

## Відгук

офіційного опонента на дисертаційну роботу *Плотиці Сергія Івановича* на тему «*Вольтамперометричне визначення місцевих анестетиків групи амідів з попередньою дериватизацією*», яка представлена на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук із спеціальності 02.00.02 – аналітична хімія

Дисертація Плотиці С.І. присвячена систематичному вивченню вольтамперометричного перетворення кількох місцевих анестетиків групи амідів – лідокаїну (Лд), тримекаїну (Тр), мепівакаїну (Меп), бупівакаїну (Буп), новокаїну (Нов) і бензокаїну (Бен) та їх дериватів, які одержані за рахунок хімічного й електрохімічного окиснення, діазотування, азосполучення, на різних робочих електродах. У роботі оптимізовані умови вольтамперометричного визначення анестетиків, на основі чого запропоновано методики їх визначення у лікарських препаратах, модельних розчинах слини та сечі. Деякі розроблені методики валідовано згідно вимог Державної фармакопеї України.

### **1. Актуальність теми дисертаційної роботи та її зв'язок з державними або галузевими науковими програмами, пріоритетними напрямками розвитку науки і техніки. Загальна характеристика роботи**

Внаслідок широкого використання місцевих анестетиків (і можливого побічного ефекту їх дії), безпечне та ефективне використання лікарських засобів потребує багаторівневого контролю їхньої якості на всіх етапах виготовлення, починаючи від синтезу субстанції і завершуючи отриманням готових лікарських форм. Крім того, треба контролювати вміст діючих речовин не тільки в готових лікарських формах, а й їхні залишкові кількості й метаболіти у фізіологічних рідинах. Тому актуальним залишається питання розроблення нових методик визначення місцевих анестетиків (МА) у фармпрепаратах (для попередження їх фальсифікації), у крові, сечі та інших біологічних матеріалах.

Як альтернатива дорогим хроматографічним методам визначення МА залишається вольтамперометрія, яка у поєднанні з дериватизацією дозволяє вирішувати різноманітні завдання щодо контролю вмісту МА. Вольтамперометрія повністю задовольняє вимогам селективності, чутливості та надійності. Проте, для розробки відповідних методик визначення МА у різноманітних об'єктах (фармпрепарати, біологічні рідини, тощо) необхідне вивчення вольтамперометричного перетворення МА та їх дериватів на різних електродах. Вирішенню саме цих завдань присвячена дисертаційна робота Плотиці Сергія Івановича.

Дисертаційна робота є частиною досліджень, які виконували на кафедрі аналітичної хімії Львівського національного університету імені Івана Франка в межах держбюджетних тем «Сорбенти українських родовищ у пробопідготовці, аналізі та очищенні вод, технологічних розчинів, біосубстратів і лікарських засобів» (номер держреєстрації: 0113U003054; термін виконання: 01.01.2013 –

31.12.2015 рр.) і «Закарпатські цеоліти в аналітичній хімії розсіяних елементів, бактерицидних, протипухлинних засобів та інших біологічно активних речовин» (номер держреєстрації: 0116U001541; термін виконання: 01.02.2016 – 31.12.2018 рр.).

Загальний обсяг дисертаційної роботи становить 193 сторінки друкованого тексту, що складається зі вступу, п'яти розділів, до кожного розділу наведено список цитованої літератури, висновків, чотирьох додатків. Основний текст дисертаційної роботи становить 150 сторінок, вона містить 63 рисунки, 63 таблиці.

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми, сформульовано мету та завдання дослідження, зазначено наукову новизну та практичне значення одержаних результатів.

**Перший розділ** присвячено огляду літератури, в якому коротко охарактеризовано анестетики з погляду їхніх хіміко-фармакологічних властивостей, детально розглянуто методи визначення МА у лікарських формах і біологічних рідинах. Особливу увагу приділено використанню методу вольтамперометрії в аналізі лікарських засобів загалом і для визначення анестетиків зокрема: проаналізовано механізми електрохімічного перетворення МА на робочих електродах різної природи, аналітичні характеристики вольтамперометричних методик визначення МА, окреслено переваги і недоліки використання вольтамперометрії.

