

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора фармацевтичних наук, завідувача кафедри фармацевтичної хімії Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, професора **Логайди Лілії Святославівни**, на дисертаційну роботу **Сафонова Андрія Андрійовича** на тему «**Синтез, перетворення, фізико-хімічні і біологічні властивості похідних 1,2,4-триазолу, які містять тіофен-2-ілметильний замісник**», поданої до спеціалізованої Вченої ради Д 17.600.03 Запорізького державного медико-фармацевтичного університету на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

1. Актуальність теми дисертаційної роботи та її зв'язок з державними і галузевими програмами, пріоритетними напрямками розвитку науки та техніки.

Сучасна світова фармація швидко розвивається. Кожного дня синтезується величезна кількість нових речовин, які можуть бути перспективними лікарськими засобами. Створюються нові препарати, як ветеринарного так і фармацевтичного призначення. Впровадження в фармацевтичну практику нових оригінальних ефективних лікарських засобів – одне з найважливіших соціальних та економічних завдань сучасної фармацевтичної галузі. В цьому плані перспективним напрямком є похідні 1,2,4-триазолу, що підтверджується величезною кількістю літературних джерел. Відомо, що синтетичні похідні триазолу можуть проявляти протимікробну, протигрибкову, противірусну, діуретичну, антигіпоксичну, гепатопротекторну та інші види біологічної активності. Таким чином, пошук нових перспективних АФІ серед похідних 1,2,4-триазолу є актуальним завданням сьогодення.

Дисертаційна робота Сафонова Андрія Андрійовича присвячена спрямованому пошуку нових біологічно активних сполук серед похідних 1,2,4-триазолів, які містять тіофен-2-ілметильний замісник та створенню на їх основі потенційного АФІ з актопротекторною та стреспротекторною дією. Виходячи з вищепереліченого, представлена дисертаційна робота Сафонова А.А. є, безперечно, актуальною.

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідної роботи Запорізького державного медичного університету за темами: «Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 3,4-дизаміщених 3(5)-тіо-1,2,4-триазолу з антиоксидантною, антигіпоксичною, антимікробною, кардіо- та гепатопротекторною дією» (№ держреєстрації 0118U007143) та «Синтез, модифікація та дослідження властивостей похідних 1,2,4-триазолу з метою створення antimікробного лікарського засобу» (№ держреєстрації 0120U101649).

2. Ступінь обґрутованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Аналіз матеріалів дисертації демонструє, що достовірність результатів, які представлені в роботі, не викликає жодних сумнівів. Це пояснюється застосуванням перевірених

сучасних фізико-хімічних методів аналізу та загальноприйнятих методів встановлення біологічних властивостей отриманих речовин. Автором доведена будова комплексним використанням спектральних методів та елементного аналізу. Сформульовані висновки логічні та аргументовані і відповідають змісту наведеного матеріалу. Визначення параметрів токсичності синтезованих речовин, протимікробної, протигрибкової, протитуберкульозної, аналгетичної, антигіпоксичної, діуретичної, актопротекторної, антирадикальної, антиоксидантної активності виконано згідно сучасних підходів до визначення фармакологічної активності. Наукові положення, які викладені у роботі, мають переконливий характер та змістовні, що дозволяє наведені дисертантом результати визнавати надійними та правдивими. Висновки сформульовані в роботі коректні, науково обґрунтовані, логічні та повністю відповідають змісту дисертаційної роботи, викладені точно та послідовно.

3. Новизна дисертаційних досліджень. В дисертаційній роботі запропоновано узагальнені підходи до спрямованого пошуку нових біологічно активних речовин серед похідних 1,2,4-триазолу, які містять тіофен-2-ілметильний замісник, та створення на їх основі потенційного АФІ з актопротекторною та стреспротекторною дією.

До результатів, які мають елементи наукової новизни можна віднести:

- розробку препаративних методів синтезу вихідних 4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолу та 3-(тіофен-2-ілметил)-1H-1,2,4-триазол-5-тіолу та отримання нових 4-R-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів.
- синтез нових 4-R-3-(алкілтіо)-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазолів, 3-(R-тіо)-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазолів, 3-((R-тіо)-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-4-амінів, 5,5'-(R-диілбіс(сульфандиіл))біс-3-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазолів, 2-((5-(тіофен-2-ілметил)-4-R-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанолів, 1-((4-R₁-феніл)-2-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанонів.
- розробку методу синтезу 2-((4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанових кислот та отримання на їх основі солі, естери та гідразиди.
- доведення доцільності використання мікрохвильового опромінення в реакції ацилування похідних 4-(R-аміно)-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів, а також оптимізація методів циклізації 4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолу з ароматичними або гетероциклічними кислотами у 6-R-3-(тіофен-2-ілметил)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазоли.
- синтез нових 2-((4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-R-іденацетогідразидів.
- отримання нової бази даних показників фармакологічних випробувань отриманих речовин та залежності «будова-дія», як результат виявлення фармакологічно активної речовини, яку рекомендовано для подальших поглиблених досліджень з можливістю впровадження у фармацевтичну та медичну практики.

