***ВІДГУК***

***офіційного опонента, доктора фармацевтичних наук, професора Голіка Миколи Юрійовича на дисертаційну роботу Бігдана Олексія Антоновича на тему «Синтез, хімічна модифікація та біологічні властивості 3-,4-,5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів», 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 дисертації.*** Створення сучасних інноваційних лікарських засобів на основі різноманітних гетероциклічних систем розглядається науковцями як надважливий процес, який займає провідне місце в фармацевтичній галузі. Саме такий науковий напрямок і віддзеркалює дисертаційна робота Бігдана Олексія Антоновича «Синтез, хімічна модифікація та біологічні властивості 3-,4-,5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів». Необхідно наголосити, щодо стратегія даної роботи присвячена цілеспрямованому пошуку нових біологічно активних сполук і створенню на їх основі потенційних лікарських засобів протизапальної та антимікробної дії.

Проведений детальний аналіз літературних джерел дозволив теоретично обґрунтувати той факт, що інформація про способи одержання та біологічну активність 3-,4-,5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів не є належно висвітленою та має потенціал для поглиблених досліджень. Таким чином можна констатувати, що обраний автором науковий напрямок роботи є, безумовно, актуальним та має практичне спрямування.

Покладаючись на дані про високу фармакологічну активність різних 3-,4-,5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів та їх похідних з аналгетичною, антибактеріальною, противірусною, протигрибковою, протизапальною,

протипухлинною, протисудомною, протитуберкульозною діями, що висвітлені в роботах О. І. Панасенка, Є. Г. Книша, J. B. Polya, A. Kumar та інших та з урахуванням недостатньої кількості даних щодо фармакологічних властивостей 3,4,5-тризаміщених 1,2,4-триазолу доцільним є отримання речовин з поліпшеною фармакологічною активністю та підвищеною безпечністю, які стануть основою для створення оригінальних лікарських засобів, що додатково підтверджує перспективність обраної теми.

***Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.*** Дисертаційні дослідження Бігдана О. А. виконані 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 антимікробного лікарського засобу» (№ держреєстрації 0120U101649) згідно з пріоритетним напрямком «Конструювання та технології створення нових лікарських засобів на основі спрямованого дизайну біологічно активних речовин та використання наноматеріалів».

Дисертантом особисто проведено синтез, вивчені фізико-хімічні та біологічні властивості 3-,4-,5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів і продуктів їх хімічних перетворень.

***Наукова новизна одержаних результатів.*** Дисертантом вперше концептуально представлено та експериментально розвинено перспективний науковий напрям – пошук фармакологічно активних сполук у ряді модифікованих похідних 3-,4-,5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів і створення на їх основі потенційного лікарського засобу. Синтезовано ряд S-заміщених 3-,4-,5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів, для яких встановлена будова, фізико-хімічні та біологічні властивості. Здійснено аналіз залежності біологічної дії синтезованих сполук від їх будови.

Розроблено препаративні методики синтезу нових 2-[5-(2-, 3-, 4-фторфеніл)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатних кислот та їх солей з органічними та неорганічними основами, естерів за наявності каталітичної кількості концентрованої сульфатної кислоти та дициклогексакарбодіміду, амідів і гідразидів. Взаємодією 5-(2-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу та 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу з карбонільними сполуками синтезовано ряд нових 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів, деякі з яких було піддано відновленню за допомогою натрій боргідриду. Використовуючи як вихідні сполуки відповідні 5-(2-,3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіоли, вперше здійснено їх циклізацію за наявності відповідних арил-, гетерилкарбонових кислот у середовищі $POCl_3$. Синтезовано при цьому ряд проміжних продуктів та нових 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-$R_1$-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів.

Вперше проведено скринінгові фармакологічні дослідження синтезованих сполук на протимікробну, протигрибкову, діуретичну, актопротекторну, протизапальну та протисудомну активності, встановлені залежності «хімічна структура – фармакологічна активність» та вперше запропоновано оригінальний підхід розрахунку функціональної залежності фармакологічного ефекту від хімічної будови, що може бути основою для наукового підходу до розв'язання вищевказаної проблеми. Відібрано найбільш перспективні біологічно активні сполуки, які були рекомендовані для подальших поглиблених досліджень, з подальшим впровадженням у ветеринарну, медичну та фармацевтичну практику.

Наукова новизна дисертаційної роботи підтверджена 1 патентом України на винахід та 1 патентом України на корисну модель.

