

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.021.01  
на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Института общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской  
академии наук по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук**

Аттестационное дело № \_\_\_\_\_

Решение диссертационного совета от 21 декабря 2016 г. протокол № 12

О присуждении Андрюхиной Елене Юрьевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация Андрюхиной Елены Юрьевны на тему «Проточные методы определения биологически активных производных пурина» по специальности 02.00.02 – аналитическая химия принята к защите 17 октября 2016 года, протокол № 6, диссертационным советом Д 002.021.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук, Федерального агентства научных организаций Российской Федерации (119991, г. Москва, Ленинский проспект, д. 31), приказ о создании диссертационного совета № 105/нк от 11 апреля 2012 года.

Соискатель Андрюхина Елена Юрьевна, 1980 года рождения, в 2015 году освоила программу подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Института общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук и с тех пор работает в должности научного сотрудника в лаборатории проблем аналитической химии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук.

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном учреждении науки Институте общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук (ИОНХ РАН).

*Научный руководитель:* Шпигун Лилия Константиновна, доктор химических наук, профессор, заведующая лабораторией проблем аналитической химии (ИОНХ РАН)

*Официальные оппоненты:* Моросанова Елена Игоревна, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова»; Кузнецов Владимир Витальевич, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой аналитической химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева». Оппоненты представили положительные отзывы на диссертацию.

*Ведущая организация:* 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). В своем положительном заключении, подписанном заведующим лабораторией методов исследования и анализа веществ и материалов, член-корреспондентом РАН, доктором химических наук Колотовым Владимиром Пантелеймоновичем и ведущим научным сотрудником, кандидатом химических наук Широковой Валентиной Ивановной и утвержденном директором ГЕОХИ РАН, член-корреспондентом РАН Костицыным Юрием Александровичем, ведущая организация указала, что диссертация Андрюхиной Е.Ю. является законченной научно-квалификационной работой, которая отвечает всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, изложенным в п. 9 – 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335 «О

внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), и соответствует паспорту специальности 02.00.02 – аналитическая химия по формуле в области исследования, а также отметила новизну и большую практическую значимость полученных результатов и целесообразность продолжения работы с целью внедрения разработанных проточных методов в практику лабораторного клинического анализа и контроля состава фармацевтических препаратов.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обоснован профилем их специализации, близкой к теме диссертации, наличием публикаций в рецензируемых научных изданиях, относящихся к теме диссертации, а также способностью оценить все важнейшие аспекты диссертационной работы.

Соискатель имеет 11 опубликованных работ, в том числе 9 публикаций по теме диссертации, из них – 6 статей в профильных рецензируемых научных журналах: 1). Л.К. Шпигун, Е.Ю. Андрюхина, А.С. Протасов, М.А. Суранова. Электрохимически активированный углеситалловый электрод как сенсор эндогенной интоксикации нуклеиновых кислот. Биржа интеллектуальной собственности. –2014.– № 12. – С. 57–63; 2). Л.К. Шпигун, Е.Ю. Андрюхина, М.А. Суранова. Анодное поведение алкалоидов пуринового ряда на углеситалловом электроде в кислотных растворах. Электрохимия.– 2015. – Т. 51.–№ 2.– С. 190–196; 3) Л.К. Шпигун, Е.Ю. Андрюхина, Я.В. Шушеначев. Спектрофотометрическое определение пуриновых алкалоидов методами проточно-инжекционного и последовательного инъекционного анализа. Журн. аналит. химии. – 2015.– Т. 70. – № 8. – С. 811–820; 4) L.K. Shpigun, E.Yu. Andryukhina, A.S. Protasov Sequential injection – adsorptive stripping voltammetric quantitation of purine nucleobases using an electrochemically activated carbositall electrode. J. Electroanal. Chem. – 2015. – V. 743. – P. 46–52; 5) Л.К. Шпигун, Е.Ю. Андрюхина, П.М. Камилова, М.А. Суранова, А.С. Протасов. Электроаналитическое изучение синтетических производных гуанина, обладающих противовирусной активностью. Электрохимия. – 2016. –

Т. 52. – № 4. – С. 390–397; 6) Л.К. Шпигун, Е.Ю. Андрюхина, П.М. Камилова Проточно-инжекционный метод амперометрического определения противовирусных производных гуанина. Журн. аналит. химии. – 2016. – Т. 71. – № 6. – С. 618–625. Опубликованные работы, в которые диссертант внес ведущий вклад, полностью отражают научно-практическую значимость, основные научные результаты и выводы диссертационного исследования.

