяющие **научную новизну** работы:

Получены фундаментальные закономерности формирования ГКР-сигнала путем проведения комплексного сравнительного изучения ГКР-спектров структурно родственных антибиотиков. Установлено, что формирование схожих интенсивных спектральных профилей определяется не только плазмонными свойствами подложки, но и химическим механизмом усиления, учитывающим электроноакцепторные свойства и КР-активность отдельных фрагментов молекул.

Предложены и теоретически обоснованы новые подходы к устранению влияния матричного эффекта, а именно способ маскирования эндогенных компонентов биожидкостей с помощью катионного полиэлектролита – полидиаллилдиметиламмоний хлорида (ПДДА), а также модификация ГКР-подложек молекулами циклодекстринов. Оба подхода препятствуют адсорбции эндогенных компонентных биожидкостей на ГКР-подложках за счет электростатического или стерического барьера.

Разработаны новые ГКР-активные сорбенты, позволяющие эффективно совмещать концентрирование аналита и регистрацию ГКР-спектров, что существенно повышает чувствительность определения. Более того, встраивание медных наночастиц в матрицу сорбента позволило увеличить их химическую стабильность.

Экспериментально и теоретически доказана конкурентоспособность медных ГКР-подложек по сравнению с подложками на основе благородных металлов в случае определения некоторых лекарственных веществ и при использовании подходящего возбуждающего излучения.

Практическая значимость диссертационной работы определяется тем, что автором разработана обширная научно-методическая база для определения лекарственных веществ в биожидкостях человека на основе ГКР.

Разработаны комбинированные протоколы, сочетающие ГКР-детектирование с простыми методами разделения и концентрирования, а также с предварительным концентрированием на новых композитных ГКР-активных сорбентах.

Впервые предложена методика поочередного определения трех аналитов при их совместном присутствии в моче за счет использования маскирования мешающих компонентов полиэлектролитом ПДДА.

В рамках изучения возможностей медных ГКР-подложек в анализе создан стабильный медный композит, а также сконструирована спектроэлектрохимическая ячейка, позволяющая проводить многократное ГКР-

детектирование антибиотиков в моче благодаря оперативной электрохимической регенерацией поверхности медного электрода.

Таким образом, разработан комплекс методик ГКР-определения лекарственных веществ различных классов в биожидкостях человека с использованием разработанных ГКР-подложек и различных подходов по увеличению селективности ГКР-анализа, в то время как использование концепции структурной родственности позволило значительно увеличить универсальность разработанных методик, а применение медных ГКР-подложек – доступность ГКР-анализа.

Стоит отметить, что предложенные методики и материалы отличаются простотой и ориентированы на использование во внелабораторном формате, поэтому могут быть интегрированы в работу биохимических лабораторий для проведения терапевтического лекарственного мониторинга и экспресс-диагностики непосредственно у постели больного (point-of-care testing).

Объем и структура диссертационной работы

Диссертационная работа Маркина А.В. изложена на 341 странице текста, содержит 163 рисунка и 18 таблиц и состоит из введения, шести глав, заключения, выводов и списка литературы. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

В *первой главе* приведен краткий обзор литературных данных, позволяющий объективно оценить ограничения и возможности спектроскопии ГКР при определении аналитов в объектах со сложным составом. Каждая последующая глава посвящена решению отдельных проблемных и перспективных направлений ГКР-анализа. Во *второй главе* проведено изучение спектров структурно родственных антибиотиков, на основании которого выявлены закономерности формирования схожих и интенсивных спектров с учетом степени структурной схожести заместителей в молекулах разных представителей антибиотиков и их заряда. В *третьей главе* продемонстрированы возможности комбинации ГКР с маскированием и некоторыми методами разделения и концентрирования для устранения влияния конкретных эндогенных компонентов биожидкостей на сигнал целевых аналитов. *Четвертая глава* посвящена разработке и апробации новых ГКР-активных сорбентов, способствующих как концентрированию лекарственных веществ, так и их отделению от компонентов биожидкостей. В *пятой главе* проведена оптимизация синтеза серебряных наночастиц, модифицированных β -циклодекстринами, и продемонстрировано благотворное влияние такой

модификации как на интенсивность сигнала лекарственных веществ, так и на селективность определения этих лекарств в биожидкостях человека. *Шестая глава* посвящена как теоретическому обоснованию усиливающих свойств медных ГКР-подложек, так и разработке и применению различных медных ГКР-подложек для определения антибиотиков в моче.

