

## ВІДЗИВ

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Плотиці Сергія Івановича**  
«Вольтамперометричне визначення місцевих анестетиків групи амідів з попередньою  
дериватизацією», представлену на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за  
спеціальністю 02.00.02 - аналітична хімія.

**Актуальність теми досліджень.** Розробка простих і доступних методик визначення біологічно- активних сполук, у тому числі місцевих анестетиків у фармацевтичних препаратах та біологічних рідинах - важливе завдання сучасної аналітичної хімії. Відомі класичні хроматографічні методики вимагають складної пробопідготовки та високоякісного обладнання. Перспективною альтернативою хроматографічним методам аналізу є вольтамперометрія, що дозволяє швидко з мінімальною пробопідготовкою проводити визначення електрохімічно активних речовин у різноманітних об'єктах із задовільною точністю, вибірковістю та чутливістю. Зазвичай вольтамперометричне визначення місцевих анестетиків, які містять аміногрупи, проводять за струмом окиснення. Проблемою такого визначення є заважаючий вплив відновників, що входять до складу лікарських засобів. Для покращення точності і вибіркової визначення зазначених анестетиків перспективним підходом є їх попередня дериватизація шляхом реакцій окиснення- відновлення, діазотування, азосполучення і подальшого вимірювання струму відновлення отриманих дериватів. Важливим вбачається оптимізація умов дериватизації досліджених анестетиків для отримання максимально стабільного і чутливого аналітичного сигналу. Окрім ртутного індикаторного електроду перспективним є застосування модифікованих вуглецевих та металічних електродів, що мають значно меншу токсичність і можуть бути використані для отримання чутливих елементів вольтамперометричних сенсорів для визначення анестетиків у біологічних об'єктах. Виходячи із сказаного, робота **Плотиці С.І.**, що присвячена проблемі отримання електрохімічно- активних анестетиків групи амідів (лідокаїну (Лд), тримекаїку (Тр), мепівакаїну (Меп), бупівакаїну (Буп), новокаїну (Нов), бензокаїну (Бен)) і розробці вольтамперометричних методик їх визначення за допомогою ртутного, вуглецевого і платинового електродів у фармацевтичних препаратах і біологічних рідинах є **актуальним завданням**.

Дисертаційна робота виконана відповідно до основного наукового напрямку кафедри 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” (№ держреєстрації: 0113U003054; термін виконання: 01.01.2013 – 31.12.2015 р.р.) і “Закарпатські цеоліти в аналітичній хімії розсіяних елементів, бактерицидних, протипухлинних засобів та інших біологічно активних речовин” (№ держреєстрації: 0116U001541; термін виконання: 01.02.2016 – 31.12.2018 р.р.).

Дисертаційна робота викладена на 193 сторінках друкованого тексту, складається зі вступу, п'яти розділів, висновків; містить 63 таблиці і 63 рисунки, 4 додатки.

**Наукова новизна** одержаних в дисертації результатів полягає в оптимізації умов дериватизації анестетиків, що містять у своєму складі аміно та амідні групи за допомогою реакцій окиснення-відновлення, діазотування, азосполучення для отримання максимально стабільного і високочутливого аналітичного сигналу цих речовин. Доведено, що як окисник найбільш перспективно використовувати пероксимонсульфат, у присутності якого

анестетики групи амідів утворюють N-оксиди, а Нов і Бен окиснюються за первинною аміногрупою. Для вольтамперометричного визначення Бен використано товстоплівковий алмазний допований бором електрод (АДБЕ). Запропоновано механізм окиснення Бен на АДБЕ. Для полярографічного визначення Бен та Нов використано їх діазосоли, а також відповідні продукти азосполучення з резорцином. Встановлено, що діазосоли анестетиків відновлюються на ртутному крапельному електроді легше, ніж відповідні азосполуки, а результати визначення діазосолей за струмом відновлення є точнішими порівняно з відновленням продуктів азосполучення. Розширено та поглиблено уявлення про застосування попередньої дериватизації для визначення анестетиків групи амідів методами вольтамперометрії у фармацевтичних препаратах і біологічних рідинах.