На автореферат диссертации Андрюхиной Е.Ю. поступили следующие отзывы: 1) отзыв доктора химических наук, профессора, заслуженного деятеля науки РФ, главного научного сотрудника Брайниной Хьены Залмановны (ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет»); 2) отзыв доктора химических наук, профессора кафедры аналитической химии Шайдаровой Ларисы Геннадиевны (химический институт им. А.М. Бутлерова, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»); 3) отзыв доктора химических наук, профессора, зав. кафедрой химии, заслуженного работника Высшей школы РФ Оскотской Эммы Рафаиловны (ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева»); 4) отзыв доктора химических наук, профессора кафедры аналитической химии им. И.П. Алимарина Бабкиной Софьи Сауловны (ФГБОУ ВО «Московский технологический университет»); 5) кандидата химических наук, старшего научного сотрудника кафедры электрохимии Максимова Юрия Михайловича (ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», химический факультет); 6) отзыв доктора химических наук, профессора зав. кафедрой химии, метрологии и стандартизации Малука Людмилы Михайловны и доктора химических наук, профессора Стрижова Николая Константиновича (ФГБОУ ВО «Кубанский государственный технологический университет», Институт техносферной безопасности); 7) отзыв доктора химических наук, профессора, зав. кафедрой физики и химии Стожко Натальи Юрьевны и кандидата химических наук, доцента кафедры физики и химии Бельшевой Галины Михайловны («Уральский государственный экономический

университет», Институт торговли, пищевых технологий и сервиса); 8) отзыв кандидата химических наук, доцента кафедры аналитической химии Паршиной Анны Валерьевны и доктора химических наук, профессора, главного научного сотрудника кафедры аналитической химии Бобрешовой Ольги Владимировны (ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», химический факультет). Во всех поступивших отзывах отмечается актуальность решаемых задач, новизна и значимость основных положений и выводов, практическая полезность и перспективность практического использования достигнутых результатов диссертационного исследования. Отмечается большой объем полученного экспериментального материала, хорошее оформление и высокий научный уровень работы. В качестве критических замечаний в некоторых отзывах на автореферат отмечено отсутствие подробного описания предложенного способа активации и селективности отклика углеситаллового электрода; отсутствие достаточного внимания сравнению разработанных методов с ранее известными методами; отсутствие количественных данных в выводах. Имеются вопросы по статистической обработке результатов, по составу некоторых анализируемых образцов. Все замечания имеют частный характер и не влияют на общую положительную оценку диссертации и ее соответствие всем требованиям, предъявляемым к работам такого уровня.

Диссертационный совет отмечает, что, на основании выполненных соискателем исследований:

– *впервые установлена* электрокаталитическая активность углеситаллового электрода с активированной поверхностью (АУСЭ), которая проявляется в снижении электрохимического перенапряжения и увеличении тока анодного окисления ряда биологически активных 7Н- и 9Н-пуринов (пуриновые алкалоиды, пуриновые основания, являющиеся структурными фрагментами нуклеиновых кислот, синтетические аналоги дезоксигуанозина, обладающие широким спектром фармакологического действия, включая противовирусную

и противоопухолевую активность);

– *развиты представления* о редокс-свойствах и механизме электроокисления гидрокси- и аминопроизводных пуринов в водных растворах различной кислотности; *доказано*, что электроокислительные процессы на АУСЭ протекают необратимо с участием эквивалентного числа протонов и электронов по смешанному адсорбционно-диффузионному механизму и сопровождаются разрушением сопряженной системы  $\pi$ -связей в молекуле гетероцикла; *установлена эмпирическая закономерность*, характеризующая влияние функциональных заместителей в молекуле пуринов на их электрохимическую активность; показано, что наиболее благоприятное влияние оказывает присутствие кислородсодержащих групп в положении С2, С6 и С8.