У **другому розділі** автором описано використані у роботі вихідні речовини, зокрема, субстанції анестетиків, приготування вихідних розчинів МА, приготування і стандартизація розчинів окисників; описано використане обладнання, методики експериментальних досліджень, методику виготовлення композитних електродів, процедуру вимірювань і статистичне опрацювання результатів аналізу.

**Третій розділ** дисертаційної роботи «Реакції окиснення для вольтамперометричного визначення місцевих анестетиків групи амідів» присвячений вивченню реакцій окиснення для вольтамперометричного визначення МА. На прикладі лідокаїну (Лд) для хімічного окиснення анестетиків опрацьовано використання кількох окисників: калій дихромату, калій перманганату, амоній або калій персульфату, кислоти Каро, потрійної солі калій пероксимоносульфату (комерційний Оксон, КПМС), пероксифталевої і метаклоропербензенової кислот. Встановлено, що для хімічного окиснення (дериватизації) анестетиків серед багатьох окисників доцільніше використовувати пероксимоносульфат: високочистий комерційний реагент Оксон або кислоту Каро, яку легко синтезувати в лабораторних умовах з доступних реактивів. Встановлено, що при цьому анестетики групи амідів

утворюють N-оксиди, а новокаїн (Нов) і бензокаїн (Бен) окиснюються за первинною аміногрупою. Просту процедуру одержання полярографічно-активних дериватів МА – N-оксидів Лд, тримекаїну (Тр), мепівакаїну (Меп) і бупівакаїну (Буп) за допомогою КПМС уніфіковано: рН в межах 8,5 – 9,5; концентрація КПМС не повинна перевищувати  $10^{-4}$  М, тривалість окиснення не менше 5 хв, кімнатна температура. Зміною рН робочого розчину до кислого (в межах рН 3 – 5) зупиняють окиснення анестетиків.

N-оксиди МА необоротно відновлюються на ртутному краплинному електроді (р.к.е.) у межах рН 2,0 – 8,0 за участю одного електрона і одного протону з утворенням одного піка на полярограмі. Потенціали піків відновлення для різних МА відрізняються, тому є можливою їхня якісна ідентифікація. Полегшується відновлення N-оксидів МА в ряді Лд<Тр<Меп<Буп, що повністю узгоджується зі структурою самих МА.

Наявність первинної аміногрупи у молекулах Бен і Нов зумовлює подібність процесів їхнього окиснення КПМС та відновлення на р.к.е. відповідних дериватів. Показано, що Бен і Нов окиснюються КПМС за первинною аміногрупою. Оптимальні умови окиснення: не менше, ніж п'ятикратний надлишок КПМС, тривалість окиснення не менше, ніж 10 хв за температури для Бен 45-55°C і 75-85°C для Нов. Продукти окиснення необоротно відновлюються на р.к.е. у межах рН 2 – 9 з утворенням від одного до чотирьох піків на полярограмі (залежно від рН) за участю чотирьох електронів і трьох протонів за рН 4,0.

Бен окиснюється на мініатюрному товстоплівковому алмазному, допованому бором, електроді (АДБЕ) з утворенням одного необоротного піка за потенціалів від +0,9 до +1,18 В (залежно від рН) за участю двох електронів і одного протона (відповідає окисненню аміногрупи). Плівковий АДБЕ для визначення МА використано вперше. За оптимальних умов струми відновлення дериватів МА на р.к.е. чи окиснення Бен на АДБЕ лінійно залежать від концентрації МА в широких межах концентрацій з коефіцієнтами кореляції, які прямують до 1. Це дає змогу використовувати залежності  $I$ , мкА від САН, моль/л для кількісного визначення МА.

**Четвертий розділ** «Діазотування й азосполучення як реакції дериватизації для полярографічного визначення місцевих анестетиків» присвячений діазотуванню й азосполученню як реакцій дериватизації для полярографічного визначення Бен та Нов. Ці МА містять первинну аміногрупу, яку можна діазотувати нітритною кислотою, а утворену діазосіль використати для реакції азосполучення. Для обох МА простежується один пік відновлення діазосолі за потенціалу приблизно -0,2 В. Одержані діазосолі Бен та Нов вступають у реакції азосполучення з  $\beta$ -нафтолом, саліциловою кислотою і резорцином. Однак, найліпші метрологічні характеристики вимірювання струму відновлення азосполук одержано з використання резорцину.

