

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«Федеральный исследовательский центр
«Красноярский научный центр Сибирского отделения
Российской академии наук»
(ФИЦ КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН)



Институт химии и химической технологии
Сибирского отделения Российской академии наук –
обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН
(ИХХТ СО РАН)

Академгородок, 50 стр. 24, г. Красноярск,
Россия, 660036
тел. +7 (391) 205-19-50, факс +7(391)249-41-08
E-mail: chem@icct.ru
ОКПО 04981420. ОГРН 1022402133698
ИНН/КПП 2463002263/246345001

«11» сентября 2018 № 356.04-16-03/331

на № _____ от «__» _____ 201

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ИХХТ СО РАН



И.В. Чесноков

11 сентября 2018 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу Немихина Василия Васильевича
«Определение кодеина в лекарственных препаратах и биологических объектах
методами молекулярной спектроскопии», представленную на соискание ученой
степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая
химия

Оценка актуальности диссертационной работы.

Диссертационная работа Немихина В.В. посвящена вопросам определения
кодеина в фармацевтических препаратах и биологических субстратах методами
оптической спектроскопии, разработке методик такого определения и их
практическому применению. В настоящее время кодеин является одним из
наиболее широко используемых опиатов в мире, благодаря своей высокой
эффективности в качестве противокашлевого и болеутоляющего лекарственного
средства в сочетании с другими препаратами. Сложный состав объектов
исследования и низкие содержания кодеина в них предопределяют использование
высококчувствительных, селективных, но весьма дорогих и длительных

хроматографических с различными типами детекторов и масс-спектральных методов. Особое внимание уделяется тщательной пробоподготовке с применением токсичных растворителей, особо чистых элюентов, например, для достижения необходимой чувствительности – получение дериватов кодеина.

В этой связи, весьма привлекательными являются методы молекулярной спектроскопии, в частности, люминесценция и спектроскопия диффузного отражения, сочетающие высокую чувствительность с простотой инструментария, относительной дешевизной и высокой скоростью анализа. В этом отношении диссертационная работа Немихина В.В., посвященная разработке молекулярно-спектроскопических методик определения кодеина в лекарственных препаратах и биологических объектах, представляется несомненно актуальной и представляет практический интерес.

Объем и структура диссертационной работы.

Диссертационная работа изложена на 120 страницах машинописного текста, содержит 41 рисунок, 28 таблиц, состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, списка литературы из 143 наименований.

Во введении обоснована актуальность диссертационной работы, сформулированы цель и задачи исследования, показаны научная новизна и практическая значимость полученных результатов, представлены сведения об их апробации и приведены положения, выносимые на защиту.

В первой главе (литературный обзор) описаны характерные физико-химические свойства кодеина, рассмотрены основные способы его выделения из объектов исследования. Приведены сравнительные данные об используемых методах идентификации и определения кодеина в различных объектах. Автор делает заключение, что наиболее распространенными и эффективными методами определения кодеина являются хроматографические, однако их применение сопряжено с рядом недостатков: длительная пробоподготовка объектов исследования с использованием дорогих и труднодоступных реагентов, необходимость дериватизации кодеина (для ГХ/МС-определений), использование сложного и дорогостоящего аналитического оборудования. Автор делает вывод, что хорошим дополнением к упомянутым методам могут служить методы

молекулярной спектрометрии, в частности, люминесценции и спектрометрии диффузного отражения, сочетающие высокую чувствительность, экспрессность с простотой аппаратного оформления. Однако их применение в анализе кодеинсодержащих объектов весьма ограничено по причине отсутствия соответствующих исследований, а существующие немногочисленные методики не обеспечивали определение низких содержаний кодеина.

Во второй главе приведено описание основных реагентов, объектов, методов исследования, приборов и вспомогательного оборудования, способов выделения кодеина из объектов исследования (пробоподготовки), процедур приготовления растворов и техники эксперимента.

Третья глава посвящена изучению спектроскопических свойств кодеина. Найдены условия люминесцентного определения кодеина в растворах, определен относительный квантовый выход его люминесценции. Изучено мешающее влияние сопутствующих компонентов. Показана возможность определения микрограммовых содержаний кодеина в растворах по его собственной люминесценции. Для повышения чувствительности измерений автором предложено использовано свойство кодеина образовывать флуоресцирующие ионные ассоциаты с анионами красителей. Предварительные расчеты кислотно-основных параметров и последующие эксперименты показали, что наилучшим противоионом является эозин. Определены условия образования, экстракции и флуоресценции ионного ассоциата кодеина с эозином, что позволило определять нанограммовые содержания кодеина. Для повышения экспрессности измерений успешно реализована возможности определения кодеина в фазе сорбента в виде его комплекса с тетрайодовисмутатом калия (реактив Драгендорфа). Определены основные метрологические параметры определения кодеина в растворах и твердой фазе.

