

УТВЕРЖДАЮ

Директор ГЕОХИ РАН,

Иван-корр. РАН



Костицын Ю.А.

30 ноября 2016 г.

ОТЗЫВ

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) – **ведущей организации по защите диссертационной работы Андрюхиной Елены Юрьевны «Проточные методы определения биологически активных производных пурина»**, представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия

Актуальность работы

Соединения пуринового ряда, в том числе биологически активные, обладают широким спектром фармакологического действия и широко используются для решения различных биомедицинских проблем. 7Н-пурины – пуриновые алкалоиды (кофеин и другие) и 9Н-пурины – пуриновые основания (аденин и гуанин), а также их синтетические аналоги, входят в состав многих противоопухолевых и противовирусных, в том числе анти-ВИЧ препаратов, и представляют наибольший интерес. Развитие методов определения лекарственных субстанций, содержащих пуриновые алкалоиды и основания в широком диапазоне концентраций особенно актуально в связи с появлением на фармацевтическом рынке большого количества фальсифицированных препаратов. Наибольший интерес представляет разработка экспресс-методов для оценки их фармацевтической эквивалентности оригинальным препаратам.

Актуальной тенденцией в этом направлении является использование автоматизированных аналитических систем, в том числе на основе методологии проточно-инжекционного анализа (ПИА) и его разновидностей, в частности, последовательного-инжекционного анализа (ПослИА). По сравнению с традиционным подходом такие системы позволяют повысить

производительность и воспроизводимость результатов определения и обеспечить экономичность выполнения всех основных этапов химического анализа. Однако к настоящему времени количество публикаций, посвященных определению производных пурина на основе принципов ПИА и его разновидностей с использованием как спектрофотометрического, так и электрохимического детектирования, немногочисленно. Поэтому развитие исследований в области ПИА и создание новых экспрессных методов определения производных пурина весьма актуально, представляет не только фундаментальный, но и практический интерес.

Научная новизна работы и полученных результатов

В процессе выполнения работы диссертантом были исследованы электрохимические свойства ряда биологически активных 7Н- и 9Н-пуринов, обнаружена способность активированного углесталлового электрода ускорять процессы их необратимого окисления, установлен механизм электрохимического окисления. Найдены количественные характеристики электроокисления исследованных пуринов в зависимости от рН, природы фонового электролита и других параметров. Установлена эмпирическая закономерность, характеризующая действие функциональных заместителей в молекуле пуринов на их электрохимическую активность. Установлено влияние на окислительную способность пуринов присутствия кислородсодержащих (ОН-групп) в зависимости от положений С2, С6 и С8 в молекулах этих гетероциклов.

Важными достижениями диссертанта являются:

- предложение ряда оптимальных схем проведения ПИА и ПосИА с амперометрическим и адсорбционным инверсионно-вольтамперометрическим детектированием пуриновых оснований и синтетических структурных аналогов дезоксигуанозина в широком диапазоне определяемых концентраций;
- разработка высокопроизводительных новых методик ПИА и ПосИА со спектрофотометрическим детектированием пуриновых алкалоидов в видимой области спектра.

Практическая значимость результатов диссертационного исследования. Рекомендации к применению

Разработанные диссертантом новые методики ПИА и ПосИА для автоматизированного определения ряда важнейших производных пурина в различных лекарственных формах и биологических жидкостях представляют несомненный практический интерес и обеспечивают возможность для использования автоматизированных систем ПИА для лабораторного анализа депуринизированной ДНК и экспериментальной оценки фармацевтической эквивалентности твердых лекарственных форм (тест

«Растворение»), перспективны для применения в приборной медицинской диагностике и в практике аптечного анализа.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа Андриюхиной Е.Ю. выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН. Диссертация состоит из введения и шести глав, выводов и списка литературы (240 наименований), изложена на 154 страницах машинописного текста, содержит 79 (а не 78, как указано на стр.9 диссертации и стр.6 автореферата) рисунков и 48 таблиц. Объем автореферата диссертационной работы составляет 26 страниц текста.

Во введении диссертантом сформулирована актуальность, цели и задачи исследования, в том числе, кроме описания научной новизны и практической значимости работы, приведены сведения о методологии исследований, использованных методах исследования. Приведены положения, выносимые на защиту, данные об апробации работы и личном вкладе соискателя, структуре и объеме диссертации.

В главе 1 (обзоре литературы) рассмотрены биологически активные производные пурина в качестве аналитических объектов и обсуждено современное состояние химико-аналитических исследований в этой области. Обобщены и систематизированы имеющиеся в литературе сведения о современных подходах к определению 7Н- и 9Н-пуринов в различных объектах, главным образом с использованием методологии ПИА и его разновидностей.

Приведено четкое обоснование выбора методологии ПИА и его разновидностей

Глава 2 посвящена подробному описанию используемых в диссертационной работе реактивов, оборудования и техники экспериментальных исследований. В таблицах 2.1 и 2.2 приведены данные по выбранным объектам исследований - производных 7Н- и 9Н пурина. В этой же главе приведена разработанная автором методика анализа различных объектов.