**Практичне значення** дисертаційної роботи **Плотиці С.І.** полягає в оптимізації умов окиснення анестетиків: Лд, Тр, Меп, Буп, з використанням калій пероксимоносульфату (КПМС), отримання діазосолей Нов і Бен та відповідних азосполук шляхом реакції азосполучення з резорцином; розробці методик полярографічного визначення отриманих дериватів на ртутному крапаючому електроді та вольтамперометричного визначення Нов і Бен із використанням алмазного допованого бором електрода. Методики характеризуються задовільною правильністю, відтворюваністю і високою чутливістю. Розроблені методики успішно апробовані при визначенні зазначених вище сполук у лікарських засобах та біологічних рідинах.

Методики полярографічного визначення Лд і Меп у розчинах для ін'єкцій валідовано згідно з ДФУ. Методику полярографічного визначення Бен, що включають попередню дериватизацію за реакцією окиснення калій пероксимоносульфатом, у таблетках від болю в горлі “Фарисіл” впроваджено у лабораторний практикум для студентів освітнього рівня “магістр” хімічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка. Методики полярографічного визначення Лд, Бен та Нов з попередньою дериватизацією за реакцією окиснення калій пероксимоносульфатом у розчинах для ін'єкцій впроваджено у практику ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів.

**Достовірність** отриманих результатів забезпечується використанням у роботі сучасних і класичних фізико-хімічних методів аналізу, а також адекватною обробкою отриманих даних. Правильність результатів аналізу з використанням розроблених методик доведено методом “введено-знайдено” та шляхом порівняння з результатами, отриманими у незалежній лабораторії, а також зазначеними у нормативній документації.

**Обґрунтованість** наукових положень і висновків дисертації базується на великому обсязі експериментальних результатів, їх всебічному аналізі в рамках сучасних підходів і положень.

### **Оцінка змісту дисертації**

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми дисертаційної роботи, сформульовано мету досліджень та способи її досягнення, показано наукову новизну і практичне значення отриманих результатів.

У **першому розділі** дисертації охарактеризовано місцеві анестетики, а саме: їх хімічну будову, методи визначення. Значна увага приділена характеристиці вольтамперометричних методів визначення лікарських засобів, у тому числі анестетиків, у біологічних об'єктах та фармацевтичних препаратах. Зроблено висновок про перспективність розробки полярографічних і вольтамперометричних методик визначення анестетиків, що містять аміногрупу з використанням попередньої дериватизації. Літературний огляд свідчить про обізнаність дисертанта з проблематикою дослідження.

У **другому розділі** обґрунтовано методи і об'єкти дослідження, викладено методики дериватизації, вольтамперометричних вимірювань і розрахунків, також наведено методики модифікування досліджених у роботі плівкових електродів.

У **третьому розділі** здобувач розглядає особливості застосування реакцій окиснення-відновлення для подальшого визначення Лд, Тр, Меп, Буп за струмом відновлення отриманих дериватів на р.к.е. Порівняно вплив природи і концентрації окисників, часу і температури проведення реакції з метою отримання стабільного та найбільш інтенсивного аналітичного сигналу відповідного анестетику. Зроблено висновок про перспективність використання як окисника комерційного препарату Оксон (калій пероксимоносульфату-КПМС) у 4-5-кратному молярному надлишку по відношенню до дослідженого анестетику. Оптимізовано умови визначення Лд, Бен, Нов на р.к.е. з попереднім окиснення КПМС, а саме: кислотність розчинів, час проведення реакції, температура, умови полярографування отриманих дериватів. На основі аналізу вольтамперних кривих і даних літератури зроблено висновки щодо можливого механізму перебігу реакцій, а саме: аміногрупа анестетиків окиснюється до N- оксиду, який потім необоротно відновлюється на р.к.е. за участю протонів. При цьому струм відновлення контролюється дифузією. Для Нов і Бен нітрогрупа відновлюється за участю 4 електронів до гідроксиламіну. Отримано градувальні графіки для визначення досліджених анестетиків, що характеризуються широким діапазоном лінійності ( $1 \cdot 10^{-6}$  –  $5 \cdot 10^{-5}$  М) і низькою межею виявлення ( $1 \cdot 10^{-6}$  М).