В четвертой главе изложены прописи разработанных методик определения кодеина в лекарственных препаратах, внутренних органах и моче человека. Приводятся метрологические параметры, а также результаты успешной апробации разработанных методик на модельных смесях и реальных образцах с привлечением метода «введено-найдено», а также сопоставлением с результатами, полученными независимыми методами анализа: ВЭЖХ и ГХ-МС.

Научная новизна исследований и полученных результатов.

Впервые целенаправленно изучены люминесцентные свойства кодеина (относительный квантовый выход свечения, влияние рН среды, природы растворителя, реагентов, сопутствующих компонентов) для его определения в растворах и твердой фазе. Установлена возможность определения микрограммовых содержаний кодеина в растворах на основе его собственной люминесценции. Для определения нанограммовых содержаний кодеина в растворах предложен эффективный реагент эозин, образующий с кодеином интенсивно флуоресцирующий комплекс, экстрагируемый в органическую фазу. Полученные результаты легли в основу новых методик определения кодеина в биофармобъектах.

Впервые реализована возможность определения кодеина в твердой фазе в виде его комплекса с реактивом Драгендорфа методом спектроскопии диффузного отражения. Данный подход позволил существенно повысить экспрессность аналитических измерений.

Предложены схемы пробоподготовки, включающие ТСХ-разделение, экстракцию, обеспечивающие заданную чувствительность и селективность определения кодеина в исследуемых объектах.

Практическая значимость работы.

Разработан комплекс молекулярно-спектрометрических методик определения кодеина в лекарственных препаратах, биологических жидкостях, органах и тканях человека. Основными достоинствами разработанных методик являются достаточно высокая чувствительность, простота, экспрессность при относительно несложном аппаратном оформлении. Селективность аналитических измерений достигается на стадии пробоподготовки объектов анализа. Методики успешно апробированы на модельных смесях и реальных экспертных образцах.

Методики могут быть использованы при решении научных и учебных задач, связанных с исследованиями биофармобъектов, в НИИ, вузах, а после необходимой метрологической аттестации — в контрольно-аналитических лабораториях судебно-медицинского профиля.

Достоверность полученных результатов.

Достоверность результатов не вызывает сомнений. Эксперимент выполнен на достаточно хорошем уровне с использованием современного аналитического оборудования. Применяемые реактивы, приборы и методы исследования соответствуют намеченной цели и задачам. Для оценки правильности полученных результатов по определению содержания кодеина использованы традиционные способы: анализ модельных систем, применение метода «введено-найдено», сопоставление с данными независимых методов исследования (ВЭЖХ и ГХ-МС) тех же объектов. Статистическая обработка результатов анализа приведена по общепринятым схемам.

Обоснованность положений, выносимых на защиту, и выводов по работе.

Положения, выносимые на защиту, в целом не вызывают возражений, имеют определенную научную новизну в части полученных результатов исследований спектроскопических свойств кодеина, условий его определения в растворах и твердой фазе. Выводы по работе соответствуют её содержанию, базируются на достаточном объеме экспериментальных данных и не противоречат имеющимся литературным данным.

Значение результатов диссертации для науки и производства.

Полученные в диссертационной работе Немихина В.В. результаты имеют важное теоретическое и практическое значение в области прикладного химического анализа.

Научная значимость результатов заключается в обосновании и реализации возможности применения метода оптической спектроскопии диффузного отражения для определения кодеина в биофармацевтических объектах. Надо полагать, что предложенный подход явится хорошей базой для последующей разработки экспрессных СДО-методик определения алкалоидов и других органических микропримесей в различных объектах.

Интерес для аналитической химии также представляют результаты, демонстрирующие повышение чувствительности и селективности люминесцентных измерений аналитов с низкими выходами собственного свечения

(кодеин) путем их перевода в ионные ассоциаты с интенсивно флуоресцирующим противоионом (эозин), экстрагируемые в органическую фазу.

Результаты исследования могут представлять интерес для специалистов научно-исследовательских организаций, высших учебных заведений, занимающихся разработкой методик обнаружения и определения токсикологически значимых веществ.