***Теоретичне значення результатів дослідження.*** Покроковий аналіз дисертаційного дослідження дозволив зазначити комплексний характер наукових пошуків, що гармонійно поєднав методи органічної хімії та фармакології. Необхідно відзначити і той факт, що грамотно проведений

огляд літературних джерел дозволив створити логічний алгоритм наукових досліджень.

Не можна не оминути увагою й одержання дисертантом результатів синтетичних досліджень (проведено багатовекторне формування структури цільових продуктів хімічного перетворення та вдало реалізована їх функціоналізація), що дозволило зробити теоретичний внесок у розвиток медичної, органічної та фармацевтичної хімії. Також в роботі запропонована бібліотека біологічно активних сполук, що є очікуваним наслідком проведеної кропіткої роботи, пов'язаної з теоретичним узагальненням експериментального синтетичного матеріалу і даних біологічного скринінгу.

Необхідно відзначити і той факт, що проведене дослідження безпечності (визначена гостра та субхронічна токсичність, встановлено ряд токсикометричних показників) дозволило відібрати для більш поглиблених досліджень 2 сполуки: морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетат та 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин.

Проведений аналіз дисертаційної роботи дозволяє констатувати важливість одержаних результатів проведених спектральних досліджень, а особливо рентгено-структурного аналізу нових сполук, що беззаперечно є значимим для теоретичної хімії.

Фармакологічні дослідження проведені відповідно до сучасних вимог, що дозволило дисертанту достовірно визначити можливість розробки нових біологічно активних субстанцій.

***Практичне значення одержаних результатів.*** Методи синтезу, які були запропоновані автором з метою одержання нових 2-[5-(2-, 3-, 4-фторфеніл)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатних кислот та їх похідних, 5-(2-,3-фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів, 3-(2-,3-фторфеніл)-6-$R_1$-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів та їх похідних можуть мати практичне значення під час використання у роботі науково-дослідних лабораторій та університетів, які пов'язані з синтезом

біологічно активних сполук. Висвітлений в роботі алгоритм дій, що безпосередньо пов'язані з встановленням наявності протитуберкульозної активності серед досліджуваних сполук, може бути використаний у практичній діяльності наукових колективів, які займаються розробкою біологічно активних сполук з зазначеним видом активності.

Наукові результати, які було акумульовано під час досліджень, впроваджені в наукову та навчально-методичну роботу ряду закладів вищої освіти України, що підтверджено відповідними актами.

***Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність.*** Обґрунтованість і достовірність отриманих результатів дослідження, наукових положень та рекомендацій дисертанта підтверджені результатами аналізу рукопису дисертації та схваленням на міжнародних і всеукраїнських науково-практичних конференціях.

Структура та індивідуальність похідних 3-,4-,5-тризаміщених 1,2,4-триазолів були переконливо доведені комплексним використанням хімічних методів (реакції алкілування, окиснення, етерифікації, нейтралізації, гідразинолізу, нуклеофільного приєднання, циклізації тощо), фізико-хімічних (елементний аналіз, УФ-спектрофотометрія, ІЧ-, $^{1}$H, $^{13}$C ЯМР-спектроскопія, хромато-мас-спектрометрія, потенціометрія, хроматографічні методи).

Достовірність одержаних результатів біологічних досліджень також є безсумнівною, оскільки всі експериментальні дослідження виконані з використанням сучасних загальноприйнятих методів і коректних підходів до встановлення специфічної фармакологічної активності сполук. Все це у комплексі дозволило об'єктивно визначити вектор наукового пошуку та обрати найбільш достойні структури серед похідних 3-,4-,5-тризаміщених 1,2,4-триазолів для подальшого вивчення біологічної дії.

Зроблені у дисертації висновки та рекомендації логічні і є результатом всебічного та об'єктивного аналізу досліджуваних явищ, здійсненого за допомогою сучасного наукового інструментарію. В процесі дослідження

застосовано загальнонаукові та спеціальні прийоми і методи пізнання. Їх використання дозволило дисертанту всебічно науково обґрунтувати теоретичні, методологічні та практичні аспекти формування активного фармацевтичного інгредієнту на основі похідних 3-,4-,5-тризаміщених 1,2,4-триазолу.

На моє переконання, поставлені в роботі завдання для досягнення мети реалізовані повною мірою і на високому науковому рівні.

***Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах.*** За матеріалами дисертації опубліковано 47 робіт, з яких 27 статей (25 – у наукових фахових виданнях, у тому числі 6 – у виданнях, проіндексованих у базах даних Web of Science Core Collection та Scopus), 1 патент України на винахід, 1 патент на корисну модель та 18 тез доповідей.

Вважаю за потрібне зазначити, що публікації повністю відображають основний зміст дисертаційної роботи.