– *получены* кинетические данные и *обсужден* сложный механизм реакции окислительного азосочетания пуриновых алкалоидов с 3-метил-2-бензотиазолинон гидразоном (МБТГ) под действием периодат-ионов, протекающей с образованием сильноокрашенного продукта;

– *разработаны новые* автоматизированные методы проточно-инжекционного анализа (ПИА) с амперометрическим и последовательно-инжекционного анализа (ПослИА) с адсорбционным инверсионно-вольтамперометрическим детектированием, пригодные для количественного определения электрохимически активных производных пурина; *определены* их основные аналитические и метрологические характеристики;

– *разработаны новые* методы ПИА и ПослИА со спектрофотометрическим детектированием пуриновых алкалоидов в растворенных фармацевтических препаратах; цикл измерений в системе ПослИА составляет 60 с при скорости реакционного потока 20 мкл/с – 60 с, объем пробы – 150 мкл; цикл измерений в системе ПИА составляет 30 с при скорости реакционного потока 2.4 мл/мин и объема пробы – 200 мкл;

– показана целесообразность применения разработанных методов для экспресс-определения и контроля содержания производных пурина в лекарственных формах и биологических жидкостях.

Применительно к проблематике диссертации:

1. *результативно использованы* принципы проточно-инжекционного анализа и последовательно-инжекционного анализа в сочетании с методами прямой амперометрии, адсорбционной инверсионной вольтамперометрии и спектрофотометрии; экспериментальные приемы модифицирования поверхности углеситаллового электрода под действием ультразвука, потенциостатической и анодно-катодной поляризации в кислой среде; принцип on-line сорбционного отделения мешающих компонентов в системе ПИА со спектрофотометрическим детектированием.
2. *впервые изложены, научно и экспериментально обоснованы аргументы*, доказывающие аналитическую полезность активированного углеситаллового электрода для определения биологически активных производных пуринов в водных растворах в широком диапазоне концентраций;
3. *экспериментально установлена взаимосвязь* между структурными особенностями пуринов и их электрохимической активностью на АУСЭ;
4. *впервые реализован подход* для автоматизированного определения следовых количеств пуриновых оснований и их синтетических аналогов с противовирусной активностью на основе сочетания принципов ПослИА и адсорбционной инверсионной вольтамперометрии;
5. в развитие методологии ускоренного химического анализа *раскрыты возможности* использования принципов проточно-инжекционной амперометрии для реализации экспериментальной оценки фармацевтической эквивалентности твердых лекарственных форм – тест «Растворение»;
6. *экспериментально исследован химизм и установлены оптимальные условия* протекания хромогенной реакции совместного окисления пуриновых алкалоидов с 3-метил-2-бензотиазолинон гидразоном под действием периодат-ионов в неравновесных гидродинамических условиях.

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

1. *разработана* автоматизированная проточно-инжекционная система (тест «Растворение») для экспериментальной оценки фармацевтической эквивалентности твердых лекарственных форм и выявления фальсифицированных препаратов. Несомненным преимуществом предложенной системы перед стандартными фармакопейными методиками на основе УФ-спектрофотометрии является возможность увеличить частоту отбора проб, обеспечить более высокую селективность и уменьшить влияние плацебо (< 2 %);
2. *разработан* автоматизированный метод для определения следовых количеств биологически важных производных пурина на наномолярном уровне, основанный на *in-situ* накоплении определяемых веществ на АУСЭ при разомкнутой цепи в контролируемых условиях массопереноса и их последующее инверсионно-вольтамперометрическое детектирование в режиме остановленного потока фонового электролита; метод представляется мощным инструментом количественной оценки биологически активных пуринов в медико-биологических объектах благодаря следующим преимуществам: минимальному объему потребляемых образцов, высокой степени автоматизации и выполнению всех стадий анализа в строго контролируемых условиях;
3. *разработан* проточно-инжекционный метод с амперометрическим детектированием электрохимически активных производных пурина, пригодный для экспресс-анализа растворенных форм фармацевтических препаратов и характеризующийся высокой производительностью – 75–90 ч<sup>-1</sup> при объеме пробы 500 мкл;
4. *разработан* проточно-инжекционный способ для спектрофотометрического определения кофеина в комбинированных препаратах-анальгетиках, включающий *on-line* сорбционное отделение мешающих



компонентов (парацетамола) на микроколонке, заполненной сильноосновным анионообменником Amberlite IRA-401.

