

Соискатель: МЯСНИКОВА ДИНА АНДРЕЕВНА

Тема диссертационной работы: ПОЛУЧЕНИЕ, СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ПЛЕНОК {ЦЕЛЛЮЛОЗА–ИОННАЯ ЖИДКОСТЬ}

Шифр и наименование научной специальности и отрасли науки, по которым выполнена диссертация: 02.00.02 – АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ, ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

На заседании 26 МАРТА 2015 ГОДА ДИССЕРТАЦИОННЫЙ СОВЕТ Д 002.109.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Института геохимии и аналитической химии им. В.И.Вернадского Российской академии наук (ГЕОХИ РАН) **ЕДИНОГЛАСНО ПРИНЯЛ РЕШЕНИЕ ПРИСУДИТЬ** МЯСНИКОВОЙ ДИНЕ АНДРЕЕВНЕ УЧЕ-НУЮ СТЕПЕНЬ **КАНДИДАТА ХИМИЧЕСКИХ НАУК** ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ.

На заседании из **30** человек, входящих в состав диссертационного совета, присутство-вали **21** человек, из них **16** докторов наук по специальности аналитическая химия, в том числе **5** докторов, обеспечивающих химические науки. Результаты голосования: за - **21**, против - **нет**, недействительных бюллетеней – **нет**.

1. Колотов Владимир Пантелеймонович (заместитель председателя)
2. Спиваков Борис Яковлевич (заместитель председателя)
3. Захарченко Елена Александровна (ученый секретарь)
4. Баранов Виктор Иванович
5. Большов Михаил Александрович
6. Волынский Анатолий Борисович
7. Грибов Лев Александрович
8. Дедков Юрий Маркович
9. Дементьев Василий Александрович
10. Долгоносов Анатолий Михайлович
11. Зуев Борис Константинович
12. Калмыков Степан Николаевич
13. Кубракова Ирина Витальевна
14. Марютина Татьяна Анатольевна
15. Мясоедова Галина Владимировна
16. Новосадов Борис Константинович
17. Романовская Галина Ивановна
18. Севастьянов Вячеслав Сергеевич
19. Федотов Петр Сергеевич
20. Филиппов Михаил Николаевич
21. Хамизов Руслан Хажсетович

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.109.01

на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук по диссертации Д.А. Мясниковой на соискание ученой степени кандидата химических наук

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 26.03.2015 № 5

О присуждении Мясниковой Дине Андреевне, гражданке России, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация ПОЛУЧЕНИЕ, СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ПЛЕНОК {ЦЕЛЛЮЛОЗА–ИОННАЯ ЖИДКОСТЬ} по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия принята к защите 23 января 2015 года протокол № 3 диссертационным советом Д.002.109.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук, 119991, ГСП-1, Москва, В-334, ул. Косыгина, 19. Приказ о создании совета № 75/нк от 15.02.2013.

Соискатель *Мясникова Дина Андреевна*, 1989 года рождения, в 2011 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова». В 2011–2014 году освоила программу подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

Диссертация *выполнена* в лаборатории кинетических методов анализа кафедры аналитической химии химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ имени М.В. Ломоносова).

Научный руководитель – доктор химических наук, профессор Шеховцова Татьяна Николаевна является заведующей лабораторией кинетических методов анализа кафедры аналитической химии химического факультета в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ имени М.В. Ломоносова).

Официальные оппоненты:

БАБКИНА Софья Сауловна - доктор химических наук, профессор, заведующая кафедрой общей и аналитической химии им. Н.Л.Глинки Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Московский государственный машиностроительный университет»;

ЭПШТЕЙН Наталья Борисовна – доктор фармацевтических наук, доцент, заведующая кафедрой фармацевтической и радиофармацевтической химии Обнинского института атомной энергетики – филиала Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ».

