«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по научной работе
Федеральное государственное
бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Санкт-Петербургский
государственный университет»
_____ С.В. Микушев

13 марта 2026 г.

ОТЗЫВ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»
на диссертационную работу Маркина Алексея Викторовича на тему:
«Развитие спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния света для определения лекарственных веществ в биологических жидкостях человека»,
представленной на соискание ученой степени доктора химических наук
по специальности 1.4.2. Аналитическая химия

Актуальность темы исследования. Диссертация А.В. Маркина посвящена развитию системных подходов к экспрессному, высокочувствительному и селективному определению лекарственных веществ в биологических жидкостях методом спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) света.

Количественное определение лекарственных веществ и их метаболитов в биологическом материале остаётся важной задачей биофармацевтического анализа. На сегодняшний день актуальность выполнения биофармацевтического анализа обусловлена в том числе требованиями персонализированной медицины, где кроме традиционного подхода к лечению пациента требуется учитывать индивидуальные особенности его организма при фармакотерапии. Постоянно возрастающая потребность в биофармацевтическом анализе вызывает необходимость разработки эффективных инструментальных методов, обеспечивающих экспрессность, высокую чувствительность, селективность, точность и прецизионность.

Новые возможности для биофармацевтического анализа открывает метод спектроскопии ГКР, основанный на многократном увеличении интенсивности сигнала

комбинационного рассеяния света молекул за счёт использования специальных подложек. В ходе анализа применяются подложки специального состава для усиления аналитического сигнала целевых аналитов, адсорбированных на их поверхности. Метод спектроскопии ГКР обладает рядом преимуществ по сравнению с традиционными методами, применяемыми в биофармацевтическом анализе (например, хроматографические методы, капиллярный электрофорез, иммунохимические методы). Например, метод позволяет выполнять экспрессный анализ сложных матриц биологических жидкостей с применением портативного оборудования, что открывает возможность выполнения биофармацевтического анализа в клинических условиях.

Однако, широкое применение метода спектроскопии ГКР в практике биофармацевтического анализа на сегодняшний день ограниченно. Это ограничение связано с низкой селективностью и недостаточной точностью метода. В первом случае наблюдается усиление аналитического сигнала любых молекул, находящихся вблизи поверхности подложки. Это приводит к затруднению или даже невозможности количественного определения целевых аналитов, которые слабее взаимодействуют с подложкой по сравнению с матричными компонентами проб. При этом такие факторы, как использование модельных объектов анализа на стадии калибровки и отсутствие учёта вариативности состава биологических жидкостей, снижают точность анализа. Поэтому актуальна разработка новых подходов к эффективному биофармацевтическому анализу методом спектроскопии ГКР.

Общая характеристика работы. Диссертационная работа А.В. Маркина выполнена на кафедре аналитической химии и химической экологии в институте химии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского». Диссертация включает введение, 6 глав, заключение, выводы и список цитируемой литературы. Диссертация изложена на 341 стр., содержит 163 рисунка и 18 таблиц. Список цитируемой литературы включает 341 источник.

Диссертация представляет собой логично сформатированное, завершенное научное исследование, посвященное научному обоснованию и развитию системных подходов к высокочувствительному и селективному определению лекарственных веществ в биологических жидкостях методом спектроскопии ГКР. Диссертационная работа и автореферат оформлены в соответствии с требованиями, предъявляемыми к рукописям диссертационных работ и авторефератов. Автореферат соответствует основным положениям диссертации.

Во введении обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цель и задачи исследования, изложены новизна, практическая значимость, основные результаты, представленные к защите.

В первой главе представлены возможности и ограничения развиваемого метода при определении лекарственных веществ в биожидкостях человека. На основании критического анализа литературных данных выявлены основные ограничения метода спектроскопии ГКР при выполнении биофармацевтического анализа: недостаточная селективность и точность. Соискатель делает вывод, что необходимо учитывать и по возможности устранять возникающие конкурентные взаимодействия за активные центры на поверхности подложек при определении аналитов в биологических жидкостях. В свою очередь, использование модельных объектов анализа на стадии калибровки и отсутствие учёта вариативности состава биологических жидкостей, снижают точность анализа. При этом, делается вывод, что прямое детектирование аналитов является наиболее перспективным с точки зрения дальнейшего развития метода ГКР.

