

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора фармацевтичних наук, професора Омельянчик Людмили Олександрівни на дисертаційну роботу Ігнатової Тетяни Вікторівни на тему: «Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 4-R-5-фенетил-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх заміщених», поданої до спеціалізованої Вченої ради ДФ 17.600.026 Запорізького державного медичного університету МОЗ України з правом до розгляду та проведення разового захисту на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація»

Актуальність теми дисертації. Дисертаційна робота Ігнатової Тетяни Вікторівни на тему: «Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 4-R-5-фенетил-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх заміщених», присвячена одній з важливих проблем фармації та медицини – цілеспрямованому пошуку нових біологічно активних сполук на основі 1,2,4-тріазолу. На сьогодні кількість публікацій, щодо синтезу та вивчення фармакологічної дії сполук, що містять у своєму складі ядро вищезначеного гетероциклу постійно збільшується. Найголовнішим є те, що з речовинами, в основі яких є молекула 1,2,4-тріазолу, працюють науковці всього світу. Запорізький державний медичний університет не є виключенням. На сьогодні науковцями Запорізького державного медичного університету знайдено величезну кількість молекул, похідних 1,2,4-тріазолу та впроваджено у промисловий випуск ряд лікарських засобів, в тому числі і «Тіотріазолін», «Тіометрізол», «Авесстим» та «Трифузол».

Дисертаційна робота Ігнатової Т. В. присвячена пошуку біологічно активних речовин на основі розробки методик отримання та вивчення властивостей нових похідних 5-фенетил-4-R-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу, що володіють низькими показниками токсичності та широким спектром біологічної дії, завдяки чому можуть стати основою для створення нових

оригінальних лікарських засобів, тому актуальність теми не визиває сумнівів, а дослідження в даному ряду мають теоретичну та практичну значимість.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота Ігнатової Тетяни Вікторівни на тему: «Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 4-R-5-фенетил-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх заміщених» виконана в рамках науково-дослідної роботи Запорізького державного медичного університету з проблеми МОЗ України «Дослідження синтетичних, фізико-хімічних і біологічних властивостей похідних 5-арил- та 5-гетерил-4-R-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолів» (номер державної реєстрації 0118U004249). Автором проведено створення та вивчення властивостей нових похідних 5-фенетил-4-R-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу особисто.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність.

Достовірність одержаних автором результатів не викликає сумніву, тому що для їх інтерпретації дисертантом використано сучасний пакет фізико-хімічних методів аналізу, а саме елементний аналіз, ІЧ-спектрофотометрію та ¹H ЯМР-спектрометрію, метод вискоефективної рідинної хромато-мас-спектрометрії, загальноприйняті і коректні підходи до встановлення фармакологічних властивостей синтезованих сполук та статистична обробка даних.

Наукові положення, висновки і рекомендації, сформульовані у дисертаційній роботі, базуються на експериментальному матеріалі і логічно витікають з отриманих результатів. Висновки за окремими розділами та загальні є науково обґрунтованими, викладені автором чітко та коректно.

Вважаю, що поставлені в роботі завдання реалізовані повною мірою і на високому науковому рівні.

Дисертант при виконанні та написанні дисертаційної роботи дотримувався принципів академічної доброчесності.

Наукова новизна одержаних результатів. Наукова новизна роботи не викликає сумнівів, так як у процесі її виконання вперше описано та підібрано оптимальні умови для кислотного та лужного гідролізу 2-[{5-фенетил-4-R-(1,2,4-тріазол-3-іл)тіо}(ацето-, пропано-, бензо)]нітрилів з отриманням відповідних кислот.

Запропоновано препаративні методики синтезу невідомих раніше 5-фенетил-4-R-1,2,4-тріазол-3-тіонів, 2-[{5-фенетил-4-R-(1,2,4-тріазол-3-іл)тіо}(ацето-, пропано-, бензо)]нітрилів, іміноестерів та солей 2-[5-фенетил-4-R-(1,2,4-тріазол-3-іл)тіо]етанових(пропанових, бензойних) кислот, 6-(5-фенетил-4-R-(1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)піридин-3-амінів, відповідних імінів та продуктів їх селективного відновлення.