***Аналіз дисертаційної роботи.*** Дисертаційна робота Бігдана Олексія Антоновича на тему «Синтез, хімічна модифікація та біологічні властивості 3-,4-,5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів» складається з анотації, вступу, огляду літератури, шести розділів експериментальних досліджень, висновків, списку використаних джерел до кожного розділу та 6 додатків (окремою частиною). Обсяг основного тексту 300 сторінок, робота проілюстрована 48 таблицями, 168 рисунками. Бібліографія включає 399 джерел літератури, з яких 305 іноземних авторів. Мовний стиль дисертації відповідає сучасним філологічним нормам, характеризується якісним представленням використаних формул, змістовністю табличного і графічного матеріалу.

У *першому* розділі «Синтез, хімічна модифікація та біологічні властивості 5-арил-, гетерил-4R-1,2,4-триазол-3-тіонів» (огляд літератури)» наведено літературний огляд систематичного вивчення фармакологічної активності похідних 1,2,4-триазолу та їх синтетичне отримання. Необхідно зазначити, що критичний аналіз проведеного літературного огляду продемонстрував, що 5-арил-, гетерил-4R-1,2,4-

триазол-3-тіонів широко застосовуються в медичній і ветеринарній практиці як ефективні лікарські засоби і є перспективним класом сполук для пошуку біологічно активних речовин.

Також справедливим буде твердження, що проведений огляд літератури дозволив дисертанту правильно та чітко сформувати мету, а також задачі досліджень.

У *другому* розділі «Вивчення реакцій 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів з галогенпохідними сполуками та деякі перетворення продуктів реакції» за результати комп'ютерного прогнозу обрано напрям синтетичних випробувань та прораховано синтетичні можливості отримання ряду нових похідних 3-,4-,5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів. Привертає увагу дослідження сольватаційних ефектів та їх вплив на таутомерію, кислотність, геометрію, характеристики електронного розподілу і інші властивості 1,2,4-триазолів та їх тіоаналогів. Здійснено синтез 3-,4-,5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів з галогеналканами, галогенарилами, дибромпропаном, дибромбутаном, галогенспиртами, хлорангідридами кислот, відновлення кето-групи натрій боргідридом 2-((4-$R_1$-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів. Перетворення S-похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-$R_1$-1,2,4-триазол-3-тіолів і отримання несиметричних дисульфідів похідних 4-метил-4*H*-1,2,4-триазолів.

Будова синтезованих сполук у всіх випадках підтверджена за допомогою комплексного фізико-хімічного аналізу, а їх індивідуальність хроматографічними методами.

У *третьому* розділі «Вивчення реакцій 2-[5-(арил)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатних кислот та їх похідних» за допомогою комп'ютерної програми здійснено прогнозування біологічної активності сполук дослідженого ряду і синтезовано ряд нових 2-[5-(2-, 3-, 4-фторфеніл)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатних кислот та їх похідних.

Використання сучасних фізико-хімічними методів аналізу дозволило безапеляційно підтвердити будову синтезованих сполук. В кінці третього розділу сформульовано висновки зі стислим викладенням одержаних результатів.

У *четвертому* розділі «Перетворення в ряді похідних 5-(арил)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіонів» за допомогою взаємодії 5-(2-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу та 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу з карбонільними сполуками синтезовано ряд нових 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів.

Циклізація при наявності відповідних арил-, гетерилкарбонових кислот у середовищі $POCl_3$ дозволило отримати ряд проміжних продуктів та нових 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-$R_1$-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів.

Будова синтезованих сполук у всіх випадках переконливо підтверджена комплексним використанням сучасних фізико-хімічних методів аналізу (елементний аналіз, ІЧ-спектроскопія, ЯМР-, мас-спектрометрія), а їх індивідуальність хроматографією.

У *п'ятому* розділі «Біологічна активність та електрохімічні властивості 3-,4-,5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів» наведено результати та обговорення протимікробної, протигрибкової, діуретичної, актопротекторної, протизапальної та протисудомної дії похідних 3-,4-,5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів.

Прогноз біологічної активності 3-,4-,5-тризаміщених 1,2,4-триазол-3-тіонів показав, що саме тіопохідні найбільш перспективні. Вперше для нових похідних 1,2,4-триазолу за допомогою комп'ютерних методів досліджено гостру токсичність та створено QSAR-моделі. Досліджено гостру токсичність 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів, встановлено ряд закономірностей «будова-дія».