**П'ятий розділ** «Застосування розроблених методик визначення МА в аналізі об'єктів різної природи» присвячено розробці та апробації нових методик визначення МА у фармпрепаратах, біологічних рідинах та модельних розчинах з використанням вольтамперометрії. Проведено, також, валідацію методик полярографічного визначення Лд і Меп у розчинах для ін'єкцій з дериватизацією з використанням Оксону валідували згідно з Державної фармакопеї України. У висновках до розділу 5 автор проводить порівняння відомих і запропонованих методик визначення МА за чутливістю та особливістю пробопідготовки.

## **2. Обґрунтованість наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих в дисертації. Наукова новизна одержаних результатів**

Дисертаційна робота добре продумана і спланована, експериментальна частина роботи виконана коректно, що у поєднанні із сучасними методами дослідження і сучасного лабораторного обладнання є запорукою достовірності одержаних результатів.

При апробації методик визначення відновників, автор проводить статистичну обробку результатів дослідження, правильність одержаних результатів підтверджується методом «введено-знайдено» та порівняння одержаних результатів із даними сертифікатів на фармпрепарати. Тому, обґрунтованість наукових положень і висновків дисертації не викликає сумніву.

Узагальнення одержаних результатів з урахуванням наукової новизни дозволяє стверджувати, що у дисертаційній роботі Плотиці С.І. вирішено актуальне аналітичне завдання – розширення аналітичних можливостей визначення анестетиків у різних складних об'єктах вольтамперометричним методом, за рахунок отримання вольтамперометрично активних форм (детиватизація). Це дозволило автору розробити конкурентоспроможні методики визначення МА, які мають високу чутливість, прийнятну селективність і задовільні метрологічні характеристики.

У дисертаційній роботі Плотиці С.І. вперше:

- запропоновано різні підходи для отримання електрохімічно активних аналітичних форм місцевих анестетиків: хімічне й електрохімічне окиснення, діазотування, азосполучення;

- обґрунтовано, що для хімічного окиснення (дериватизації) МА серед багатьох окисників доцільніше використовувати калій пероксимоносульфат. Доведено, що при цьому анестетики групи амідів утворюють N-оксиди, а Нов і Бен окиснюються за первинною аміногрупою. Калій пероксимоносульфат для дериватизації Нов і Бен використано вперше;

- встановлено, що N-оксиди необоротно відновлюються на р.к.е. у межах рН 2,0 – 8,0 за участю одного електрону і одного протону з утворенням одного піка на полярограмі, а продукти окиснення Нов і Бен відновлюються на р.к.е. у межах рН 2,0 – 8,0 з утворенням від одного до чотирьох піків на полярограмі

(залежно від рН) за участю чотирьох електронів і трьох протонів за рН 4,0. Запропоновано механізми відновлення на р.к.е. відповідних дериватів;

- для вольтамперометричного визначення Бен використали мініатюрний товстоплівковий алмазний електрод, допований бором (АДБЕ). Бен необоротно окиснюється на цьому електроді в межах рН 2,0 – 12,0 за участю двох електронів і одного протона з утворенням одного піка на вольтамперограмі. Запропоновано механізм окиснення Бен на АДБЕ;

- для полярографічного визначення Бен та Нов використано їхні діазосоли, а також відповідні азосполуки з резорцином. Встановлено, що діазосоли МА відновлюються на р.к.е. легше, ніж відповідні азосполуки, а результати визначення за відновленням діазосолей є точнішими.

### **3. Повнота викладених основних результатів дисертації у наукових виданнях з урахуванням встановлених вимог. Ідентичність змісту автореферату та основних положень дисертації**

Результати дисертаційної роботи Плотиці С.І. достатньо повно відображені у наукових публікаціях автора. За результатами роботи опубліковано 9 наукових статей, серед них 6 у журналах, які індексуються міжнародними наукометричними базами Scopus і Web of Science (три – у журналах, які мають Impact Factor). Результати роботи апробовані на 14 наукових конференціях різного рівня.