дали **положительные отзывы** на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского», г. Саратов, в своем **положительном заключении**, подписанном Русановой Татьяной Юрьевной, доктором химических наук, доцентом, заведующей кафедрой аналитической химии и химической экологии и Штыковым Сергеем Николаевичем, доктором химических наук, профессором кафедры аналитической химии и химической экологии, указала, что диссертационная работа, посвященная созданию и изучению целлюлозных пленок с иммобилизованными реагентами для определения органических веществ, является своевременной и актуальной. В работе показана принципиальная возможность определения органических соединений оптическими сенсорами на основе целлюлозных пленок, полученных из растворов с ионными жидкостями, в частности разработаны чувствительные, селективные и экспрессные методики определения артемизинина в противомаларийных препаратах. Полученные соискателем результаты будут полезны для научных и отраслевых учреждений, связанных с разработкой и применением различных типов сенсоров в анализе.

Соискатель имеет 12 опубликованных работы, из них 12 по теме диссертации, в том числе 2 статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

Myasnikova, D.A. Immobilization of plant peroxidases in cellulose–ionic liquid films. / *S.V. Muginova, D.A. Myasnikova, A.E. Poliakov, T.N. Shekhovtsova*// Mendel. Comm. – 2013. – V. 23. – P.74–75. – ISSN 2157-7064.

Мясникова, Д.А. Влияние природы гидрофильной ионной жидкости на каталитическую активность пероксидаз хрена и сои. / *Д.А. Мясникова, А.Е. Поляков, О.Е. Вашкинская, С.В. Мугинова, Т.Н. Шеховцова* // Вест. Моск. Ун-та. Серия 2. Химия. – 2014. – № 2(55).2014 – С. 126–135.

В работах представлены результаты исследований по разработке и оптимизации методики получения пленок состава {[BMIm][Cl]-целлюлоза-пероксидаза}, изучения их оптических свойств, субстратной специфичности и стабильности при хранении; изучения влияния [BMIm][AcO] в смеси с водой и фосфатным буферным раствором в различных соотношениях на каталитическую активность пероксидаз хрена и сои в катализируемой ими реакции окисления гваякола пероксидом водорода; сравнения действия этой ионной жидкости на указанные ферменты с действием ряда других молекулярных органических растворителей и ионных жидкостей, а также объяснение наблюдаемого эффекта.

На диссертацию и автореферат поступило **15** отзывов. Все отзывы положительные.

Положительных отзывов без замечаний – **4**.

1. Заместитель директора по научной работе института биохимии имени А.Н. Баха, доктор химических наук, профессор **Дзантиев Б.Б.**
2. Профессор кафедры аналитической химии ФГБОУ ВПО Липецкий государственный технический университет доктор химических наук, профессор **Ермолаева Т.Н.**
3. Профессор кафедры общей и неорганической химии ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет доктор химических наук **Горячева И.Ю.** и доцент той же кафедры, канд. хим. наук **Бурмистрова Н.А.**
4. Заведующая кафедрой химии ФГБОУ ВПО «Орловский государственный университет», профессор, доктор химических наук **Оскотская Э.Р.** и доцент той же кафедры, кандидат химических наук **Грибанов Е.Н.**

Положительных отзывов с замечаниями - **11**

1. Директор Института экологических проблем севера УрО РАН, доктор химических наук, профессор **Боголицын К.Г.:**
 - При использовании природных биополимеров в качестве основного компонента при получении материалов особое значение имеет характеристика их функциональных, полимолекулярных и структурно-морфологических особенностей. Отсутствие этих данных в автореферате ставит под сомнение приоритетность выбора МКЦ при получении целлюлозных пленок по сравнению с нативными и техническими целлюлозами.
2. Профессор кафедры неорганической и аналитической химии ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет» доктор хим. наук **Александрова Э.А.** и доцент, канд.хим.наук **Гайдукова Н.Г.:**
 - При изложении практической ценности работы желательно дать экономическую оценку предлагаемых новых индикаторных систем и методик в сравнении с аналитическими методиками, рекомендованными и разрешёнными в практическом здравоохранении;
 - В работе много сокращений (аббревиатур), что затрудняет чтение и быстрое восприятие текста;