Для ряду водорозчинних похідних 1,2,4-триазолу досліджено протизапальну активність. Виявлено «сполуку-лідер», для якої вивчено протизапальну дію на моделі експериментального панкреатиту у щурів.

На основі біологічного скринінгу автором відібрано 2 «сполуки-лідери» – морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетат та 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазин. Розділ добре проілюстрований та має високій рівень інформативності.

У *шостому* розділі «Дослідження нешкідливості «сполук-лідерів»: морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату та 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину» автором запропоновано вирішення питання подальшого впровадження найбільш перспективних сполук у практику. Досліджено деякі параметри нешкідливості «сполук-лідерів»: морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату та 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину. Розділ добре структурований та є доступним для сприйняття.

*Сьомий* розділ «Хіміко-технологічні аспекти виготовлення субстанції 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*]-[1,3,4]тіадіазину» автором зі співавторами розроблено технічні умови (ТУ У 20.1-42067827-002:2021), методи контролю якості (МКЯ) на субстанцію 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазин, лабораторні методи синтезу напівпродукту та кінцевої субстанції, а також дослідно-виробничий технологічний регламент виробництва зазначеної сполуки.

Слід відзначити завершену логічну послідовність всіх проведених досліджень. Автором дисертації представлено теоретичне та експериментальне обґрунтування необхідності вивчення властивостей нових 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів. Практично вирішена наукова задача щодо пошуку нових біологічно активних речовин і створенню на їх основі потенційного лікарського засобу протитуберкульозної дії та оригінального протизапального препарату. В кінці сьомого розділу наведено висновки та загальні висновки, що випливають зі всієї дисертаційної роботи.

Загалом робота Бігдана О. А. демонструє логічний методологічний підхід до викладення матеріалу, змістовна, містить результати, які статистично оброблені згідно вимог ДФУ. Висновки автора ґрунтуються на достовірному фактичному матеріалі.

На моє переконання, загальна оцінка роботи є беззаперечно **позитивною**. Високо оцінюючи експериментальний рівень дисертаційної роботи, слід, проте, **відмітити деякі зауваження, запитання та пропозиції**:

1. У тексті трапляються орфографічні та граматичні помилки, неточні вирази.

2. Чи розглядає автор стратегічну можливість розробки лікарських форм на основі морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату та 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-b][1,3,4]тіадіазину?

3. Запропонований оригінальний метод отримання естерів із застосуванням дициклогексакарбодіміду. В чому полягає особливість цього методу і як Ви її використовували у Ваших умовах?

4. Згідно технічних умов, який метод Ви обрали для встановлення масової частки активного фармацевтичного інгредієнта?

5. В чому полягають особливості гетероциклізації [1,2,4]триазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолів? Чи впливає нагрівання на утворення продукту?

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

***Особистий внесок здобувача.*** Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею, у якій здобувачу належить вирішальна роль у визначенні мети дослідження, завдань для її досягнення, проведенні літературного огляду світового і вітчизняного інформаційного масиву щодо сучасного стану та перспектив виробництва світових тенденцій похідних 3-,4-,5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів та проведенні експериментальної частини, обробці й інтерпретації результатів дослідження, а також в

узагальненні одержаних результатів і на їх основі обґрунтуванні наукових висновків та положень, що виносяться на захист.

Усі наукові результати дисертаційного дослідження отримані автором особисто. В роботах, що написані у співавторстві, здобувачу належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

Ознак фальсифікації, компіляції, плагіату та інших порушень норм академічної доброчесності, наукової етики і моралі ***не встановлено***. Таким чином, дисертаційна робота Бігдана О. А. визначається самостійною оригінальною працею та не містить порушень академічної доброчесності.

***Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці.*** Методики, теоретичні узагальнення кореляції «структура-активність», запропоновані автором, необхідно використати у дослідженнях наукових груп, які працюють в галузі пошуку нових кандидатів у лікарські засоби. Для синтезованих високоактивних сполук необхідно провести поглиблені доклінічні дослідження. Результати вивчення зв'язку «структура-дія» слід використати для спрямованого синтезу лікарських засобів в напрямі 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.

***Відповідність дисертації вимогам «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук».*** Дисертаційна робота Бігдана Олексія Антоновича «Синтез, хімічна модифікація та біологічні властивості 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів»» 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, ***Бігдан Олексій Антонович***, беззаперечно заслуговує на присудження наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент:

Декан фармацевтичного факультету
Національного фармацевтичного
університету
доктор фармацевтичних наук, професор М. Ю. Голік

Підпис Голік М. Ю. засвідчую
Начальник О. Гуренч

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Національний фармацевтичний університет
№02010936