

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Вишенковой Дарьи Александровны «Вольтамперометрическое определение гепарина в лекарственных препаратах с использованием ряда синтетических катионных красителей», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия

Гепарин относится к важным соединениям, которые вырабатываются тучными клетками в организме животных и человека и выполняют функцию антикоагулянтов прямого типа действия. Это соединение является одним из биополимеров, применяемых как лекарственное средство в медицинской практике. Особенности строения и высокая степень химической гетерогенности гепарина определяют его биологическое значение и функциональную роль в организме. Экспресс-контроль гепарина в лекарственных препаратах необходим для обеспечения безопасной терапии в борьбе с тромбозами. Среди методов и средств, которыми располагает современная аналитическая химия, электроаналитические методы занимают видное место по частоте применения для решения проблем в различных областях деятельности человека. В течение последних двух десятилетий в литературе по определению гепарина в различных объектах заметное внимание уделяли применению методов электроанализа в исследовании комплексов гепарина с низко- и высокомолекулярными соединениями с целью их последующего аналитического применения. Этот интерес сохранился, в связи с чем, выбор вольтамперометрического метода для решения задач, поставленных в работе, можно считать обоснованным. Диссертационное исследование Вишенковой Дарьи Александровны посвящено разработке вольтамперометрического способа определения гепарина в лекарственных препаратах, который основан на использовании ряда синтетических катионных красителей. Перспективность использования именно синтетических красителей, которые могут играть роль своего рода органических модификаторов, применяемых в электроаналитической химии, заключается в особенностях структуры их молекул (наличии нуклеофильных и электрофильных групп, обеспечивающих проявление электрофорных свойств, т.е. способность к электроокислению и восстановлению). Кроме того, эти красители доступны.

Целью диссертации Вишенковой Д.А. явилось установление особенностей электрохимического поведения гепарина в растворе в присутствии синтетических

катионных красителей различных классов и разработка методики его количественного определения в лекарственных препаратах в форме инъекций. Формулировка цели диссертации отражает **актуальность** проблематики исследования. Задачи и методы исследования направлены на положительный результат в достижении поставленной цели.

Научная новизна диссертационной работы заключается в теоретическом и экспериментальном обосновании поиска условий регистрации вольтамперных кривых и объяснения их формы, изменения которой связано с протеканием процессов в растворе и на электроде с участием синтетических катионных красителей и их возможных комплексов с гепарином, что в целом дало необходимую аналитическую информацию.

С **практической** стороны разработанная вольтамперметрическая методика определения гепарина с использованием толуиленового синего имеет значение как способ контроля в фармацевтической промышленности и медицине. Предложенная методика позволяет исключить использование токсичных реагентов, а также сократить время анализа.

Достоверность результатов обеспечивается использованием современных методов исследования, оборудования, хорошей сопоставимостью с независимым методом сравнения. Результаты прошли многочисленную апробацию на конференциях различного уровня. По материалам диссертации опубликовано 2 статьи, входящие в перечень ВАК РФ и 2 статьи в журналах, входящих в базы данных Web of Science и Scopus.

Общая характеристика работы. Диссертационная работа состоит из введения, 5 глав, заключения, списка литературы и 4 приложений. Работа содержит 45 рисунков и 34 таблицы, список литературы включает 169 ссылок. Представленный материал собственно диссертации изложен на 130 страницах машинописного текста, 16 страниц занимают приложения.

Во введении обоснована актуальность выбранной темы, сформулирована цель исследования, показана научная новизна и практическая значимость проведенной работы. Сформулированы положения, выносимые на защиту. Отмечено личное участие автора на всех этапах исследования. Приведена структура рукописи диссертации. Несомненный интерес представляет содержание самой работы.

В первой главе (литературный обзор) диссертант рассмотрел историю открытия гепарина, его химическое строение, физико-химические свойства и

биологическую роль, а также описал существующие способы определения гепарина в различных объектах с использованием современной аппаратуры. Литературный обзор написан лаконично, при этом информация структурирована, изложена последовательно и доступно. Обзор читается с интересом и дает достаточно хорошее представление о проблеме в рамках медицины и фармации.

Во второй главе описано используемое оборудование, реактивы, химическая посуда, дана характеристика объектов исследования, описана процедура приготовления растворов и методик проведения эксперимента.

Третья глава посвящена результатам исследования электрохимического поведения выбранных синтетических катионных красителей различных классов (тиазинового, трифенилметанового и индаминового) в растворах, в том числе в присутствии гепарина. Описано влияние различных факторов на формы полученных вольтамперограмм. Найдены рабочие условия, линейные области концентраций гепарина в растворах с красителями (метиленовым голубым, малахитовым зеленым и толуиленовым синим), представляющие аналитический интерес. На основании полученных экспериментальных данных сделано заключение о принципиальной возможности использования всех исследуемых синтетических красителей для вольтамперометрического определения гепарина в лекарственных препаратах (с учетом влияния матричного эффекта на аналитические сигналы). Сравнительное рассмотрение результатов исследования влияния гепарина на форму пиков, выбранных в качестве аналитического сигнала, позволила диссертанту из перечисленных красителей остановить выбор на толуиленовом синем. Этот своего рода модификатор обоснованно привлек внимание диссертанта вкупе с использованием нетоксичного рабочего электрода, анодной областью развертки потенциалов, проявлением собственного сигнала, интенсивность которого увеличивается с увеличением концентрации гепарина в электрохимической ячейке и более низкого значения предела обнаружения. Интерес представляет найденная зависимость обратимости потенциал образующей стадии от температуры.