В главах 3-6 приведены основные результаты диссертационной работы.

В третьей главе представлены результаты исследования вольтамперометрического поведения 7Н- и 9Н-пуринов на активированном углесталловом электроде в зависимости от ряда параметров: рН среды, скорости развертки потенциала и концентрации деполяризатора. Найдены электрохимические характеристики изученных электродных реакций ряда пуринов и установлена природа их электроокисления, предложен механизм электродной реакции и показано влияние различных пространственных заместителей на процесс электрохимического окисления пуринов.

Глава 4 посвящена разработке метода ПИА для амперометрического определения производных пурина в фармацевтических препаратах с использованием проточно-

инъекционной системы (ПИ-системы). Обсужден выбор операционных параметров системы, приведены их диапазоны варьирования и найденные оптимальные значения. Представлены аналитические характеристики определения ряда производных пурина методом ПИ с амперометрическим детектированием. Приведены экспериментальные данные по определению пуринов по методу «введено-найдено» и в ряде фармпрепаратов. Приведены доказательства преимуществ предложенной системы перед стандартными фармакопейными методиками на основе УФ-спектрофотометрии. К ним относятся возможность увеличения частоты отбора проб, более высокая селективность и др.

Глава 5 посвящена разработке метода определения следовых содержаний производных пурина в биомедицинских объектах на основе сочетания методологических принципов ПослИА и адсорбционной инверсионной вольтамперометрии (АДИВА). Приведены результаты определения пуриновых оснований, синтетических аналогов дезоксигуанозина и данные по анализу модельных растворов и некоторых биомедицинских препаратов.

В главе 6 представлены результаты разработки проточных методов спектрофотометрического определения пуриновых алкалоидов. В связи с тем, что продукты их окисления бесцветны, предложена реакция совместного окисления пуриновых алкалоидов и 3-метил-2-бензотиазолинон гидразона (МБТГ) периодат-ионами, протекающая с образованием сильноокрашенного продукта в слабокислой среде. Предложен и изучен механизм и кинетика протекания этой многостадийной реакции. Предложена и детально описана система ПИ спекрофотометрии и проведен анализ комбинированных фармпрепаратов, содержащих кофеин.

В заключительной части работы перечислены основные результаты и выводы.

Соответствие специальности

Тема и содержание представленной диссертационной работы соответствует специальности 02.00.02 – аналитическая химия и областям исследований в соответствии с паспортом специальности (опубликованном на сайте ВАК: <http://vak.ed.gov.ru/316>):

1. Теория методов аналитической химии.
2. Методы химического анализа (химические, физико-химические, атомная и молекулярная спектроскопия, хроматография, рентгеновская спектроскопия, масс-спектрометрия, ядерно-физические методы и др).
4. Методическое обеспечение химического анализа.
8. Методы маскирования, разделения и концентрирования.
10. Анализ органических веществ и материалов.
15. Анализ лекарственных препаратов.
16. Клинический анализ.
18. Аналитический контроль технологических процессов.

По теме диссертации опубликовано **9 работ, из них 6 статей в рецензируемых научных журналах из списка ВАК (5 статей в российских журналах и 1 – в зарубежном), 3 публикации - тезисы докладов.** Структура и выполненный объем диссертационной работы, опубликованные научные статьи, в целом, отражают и подтверждают научные положения, рассматриваемые в данной диссертации. **Автореферат в должной мере отражает основные положения диссертации.**

Все положения и выводы диссертационной работы теоретически и экспериментально обоснованы. Работа выполнена на хорошем научном уровне.

Однако к работе есть ряд замечаний:

1. Отсутствие списка большого числа сокращений и аббревиатур с расшифровкой (за исключением ряда названий пуринов и их производных) затрудняет чтение работы.
2. В литературном обзоре соискатель подробно остановился на имеющихся в литературе сведениях о современных подходах к определению 7Н- и 9Н-пуринов в различных объектах, но, главным образом, с использованием методологии ПИА и его разновидностей для подтверждения актуальности и важности ПИА. В обзоре практически очень мало сведений о других аналитических методах, в том числе используемых в основных мировых фармакопеях, включая российскую. Было бы целесообразно привести сравнительные характеристики распространенных на сегодняшний день методов анализа выбранных диссертантом фармпрепаратов в ряде фармакопей (высокоэффективной жидкостной хроматографии, тонкослойной хроматографии, УФ-спектрометрии и др.). Сравнение разработанных диссертантом методик и подходов с уже имеющимися в фармакопеях более наглядно могли бы показать необходимость дальнейшего развития методологии ПИА.
3. Имеются замечания по представлению и обсуждению экспериментальных данных в части корректности представления статистических результатов.:
- на странице 45 диссертации соискатель в разделе 2.5 написал, что «экспериментальные данные обрабатывались методами математической статистики с использованием распределения Стьюдента. Правильность характеризовали показателем правильности». Приведенные в работе данные по значениям среднего, доверительного интервала и величины относительного стандартного отклонения практически во всех таблицах приведены грамотно. Однако оценка средних значений с использованием t-критерия для метода «введено-найдено» не проведена, данные по табличным и экспериментально полученным значениям ни в одной из таблиц не приведены, хотя соискателем на стр. 123, таблица 6.9 диссертации и в автореферате на стр.13 и 14 указывает, что значимых различий между полученными средними и