- в автореферате допущена опечатка на с.17: рис.4 должен идти под номером 5.
3. Заведующий кафедрой аналитической химии ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет доктор химических наук, профессор **Селеменев В.Ф.** и канд.хим.наук, доцент **Зяблов А.Н.**
- сколько измерений может быть проведено с использованием данных пленок?
 - возможно ли применение данных пленок с другими типами сенсоров?
4. Доцент кафедры химии ФГБОУ ВПО «Сургутский госуниверситет» канд.хим.наук **Петрова Ю.Ю.**
- незначительное замечание касается уточнения сравнения чувствительности ПС и ПХ при использовании ФБР (с.14): «... соевый фермент более чувствителен к действию ИЖ, чем ПХ, поскольку величина К для ПС в 2 (а не в 7.5!) раз меньше таковой для ПХ».
5. Заведующая кафедрой физики и химии ФГБОУ ВПО «Уральский гос. экономический университет», доктор химических наук, профессор **Стожко Н.Ю.**
- Не вполне понятно увеличение прозрачности целлюлозной пленки, полученной при изменении температуры растворения от 60 до 66 °С и использовании в качестве промывной жидкости ацетонитрила, в то время как изменение температуры от 50 до 60°С не вызывает столь резкого скачка в показаниях прозрачности.
 - Стр.17 рис.4 наблюдается несоответствие маркеров на рисунке и в подписи к нему для пленки {целлюлоза –ИЖ}.
6. Доцент кафедры аналитической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава РФ, канд.хим.наук **Дмитриев А.Б.**
- Для практического применения разработанных методик желательнее было бы иметь сведения об устойчивости используемых реагентов и более широкий перечень возможных мешающих веществ.
7. Заведующий кафедрой аналитической химии ФГБОУ ВПО Кубанский государственный университет доктор химических наук, профессор **Темердашев З.А.** и доцент той же кафедры, канд. хим. наук **Починок Т.Б.**
- В качестве небольшого замечания можно указать на весьма ограниченное количество иллюстративного материала, представленного в автореферате, которое позволило бы более наглядно представить процесс оптимизации условий получения полимерных материалов.
8. Заведующая кафедрой аналитической химии Института естественных наук Уральского Федерального университета имени первого президента России Б.Н. Ельцина, канд. химических наук, доцент **Неудачина Л.К.**

- В тексте автореферата отсутствует характеристика личного вклада автора в выполнение работы.
9. Заведующий кафедрой аналитической химии ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет доктор химических наук, профессор **Евтюгин Г.А.** и профессор той же кафедры, доктор химических наук **Будников Г.К.**
- К числу несущественных замечаний можно отнести отсутствие сведений о возможном влиянии на результаты определения артемизинина вспомогательных компонентов лекарственных форм;
 - Не понятно, в чем преимущества гетерогенных систем измерения сигнала, если многократного использования пероксидазы в пленке достичь не удалось.
10. Заведующий кафедрой аналитической химии Института химии ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, доктор химических наук, профессор **Москвин Л.Н.** и профессор той же кафедры, доктор химических наук **Поваров В.Г.**
- Какова воспроизводимость основных функциональных характеристик полученных материалов?
11. Заведующая кафедрой аналитической химии ФГБОУ ВПО Южного федерального университета, доктор химических наук, профессор **Черновьянц М.С.**
- С.17 на рис.4 невозможно различить кривые сорбционной кинетики индигокармина пленками {целлюлоза-[ВМIm][Cl]} и {целлюлоза-[ВМIm][AcO]} (одинаковые обозначения точек);
 - С.21. если методика определения АМ в растворе отличается более низким пределом обнаружения и значительно более высокой воспроизводимостью результатов анализа, тогда целесообразно ли использовать предложенные автором пленки?

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их научными и практическими достижениями в области инструментальных, кинетических, биохимических методов химического анализа, а также в области анализа фармацевтических препаратов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- предложены методики получения целлюлозных пленок с использованием двух гидрофильных ИЖ, изучены их механические и оптические свойства, сопоставлены и выявлены преимущества пленок каждого типа;
- выявлено, что молекулярные органические растворители и растворы различной кислотности в разной степени оказывают влияние на механические характеристики пленок, полученных из ацетатной ИЖ;

- предложены методики получения целлюлозных пленок с иммобилизованными ферментами (пероксидазами хрена и сои) и красителями (индигокармином и пиронином Б);
- выявлена способность пленок, полученных с использованием ацетатной ИЖ, сорбировать пищевые красители (индигокармин, куркумин, кармин и β -каротин);
- предложены две флуоресцентные системы для определения эндопероксида артемизинина (АМ) по явлению тушения им флуоресценции красителя пиронина Б с использованием в качестве катализаторов микропероксидазы-11 и ее синтетического аналога комплекса {Mn(II)–ДДС};
- на основании разработанных методик созданы целлюлозные пленки с иммобилизованными компонентами реакции {ПБ–Mn(II)–ДДС}, которые апробированы при анализе БАД «BestArtemisinin» и «Artemisia annua intense».