Вперше досліджено окиснення Бен на алмазному допованому бором мікроелектроді (АДБЕ). Доведено, що анестетик необоротно окиснюється на електроді при потенціалі 0,8 - 0,9 В. Оптимізовано умови визначення Бен з використанням методів диференційно - імпульсної і квадратно- хвильової ВА. Отримано градувальний графік для визначення Бен, що характеризується широким діапазоном лінійності ( $1 \cdot 10^{-7}$ - $1 \cdot 10^{-5}$  М), і низькою межею виявлення ( $1 \cdot 10^{-7}$  М).

У **четвертому розділі** автор наводить результати оптимізації умов діазотування і азосполучення анестетиків, що містять первинну аміногрупу (Нов та Бен) та Лд, що утворює диметиланілін у процесі гідролізу. Діазотування проводили нітритною кислотою у середовищі НСІ. Для азосполучення використовували β-нафтол і резорцин. Як аналітичний сигнал використовували струм відновлення отриманих дериватів. Автором показано, що для отримання стабільного аналітичного сигналу при вимірюванні вмісту діазосолей та продуктів азосполучення достатній час контакту реакційної суміші – 5 хв за кімнатної температури. Отримано градувальні графіки для полярографічного визначення відповідних дериватів Нов, Бен і Лд. Встановлено, що діазосоли анестетиків відновлюються на ртутному крапельному електроді легше, ніж відповідні азосполуки, а результати визначення діазосолей за струмом відновлення є точнішими порівняно з відновленням продуктів азосполучення. Зроблено висновок про високу чутливість розроблених методик, проте через їх трудомісткість і довготривалість перевагу надано методикам окиснення анестетиків з використанням КПМС.

У **п'ятому розділі** автор наводить методики визначення місцевих анестетиків, а саме: Лд, Бен, Нов, Тр, Меп у лікарських препаратах та біологічних рідинах методами полярографії і вольтамперометрії з використанням р.к.е. та допованого бором алмазного мікроелектроду. Переверено вплив потенційних заважаючих речовин на струм відновлення досліджених дериватів. Визначенню не заважають більшість неорганічних іонів, сахароза, сечовина у 200-кратних надлишках по відношенню до анестетиків. Заважають визначенню поліетиленгліколі (компоненти багатьох мазей), трилон Б, ментол, хлоргексидин. Для усунення їх заважаючого впливу автор використовує два підходи: розбавлення розчину, що

аналізується та екстракційне відділення цільового аналіту від матриці. Розроблені методики характеризуються задовільною правильністю і відтворюваністю, отримані результати добре узгоджуються з результатами, отриманими незалежними лабораторіями. Проведено валідацію методики визначення Лд і Мен у розчинах для ін'єкцій згідно ДФУ. Методики вольтамперометричного визначення Лд і Нов впроваджено у Національній референс-лабораторії з контролю залишкових кількостей діючих речовин ветеринарних препаратів та кормових добавок. Отримані у роботі результати розширюють вибір доступних і точних методик визначення місцевих анестетиків у фармацевтичних об'єктах.

Загалом, робота справляє позитивне враження.