Во второй главе представлены результаты поиска и изучения условий, позволяющих создавать способы многокомпонентного биофармацевтического анализа методом спектроскопии ГКР. Такая возможность показана и обоснована на примерах высокочувствительного и селективного определения антибактериальных лекарственный веществ трёх классов (сульфаниламидов, фторхинолонов и цефалоспоринов) в биологических жидкостях. Выявлено, что регулирование кислотности и ионной силы раствора пробы, анализ электронной структуры и учёт структурной родственности изучаемых веществ позволяют повысить чувствительность, селективность и универсальность анализа.

В третьей главе приведены результаты изучения возможности маскирования, разделения и концентрирования антибактериальных лекарственный веществ для их последующего количественного селективного определения в биологических жидкостях методом спектроскопии ГКР. Представлен новый способ маскирования компонентов биологических жидкостей при спектральном анализе с помощью катионного полиэлектролита – полидиаллилдиметиламмония хлорида, маскирующее действие которого обусловлено его комплексообразованием с мешающими компонентами или предотвращением их адсорбции на подложке. Предложены комбинированные подходы, основанные на сочетании возможностей сорбционных, экстракционных и хроматографических методов с методом спектроскопии ГКР.

В четвертой главе внимание уделено применению многофункциональных подложек, состоящих из сорбентов со встроенными ГКР-активными элементами (ГКР-активные сорбенты), для выполнения биофармацевтического анализа методом спектроскопии ГКР. Представлены способы синтеза новых ГКР-активных сорбентов на основе различных неорганических матриц (силикагель, оксид алюминия и карбонат кальция) со встроенными серебряными наночастицами, изучены их сорбционные и усиливающие свойства. Показано, что использование таких ГКР-активных сорбентов в анализе позволило: увеличить чувствительность анализа за счёт концентрирования молекул аналита; улучшить аффинность к целевому аналиту и селективность анализа за счёт подбора материала сорбента и/или модификации его поверхности молекулами полиэлектролитов; существенно сократить время анализа благодаря исключению этапа элюирования и проведению регистрации спектров непосредственно с ГКР-активного сорбента или после растворения его матрицы.

Пятая глава посвящена изучению возможности применения серебряных наночастиц, модифицированных циклодекстринами, для ГКР-определения лекарственных веществ в биожидкостях человека. В этом случае структура циклодекстринов позволяет дополнительно управлять селективностью за счёт образования комплексов включения («гость–хозяин»). Показано, что модифицирование подложек молекулами циклодекстрина усиливает взаимодействие подложки с электронейтральными слабополярными частями молекул аналитов (или целыми молекулами) и ингибирует взаимодействие с полярными заряженными молекулами мешающих компонентов. Этот эффект уменьшает конкуренцию за ГКР-активные центры, что позволило впервые разработать способы определения антибактериальных лекарственный веществ в биологических жидкостях без применения методов разделения и концентрирования.

В шестой главе представлено теоретическое изучение и варианты использования в ГКР-анализе медных подложек. Результаты, представленные в данной главе, демонстрируют, что при правильном выборе длины волны возбуждения и использовании разработанных в работе подходов по увеличению химической стабильности медных подложек, данные подложки являются перспективной и доступной альтернативой подложкам на основе серебра и золота.

В заключении анализируется соотношение полученных результатов с ранее сформулированными задачами, а также обозначены перспективы дальнейших исследований.

Результаты работы изложены в 24 статьях в журналах, рекомендованных ВАК для размещения материалов диссертаций. Вышеизложенное позволяет подтвердить, что основные результаты диссертации опубликованы.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Установлено, что регулирование некоторых характеристик состава биологической жидкости (кислотность и ионная сила) в сочетании с анализом электронной структуры и учётом структурной родственности аналитов позволяют повысить чувствительность и селективность определения лекарственных веществ в биологических жидкостях методом спектроскопии ГКР.

Предложен и обоснован новый подход к увеличению селективности количественного определения антибактериальных лекарственный веществ в биологических жидкостях, основанный на маскировании эндогенных компонентов пробы с помощью катионного полиэлектролита за счёт комплексообразования примесных компонентов или предотвращением их адсорбции на подложке.

