

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе

ФГБОУ ВО «Уральский государственный
экономический университет», д.э.н., профессор



Дворядкина Е.Б.

2018 г.

4 октября

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию 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

Актуальность темы исследования

Актуальной задачей здравоохранения Российской Федерации является надлежащая оценка эффективности и безопасности лекарственных средств, входящих в перечень стратегически значимых препаратов. В их число входит и гепарин – антикоагулянт прямого действия, применяемый уже около 100 лет в клинической практике. Аналитическому контролю процесса производства лекарственных препаратов, определению их функциональной активности в исходной субстанции, полупродуктах и целевых препаратах отводится важная роль. Определение гепарина представляет собой непростую аналитическую задачу, решение которой затрудняет вариабельность его молекулярной массы, неоднородность распределения заряда дисперсии. Используемые в фарманализе методы для определения гепарина, такие как спектрофотометрия, жидкостная хроматография, капиллярный электрофорез, имеют ряд недостатков: высокую стоимость необходимого оборудования и реактивов, определенные требования к квалификации персонала и лабораторным условиям проведения анализа. В то же время все более широкое применение находят электрохимические методы анализа благодаря их экспрессности, чувствительности, точности и возможности миниатюризации. Указанное определяет *актуальность, научную и практическую значимость* темы диссертации Д. А. Вишенковой, посвященной изучению электрохимического поведения комплексов

гепарина с синтетическими катионными красителями и разработке вольтамперометрической методики его определения в лекарственных препаратах.

В рамках сформулированной проблемы диссертантом поставлены и успешно решены задачи, включающие изучение электрохимических свойств ряда синтетических катионных красителей (метиленового голубого, малахитового зеленого и толуиленового синего) и выбор рабочих условий для вольтамперометрического определения гепарина в комплексе с ними; исследование физико-химических закономерностей электрохимического поведения комплексов «гепарин-краситель» и оценку их адсорбционной способности; исследование влияния гепарина на ток электровосстановления кислорода и оценку его антиоксидантных свойств; разработку методики количественного вольтамперометрического определения гепарина в лекарственных препаратах с использованием толуиленового синего и расчет основных метрологических характеристик.

Диссертационная работа изложена на 146 страницах машинописного текста, содержит 45 рисунков, 34 таблицы и список литературы из 169 источников и состоит из введения, 5 глав, заключения, списка литературы и 4 приложений. Стиль написания демонстрирует хороший уровень подготовки и планирования эксперимента, владение автором современными инструментальными методами исследования и обработки полученных результатов.

Во **Введении** диссертации раскрыта актуальность выбранной темы исследования, определена цель и задачи для ее достижения, дана характеристика научной новизны, практической значимости, сформулированы положения, выносимые на защиту. Приведены сведения о личном вкладе соискателя, благодарности коллегам, грантовой поддержке, апробации диссертации на конференциях различного уровня, ее структуре и публикациях, в которых изложены основные полученные результаты.

Глава 1 (Обзор литературы) диссертационной работы посвящена анализу литературных данных, касающихся истории открытия, физико-химических свойств и методов определения гепарина. Особое внимание уделено электрохимическим методам определения гепарина, указаны синтетические красители, ранее использованные для детектирования гепарина в комплексе с ними. На основании обзора литературы сделан вывод о перспективах разработки электрохимических методов определения гепарина с использованием ряда синтетических катионных красителей. Обзор достаточно логичен и последователен, написан сжато, но содержит все необходимые данные для формирования цели и задач исследования.

Глава 2 (Экспериментальная часть) содержит описание объектов анализа, применяемых в работе материалов и реактивов, аппаратуры, методик вольтамперометрического определения гепарина в комплексе с синтетическими катионными красителями – метиленовым голубым, малахитовым зеленым, толуиленовым синим. Разнообразие использованных методов – ряд электрохимических методов, УФ-спектроскопия, капиллярный электрофорез с УФ-детектированием – достаточны для заключения о *достоверности полученных научных результатов* и их обсуждения.

