

## ВІДГУК

Офіційного опонента на дисертаційну роботу Варинського Бориса Олександровича «Хроматографічне та мас-спектрометричне визначення активних фармацевтичних інгредієнтів – похідних 3-тіо-1,2,4-тріазолу в лікарських засобах та біологічних об'єктах» поданої до спеціалізованої Вченої ради Д 17.600.03 Запорізького державного медичного університету на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

### **Актуальність теми.**

Дисертаційна робота Варинського Бориса Олександровича виконана відповідно до вимог сучасного фармацевтичного аналізу та біоаналітичної методології, які характеризуються переважним використанням ВЕРХ та ВЕРХ-МС методів.

Основною метою даної дисертаційної роботи є проведення аналітичного та біоаналітичного забезпечення розробки та впровадження лікарських та ветеринарних засобів, низки нових похідних 3-тіо-1,2,4-тріазолу, які вже зареєстровані (ветеринарні трифузол, авесстим), знаходяться на етапі реєстрації (засіб для людини - тіометризол) та інші, які вивчаються як перспективні лікарські речовини. Трифузол та авесстим використовуються для лікування хвороб вірусної етіології, що має додатковий інтерес в умовах вірусної пандемії. Дана робота необхідна для забезпечення контролю фармакологічної ефективності, безпеки використання препаратів, що пов'язано із створенням бази методик, які дозволяють визначати, як основні компоненти так і домішки в лікарських субстанціях і засобах. Окрему важливість представляє собою створення методик визначення залишкових кількостей активних фармацевтичних інгредієнтів в біологічному матеріалі, а також для вивчення швидкості біотрансформації сполук. Таким чином дисертаційна робота є сучасною і актуальною.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертацію виконано згідно до планів науково-дослідної роботи Запорізького державного медичного університету за темами «Розробка, валідація методик аналізу та дослідження АФІ – похідних 1,2,4-тріазолу з використанням хроматографії та мас-спектрометрії» (номер державної реєстрації 0116U005829) та «Створення методик аналізу та дослідження похідних 1,2,4-тріазолу як перспективних активних фармацевтичних інгредієнтів з використанням високоефективної рідинної хроматографії» (номер державної реєстрації 0120U101650).

### **Оцінка обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.**

Наукові положення, висновки і рекомендації складені на підставі численних експериментів, які оцінені за допомогою статистичних критеріїв.

Оптимальні умови мас-спектрометричного детектування та хроматографічного розділення, які взяти за основу розроблених методик аналізу пропонувані на підставі достовірно встановлених закономірностей.

Дисертант теоретично обґрунтував і експериментально підтвердив методики кількісного визначення відповідно до валідаційних критеріїв Державної фармакопеї України, а також керівництва із валідації біоаналітичних методик Європейської агенції із лікарських засобів, які є у вітчизняних методичних рекомендаціях.

Достовірність первинних матеріалів кандидатської дисертації перевірила комісія, робота виконана на сучасній повіреній дослідницькій апаратурі, метрологічні аспекти роботи перевірено спеціалістом-метрологом.

Розділи дисертації викладені на високому науковому рівні і побудовані на результатах проведених фізико-хімічних, біологічних, фармако-токсикологічних та статистичних методів дослідження.

### **Наукова новизна одержаних результатів.**

В дисертаційній роботі запропоновано науково підтверджений підхід до розв'язання важливої проблеми сучасної фармацевтичної промисловості, який полягає в аналітичній підтримці нових лікарських засобів, похідних 3-тіо-1,2,4-тріазолу при впровадженні їх в фармацевтичну практику. В роботі новим є використання поліноміальних регресійних моделей для визначення оптимальних умов роботи іонного джерела електроспрей на прикладі низки напівпродуктів та продуктів в синтезі низки 3-тіо-1,2,4-тріазолу.

Уперше проведено вивчення хроматографічної поведінки в умовах високоефективної рідинної хроматографії низки нових похідних 3-тіо-1,2,4-тріазолів, та напівпродуктів в їх синтезі в залежності від вмісту ацетонітрилу та температури. Встановлені закономірності показників ліпофільності від характеристик утримування вказаних сполук. Вперше надані схеми ВЕРХ-МС фрагментації даних речовин.

Розроблені наукові підходи апробовані для створення нових аналітичних методик. На підставі вивчених закономірностей надані оптимальні умови, які були покладені в основі оригінальних хроматографічних та хромато-мас-спектрометричних методик кількісного визначення низки АФІ, похідних 3-тіо-1,2,4-тріазолу, технологічних домішок в субстанціях, лікарських препаратах. Запропоновані нові методики виявлення залишкових кількостей АФІ у біологічному матеріалі для токсикоаналітичних досліджень, а також для визначення фармакокінетики і метаболізму.

На прикладі визначення АФІ нових лікарських засобів трифузол, авесстим, тіометризол розроблені методики апробовані також на реальних зразках субстанцій, лікарських препаратів, біологічного матеріалі.

Новими є термодинамічні характеристики утримування досліджуваних сполук, що були експериментально визнані в ході хроматографічних експериментів по вивченню залежності утримування від температури.

Результати дослідження стресової деградації АФІ тіометризолу та трифузолу були отримані вперше. Вперше отримані дані вивчення фармакокінетики та метаболізму тіометризолу в плазмі крові щурів.

Наявність патенту України на винахід та трьох патентів на корисну модель підтверджує наукову новизну роботи.

### **Теоретичне та практичне значення одержаних результатів.**

Вивчені закономірності мас-спектрометричної детекції, хроматографічного утримування, хромато-мас-спектрометричної фрагментації, стресової деградації, метаболізму, фармакокінетики нових похідних 3-тіо-1,2,4-тріазолу має велике теоретичне та практичне значення.