Оценка достоверности результатов диссертационного исследования выявила

*для экспериментальных работ:*

1. все результаты экспериментальных исследований получены с использованием оборудования мирового уровня, которое подвергали необходимым плановым процедурам поверки;
2. на всех этапах исследований использованы возможности электронно-вычислительной техники; обработку и визуализацию данных электрохимических экспериментов проводили с помощью пакета компьютерных программ Origin 6.1. В случае спектрофотометрических экспериментов использовали программный пакет SuperFlow Duo и OOIBase 32 software; все экспериментальные зависимости и градуировочные графики обрабатывали с использованием дисперсионного анализа в MS EXCEL. Уравнения линейной регрессии рассчитывали методом наименьших квадратов.
3. правильность полученных результатов анализа оценивали способом «введено-найдено» или с использованием стандартных образцов (ДНК сои); для исключения матричных эффектов применяли метод стандартных добавок; для оценки воспроизводимости результатов анализа проводили метрологическую оценку с использованием двух статистических параметров – относительного стандартного отклонения и ширины доверительного интервала.
4. данные экспериментов, полученные в диссертационной работе, согласуются с соответствующими данными других исследователей, в части, где это сравнение возможно.
5. применение исходных химических веществ, объектов анализа и соответствующего оборудования аргументировано и научно обосновано.

*для теории:*

1. теоретические основы работы опираются на общепризнанные фундаментальные подходы, исключая неоднозначную трактовку полученных результатов;
2. результаты и выводы, полученные в диссертационной работе с использованием большой выборки экспериментальных данных, научно обоснованы и согласуются с ранее опубликованными сведениями в части, где это допустимо;
3. обработка и визуализация полученной информации проведена с использованием современных компьютерных программ, исключая неоднозначную трактовку;
4. приемы и методы обобщения полученной информации научно обоснованы и аргументированы.

*Личный вклад соискателя.* Вклад соискателя в настоящую работу заключался в систематизации литературных данных и самостоятельном выполнении практически всех экспериментальных исследований по теме диссертации; в активном участии при постановке задач и планировании эксперимента, в проведении совместно с руководителем обработки экспериментальных данных, анализа и интерпретации полученных результатов.

Таким образом, диссертация Андрюхиной Елены Юрьевны «Проточные методы определения биологически активных производных пурина» представляет собой законченный научно-квалификационный труд, в котором содержится решение актуальной задачи в области создания автоматизированных методов количественного определения биологически активных производных пурина, имеющей важное научно-практическое значение для развития методологии фармацевтического анализа и клинической диагностики.

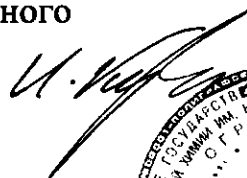
Диссертационная работа Андрюхиной Елены Юрьевны «Проточные методы определения биологически активных производных пурина» в полной

мере соответствует критериям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 в ред. Постановления № 335 от 21.04.2016, а ее автор является высококвалифицированным специалистом и заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

На заседании диссертационного совета от 21 декабря 2016 г. диссертационный совет принял решение

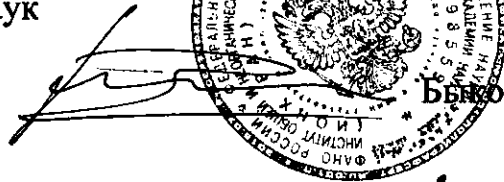
При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 5 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, входящих в состав совета из 25 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту – нет человек, проголосовали: за 19, против – нет, недействительных бюллетеней нет (протокол заседания счетной комиссии № 3 от 21.12.2016).

Председатель диссертационного  
совета, академик



Зжезов Николай Тимофеевич

Ученый секретарь совета,  
кандидат химических наук



Бензов Александр Юрьевич

21.12.2016