Глава 3 диссертационного исследования посвящена изучению электрохимических свойств ряда красителей (метиленового голубого, малахитового зеленого, толуиленового синего) методами циклической, катодной и анодной постоянно-токовой вольтамперометрии и выявлению наиболее подходящего красителя для вольтамперометрического определения гепарина в лекарственных препаратах. Сделан вывод о том, что концентрация красителя не должна превышать 35 мг/дм³ из-за его адсорбции на твердой поверхности, но при этом не приводятся соответствующие экспериментальные доказательства того, что процессы адсорбции имеют место в рассматриваемых системах. Исследовано влияние кислотности среды и параметров развертки потенциалов на характер электропревращений исследуемых красителей. Предложены предположительные механизмы электроокисления-восстановления объектов исследования при выбранных рабочих условиях. При этом желательно было привести собственные или литературные данные, доказывающие образование комплекса Нер-МЗ (стр. 69). Проведенные исследования позволили автору прийти к выводу, что краситель толуиленовый синий наиболее рационально использовать для электрохимического определения гепарина.

В **главе 4** исследована антиоксидантная активность гепарина методом катодной вольтамперометрии с использованием реакции электровосстановления кислорода. Предложена схема взаимодействия гепарина с активными радикалами кислорода. Интересен вывод, сделанный по полученным катодным вольтамперным кривым образцов плазмы и сыворотки крови, не содержащих гепарин (стр. 92). В связи с обнаруженными антиоксидантными свойствами гепарина возникает вопрос о возможности длительного хранения его раствора (1 месяц при температуре 18°C (стр. 40 диссертации)). Следует отметить, что методика определения антиоксидантной активности гепарина (п. 4.1, стр. 89) в тексте продублирована и содержится также в п. 2.4.4, стр. 44.

В **главе 5** отражены результаты оценки влияния веществ различной природы на аналитический сигнал комплекса гепарин-толуиленовый синий. Показано, что в присутствии дерматансульфата и гипертсульфатированного хондроитин сульфата

происходит увеличение интенсивности сигнала. Вследствие чего, для выбора анализируемых объектов при вольтамперометрическом определении гепарина с использованием толуиленового синего, диссертантом предложено проводить предварительный анализ образцов гепарина методом капиллярного электрофореза с УФ-детектированием для идентификации этих примесей. Однако автор не уточняет, каким образом была преодолена проблема мешающего влияния дерматансульфата и гипертсульфатированного хондроитин сульфата. Показаны результаты сравнительных определений гепарина в лекарственных инъекционных препаратах с использованием разработанной вольтамперометрической методики и «независимого» спектрофотометрического метода. Рассчитаны основные метрологические характеристики методики (показатель повторяемости, точности, внутрилабораторной прецизионности).

В *«Заключении и основных выводах»* обобщены основные результаты работы, которые соответствуют поставленной цели и задачам исследования. Сформулированные выводы логичны, обоснованы и следуют из представленных данных.

Оценивая диссертационную работу Д. А. Вишенковой в целом, следует отметить, что она является завершенным научным исследованием, в котором автор продемонстрировал системный подход к разработке методики вольтамперометрического определения гепарина в лекарственных препаратах с использованием ряда синтетических катионных красителей, умение использовать широкий спектр современных методов анализа и грамотно интерпретировать полученные результаты. Диссертационная работа Д. А. Вишенковой написана хорошим научным языком и характеризуется достаточно лаконичным, четким построением предложений, логичностью построения эксперимента и его изложения, обоснованностью выводов.

Научная новизна работы

К основным достижениям, определяющим *научную новизну и теоретическую значимость* диссертационной работы, относятся результаты исследования физико-химических закономерностей электроокисления-восстановления ряда синтетических катионных красителей и их комплексов с гепарином на различных материалах индикаторных электродов, выбора рабочих условий формирования электрохимических откликов, механизмов происходящих электрохимических процессов. Впервые показана возможность определения гепарина методом анодной вольтамперометрии на индикаторном электроде, модифицированном углеродными чернилами, представляющими собой полимерную пленку из микрокристаллического графита и полистирола с использованием красителя индаминового класса – толуиленового синего.

Несомненный интерес представляют также результаты разработки нового подхода вольтамперометрического определения гепарина в фармацевтических препаратах.

Практическая значимость работы

Практическая значимость проведенного исследования связана с разработанной вольтамперометрической методикой определения гепарина в продукции фармацевтической промышленности. Предложенная методика не требует применения дорогостоящего оборудования и сложной пробоподготовки, а также характеризуются хорошей чувствительностью и точностью. Немаловажным аспектом является внедрение результатов исследования в работу ряда организаций.