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- получен и охарактеризован новый целлюлозный материал в виде пленки {целлюлоза–[BMIm][AcO]}, который по прочности, эластичности, устойчивости к влиянию водных растворов различной кислотности, действию полярных органических растворителей, способности к сорбции изученных красителей превосходит известный из литературы прототип, полученный с помощью хлоридной ионной жидкости. Выявлено ингибирующее действие по неконкурентному механизму ацетатной ионной жидкости на каталитическую активность нативных пероксидаз хрена и сои в реакции окисления гваякола пероксидом водорода; установлено влияние [BMIm][AcO] на оптические свойства индигокармина и пиронина Б;
- созданы новые целлюлозные материалы на основе пленок {целлюлоза–[BMIm][Cl]} с включенными в них растительными пероксидазами, сохраняющие свойства нативных биокатализаторов и стабильные при хранении при комнатной температуре. На примере комплексов европия(III) с тетрациклином показано, что целлюлозные пленки, приготовленные с использованием хлоридной ионной жидкости, служат удобной матрицей для иммобилизации флуоресцентных зондов, что открывает широкие возможности их дальнейшего применения для определения билирубина и других органических биологически активных соединений. Показана возможность измерения флуоресцентного аналитического сигнала непосредственно с целлюлозной пленки;
- предложены новые индикаторные системы для чувствительного, селективного и экспрессного определения артемизинина в водных растворах и фармацевтических препаратах с использованием реакции окисления пиронина Б, катализируемой микропероксидазой-11 и комплексом {Mn(II)–додецилсульфат натрия}. Показано, что пленки {целлюлоза–[BMIm][Cl]} с включенными в них пиронином Б и синтетическим катализатором {Mn(II)–додецилсульфат натрия} могут быть успешно применены в качестве чувствительного элемента флуоресцентного химического сенсора для определения артемизинина в фармацевтических препаратах.

Значение полученных соискателем результатов исследования для **практики** подтверждается тем, что:

- получены, охарактеризованы и апробированы в различных индикаторных системах оптически прозрачные целлюлозные пленки двух видов: {целлюлоза–[BMIm][AcO]} и {целлюлоза–[BMIm][Cl]} в отсутствие и в присутствии иммобилизованных в них аналитических реагентов. Показаны перспективы применения пленок {целлюлоза–[BMIm][AcO]} в качестве сорбентов синтетических красителей (индигокармина и пиронина Б), а также природных пищевых красителей кармина, куркумина, β-каротина;
- установлено, что включенные в пленки {целлюлоза–[BMIm][Cl]} растительные пероксидазы сохраняют каталитическую активность на уровне не ниже 60% от их активности в день приготовления в течение 1 месяца. Пленки каталитически активны в реакциях превращения тех же субстратов, что и нативные биокатализаторы и могут быть использованы повторно, по крайней мере, еще раз. Установленные закономерности растворения гемсодержащих белков в растворе {целлюлоза–[BMIm][Cl]}, а также данные о механизме действия ацетатной ионной жидкости на каталитическую активность позволяют на этапе иммобилизации целенаправленно выбирать биокатализатор;
- разработаны флуориметрические методики чувствительного, селективного и экспрессного определения артемизинина по реакции его взаимодействия с пиронином Б в присутствии микропероксидазы-11 и комплекса {Mn(II)–додецилсульфат натрия}, позволяющие определять артемизинин в диапазонах его концентраций 0.1 – 7 и 0.2 – 8 мкМ соответственно. На основе индикаторной системы с пиронином Б и синтетическим катализатором, включенной в состав пленки {целлюлоза–[BMIm][Cl]}, разработана методика определения 0.25 – 8 мкМ артемизинина. Перечисленные методики успешно апробированы для определения артемизинина в противомалярийных фармацевтических препаратах «BestArtemisinin» и «Artemisia annua intense»;