В четвертой главе приведены результаты исследования влияния концентрации гепарина на ток восстановления кислорода в водных средах.

Пятая глава посвящена разработке собственно методики количественного определения гепарина в лекарственных препаратах с использованием толуиленового синего, оценке мешающего влияния компонентов матрицы инъекционных

гепаринсодержащих лекарственных препаратов на аналитический сигнал и расчету основных метрологических характеристик.

На основании проведенных исследований автором сделано **заключение** и представлены обоснованные **выводы** по диссертации.

Приложения содержат акты внедрения результатов диссертационной работы, а также алгоритм и расчет показателей качества вольтамперометрической методики количественного определения гепарина в лекарственных препаратах с использованием красителя толуиленового синего.

В целом диссертация Вишенковой Д.А. производит положительное впечатление законченного исследования. Вместе с тем, у оппонента возникли некоторые **вопросы и замечания**, требующие пояснения.

1. Прежде всего, следует отметить, что гепарин в своей структуре не содержит функциональных групп, которые могли бы придать ему свойство окисляться или восстанавливаться на электродах в доступной области потенциалов. Поэтому вся методология его электроаналитического определения будет косвенной, а не прямой. Очевидное действие гепарина на формы кривых красителей связано, прежде всего, с поверхностно-активными свойствами. Сейчас обычно используют параметры электрохимического импеданса для получения необходимой информации о реактивном сопротивлении двойного электрического слоя, в котором и происходят все события адсорбции и торможения стадии собственно переноса электрона, отражающиеся на форме вольтамперограмм. Однако все аналитические интерпретации в рамках сигнал-концентрация аналита (т.е. действие гепарина как ПАВ) при этом остаются приемлемыми и не затрагивают основные результаты диссертации. И это при том, что природа аналитического сигнала связана с тормозящим действием гепарина как ПАВ, а не с его комплексообразованием с красителем. Здесь уместно отметить, что желательно было бы привести доказательства образования комплексов в тех же условиях в растворе по УФ-спектрам. Независимый результат был бы к месту.

2. Такое же тормозящее действие гепарина (оно еще более очевидно) проявляется и на волне восстановления кислорода в водной среде. По-видимому, лучшее доказательство взаимодействия гепарина с активной формой кислорода может быть получено, например, с помощью реактива Фентона. Можно использовать и циклическую вольтамперограмму кислорода, растворенного в неводных средах (ДМФА, ДМСО и т.д.). Можно отметить, что вывод 4 правильно отражает сущность

явления – ингибирование, но это не следует связывать с проявлением каких-либо антиоксидантных свойств.

3. Что касается других выводов, то можно было бы дать их в другой редакции, отражающей суть результатов, а не констатацию действий – исследовано..., изучены..., рассчитаны и т.д.

4. Из других, более мелких замечаний. Понятие «механизм» достаточно ёмкое. О нем в работе речи нет. Поэтому приемлемо говорить о схемах протекания электродного процесса, в котором и генерируется аналитический сигнал, тем более, что многие объяснения даются в формате предположений. На стр. 63 приведена схема с английскими титрами без указания роли ионов водорода. Встречаются неудачные выражения, например, из критерия Семерано... «электровосстановление МЗ контролируется кинетикой электродного процесса» (стр. 10 автореферата). А чем ещё может быть? Может быть стадией переноса электрона, или протонизацией исходной молекулы, или включенной химической стадией и т.д.

Приведенные замечания и вопросы не снижают ценности результатов проделанной работы на актуальную тему.

В целом диссертационная работа Вишенковой Д.А. выполнена на хорошем экспериментальном уровне, представляет собой завершённое исследование. Содержание автореферата соответствует основным положениям и выводам диссертационной работы, опубликованные работы достаточно полно отражают ее основное содержание. Цель, поставленная в диссертации, достигнута.

Полученные в диссертации результаты после аттестации разработанной методики могут быть использованы в аналитических лабораториях фармацевтической промышленности для контроля содержания гепарина в сырье и готовых лекарственных препаратах в форме инъекций, а также в высших учебных заведениях, например, при выполнении курсовых и дипломных работ в отделении химической инженерии ФГАОУ ВО НИ ТПУ.

Заключение.

Диссертация Вишенковой Дарьи Александровны «Вольтамперометрическое определение гепарина в лекарственных препаратах с использованием ряда синтетических катионных красителей», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия, является самостоятельным законченным исследованием. Анализ текста диссертационной работы, публикаций и автореферата, сочетание научной новизны и

практической значимости позволяют заключить, что диссертационная работа отвечает требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» № 842, утвержденным постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года, а ее автор, Вишенкова Дарья Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Официальный оппонент:

профессор кафедры аналитической химии

Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет»,

доктор химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия, профессор

Г. К. Будников 2018 г.

Герман Константинович Будников

420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Учебное здание № 04 (НИ химический институт им. А.Н. Бутлерова), кабинет 224

+7 (843) 233-72-15, Herman.Budnikov@kpfu.ru

Подпись Г. К. Будникова удостоверяю