Проведена спроба заміни атому Сульфуру у третьому положенні ядра 1,2,4-тріазолу на атом Нітрогену, в результаті чого отримано 5-фенетил-4*H*-1,2,4-тріазол-3-амін та ряд похідних на його основі, а саме 5-фенетил-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл-1-(алкіл-, арил-, гетерил)метаніміни(аміни) та N-(5-фенетил-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)-3-R-тіосечовини.

Завдяки програмі GUSAR-online прогнозовано гостру токсичність для синтезованих раніше 5-фенетил-4-R-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу та його похідних. Вперше вивчено протимікробну та протигрибкову, антипіретичну, гіпоглікемічну, антиоксидантну та антигіпоксичну дії нових синтезованих біологічно активних речовин, що дало змогу встановити закономірності між характером і природою замісників та проявом біологічної активності.

Наукова новизна дисертаційної роботи підтверджена двома патентами України на винахід (№ 119311, № 119312).

Теоретичне значення результатів дослідження. Дисертантом проведено комплексні дослідження, що включали аналіз попередніх досягнень в галузі органічної, фармацевтичної хімії та фармакології. Аналізуючи літературні джерела стосовно нових методів синтезу серед 5-фенетил-4-R-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу, вивчення біологічних властивостей зазначених сполук автором відмічено відсутність відомостей,

щодо узагальнення методів синтезу та вивчення біологічної активності в цьому ряду і вже на цій базі здійснено цілеспрямований синтез нових біологічно активних сполук.

Розширено бібліотеку ІЧ-, ¹Н ЯМР- та ВЕРХ-МС-спектрів похідних 1,2,4-тріазолу, що, в свою чергу, може стати в нагоді науковцям-синтетикам.

Розроблено он-лайн прогноз 36 синтезованих сполук та проведено 44 дослідження на фармакологічну дію речовин, з яких 26 проявили високі показники біологічної активності. Встановлено закономірності впливу замісників по С3- та С4-атому ядра 1,2,4-тріазолу. Результати біологічного скрінінгу можуть бути застосовані вченими, що займаються створенням нових фармакологічно активних препаратів.

В роботі наведено теоретичне узагальнення експериментального синтетичного матеріалу і даних біологічного скрінінгу, в результаті чого запропонована бібліотека біологічно активних сполук вивченого ряду для використання науковцями в подальшому цілеспрямованому синтезі.

Практичне значення одержаних результатів. Дисертаційна робота вирішує важливу практичну задачу фармації з пошуку малотоксичних біоактивних сполук в ряду 5-фенетил-4-*R*-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу. Практична значимість дисертаційної роботи полягає в першу чергу в розробці препаративних методик синтезу 5-фенетил-4-*R*-1,2,4-тріазол-3-тіонів, 5-фенетил-4-*H*-1,2,4-тріазол-3-аміну та їх похідних, що можуть стати в нагоді науковцям-синтетикам, що працюють в напрямі органічної, медичної або фармацевтичної хімії. Розширено бібліотеку ІЧ-, ¹Н ЯМР- та ВЕРХ-МС-спектрів в ряду 5-фенетил-4-*R*-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу, які можуть стати в нагоді науковцям, що займаються синтезом органічних сполук.

В ході проведення експериментальних досліджень зі створення нових похідних 5-фенетил-4-*R*-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу, для поглибленого вивчення запропоновано 1-(бензо[*d*][1,3]діоксол-5-іл)-*N*-(5-фенетил-4-*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)метанімін, що виявив високі показники антигіпоксичної активності. Для нього розроблено та випробувано в напівпромислових

умовах методи отримання, складено та затверджено проєкт технічних умов на кінцевий продукт (24.1-01975472-006:2020), а також проєкт МКЯ на потенційну субстанцію для виготовлення нестерильних лікарських форм, що містить дані стосовно основних характеристик, методів ідентифікації і кількісного визначення основної речовини та можливих супутніх домішок, умов зберігання та терміну придатності.