По материалам диссертации опубликовано 4 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК. Результаты работы доложены на конференциях различного уровня и опубликованы в 5 тезисах докладов. Новизна предлагаемых решений защищена двумя патентами РФ.

Автореферат диссертации вполне отражает содержание диссертационной работы. Оформление диссертации и автореферата соответствует установленным требованиям.

По диссертационной работе имеется ряд замечаний:

1. Декларация автором «изучения спектроскопических свойств кодеина» требует определения спектрального диапазона, в котором это исследование было проведено. Тем более, что в диссертации приводятся справочные ИК и УФ-спектры кодеина, которые определены задолго до представления данной работы и к исследованиям автора не имеют никакого отношения.

2. Для активации люминесценции кодеина в исследованиях использованы серная и хлороводородная кислоты без проведения дополнительных исследований в пользу других растворителей. Не предложен механизм активации. Объяснение «гашения» люминесценции за счет «тяжелого атома» приемлемо только для однотипных анионов.

3. Определению интенсивности люминесценции ионного ассоциата с эозином проводится на плече пика люминесценции эозина, что приведет к завышенным результатам анализа при его избытке и низких концентрациях кодеина. Кроме того, непонятно насколько специфична реакция образования ионного ассоциата кодеина с эозином? Мешающее влияние других органических молекул не исследовано. Результаты анализа сильно зависят от эффективности разделения при пробоподготовке.

4. Заключение по работе (с.100) не содержит никаких обобщающих положений и носит чисто рекламный характер.

5. Замечания по оформлению работы: неоднократно (с.20,59,68,72) используется неграмотное обозначение $pH=...$. Названия рис.9 и 10 (с.55-56) совершенно одинаковы. Подрисуночная подпись рис.21 (с.70) не отражает содержания рисунка (кроме кодеина присутствуют спектры эозина и ионного ассоциата). На рис.30 (с.78) не указана концентрация реактива Драгендорфа. На с.78 указана линейность градуировочного графика в диапазоне 25-1000 мг/дм³, но точка, соответствующая 25 мг/дм³ на рис.31 отсутствует. На рис. 9, 10, 16 (стр. 55, 56, 64 соответственно) отсутствуют подписи к осям ординат и единицы измерения осям абсцисс.

Заключение

Сделанные замечания, однако, не затрагивают основных положений и выводов диссертационной работы и не снижают общей положительной оценки выполненной экспериментальной работы. Диссертационная работа Немихина Василия Васильевича «Определение кодеина в лекарственных препаратах и биологических объектах методами молекулярной спектроскопии» представляет законченную научно-квалификационную работу на актуальную тему. На основании выполненных автором исследований достигнута цель работы – разработан комплекс молекулярно-спектроскопических методик определения кодеина в лекарственных препаратах и биообъектах.

Достоверность и корректность представленных результатов не вызывает сомнений. Сделанные выводы обоснованы. Автореферат вполне отражает содержание диссертационной работы. Результаты достаточно полно опубликованы в реферируемых изданиях, прошли апробацию на всероссийских и международных конференциях. Новизна предлагаемых решений защищена двумя патентами РФ. В.В.Немихиным представлено законченное целостное научное исследование, оформленное надлежащим образом.

Диссертантом решена важная научно-техническая задача повышения экспрессности и чувствительности аналитического определения кодеина и разработки на основе полученных результатов методик анализа фармакологических и биопрепаратов. Научные и прикладные результаты

диссертации могут быть рекомендованы для использования в аналитических лабораториях фармакологической промышленности, в провизорской и судебно-медицинской практике.

По формальным признакам, уровню научных и практических результатов представленная диссертационная работа удовлетворяет требованиям ВАК РФ, установленным п.9 Положения, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Немихин Василий Васильевич заслуживает присвоения искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Диссертационная работа Немихина Василия Васильевича *«Определение кодеина в лекарственных препаратах и биологических объектах методами молекулярной спектроскопии»* обсуждена на научном семинаре лаборатории молекулярной спектроскопии и анализа Института химии и химической технологии СО РАН. Протокол №6 от 11 сентября 2018 г.

Зав. лабораторией рентгеновских
и спектральных методов анализа
ИХХТ СО РАН, к.т.н.

А.М. Жижаев

Жижаев Анатолий Михайлович

660036, г.Красноярск,

Академгородок 50, строение 24,

Институт химии и химической технологии СО РАН,

Тел.: +7(391)205-19-34

E-mail: zhyzhaev@icct.ru

Организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр

Сибирского отделения Российской академии наук» Институт химии и химической технологии СО РАН – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН (ФИЦ КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН)