

ОТЗЫВ

официального оппонента **Майстренко Валерия Николаевича** на диссертацию **Ивойловой Александры Всеволодовны** «Вольтамперометрическое определение противовирусных средств Триазавирина® и Триазида. Механизмы их электропревращений», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2. –Аналитическая химия.

Современная аналитическая химия развивается как комплексная научная дисциплина. В последние десятилетия сформировался ряд направлений исследований в области медико-биологического и фармацевтического анализа, которые превратились в самостоятельные научные направления. Одной из таких ветвей является разработка электрохимических сенсоров для идентификации и определения лекарственных соединений, которые являются альтернативой классическим аналитическим методам, поскольку позволяют проводить анализ в режиме реального времени, использовать относительно простые и недорогие приборы и инструменты, практически не тратить дополнительные реагенты. Такие устройства позволяют контролировать также процессы синтеза лекарственных соединений, что делает их использование весьма привлекательным не только в лабораторных условиях. Электрохимические сенсоры позволяют достаточно быстро и просто определять содержание лекарственных веществ в различных средах, в том числе после разделения на хроматографических колонках или в микрофлюидных системах.

Хотя подходы к описанию электродных процессов и применение методов вольтамперометрии для определения лекарственных и биологически активных соединений хорошо известны и рассмотрены в многочисленных публикациях, в том числе в работах ученых Уральской школы электроаналитиков (Брайнина Х. З., Козицына А. Н., Иванова А. В., Стокко Н. Ю. и др.), развитие электрохимии как части физической химии достаточно длительное время шло независимо от возможного аналитического применения полученных результатов. В то же время появление новых аппаратурных методов, электродов и протоколов измерений тесно связано с такими фундаментальными разделами физической химии, как термодинамика, сорбционные процессы и теория растворов. Многие уравнения, активно используемые в прикладных областях электрохимии, имеют термодинамическое обоснование и безусловно справедливы для описания электродных процессов. Так, уравнение Нернста является базовым в потенциометрии, а уравнения Шевчика и Левича основаны на уравнениях, описывающих диф-

фузию анализов к поверхности сенсоров. Имеется большое число публикаций, в которых рассмотрены процессы переноса заряженных частиц из одной фазы в другую, влияние геометрии электрода и условий диффузии на форму и величину аналитического сигнала. Такого рода исследования не только облегчают использование электрохимии для решения конкретных задач аналитической химии, но способствуют также популяризации электрохимических методов, их более широкому применению в фармацевтическом анализе. Высокий уровень теоретической проработки и единство процессов, лежащих в основе регистрации и обработки аналитических сигналов в вольтамперометрии, способствуют совершенствованию материальной базы электроанализа, ускоряют создание сенсоров на основе новых материалов, включая супрамолекулярные структуры и наноматериалы.

Следует заметить также, что протекание на поверхности электродов процессов, аналогичных процессам в живой (окислительно-восстановительные процессы метаболизма и биосинтеза) и неживой (фотохимическое окисление, карбонат-гидрокарбонатное равновесие в поверхностных водах) природе, облегчает понимание электрохимических данных в соответствующих отраслях науки (медицина, биология, геология, гидрохимия, экология и др.). Однако, как справедливо отмечает автор диссертации, механизм электропревращения каждой молекулы является уникальным из-за различий в структурах и окружении, свойствах электродной поверхности, применяемых для изготовления электродов материалов, условий измерений, что требует индивидуального подхода в каждом конкретном случае. Полученные в работе Ивойловой А. В. результаты способствуют пониманию особенностей механизмов электропревращения дигидрата натриевой соли 2-метилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она (Триазавирина®) и моногидрата аргининовой соли 5-метил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиrimидин-7-она (Триазида), что позволило создать новые вольтамперометрические методики количественного определения основного вещества в субстанциях и лекарственных формах. В частности, автором изучены механизмы электрохимического превращения Триазида и Триазавирина® в условиях вольтамперометрии, установлены лимитирующие стадии электродных процессов, оценены термодинамические параметры, число электронов и протонов, участвующих в реакции, на основании данных ЭПР-, ЯМР-спектроскопии и ВЭЖХ, высказаны предположения о структурах промежуточных продуктов, образующихся в ходе электровосстановления. Изучено также влияние материала электрода, способов модификации его рабочей поверхности, условий измерений на величину аналитического сигнала, разработаны методики количественного определения.

ления основного вещества в субстанциях и лекарственных формах Триазавирина® и Триазида, проведены валидационная оценка предложенных методик и их сравнение с известными ВЭЖХ-методиками количественного определения основного вещества в противовирусном препарате Триазавирин® и фармацевтической субстанции Триазид в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи РФ. Учитывая вышеизложенное, актуальность диссертационной работы **Ивойловой Александры Всеволоводны не вызывает сомнений,**

Научная новизна и теоретическая значимость работы состоит в изучении особенностей электропревращения дигидрата натриевой соли 2-метилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она (Триазавирина®) и моногидрата аргининовой соли 5-метил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидин-7-она (Триазида), установлении влияния pH среды, природы заместителей, сопутствующих ионов на механизмы электровосстановления. Показано, что электропревращение может протекать в одну или две стадии в зависимости от структуры молекул. Установлено, что существенное влияние на электровосстановление исследуемых соединений оказывает pH среды, причем присутствие в растворе ионов Na^+ и Li^+ влияет не только на скорость протонирования радикалов дианионов, но и на региоселективность реакции.

Показано, что электропревращение Триазавирина® в водной среде осуществляется за счет двухступенчатого необратимого восстановления нитрогруппы, сопряженной с ароматическим кольцом. При потенциалах первой стадии (pH 2-6) происходит четырехэлектронное восстановление нитрогруппы с образованием анион-радикалов. Выделены и охарактеризованы промежуточные и конечные продукты электровосстановления Триазавирина®. Предложен возможный механизм электровосстановления дигидрата натриевой соли 2-метилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она (Триазавирин®). Установлено, что в кислой среде электровосстановление нитрогруппы Триазида протекает необратимо в одну шестизначную стадию с образованием соответствующего гетероциклического амина. Выделены и охарактеризованы промежуточные и конечные продукты электровосстановления Триазида. Предложен возможный механизм электровосстановления моногидрата аргининовой соли 5-метил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидин-7-она (Триазида) в водной среде при pH 2.

Практическая значимость работы заключается в изучении влияния углеродных наномодификаторов (сажа, функционализированная сажа, углеродные нанотрубки) на аналитический сигнал Триазида. Количественно охарактеризована связь между природой модификатора и аналитическим сигналом нитрогруппы Триазида. Разработана методика количественного определения Триазавирина® в лекарственных и фармацевтических субстан-

циях с использованием толстопленочного углеродосодержащего электрода (ТУЭ). Проведена валидация этой методики при определении Триазавирина® в лекарственных формах, оценена правильность и прецизионность методики. Показано, что минимально определяемая концентрация действующего вещества в Триазавирине® – 0,12 мг/дм³, что в два раза ниже по сравнению с методом ВЭЖХ со спектрофотометрической детекцией. Разработана и валидирована методика количественного определения Триазида в фармацевтической субстанции на стеклоуглеродном электроде (СУЭ). Установлена минимально определяемая концентрация Триазида в фармацевтической субстанции – 6,3 мг/дм³. В выбранном диапазоне концентраций показана правильность и прецизионность методики. Разработана новая методика количественного определения Триазида в фармацевтической субстанции с использованием электрохимического сенсора. Установлено, что минимально определяемая концентрация Триазида в фармацевтической субстанции – 9,3 мг/дм³. Предел определения Триазида в этом случае в 50 раз превосходит метод ВЭЖХ. Методика количественного определения Триазида защищена патентом РФ № 2733397.

Личный вклад автора состоит в формулировании цели и общей постановке задач исследования, литературном обзоре по теме диссертации, выполнении основных экспериментов, в проведении анализа и статистической обработке полученных результатов, написании статей и докладов, аprobации и внедрении результатов исследования, в разработке вольтамперометрических методик определения Триазавирина® и Триазида в лекарственных средствах. Степень достоверности полученных результатов подтверждается использованием комплекса современных методов исследования, публикацией основных результатов в научных журналах и докладах на конференциях. Предлагаемые механизмы электропревращения Триазавирина® и Триазида согласуются с существующими представлениями, описанными в литературе.

Диссертация состоит из введения, семи глав, заключения и списка использованных литературных источников из 277 наименований работ российских и зарубежных авторов, изложена на 161 странице, содержит 25 таблиц и 42 рисунка. Материалы диссертации опубликованы в 5 статьях в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, в материалах 12 докладов на всероссийских и международных научных конференциях, отражены в Патенте РФ (№ 2733397 дата приоритета: 21.02.2019).

Во **введении** раскрыта актуальность темы диссертации, определены цели и задачи исследования, сформулированы научная новизна и практическая значимость работы, методология исследования, положения, выносимые на защиту. Указаны личный вклад автора, сведения об аprobации диссертации и ее структуре.

В литературном обзоре (глава 1) рассмотрены имеющиеся в литературе данные по изучению механизмов электропревращения нитроароматических и нитрогетероциклических соединений, установлению промежуточных, конечных и побочных продуктов электродных реакций нитрогруппы. Рассмотрены работы российских и зарубежных ученых за последние 30 лет в области аналитического контроля лекарственных средств. Особое внимание удалено исследованиям, в которых получены наиболее интересные результаты либо представлены новые методы анализа и пробоподготовки, а также способы улучшения аналитического отклика, требующие применения современных методов аналитической химии. Оценены их достоинства и недостатки. Представлен также краткий обзор электрохимических сенсоров, применяемых в фармацевтическом анализе, дана их классификация, описаны принципы функционирования некоторых датчиков и области их применения.

Во второй главе приведены сведения о реактивах и объектах исследования, материалах, методологической и инструментальной базе.

Третья глава посвящена исследованию механизма электропревращения действующего вещества препарата Триазавирин®. Согласно полученным автором данным, электропревращение Триазавирина® происходит посредством необратимого электровосстановления нитрогруппы, сопряженной с ароматической системой. Основным процессом на первой стадии (рН 2-6) является четырехэлектронное электровосстановление нитрогруппы, лимитирующей стадией является медленная дегидратация гидроксиаминопроизводного вследствие внутримолекулярных переносов протонов между атомами азота и кислорода. Реакция сопровождается образованием дианион-радикала, промежуточными продуктами реакции являются димеры.

Глава 4 посвящена вольтамперометрическому определению действующего вещества препарата Триазавирин®. В качестве аналитического сигнала был выбран максимальный ток первого пика восстановления нитрогруппы (диапазон потенциалов от 0,0 до -0,4 В). Рабочим электродом служил ТУЭ. Полученные результаты свидетельствуют, что аналитический сигнал линейно зависит от концентрации основного вещества в интервале 0,1–180,0 мг/дм³. Минимально определяемая концентрация 0,12 мг/дм³ почти в 2 раза ниже по сравнению с методом ВЭЖХ со спектрофотометрической детекцией. Предложенная методика была успешно применена для анализа капсул Триазавирина® с минимальной подготовкой пробы к анализу (растворение точной навески в воде).

В главе 5 исследован механизм электропревращения Триазида. Установлено, что электровосстановление Триазида протекает в одну шестиэлектронную стадию с образованием гетероциклического амина через образование промежуточного дианион-радикала. Напряжение и потенциал восстановления Триазида в аprotонной среде в значительной степени вли-

яют ионы Na^+ , Li^+ . Изменяется не только скорость протонирования дианионных радикалов, но и региоселективность реакции. В водной среде Триазид восстанавливается в протонированной форме, при наличии Na^+ процесс электровосстановления нитрогруппы протекает с меньшим перенапряжением.

Шестая глава включает в себя результаты вольтамперометрического определения действующего вещества фармацевтической субстанции Триазид на СУЭ. В качестве аналитического сигнала был выбран максимальный ток нитрогруппы в диапазоне потенциалов от 0,0 до -0,7 В. Автором проведен выбор оптимальных условий регистрации вольтамперограмм и параметров режима регистрации. Полученные результаты свидетельствуют, что аналитический сигнал Триазида линейно зависит от концентрации в интервале 20–180 мг/дм³. Это позволяет использовать метод стандартных добавок для определения Триазида в условиях квадратно-волновой вольтамперометрии. Валидационные испытания показали, что разработанный метод соответствует критериям прецизионности, является правильным и селективным, что позволяет использовать его для анализа фармацевтических субстанций Триазида на содержание основного вещества.

В 7 главе приведены результаты определения действующего вещества фармацевтической субстанции Триазид на модифицированных ТУЭ. Были сравнены величины токов, форма и воспроизводимость аналитических сигналов Триазида на разных электродах. Для всех электродов получены линейные зависимости тока и площади пика восстановления Триазида от концентрации в диапазоне 25–200 мг/дм³. Установлено, что только углеродные нанотрубки в качестве модификаторов дают приемлемую точность анализа с правильностью около 100 %, что позволяет использовать их в аналитических целях. Разработанная методика количественного определения Триазида на СУЭ успешно применена и для ТУЭ/УНТ. В этом случае аналитический сигнал Триазида линейно зависит от концентрации в интервале 25–200 мг/дм³. Предел обнаружения и минимально определяемая концентрация Триазида почти в 50 раз ниже метода ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием.

В заключении и выводах в сжатом виде обобщены полученные автором результаты и намечены пути дальнейших исследований. Сформулированные в работе выводы конкретны и обоснованы. Научная новизна исследований, их теоретическая и практическая значимость, обоснованность положений, изложенных в диссертации, большой объем экспериментальных данных позволяют сделать вывод о высоком качестве рассматриваемой диссертации. Работа написана современным научным языком, иллюстрирована рисунками, наглядно отражающими экспериментальные результаты и зависимости. Автор владеет современными методами электрохимии и материаловеде-

ния, методами математической обработки результатов измерений, оценки погрешности, достаточно обоснованно объясняет полученные экспериментальные данные. По диссертации имеются следующие замечания, которые не являются принципиальными, а лишь позволяют уточнить отдельные аспекты работы и сделанные выводы.

1. В диссертации приведен большой экспериментальный материал по разработке сенсоров для определения противовирусных средств. С чем связан выбор именно указанных материалов для модификации сенсорной поверхности электродов и способов ее активации? Это не совсем ясно из текста диссертации. Кстати, чем обусловлена необходимость представлении такого количества значащих цифр в таблицах 3.1-3.3 и какова их достоверность?
2. Не представлены данные по выбору соотношений компонентов при модификации поверхности электродов. Были ли проведены такие исследования, если да, как они экспериментально обосновывались?
3. Довольно много погрешностей по оформлению полученного экспериментального материала. Некоторые из представленных в диссертации рисунков низкого качества (нечеткие подписи и обозначения осей, количество значащих цифр на осях не одинаково), отсутствует единообразие в оформлении (разные шрифты на одном рисунке, разные по размеру графики, отсутствие делений и т.п.). Почему при построении градирочных зависимостей не указаны ни доверительный интервал, ни стандартное отклонение? В уравнениях линейной регрессии доверительные интервалы также не представлены.
4. Далее, если в качестве аналитического сигнала предпочтительнее использовать площадь пика, то почему ее не использовали (стр. 73). Из таблицы 4.2. не ясно, для какого именно графика приведены соответствующие характеристики. Почему в таблице 6.5 указаны характеристики лишь одного градирочного графика, если речь идет о трех? Нумерация рисунка 6.5 в тексте неверная (стр. 102). В таблице 7.2. две таблицы с разным количеством столбцов. Почему такая таблица пронумерована как одна?
5. Не ясно, почему в качестве рабочих потенциалов при концентрировании Триазавирина на поверхности ТУЭ (стр. 71) были выбраны потенциалы в диапазоне 0.2-1.0 В, а для СУЭ при определении Триазида 1.0-0.1 В (стр. 101). Производился ли эксперимент по выбору времени наложения и диапазону рабочих потенциалов?

Несмотря на указанные замечания диссертационная работа **Ивойловой Александры Всеволодовны** «Вольтамперометрическое определение противовирусных средств Триазавирина® и Триазида. Механизмы их электропревращений» по актуальности ре-

шаемых задач, научной новизне, объему и значимости основных положений и выводов, практической полезности достигнутых результатов в полной мере соответствует критериям, установленным в п. 9 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» и предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2 – Аналитическая химия, а автор работы, Ивойлова Александра Всеволодовна, заслуживает присуждения искомой ученой степени.

Официальный оппонент, доктор химических наук (1.4.2. Аналитическая химия), профессор, член-корреспондент Академии наук Республики Башкортостан, заведующий кафедрой аналитической химии ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий»

Майстренко Валерий Николаевич

2 декабря 2022 года

Почтовый адрес: 450076, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Заки Валиди д. 32
УУНиТ, химический факультет, кафедра аналитической химии.

Телефон: 8(347) 2299712, e-mail: V_maystrenko@mail.ru