Достоверность полученных результатов подтверждается тщательностью проведения экспериментов, регистрацией всех необходимых контрольных зависимостей, использованием современного оборудования и непротиворечием результатов литературным фактам. Результаты каждой главы критически проанализированы, добавлены ограничения и возможные модификации предложенных в работе подходов. Надежность разработанных методик анализа проверена с использованием реальных образцов биожидкостей человека и с учетом варьирования содержания эндогенных компонентов.

Результаты исследований Маркина А.В. опубликованы в 24 статьях в изданиях из перечня ВАК и прошли достаточную апробацию на научных конференциях различного уровня. Работа выполнена на современном теоретическом и экспериментальном уровне, что подтверждается наличием публикаций соискателя в ведущих мировых журналах по аналитической химии. Также диссертационная работа Маркина А.В. выполнялась в рамках нескольких научных проектов, в которых он выступал в качестве руководителя.

По диссертации имеются некоторые **замечания и вопросы**:

1. Несколько усложняет восприятие работы, что полученные корреляции при выборе условий проведения экспериментов, метрологические характеристики разработанных методик определения лекарственных веществ в различных биологических жидкостях, изученные матричные эффекты от последних получены на разного классах приборах, отличающиеся особенностями регистрации аналитического сигнала, различных длинах волн лазерного излучения и т.д. При этом в работе не объяснено в каких случаях выбирается рамановский спектрометр высокого разрешения с определенным набором длин волн, а в каких портативное оборудование или прибор, снабженный оптиковолоконным датчиком.
2. В работе не хватает более тщательного исследования наночастиц золота (только в сравнении с медными подложками) в качестве ГКР-субстрата для определения структурно-родственных соединений на фоне влияния матричных компонентов биологических жидкостей. Автор объясняет, что выбор серебра в качестве материала ГКР-подложки обусловлен

меньшей стоимостью прекурсоров и достаточной химической стабильностью СНЧ (по сравнению с подложками на основе золота и меди, соответственно), но при этом во многом стабильность ГКР-субстратов определяется их способами получения, выбором оптимальных условий, возможностью стабилизации в твердых матрицах. Кроме того, выбор золотых наночастиц позволяет получать аналитический сигнал в ИК-области спектра при использовании лазера с длиной волны 785 нм, где изначально влияние матрицы биологических жидкостей ниже. Значимость потери в интенсивности генерируемого ГКР-спектра определяется во многом требованиями к чувствительности определения лекарственных веществ, на что автор неоднократно указывает при обсуждении полученных результатов.

3. Мне кажется, что нужно аккуратнее быть с высказываниями в рамках диссертации, ссылаясь на единичные работы, что «графен и оксид графена, которые в настоящее время являются популярными материалами для ТФЭ, не подходят для такой задачи из-за интенсивного собственного КР-сигнала» или то, что «в случае ЭХ методов изготовления результаты анализа литературы также показали, что чистота меди не является критическим фактором для медных ГКР-подложек», все зависит от условий получения материалов, регистрации спектров КР и ГКР, появляющиеся новые сведения это подтверждают.
4. Для оценки воспроизводимости, получаемых в рамках работы ГКР-субстратов, не хватает оценки доверительных интервалов при расчетах коэффициентов усиления ГКР. В таблице 3.6, в которой приведены результаты определения креатинина в образцах мочи, полученные с помощью прямого ГКР-анализа и контрольного метода (реакция Яффе), несколько избыточная точность при представлении концентраций.
5. В заключении не хватает вывода о том, насколько все-таки предложенные подходы к повышению селективности определения лекарственных средств в биологических жидкостях методом ГКР, достигнутые результаты по чувствительности, правильности и воспроизводимости, экспрессности, подготовке пробы к анализу делают его конкурентноспособным и превосходящим другие методы, используемые для решения аналогичных аналитических задач, на которые автор ссылается во введении при обосновании в рамках диссертации актуальности проблемы в целом.

Вместе с тем, сделанные замечания не снижают положительной оценки диссертации.

Таким образом, по актуальности выбранной темы исследования, научной новизне полученных результатов, практической значимости и уровню выполнения диссертационная работа Маркина Алексея Викторовича отвечает требованиям пунктов 9–11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора химических наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.2. Аналитическая химия.

Официальный оппонент

Профессор кафедры аналитической химии химического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», доктор химических наук (специальность 02.00.02 – аналитическая химия), доцент

Веселова Ирина Анатольевна



12.05.2026 г.

Контактные данные

Почтовый адрес: 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, ГСП-1, МГУ, химический факультет, кафедра аналитической химии
Тел.: +7 (495) 939-33-46; e-mail: irina.veselova@mail.ru

Я, Веселова Ирина Анатольевна, даю свое согласие на включение моих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета, их дальнейшую обработку и размещение в информационно-телекоммуникационной сети «Интернет».