Автореферат в целом достаточно полно отражает основное содержание диссертации. По материалам диссертации опубликовано 30 работ, в том числе 2 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК, и 2 статьи в журналах, входящих в базы данных Web of Science и Scopus. Однако необходимо сделать уточнение, что журнал «Фундаментальные исследования» относится к специальностям – 05.17.00 – химическая технология и 08.00.00 – экономические науки, а не к специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

По диссертации и автореферату имеются некоторые вопросы и замечания:

1. Остается неясным момент: какой гепарин – низкомолекулярный или высокомолекулярный – можно определять с использованием разработанной методики. Можно только догадываться, что разработанная методика позволяет определять низкомолекулярный гепарин, т.к. в качестве «независимого» спектрофотометрического метода (стр. 107) применен набор реагентов «Ренапарин-тест», предназначенный для определения активности низкомолекулярного гепарина.

2. Насколько значима разница в сигналах электровосстановления малахитового зеленого, полученных при разном освещении (рис. 21, стр. 66)? Время выдерживания на свету – 10 минут – представляется слишком малым, чтобы сделать вывод о влиянии света на малахитовый зеленый.

3. Удовлетворяют ли требованиям медицинского аналитического контроля показатели точности, правильности, внутрилабораторной прецизионности? Допустима ли такая большая величина погрешности (для 1 мг/дм³ составляет 27 %)?

4. На основании отсутствия сдвига потенциала полуволны и изменения интенсивности катодного тока (рисунок 42) сделан вывод о том, что анализируемые образцы плазмы и сыворотки крови, не содержащие гепарин, не проявляют активность по отношению к процессу электровосстановления O₂. Но, как известно, плазма/сыворотка крови человека, содержит целый комплекс веществ антиоксидантной системы защиты, и

странно, что эти вещества не проявляют антиоксидантную активность в условиях эксперимента, а гепарин – проявляет. Полученный результат требует более детальной проработки, для его понимания требуется дополнительная информация о характере пробоподготовки исследованных биожидкостей, их степени разбавления и т.д.

5. В автореферате (стр. 14) не уточнено, почему толуиленовый синий необходимо кипятить для определения гепарина?

6. В тексте диссертации встречаются редкие орфографические, синтаксические и пунктуационные ошибки. Например, неправильно указан диапазон определяемых концентраций для спектрофотометрической методики (стр. 101, табл. 14); на стр. 48, 61 диссертации и стр. 7 автореферата в слове «развертки» пропущена буква «к»; на рисунке 43, стр. 96 в подписях к осям не указаны сами величины, а только единицы измерения, не всегда прописаны условия определения (фоновый электролит, pH, напряжение, температура термостатирования капилляра).

Заключение

Отмеченные замечания не снижают общую положительную оценку работы. По результатам диссертационной работы опубликовано 30 печатных работ, из них 2 статьи в реферируемых научных журналах, входящих в список ВАК Минобрнауки РФ, 2 статьи в журналах, входящих в базы данных Web of Science и Scopus, и 24 тезисов докладов на международных и всероссийских конференциях. Публикации и автореферат отражают содержание диссертации. Диссертация Д. А. Вишенковой соответствует Паспорту научной специальности 02.00.02 – Аналитическая химия (области исследований: 2. Методы анализа, 10. Анализ органических веществ и материалов).

Считаем, что диссертация Вишенковой Дарьи Александровны «Вольтамперометрическое определение гепарина в лекарственных препаратах с использованием ряда синтетических катионных красителей» удовлетворяет требованиям п. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, предъявляемым к кандидатским диссертациями, и может рассматриваться как завершенная научно-квалификационная работа, в которой содержится решение актуальной научной задачи, имеющей значение для развития электрохимических методов анализа объектов фармацевтической промышленности. Автор работы, Вишенкова Дарья Александровна, достойна присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Отзыв рассмотрен и утвержден на заседании кафедры физики и химии Института торговли, пищевых технологий и сервиса ФГБОУ ВО «Уральский государственный

экономический университет» 28 сентября 2018 г., протокол № 2. На заседании присутствовало 11 человек, решение принято единогласно.

Заведующий кафедрой физики и химии

Институт торговли, пищевых технологий и сервиса

ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет»,

д.х.н., профессор

Наталья Юрьевна Стожко

620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 62

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный экономический университет»

Сайт организации: <http://www.usue.ru>

тел. 8-343-2212713,

e-mail: sny@usue.ru

01 октября 2018 г.

Подпись Н.Ю. Стожко удостоверяю

Ученый секретарь ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет»

к.э.н., доцент



Александр Васильевич Курдюмов