Результати роботи впроваджено в науковий і освітній процес ряду кафедр закладів вищої освіти України.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах і авторефераті. За матеріалами дисертації опубліковано 18 робіт, які в повній мірі відображають її зміст, із них 7 статей у наукових фахових виданнях (в тому числі журнал в країні, яка входить до Європейського Союзу (Польща), 2 у журналах, що індексуються наукометричною базою Web of Science та Scopus), 2 патенти України на винахід та 9 тез доповідей.

Вважаю, що публікації повністю відображають основний зміст дисертаційної роботи.

Аналіз дисертаційної роботи. Дисертаційна робота Ігнатової Тетяни Вікторівни на тему: «Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 4-R-5-фенетил-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх заміщених», складається з анотації, вступу, огляду літератури, трьох розділів експериментальних досліджень, висновків, списку використаних джерел до кожного розділу та 6 додатків. Обсяг основного тексту 130 сторінок, робота проілюстрована 65 таблицями, 65 рисунками. Бібліографія включає 239 назв джерел літератури, в тому числі 138 іноземною мовою.

У першому розділі «Дослідження методик утворення похідних 1,2,4-тріазолу, реакційної здатності даного гетероциклу та біологічної активності відповідних сполук (огляд літератури)» (24 сторінки) проведено аналіз даних літератури за останні 5 років стосовно методик синтезу, результатів біологічної активності та перспектив, щодо створення лікарських засобів в

ряду 5-фенетил-4-R-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу, що дозволило автору визначити мету і задачі дослідження.

У другому розділі «Синтез 5-фенетил-4-R-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх похідних, фізико-хімічні властивості отриманих речовин» (25 сторінок) було розглянуто синтез, фізико-хімічні властивості та прогнозування подальших реакцій в ряду 5-фенетил-4-R-1,2,4-тріазол-3-тіонів, запропоновано препаративні методики синтезу невідомих раніше 2-[{5-фенетил-4-R-(1,2,4-тріазол-3-іл)тіо}(ацето-, пропано-, бензо)]нітрилів, іміноестерів та солей 2-[5-фенетил-4-R-(1,2,4-тріазол-3-іл)тіо]етанових(пропанових, бензойних) кислот, проведено алкілування вихідних тіонів з отриманням 5-фенетил-4-R-3-алкілтіо-1,2,4-тріазолів, які в подальшому піддавались окисненню за атомом Сульфуру.

Для отримання кислот автором запропоновано два способи (кислотний і лужний гідролізи). Більш високі виходи цільового продукту отримано при кислотному гідролізі в присутності кислоти сульфатної, тому цей спосіб дисертантом рекомендований як препаративний.

Алкіл-2-[{5-фенетил-4-R-(1,2,4-тріазол-3-іл)тіо}етан(пропан, бенз)]імідати отримано насиченням 2-[{5-фенетил-4-R-(1,2,4-тріазол-3-іл)тіо}(ацето-, пропано-, бензо)]нітрилів током сухого гідроген хлориду у спиртовому середовищі (пропанол-1 або бутанол-1), при цьому реакційна суміш постійно охолоджувалась до -5°C .

5-Фенетил-4-R-3-алкілтіо-1,2,4-тріазоли отримано реакцію алкілування 5-фенетил-4-R-1,2,4-тріазол-3-тіонів галоїдними алканами у спиртовому середовищі. Окиснення здійснювали завдяки дії надлишку 33% розчину гідроген пероксиду на відповідний тіоалкіл в середовищі концентрованої кислоти етанової при кімнатній температурі, або при нагріванні реакційної суміші з отриманням 5-фенетил-4-R-3-алкілсульфоніл-1,2,4-тріазолів.

Будову синтезованих сполук підтверджено за допомогою фізико-хімічних методів аналізу. В кінці розділу наведені висновки.

У третьому розділі «Модифікація молекули 5-фенетил-3-тіо-1,2,4-тріазолу, заміна атому Сульфуру на аміногрупу, подальші перетворення 5-фенетил-3-аміно-1,2,4-тріазолів» (22 сторінки) наведено синтез, будову та фізико-хімічні властивості 6-(5-фенетил-4-R-(1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)піридин-3-амінів, відповідних імінів та продуктів їх селективного відновлення, також отримано 5-фенетил-4*H*-1,2,4-тріазол-3-амін та ряд похідних на його основі, а саме 5-фенетил-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл-1-(алкіл-, арил-, гетерил)метаніміні(аміни) та N-(5-фенетил-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)-3-R-тіосечовини.