Разработаны комбинированные способы, основанные на сочетании возможностей сорбционных, экстракционных и хроматографических методов с методом спектроскопии ГКР, обеспечивающие снижение пределов обнаружения и повышение селективности и точности биофармацевтического анализа.

Предложены и изучены новые ГКР-активные сорбенты для осуществления концентрирования аналитов на матрицах сорбентов различной природы и регистрации спектров непосредственно с ГКР-активного сорбента или после растворения матрицы сорбента. Впервые реализован подход, основанный на растворении матрицы сорбента для увеличения чувствительности анализа за счёт высвобождения серебряных наночастиц и аналитов.

С целью расширения аналитических возможностей метода спектроскопии ГКР изучена возможность применения подложек на основе наночастиц серебра, покрытых циклодекстринами, и медных наночастиц.

Установлено значительное улучшение селективности и чувствительности определения антибактериальных лекарственный веществ в биологических жидкостях при модификации поверхности наночастиц серебра с помощью циклодекстрина. Такой эффект достигнут благодаря способности циклодекстрина к усилению взаимодействия с электронейтральными слабополярными частями молекул лекарственных веществ (или

целыми молекулами) и ингибированию взаимодействия с полярными заряженными молекулами эндогенных компонентов матрицы пробы.

Разработаны подходы, позволяющие получить стабильные медные подложки, для которых способность усиливать спектры комбинационного рассеяния при выполнении биофармацевтического анализа методом спектроскопии ГКР сохраняется продолжительное время.

Теоретическая и практическая значимость

Разработан комплекс общих подходов для повышения селективности и чувствительности при определении лекарственных веществ в биологических жидкостях методом спектроскопии ГКР.

Выполнено сопоставление спектров нескольких классов антибактериальных лекарственный веществ друг с другом и осуществлен анализ сходств и различий спектральных профилей. Показана необходимость изучения ГКР-сигнала в целом и спектральных профилей в частности с использованием химического механизма усиления сигнала комбинационного рассеяния света, т.е. обязательного учёта свойств именно определяемых молекул, а не только плазмонных свойств подложки. Выявлено, что ионизация молекул аналитов в зависимости от кислотности биологической жидкости оказывает ключевое влияние на селективность ГКР-анализа.

Для ГКР-анализа биологических жидкостей предложены новые подложки на основе ГКР-активных сорбентов, наночастиц серебра модифицированных циклодекстрином и наночастиц меди. С использованием новых подложек и подходов по увеличению селективности (маскирование и разделение/концентрирование) разработан комплекс эффективных способов определения лекарственных веществ (сульфаниламидов, фторхинолонов, цефалоспоринов и метотрексата) в разных биологических жидкостях (моча, плазма крови, слюна).

Разработаны простые и воспроизводимые методики синтеза ГКР-активных сорбентов на основе силикагеля, оксида/гидроксида алюминия и карбоната кальция. Применение таких сорбентов в биофармацевтическом анализе позволило увеличить чувствительность анализа за счёт концентрирования молекул аналита, улучшить селективность за счёт сродства аналита к сорбенту и повысить химическую стабильность сорбционного материала, сократить время анализа благодаря исключению этапа элюирования.

Предложены стабильные медные подложки, обеспечивающие удовлетворительную чувствительность спектрального анализа, сопоставимую с таковым для подложек на основе серебряных и золотых наночастиц.

Разработана электрохимическая ячейка для проведения спектроэлектрохимического анализа, позволяющая получать и регенерировать ГКР-активную поверхность медного электрода электрохимическими методами и проводить многократное детектирование антибактериальных лекарственный веществ в моче при определенном потенциале поляризации медного электрода.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений базируется на применении современных инструментальных методов исследований. Полученные зависимости проверены на адекватность протестированными пакетами программ по математико-статистической обработке данных. Все научные положения, выводы и рекомендации, изложенные в диссертации, обоснованы теоретически и подтверждены экспериментальными исследованиями, соответствующей статистической их проработкой, при этом они не противоречат результатам исследований, опубликованных в научной литературе. Основные положения, выводы и рекомендации апробированы и одобрены при выступлениях диссертанта на научных конференциях. Общие выводы, приведенные в заключении, отражают основные результаты исследований.