Дисертаційна робота присвячена вирішення проблеми аналітичного забезпечення якості та безпеки низки нових лікарських засобів на етапах розроблення та впровадження в фармацевтичну і ветеринарну практику. Методичну базу впроваджено в роботу дослідних та контролюючих лабораторій Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок, а також фармацевтичних заводів ТОВ «Науково-виробнича фірма «БроваФарма», ТОВ «Українська фармацевтична компанія».

Фармакопейний стандартний зразок АФІ тіометризолу розроблено спільно і впроваджено в діяльність Державного підприємства «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів».

Розроблені науково-методичні підходи та методики впроваджені в науково-педагогічний процес кафедри фармацевтичної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; кафедри аналітичної хімії, кафедри природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, кафедри фармацевтичної хімії, кафедри фізколоїдної хімії Запорізького державного медичного університету; кафедри токсикологічної та аналітичної хімії, кафедри загальної, біонеорганічної, фізколоїдної хімії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького;

кафедри промислової фармації ДЗ «Луганський державний медичний університет»; кафедри неорганічної та фізичної хімії Національного фармацевтичного університету; кафедри фармацевтичних дисциплін Ужгородського національного університету; кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету.

### **Структура, зміст і оформлення дисертації.**

Дисертаційна праця викладена на 410 сторінках і складається із вступу, восьми розділів, які включають огляд літератури і експериментальну частину, переліку використаної літератури, якій складається із 374 джерел.

Перший розділ є оглядом літератури і висвітлює питання, пов'язані із аналізом існуючих підходів щодо розробки ВЕРХ та ВЕРХ-МС методик. В першу чергу ретельно розглянути ВЕРХ та ВЕРХ-МС методики аналізу похідних 1,2,4-тріазолів. Також проаналізовано стан аналітичного забезпечення активних фармацевтичних інгредієнтів препаратів трифузол, авесстим, тіометризол, з метою обґрунтування важливості створення принципово нової фармакоаналітичної бази для цих засобів, на основі використання ВЕРХ та ВЕРХ-МС методів.

Другий розділ присвячений опису об'єктів, які є новими і цікавими, тому що практично не вивчені в аналітичному аспекті. Також в цьому розділі описані методи, використані для дослідження об'єктів.

Розділи 3-8 присвячено експериментальним дослідженням із визначення оптимальних умов мас-спектрометричного детекції, оптимізації хроматографічного утримання, розробленню та валідації методик кількісного визначення АФІ та технологічних домішок в субстанції та лікарських формах, залишкових кількостей АФІ в біологічному матеріалі, дослідженню прискореної деградації АФІ, вивченню метаболізму та фармакокінетики.

## **Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах і авторефераті.**

За дисертацією опубліковано 43 публікації, з яких 12 в наукових фахових виданнях України, 9 статей в журналах України та іноземних (Польщі, Туреччини, Індонезії, Індії), що індексуються в міжнародних наукометричних базах Scopus і Web of Science, видана одна монографія, підготовано Методичні рекомендації МОЗ України, отримано один патент на винахід, 3 патенти на корисну модель, представлено 11 тез доповідей на міжнародних та загальноукраїнських конференціях. Вважаю, що публікації та автореферат повністю відображають основний зміст дисертаційної роботи. Дисертаційна робота починається з анотації, яка оформлена згідно вимог наказу № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» українською та російською мовами.

*Загальна оцінка роботи є беззаперечно позитивною. При розгляді дисертаційної роботи виникли деякі зауваження та рекомендації:*

1. На стор. 69-72, 86, 87, 189 відсутня нумерація формул.
2. При описі деяких методик не зазначено виробника та назву хроматографічних колонок.
3. На мою думку, при проведенні валідації аналітичних методик необхідно було також проводити вивчення межі виявлення, межі кількісного визначення та робастності.
4. Не зрозуміло, чому підготовка зразків при визначенні АФІ тріфузолу в м'ясі значно відрізняється від підготовки зразків при визначенні в інших біологічних об'єктах. Вважаю за доцільне проведення уніфікації підготовки зразків.
5. Рекомендаційною є пропозиція щодо продовження досліджень з валідації біоаналітичної методики морфоліній 2-((4-(2-метоксифеніл)-5-піридиніл)-4*h*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату в плазмі крові щурів.
6. У тексті дисертації зустрічаються друкарські помилки та неточності.

Наведені недоліки не впливають на позитивну оцінку роботи, а також на теоретичну та практичну значимість одержаних результатів.

У порядку проведення наукової дискусії вважаю за доцільне, щоб дисертант відповів на наступне запитання:

Які додаткові метаболіти утворювались при біотрансформації АФІ тіометризолу, крім метилопохідного?

**Відповідність дисертації вимогам п. 10 «Порядку присудження наукових ступенів».** На підставі викладеного вище вважаю, що дисертаційна робота Варинського Бориса Олександровича на тему: «Хроматографічне та мас-спектрометричне визначення активних фармацевтичних інгредієнтів – похідних 3-тіо-1,2,4-тріазолу в лікарських засобах та біологічних об'єктах» є завершеним науковим дослідженням, яке за актуальністю, новизною, достовірністю результатів і висновків, теоретичним і практичним значенням, публікаціям у фахових виданнях, за рівнем виконання і впровадженням відповідає вимогам п.10 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567 (зі змінами), а її автор Варинський Борис Олександрович заслуговує присвоєння наукового ступеня доктора фармацевтичних наук зі спеціальності 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент:

завідувачка кафедри фармацевтичної хімії

Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського,

доктор фармацевтичних наук, професор



Л. С. ЛОГОЙДА

*Логойда Л. С.*