Потрібно зробити наголос, що в межах наукового дослідження дисертантом було вирішено атом Сульфуру у третьому положенні ядра 1,2,4-тріазолу замінити на атом Нітрогену, що дозволило отримати 5-фенетил-4*H*-1,2,4-тріазол-3-амін та ряд похідних на його основі, а також значно розширити коло пошуку біологічно активних сполук в ряду похідних 1,2,4-тріазолу. Дана задача автором була вирішена шляхом двогодинного кип'ятіння аміногуанідин гідрохлориду з гідрокоричною кислотою у сильно лужному середовищі. Після чого суміш охолоджували за кімнатної температури, нейтралізували, відфільтровували та отримували 5-фенетил-4*H*-1,2,4-тріазол-3-амін.

Реакцію селективного відновлення подвійного аліфатичного зв'язку C=N-групи для 6-(((5-фенетил-4-R-(1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)піридин-3-іл)-(алкіл-, арил)]метанімінів та 5-фенетил-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл-1-(алкіл-, арил-, гетерил)метанімінів проведено завдяки натрій боргідриду у середовищі диметилформаміду з утворенням 6-(((5-фенетил-4-R-(1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)піридин-3-іл)-(алкіл-, арил)]метанамінів та 5-фенетил-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл-1-(алкіл-, арил-, гетерил)метанамінів відповідно.

Будову синтезованих сполук підтверджено комплексом сучасних фізико-хімічних методів аналізу, а саме елементним аналізом, ІЧ-спектрофотометрією та ¹H ЯМР-спектрометрією, а їх індивідуальність

та молекулярну масу – методом високоефективної рідинної хромато-мас-спектрометрії.

Наведена експериментальна частина. Розділ закінчується висновками.

У четвертому розділі «Дослідження фармакологічної дії в ряду похідних 5-фенетил-4-*R*-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу. Визначення сполуки-лідера, хіміко-технологічні та аналітичні аспекти її виготовлення» (21 сторінка) наведено обговорення результатів дослідження гострої токсичності, протимікробної та прогрибкової, гіпоглікемічної, жарознижуючої, антиоксидантної та антигіпоксичної дії в ряду 5-фенетил-4-*R*-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу та його похідних, розробку лабораторної методики синтезу і проєкту технічних умов отримання потенційної субстанції 1-(бензо[*d*][1,3]діоксол-5-іл)-*N*-(5-фенетил-4-*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)метаніміну як потенційного протимікробного і протигрибкового засобу. Для цієї субстанції розроблено та затверджено проєкт лабораторної методики синтезу, технічних вимог щодо кінцевого продукту, а також проєкт «Методів контролю якості» на субстанцію для виготовлення нестерильних лікарських засобів.

На першому етапі біологічної частини дисертаційної роботи автором проведено прогнозування гострої токсичності похідних 5-фенетил-4-*R*-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу за допомогою програми GUSAR-online. Он-лайн прогноз зроблено для 36 сполук похідних 5-фенетил-4-*R*-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу. Згідно з отриманими результатами GUSAR-online прогнозу, для тестованих похідних 5-фенетил-4-*R*-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу середня летальна доза LD₅₀ становить при введенні: внутриочеревинно - від 124,2 до 919,2 мг / кг, внутрішньовенно - від 56,1 до 384,5 мг / кг, перорально - від 332,9 до 1910,0 мг / кг і підшкірно - від 287,4 до 2396,0 мг / кг.

В ході дослідження біологічної активності синтезованих похідних 5-фенетил-4-*R*-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу знайдено речовини, що проявили

високі показники протимікробної та прогрибкової, гіпоглікемічної, жарознижуючої, антиоксидантної та антигіпоксичної дії.