*Зміст автореферату дисертації відображає основні положення, які представлені у дисертаційній роботі.*

### **4. Значущість висновків здобувача для науки та практики, можливі конкретні шляхи використання результатів досліджень**

Дисертаційна робота має яке теоретичне, так і практичне значення. Теоретичне значення роботи полягає як у вдосконаленні методології вольтамперометричних досліджень, так і у поясненні механізмів перетворення МА та їх дериватів на електродах.

Практичне значення роботи полягає в уніфікації простих процедур одержання полярографічно-активних дериватів МА: N-оксидів Лд, Тр, Меп, Буп за допомогою калію пероксимоносульфату; продуктів окиснення Нов і Бен за допомогою калію пероксимоносульфату; діазосолей Нов і Бен та відповідних їм азосполук з резорцином. Встановлено оптимальні умови відновлення на р.к.е. цих дериватів. Головною особливістю методики визначення МА з використанням N-оксиду як аналітичної форми є можливість прямого визначення метаболітів анестетиків – їхніх N-оксидів, крім того, N-оксиди можуть бути домішкою у субстанції МА.

Розроблено нові методики полярографічного визначення МА, для яких характерні широкі межі лінійності (1,5-2 порядки), низька межа визначення ( $10^{-7}$  –  $10^{-6}$  моль/л), достатня точність і селективність. Встановлено, що метрологічні характеристики полярографічного визначення Бен і Нов з

дериватизацією за реакціями діазотування й азосполучення є задовільними, що дозволяє на практиці використати ці методики.

Розроблено нові методики визначення Бен у складних лікарських засобах і модельних зразках сечі людини з використанням мініатюрного товстоплівкового алмазного допованого бором електрода. Методом диференціально-імпульсної вольтамперометрії з використанням цього робочого електрода можна досягнути межі виявлення Бен 80 нмоль/л з мінімальною пробопідготовкою.

Нові методики перевірено під час аналізу однокомпонентних розчинів для ін'єкцій, комбінованих лікарських засобів, а також на модельних зразках слини і сечі людини. Результати аналізу порівнювали з результатами випробувальних лабораторій Державної адміністрації України з лікарських засобів, які надали сертифікати якості. Окремі методики було валідовано згідно з Державної фармакопеї України. Результати валідаційної оцінки підтвердили коректність напрацьованих методик.

Методику полярографічного визначення Бен з дериватизацією за реакцією окиснення калій пероксимоносульфатом (у таблетках від болю горла «Фарисіл») впроваджено у лабораторний практикум дисципліни за вибором студента «Аналіз лікарських засобів» для студентів освітнього рівня «магістр» хімічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка. Методики полярографічного визначення Лд, Бен та Нов з дериватизацією за реакцією окиснення калій пероксимоносульфатом (у розчинах для ін'єкцій) впроваджено у практику ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів.

## **5. Зауваження, питання та побажання до змісту дисертаційної роботи та її оформлення**

1. На мою думку, мета роботи сформульована не коректно, як і узагальнюючий висновок. У дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук повинне бути вирішена конкретне наукове завдання (задача), для досягнення якої і проводяться дослідження. Мета роботи, яка сформульована автором, виглядає як спосіб її досягнення.

2. В обґрунтуванні актуальності теми дисертації, автор робить акцент на «зелену хімію», проте у роботі використаний ртутний краплинний електрод, а також при визначенні тримекаїну (у мазі «Левосин») пропонується екстракція гексаном. Тому, вольтамперометрія, попри переваги, у такому варіанті не може вважатися екологічно дружньою.