«действительным значением» нет, (кроме того, в таблице 6.9 «сертифицированное» и найденное значение представлены в разных единицах - мг и %, соответственно, и нет данных по относительному стандартному отклонению, что не позволяет проверить вывод),

- диссертант проводит сравнение полученных результатов для реальных фармпрепаратов с использованием термина «сертифицированное содержание», не указывая каким методом определения проведена «сертификация» и доверительный интервал. Эти данные (метод и доверительный интервал) для всех анализируемых фармпрепаратов отсутствуют. Если приведенные в работе значения среднего взяты из вкладыша к препарату одного из производителей, то эти данные едва ли можно рассматривать как сертификат для конкретного образца партии и по ним нельзя судить об отсутствии значимых различий между экспериментальными данными по в описании препаратов ацикловира приводятся соответствующие данные на среднюю массу таблетки 0,20 г или 0,40 г. в зависимости от дозировки, тогда как истинное содержанию ацикловира для этих препаратов составляет (0,19-0,21) г. и (0,38-0,42) г., соответственно.

- в таблицах, где приведены экспериментальные данные по «расчетным содержаниям» или «введено» значение процентной меры правильности приведено везде с десятными долями процента, что излишне, т.к. относительное стандартное отклонение и доверительные интервалы составляют в среднем от 1 до 5 процентов.

Отмеченные недостатки не влияют на положительную оценку работы.

Диссертационная работа хорошо оформлена, написана хорошим, грамотным языком

Заключение

Диссертационная работа Андрюхиной Елены Юрьевны является законченной научной работой. Полученные диссертантом результаты имеют хорошую перспективу для экспресс-анализа фармпрепаратов, содержащих пурины, с использованием методологии ПИА как для медицинской диагностики, так и для выявления фальсифицированной продукции. Целесообразно продолжение работы с целью внедрения в практику. Рецензируемая работа «Проточные методы определения биологически активных производных пурина» отвечает требованиям ВАК и соответствует критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, установленным п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 в ред. Постановления № 335 от 21.04.2016, а ее автор Андрюхина

Елена Юрьевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия

Отзыв по материалам диссертационной работы рассмотрен и утвержден на семинаре лаборатории методов исследования и анализа веществ и материалов ГЕОХИ РАН 25 ноября 2016 года.

Заведующий лабораторией методов исследования и анализа веществ и материалов, член-корр. РАН:

/В.П.Колотов/

Ведущий научный сотрудник, к.х.н.

/В.И.Широкова/

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук (ГЕОХИ РАН):

119991 Москва, ул. Косыгина, д.19; www.geokhi.ru; телефон: 7(499) 137-04-86, 7(495)939-70-13; факс: 7(495) 938-20-54; электронная почта: director@geokhi.ru, kolotov@geokhi.ru, shirokova@geokhi.ru



Подпись руки: Колотова Владимире Гавриловича
Широковой Валентины Павловны
Иванова
Дирекция ГЕОХИ РАН

Сведения о ведущей организации

по диссертационной работе Андрюхиной Елены Юрьевны на тему «Проточные методы определения биологически активных производных пурина», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия

Полное наименование организации в соответствии с уставом	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук
Сокращенное наименование организации в соответствии с уставом	ГЕОХИ РАН
Почтовый индекс, адрес организации	119991, ГСП-1, Москва В-334, ул. Косыгина.19
Веб-сайт	http://www.geokhi.ru
Телефон	+7 (499) 137-14-84
Адрес электронной почты	director@geokhi.ru
Список основных публикаций работников структурного подразделения, в котором будет готовиться отзыв, по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15 публикаций)	1. Будников, Г.К., Широкова В.И. Развитие электроанализа в СССР и России: кулонометрические методы / Г.К. Будников, В.И. Широкова // Журн. аналит. химии. 2015. – Т.70. – №1. – С.92 – 99. 2. Будников, Г. К. Термин “нано” в электроанализе – модная приставка или новый этап его развития? / Г.К. Будников, В.И. Широкова //Журн. аналит. химии. 2013. – Т.68. – №8. – С.732 – 740. 3. Широкова, В.И. Терминология, используемая в нормативных документах по общим вопросам аналитической химии и метрологии: разработка интегрированного электронного тезауруса/ В.И. Широкова, В.П. Колотов, М.В. Алена, И.Н. Киселева, А.А. Садовников // Станд. образ. 2013. № 1. С. 51 – 57.

И.о. директора
д.х.н., профессор

Колотов В.П.

«14» октября 2016 г.