Саме це дало змогу дисертанту рекомендувати для більш поглибленого вивчення 1-(бензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(5-фенетил-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)метаніміну як потенційного антигіпоксичного та антиоксидантного активного фармацевтичного інгредієнту. Автором встановлено, що 5-фенетил-4H-1,2,4-тріазол-3-іл-1-(2-метилфеніл)метанімін та 5-фенетил-4H-1,2,4-тріазол-3-іл-1-(3-метоксіфеніл)метанімін перевищили показники протимікробної та протигрибкової активності препарату порівняння, 2-[5-фенетил-4-феніл-(1,2,4-тріазол-3-іл)тіо]етанова кислота показала високі результати жарознижуючої активності.

Дисертантом встановлені закономірності залежності «будова-дія», які можуть бути застосовувані для цілеспрямованого пошуку біологічно активних сполук серед похідних 5-фенетил-4-R-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу.

В кінці четвертого розділу наведено висновки та загальні висновки, що витікають зі всієї дисертаційної роботи.

Висновки автора ґрунтуються на достовірному фактичному матеріалі.

Особистий внесок здобувача. Аналіз та систематизація літературних даних, синтетична частина роботи виконані особисто автором.

Постановка основних завдань, обговорення отриманих результатів, основних положень та висновків проведено за участю наукового керівника. В ході наукового дослідження, за допомогою інших вчених, виконано фізико-хімічні методи аналізу, досліджена біологічна активність, тому співавторами наукових праць є, насамперед, науковий керівник та науковці, спільно з якими були проведені вищезазначені дослідження.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці.

Результати дослідження біологічної дії, а також встановлені взаємозв'язки «будова-дія» можуть бути використані у подальшому

цілеспрямованому пошуку нових біологічно активних сполук з метою створення на їх основі нових лікарських засобів у ряду 5-фенетил-4-R-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу, а також у підготовці студентів фармацевтичних закладів освіти та на етапах післядипломного навчання провізорів і спеціалістів фармацевтичної промисловості, а також у практичній фармації.

Загальна оцінка роботи є беззаперечно **позитивною**. Високо оцінюючи експериментальний рівень дисертаційної роботи, слід, проте, **відмітити деякі зауваження, пропозиції та поставити запитання**:

1. На думку опонента, для дослідження будови синтезованих похідних 5-фенетил-4-R-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу варто було б використати додатково ^{13}C -ЯМР-спектроскопію.

2. Робота переобтяжена описанням ІЧ- та ^1H ЯМР-спектрів, при тому що вони детально розшифровані в додатках.

3. При відновленні аліфатичної імінно групи реакцію проводили в середовищі диметилфосфаміду. Чому використовували це середовище, окрім мінорного продукту чи утворювались побічні сполуки?

4. Дослідження антигіпоксичної дії проводили на щурах. Чим обумовлений цей вибір?

5. При дослідженні антигіпоксичної активності дисертант використовував еталонний препарат порівняння мексидол. Чому?

6. У роботі зустрічаються помилки, невдалі вислови та формулювання.

Проте, викладенні зауваження і пропозиції мають рекомендаційний характер і не впливають на загальну позитивну оцінку виконаних досліджень.

Висновок

На підставі вищевикладеного вважаю, що дисертаційна робота Ігнатової Тетяни Вікторівни на тему: «Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 4-R-5-фенетил-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх заміщених» є завершеною науковою працею і за актуальністю тематики, обсягом виконаних досліджень, новизною отриманих результатів, ступенем

обґрунтованості наукових положень і рекомендацій, результатами впровадження, повнотою викладення результатів роботи у фахових виданнях, теоретичним і практичним значенням відповідає вимогам п.10, 11 «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України №167 від 6 березня 2019 року (зі змінами, затвердженими постановою КМУ від 21 жовтня 2020 р. №979 та від 9 червня 2021 року №608) відносно дисертації на здобуття доктора філософії, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

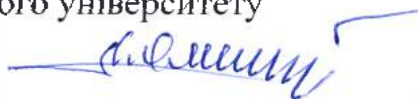
Офіційний опонент:

доктор фармацевтичних наук,

професор кафедри хімії

Запорізького національного університету

МОН України



Л. О. Омелянчик



НАЧАЛЬНИК
ВІДДІЛУ КАДРІВ