Высокий научный уровень диссертационной работы косвенно подтверждается показателями цитирования основных публикаций по теме исследования. Согласно базе данных Scopus индекс Хирша автора – 22. Общее число цитирований по заявленной работе – более 900.

Рекомендации по использованию результатов работы. Результаты работы представляют научный и практический интерес для развития спектральных методов и решения актуальных задач биофармацевтического анализа. Исследования А.В. Маркина в области спектроскопии ГКР и её применения в биофармацевтическом анализе являются пионерскими в России. Разработанные способы определения антибактериальных лекарственный веществ в биологических жидкостях могут быть использованы для экспрессного и надежного клинического анализа в практике персонализированной медицины.

По диссертационной работе имеются ряд вопросов и замечаний:

1. Диссертация и автореферат включают огромное количество условных сокращений для простых названий (например, СТЗ – сульфатиазол), что существенно усложняет прочтение материалов.

2. Как рассчитывали пределы обнаружения и определения? Например, в **Табл. 3.2.** (Метрологические характеристики методики определения лекарственного вещества в моче) пределы обнаружения и определения отличаются на порядок или одного порядка. Согласно ГОСТ Р 52361-2018 (Контроль объекта аналитический) предел определения – наименьшее содержание аналита, которое может быть количественно определено с помощью данной методики анализа вещества или материала объекта аналитического контроля с установленными значениями характеристик погрешности или неопределенности. В диссертации характеристики погрешности или неопределенности не представлены.
3. В работе представлен новый способ маскирования компонентов биологических жидкостей при спектральном анализе с помощью катионного полиэлектролита – полидиаллилдиметиламмония хлорида. Известно, что это соединение применяется как флокулянт. При введении полиэлектролита в пробу слюны, матрица которой содержит высокомолекулярные гликопротеины, возможно выделение последних. При анализе слюны, как правило, устраняют мешающее влияние протеинов, которые могут быть связаны с антибактериальными лекарственными веществами. Как устранялось в этом случае мешающее влияние протеинов? Какие именно вещества маскировали в присутствии полиэлектролита за счёт реакций комплексообразования?
4. В работе изучена возможность применения разных подложек на основе ГКР-активных сорбентов, наночастиц серебра модифицированных циклодекстрином и наночастиц меди для спектрального определения разных классов аналитов в разных матрицах. Какие критерии выбора материала подложки для решения конкретной аналитической задачи (с ориентиром на природу аналита и состав матрицы пробы)?
5. Какие степени извлечения достигнуты в способах экстракционного и сорбционного выделения целевых аналитов и как учитывались полученные значения при построении градуировочных зависимостей и выполнении анализа реальных объектов?
6. Какие требования предъявляются к экстрагентам при совмещении жидкостной экстракции с методом спектроскопии ГКР? Какие экстрагенты могут применяться для выполнения спектрального анализа?

Отмеченные недостатки и замечания не оказывают существенного влияния на основные теоретические и практические результаты диссертации. Автором диссертации проведены обширные исследования на высоком научном уровне.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа «Развитие спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния света для определения лекарственных веществ в биологических жидкостях человека» Маркина Алексея Викторовича полностью соответствует требованиям п.п. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.2. Аналитическая химия.

Отзыв подготовлен профессором кафедры аналитической химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», доктором химических наук, профессором РАН Булатовым Андреем Васильевичем.

Отзыв рассмотрен и одобрен на заседании кафедры аналитической химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» (протокол № 43/6/1-02-3 от «17» марта 2026 года).

Заведующий кафедрой аналитической химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»,
доктор химических наук,
профессор Ермаков Сергей Сергеевич

Профессор кафедры аналитической химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»,
доктор химических наук,
профессор РАН Булатов Андрей Васильевич

Подписи заверяю: Ермакова С.С., Булатова А.В

И.о. начальника
отдела кадров № 3
И.И. Константинова

Сведения о ведущей организации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»
Адрес: 199034, Санкт-Петербург, Университетская набережная, д. 7-9.
Телефон: (812) 328-97-01, e-mail: spbu@spbu.ru