- дослідження показників гострої токсичності «сполуки-лідер» та впливу високих доз речовини на біохімічні та гістологічні параметри.
- розробку проекту методів контролю якості для найбільш активної субстанції – натрій 2-((4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетату для виготовлення нестерильних форм.

Наукову новизну дисертаційної роботи підтверджено 3 патентами України на винахід та 3 патентами на корисну модель.

4. Теоретичне значення результатів дослідження. Дисертаційна робота та наведені в ній результати досліджень мають теоретичне значення для сучасної фармацевтичної та хімічної науки. Заслуговує на увагу також підхід автора до спрямованого синтезу біологічно активних сполук з використанням сучасних методів. Вважаю за необхідне виділити теоретично важливі аспекти роботи. Теоретичне значення запропонованої роботи також полягає в застосуванні методів *in silico*, що надало можливість мінімізувати використання тварин в експериментальних цілях. Дослідження проведені дисертантом надали змогу відібрати найефективніші біологічно активні сполуки та рекомендовані для подальших поглиблених досліджень з перспективою впровадження у медичну та фармацевтичну практику.

5. Практичне значення результатів дослідження. Створено стратегічний масив нових синтетичних речовин похідних 4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тіолу та 3-(тіофен-2-ілметил)-1Н-1,2,4-триазол-5-тіолу, серед яких знайдені сполуки з протимікробною, протигрибковою, протитуберкульозною, аналгетичною, антигіпоксичною, діуретичною, актопротекторною, антирадикальною, антиоксидантною активностями.

На основі поглиблених фармакологічних досліджень запропоновано потенційний стреспротекторний засіб, який стимулює працездатність – натрій 2-((4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетат та розроблено і апробовано проект методів контролю якості для виготовлення нестерильних форм.

Одержані результати досліджень впроваджені в наукову та навчально-методичну роботу ряду вищих навчальних закладів України, що підтверджено відповідними актами.

6. Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях. За матеріалами дисертації опубліковано 47 робіт, з яких 27 статей (22 статті у наукових фахових виданнях України та інших країн, з яких 5 входять до наукометричної бази *Scopus*, 2 входять до наукометричної бази *Web of Science*), 6 патентів України на винахід та на корисну модель, 14 тез доповідей.

Результати досліджень доповідались на науково-практичних конференціях різних рівнів.

Опубліковані матеріали та результати достатньо повно розкривають та передають зміст дисертаційної роботи, відображають сутність та висновки виконаної роботи.

7. Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації та автореферату, завершеності дисертації в цілому. Дисертація викладена у класичному стилі зміст. Робота складається із анотацій, списку опублікованих праць, вступу, семи

розділів, загальних висновків, списку використаних джерел і з додатків (окремою частиною). Загальний обсяг дисертації 426 сторінок машинописного тексту, обсяг основного тексту 296 сторінок, робота проілюстрована 59 таблицями, 226 рисунками. Список використаних джерел містить 289 найменувань, з них 100 кирилицею та 189 латиною.

В *першому розділі* представлено аналіз літературних даних щодо сучасних методів синтезу, перетворення та біологічних властивостей похідних 1,2,4-триазолу, основні шляхи їх хімічної модифікації.

Показано, що існуючі синтетичні підходи та методи не є вичерпними, а фармакологічні та біологічні властивості в ряду 1,2,4-триазол-3-тіолу досліджені не в повному об'ємі.

У *другому розділі* дисертаційної роботи представлено методи синтезу вихідних 4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів, наведено реакції утворення іліденпохідних та їх відновлення, описано та реалізовано синтез 3-алкіл(арил-,гетерил-)тіопохідних з використанням як вже добре відомих методів, так і застосовуючи мікрохвильовий синтез. Представлено метод синтезу 5,5'-(R-диілбіс(сульфандиіл))біс(3-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазолів.

Третій розділ присвячений синтезу 1-(4-R₁-феніл)-2-(R)-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанонів, 2-((4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанових кислот їх солей, естерів та гідразидів. Автором описано та здійснено отримання кисневмісних сполук. Представлено синтез естерів 2-((4-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанових кислот як прямою естерифікацією етанових кислот відповідними спиртами, в тому числі із застосуванням для збільшення швидкості реакції системи мікрохвильового синтезу, так і алкілованням синтезованих тіолів естерами хлоретанової кислоти.

У *четвертому розділі* наведено мікрохвильовий синтез N-R-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-4-іл)ацетамідів, та досліджено вплив часу на перебіг реакції. Описано та реалізовано циклізацію вихідного тіолу з ароматичними кислотами у 6-R-3-(тіофен-2-ілметил)-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазоли. Представлено синтез ряду 2-((4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-R-іденацетогідразидів.