3. Зауваження по метрології:

- у таблицях, де представлено дані апробації методик визначення анестетиків (табл. 3-5 автореферату, табл. 5.2-5.4, 5.7-5.13 дисертації) не вказано кількість паралельних досліджень та довірчу імовірність ( $n=?$ ,  $P=?$ );

- у таблицях (табл. 3-5 автореферату, табл. 5.2-5.4, 5.7-5.13 дисертації) зазначаються вимоги НД для лікарських форм подекуди із значним діапазоном

можливого вмісту діючих речовин. Яку інформацію це дає при апробації методик, адже ці данні не можуть слугувати для оцінки правильності пропонованих методик;

- у табл. 5.2, автор порівнює результати визначення Лідокаїну (у Лідокаїн Дарниці®) одержані розробленими методиками лише з даним НД і взагалі не представляє дані сертифікату, як і при визначенні Меп у розчині для ін'єкцій «Merivastesin» (табл. 5.8), при визначенні Бен у таблетках «Доритрицин» і пастилках «Септолете Плюс» (табл. 5.11) та визначенні Бен у розчині «Herbaden» (табл. 5.12). В останніх двох випадках автор навіть розраховує ступінь визначення (Z) у порівнянні з вимогами НД, що є некоректним;

- вважаю, що сертифікат на лікарські засоби, є недостатнім критерієм для оцінки правильності пропонованих методик. Слід було застосувати і інші альтернативні методики визначення анестетиків.

4. Автор стверджує (п. 5.8.3 дисертації, с. 16 автореферату), що спиртовий розчин для зовнішнього застосування «Меновазин» містить одночасно Нов та Бен. Пропонована автором методика дозволяє визначати лише суму цих анестетиків (внаслідок близькості потенціалів піків їх відновлення), що автори вважають за перевагу. Вважаю, що це твердження є спірним.

5. Результати апробації методики визначення лідокаїну в слині у дисертації не представлені, тому важко оцінити метрологічні характеристики пропонованої методики.

6. Вважаю, що висновки є надто великими (9 пунктів). Висновки повинні перекликатись із поставленими у роботі завданнями. Крім того, у п. 8 висновків, автор стверджує, що метрологічні характеристики нових методик не поступаються стандартним методикам, проте останні не представлені (представлено лише межу виявлення).

7. Зауваження по оформленню роботи:

- при оформленні дисертації автор проводить нумерацію використаних літературних джерел у межах розділів, як і представляє список використаних джерел після цих розділів. Це є рукопис і право автора, проте вважаю, що список використаних джерел доцільно було б зробити загальним;

- представлені експериментальні дані на деяких рисунках (наприклад, рис. 3.2, 3.3, 3.8 б, 3.9 б, 3.10 а, 3.11, 3.20, 3.21, 4.2, 4.3, 4.4, 4.13, 4.15, тощо) повинні бути апроксимовані, адже виникає уявлення про похибки на кривих оптимізації;

- автор дисертації представляє не лише висновки до відповідних розділів (це є доцільним), але і висновки до підрозділів (у розділі 3), що додає роботі непотрібного зайвого об'єму;

- у роботі зустрічають невдалі вислови, наприклад, «високі метрологічні характеристики», тощо.

Виказані зауваження не є принциповими. Вони не стосуються основних положень дисертації і не зменшують наукової значимості дисертаційної роботи Плотиці Сергія Івановича.



## 6. Загальний висновок по дисертаційній роботі

В цілому, дисертаційна робота Плотиці С.І. «Вольтамперометричне визначення місцевих анестетиків групи амідів з попередньою дериватизацією», яка представлена на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук із спеціальності 02.00.02 – аналітична хімія, є завершеним та цілісним науковим дослідженням. За актуальністю, науковою новизною, обсягом проведених досліджень, достовірністю отриманих висновків та практичною значимістю дисертаційна робота відповідає вимогам нормативних актів щодо кандидатських дисертацій, зокрема Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року № 567, а її автор, Плотиця Сергій Іванович, заслуговує присудження йому наукового ступеня кандидата хімічних наук із спеціальності 02.00.02 – аналітична хімія.

Офіційний опонент:

Завідувач кафедри екології та охорони  
навколишнього середовища ДВНЗ  
«Ужгородський національний університет»,  
доктор хімічних наук, професор



Сухарев С.М.

23.12.2020 р.

Підпис д.х.н., проф. Сухарева С.М. засвідчую:

Вчений секретар ДВНЗ «УжНУ»



к.т.н., доц. Мельник О.О.