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- экспериментальные результаты получены на сертифицированном оборудовании: спектрофотометре «Shimadzu UV mini-1240A» (Япония), спектрофлуориметре «Shimadzu RF 5301» (Япония) (толщины входной и выходной щелей – 5 нм; микрокювета объемом 600 мкл) и спектрофлуориметре «Agilent Technologies Cary Eclipse» (толщину входной и выходной щелей варьировали в интервале 5–15 нм; кварцевые кюветы объемом 600 и 3000 мкл), приборе «PM-50» фирмы «МАШПЛАСТ» (Россия) с относительной погрешностью ±1% от измеряемой нагрузки. Показано, что воспроизводимость результатов исследования не превышала 15%;
- для доказательства правильности полученных результатов использовано сопоставление с данными исследования образцов независимым методом (ВЭЖХ-МС);

Личный вклад соискателя состоит в:

- разработке методики получения целлюлозных пленок с использованием гидрофильной ионной жидкости [BMIm][AcO], исследовании ее механических, оптически свойств, а также устойчивости по отношению к воздействию ряда молекулярных органических растворителей и растворов различной кислотности;
- разработке методик иммобилизации пероксидаз хрена и сои, индигокармина и пиронина Б в пленки {целлюлозы-[BMIm][Cl]}, изучении их свойств;
- изучении влияния [BMIM][AcO] на каталитическую активность пероксидаз хрена и сои;
- изучении способности пленок {целлюлоза-[BMIm][AcO]} сорбировать красители различной природы (индигокармин, пиронин Б, кармин, куркумин, β -каротин);
- исследовании системы {Eu-тетрациклин-билирубин} и возможности иммобилизации этой системы в целлюлозные пленки;
- разработке и оптимизации методики определения артемизинина с помощью пленок состава {целлюлоза-[BMIm][AcO]-Mn(II)-додецилсульфат натрия-пиронин Б} и апробации разработанных методик для определения артемизинина в БАД;
- интерпретации экспериментальных данных, апробации результатов исследования и подготовке основных публикаций соискателя по выполненной работе.

Дальнейшее использование методик, подходов и полученных **Мясниковой Д.А.** результатов **рекомендуется** использовать при чтении лекций и в экспериментальной работе в Московском, Санкт-Петербургском, Казанском, Саратовском, Воронежском университетах, Уральском федеральном и Уральском государственном экономическом университетах, Липецком государственном техническом университете, ГЕОХИ РАН, ИОНХ РАН, Институте биохимии имени А.Н. Баха РАН (г. Москва), ИНХ СО РАН (г. Новосибирск), а также других научных и отраслевых учреждениях, связанных с разработкой и применением различных типов сенсоров в анализе.

Диссертационная работа Мясниковой Д.А. **ПОЛУЧЕНИЕ, СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ПЛЕНОК {ЦЕЛЛЮЛОЗА-ИОННАЯ ЖИДКОСТЬ}** на соискание ученой степени кандидата химических наук представляет собой научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям п.9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного *Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842*. Работа содержит решение важной задачи аналитической химии: расширение аналитических возможностей и развитие методологии формирования новых типов оптических сенсоров; результатом которого явилось создание экспрессного метода определения биологически активных органических соединений в составе БАД. Содержание работы соответствует специальности 02.00.02 – аналитическая химия.


На заседании 26 марта 2015 года диссертационный совет принял решение **присудить** Мясниковой Дине Андреевне ученую степень кандидата химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве **21** человек, из них **16** докторов наук по специальности аналитическая химия, в том числе **5** докторов, обеспечивающих химические науки, участвовавших в заседании, из **30** человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - **21**, против - **нет**, недействительных бюллетеней - **нет**.

Заместитель председателя
диссертационного совета,
профессор, доктор химических наук

 Колотов В.П.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук

 Захарченко Е.А.

27.03.2015