**До роботи можна висловити ряд запитань і зауважень :**

1. Р. 3, С. 95. Яким чином автор довів, що у процесі окиснення досліджених анестетиків утворюється лише один продукт, а не їх суміш?
2. При дослідженні процесів окиснення та діазотування анестетиків варто було б підтвердити утворені продукти дериватизації методами ЯМР, мас-спектрометрії або хроматографії
3. Р. 3, С 97. При оптимізації умов визначення продуктів окиснення Нов на р.к.е. автор зазначає, що за  $\text{pH} < 5$  природа струму дифузійна, а за  $\text{pH} 7,5$  кут нахилу білогарифмічної залежності: сила струму- швидкість сканування, прямує до 1, що свідчить про адсорбцію. Як можна пояснити хімізм процесу на електроді при зміні  $\text{pH}$  розчину? Чи впливатиме  $\text{pH}$  розчину на протолітичну рівновагу продуктів окиснення Нов?
4. Автор вказує, що при полярографічному визначенні продуктів окиснення анестетиків вміст КПМС не повинен перевищувати 4-5-кратний молярний надлишок відносно аналіту. Яким чином визначити оптимальну концентрацію окисника при аналізі розчину, що містить невідому кількість аналіту, а також інші відновники?
5. Чи потрібна регенерація алмазного допованого бором електроду після кожного циклу вимірювань? Який час життя такого електроду при визначенні анестетиків за реакцією окиснення ?
6. Р. 2.2.1, С 62 і Р. 3.4, С 105. Незрозуміло, з якою метою при одержанні плівки поліаналіну на поверхні Pt електроду додавали Бен? Чи видаляли Бен з поверхні утвореної плівки перед вимірюваннями? Яким чином оптимізували вміст Бен у плівці?
7. С. 112, рис.3.32, 3.33. Як можна пояснити «злами» на градувальних залежностях для визначення Бен, що отримані на алмазних допованих бором електродах?
8. Р. 5. Вбачається доцільним порівняти переваги розроблених методик визначення анестетиків з описаними у літературі вольтамперометричними і полярографічними методиками без попередньої дериватизації.
9. Цікаво знати думку автора, стосовно перспектив застосування розроблених методик визначення місцевих анестетиків у біологічних рідинах. Чи достатня чутливість і вибірковість методик для визначення залишкових кількостей анестетиків у слині, сечі, крові ? Чи можна таким чином визначати продукти метаболізму цих анестетиків?

Зазначені зауваження не відіграють принципового значення при загальній позитивній оцінці роботи. Дисертаційна робота **оформлена належним чином**, матеріал викладено чітко і логічно. Текст дисертації свідчить про належний теоретичний, експериментальний та науковий рівень автора.

Автореферат, 9 статей, надрукованих у фахових наукових журналах, шість з яких англomовні, та 14 тез доповідей на конференціях різного рівня відображують основний зміст дисертаційної роботи.

**Заклучна оцінка дисертаційної роботи.** На основі вище викладеного вважаю, що дисертаційна робота «Вольтамперометричне визначення місцевих анестетиків групи амідів з попередньою дериватизацією» являє собою завершене наукове дослідження, за актуальністю обраної теми, обсягом експериментального матеріалу, його обговоренням, теоретичним і практичним значенням отриманих результатів, науковою новизною, обґрунтованістю висновків, за змістом і оформленням повністю відповідає вимогам 9, 11, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою КМУ № 567 від 24.07.2013 р. зі змінами, внесеними згідно з Постановою КМУ № 656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12.2015 р. та № 567 від 27.07.2016 р, а дисертант – **Плотиця Сергій Іванович** - заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.02 – аналітична хімія. Робота містить нові науково обґрунтовані результати, які у сукупності є суттєвими для розвитку електроаналітичної хімії, зокрема вольтамперометричного аналізу.

Офіційний опонент  
зав. кафедри аналітичної хімії  
Київського національного університету  
імені Тараса Шевченка,  
кандидат хімічних наук, доцент



О.Ю. Тананайко

22 грудня 2020 року

Пішим засідком  
Вчорай секретар НДЧ  
КАРАУЛЬНА Н.В.  
22.12.2020р.