П'ятий розділ дисертації присвячений детальному аналізу фармакологічних досліджень протимікробної, протигрибкової, протитуберкульозної, аналгетичної, антигіпоксичної, діуретичної, актопротекторної, антирадикальної, антиоксидантної дії. Автором досліджено та створено базу даних щодо закономірностей залежності біологічної активності від замісників за 1,2,4-триазоловим циклом. На основі досліджень виявлено найбільш перспективні сполуки.

У *шостому розділі* наведено результати дослідження параметрів специфічної активності та нешкідливості. Представлено та опрацьовано дані щодо впливу «сполуки-лідер» на біохімічні показники плазми крові. Описані гістологічні дослідження органів щурів. Також дисертантом встановлено середньоефективну дозу. Матеріал досліджень подано на сучасному науковому рівні.

Сьомий розділ дисертаційної роботи присвячений дослідженню фармакокінетичних параметрів, а саме визначеню періоду напіввиведення, розрахунку фармакокінетичної кривої, дослідженню можливих метаболітів та розробці методів контролю якості на «сполуку – лідер» для виготовлення нестерильних форм.

Після кожного розділу дисертант наводить висновки.

В кінці наукової роботи також представлено загальні висновки, що витікають зі всієї дисертаційної роботи.

Автореферат дисертації як за структурою, так і за змістом відповідає основним положенням дисертації.

Наукова цінність та достовірність результатів даної роботи є беззаперечною. Загальна оцінка роботи є позитивною. Високо оцінюючи рівень дисертаційної роботи, слід проте відмітити деякі зауваження, пропозиції та недоліки:

1. На мою думку, варто було б показати повний дизайн дослідження.
2. В табл. 2.1-2.6, 3.1-3.6, 4.1-4.4 відсутні молекулярні маси.
3. В розділі 2 не описано методологію досліджень, які описано у розділах 5, 6, 7.
4. В розділі 7.3 відсутні результати перевірки придатності хроматографічної системи. Вважаю, що форма піків на рис. 7.3, 7.4 є незадовільною та хроматографічні умови потребують корекції.
5. Доцільно було б вказати різницю у кількісних виходах при синтезі кислот **3.36**, **3.37** різними методами.
6. Беручи до уваги, що в розділі 6.1 наведено прогноз антиоксидантної активності сполуки **3.24** з пероксиредоксином, NO-сінтазою, НАД(Ф)Н-оксидазою, тирозіназою, NMDA рецептором та гемоксигеназою, а в розділі 5.8 приведені отримані результати *in vitro*, доцільним було б показати як ці дані корелюють між собою.
7. Біологічні випробування проводилися відповідно до настанови «Лікарські засоби. Належна виробнича практика. СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2008». Це є стара редакція настанови. Нова настанова - у редакції 2020 року.
8. В роботі зустрічаються поодинокі друкарські помилки (наприклад, час утримання, фармакологічний аналіз та інші).

Запитання:

1. На рис. 2.21, 2.22, 2.26 показано хроматограми та мас-спектри. Вкажіть хроматографічні умови визначення та як вони підбиралися?
2. Вами синтезовано біспохідні 2.89-2.111 додаванням одинарної кількості дигалогеналканів до подвійної кількості вихідних тіолів. Чи не спостерігали утворення мінорного продукту?

Наведені недоліки не є суттєвими і не впливають на загальну високу оцінку дисертаційної роботи Сафонова А.А., а також на теоретичну та практичну значимість одержаних результатів.

8. Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці. Запропоновані дисертантом методи синтезу, теоретичні узагальнення результатів біологічної дії необхідно використати у дослідженнях наукових груп, які працюють в галузі пошуку нових активних фармацевтичних інгредієнтів. Для найбільш ефективних та перспективних сполук необхідно провести поглиблені доклінічні дослідження. Результати вивчення зв'язку «будова-дія» можна використати для цілеспрямованого пошуку синтетичних лікарських засобів в напрямку підвищення ефективності їх дії.

Доцільним є продовження впровадження результатів дослідження, а саме поєднання комп'ютерних та традиційних підходів до пошуку нових лікарських засобів у науковий та навчальний процес для студентів фармацевтичних факультетів.

9. Висновок про відповідність дисертації вимогам п. п. 7 і 9 «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук».

Підсумовуючи наведені факти, можна зробити висновок, що дисертаційна робота Сафонова Андрія Андрійовича на тему «Синтез, перетворення, фізико-хімічні і біологічні властивості похідних 1,2,4-триазолу, які містять тіофен-2-ілметильний замісник» за науковим рівнем, новизною та цінністю одержаних результатів і рекомендацій, а також значною кількістю профільних публікацій за темою дисертації, дотриманням принципів академічної доброчесності повністю відповідає вимогам п. п. 7 і 9 «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук» затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 1197 від 17 листопада 2021 р., а її автор, Сафонов Андрій Андрійович, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент:

завідувач кафедри фармацевтичної хімії
Тернопільського національного медичного університету
імені І. Я. Горбачевського,
доктор фармацевтичних наук, професор


Лілія ЛОГОЙДА

Особистий підпис

заступник ректора з кадрових питань
Тернопільського національного
медичного університету

