

РЕЦЕНЗІЯ

кандидата хімічних наук, доцента
Кархута Андрія Ігоровича на дисертаційну роботу
Фізер Любові Віталіївни на тему
«Синтез, властивості, біологічна активність тіосульфонатів та технології
створення лікарських форм на їх основі»,
подану до захисту у разову спеціалізовану вчену раду
при Національному університеті «Львівська політехніка»
на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я»
за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація»

1. Актуальність теми дисертації. Дисертаційна робота присвячена оптимізації шляхів синтезу двох перспективних з точки зору їх протимікробної та противірусної дії речовин – S-етил 4-ацетамідо- та S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоату, дослідженню їх фізико-хімічних властивостей, біологічної активності та токсичності, а також розробці складу трьох лікарських форм на їх основі – порошку нашкірного, мазі для лікування гнійних ран, та таблеток, що диспергуються у ротовій порожнині.

Задача пошуку нових речовин з протимікробною активністю та розробка лікарських форм на їх основі на сьогодні є не просто актуальним, а життєво важливим завданням. Від цього залежить здатність медицини боротись з інфекційними захворюваннями у найближчому майбутньому. Існування проблем у цьому напрямку пов'язано з кількома факторами. По-перше, з'являються та швидко поширюються штами мікроорганізмів, стійкі до наявних антибіотиків. Головними причинами цього є нераціональне використання антибіотиків у медицині та агровиробництві, а також складність контролю поширення інфекцій у сучасному глобалізованому світі. По-друге, починаючи з 1980-х років було відкрито лише кілька нових класів антибактеріальних препаратів, і лише три з них, оксазолідинони, ліпопептиди та плевомутиліни, вдалось вивести на ринок у якості лікарських засобів. Також важливо, що більшість з цих нововідкритих класів ефективні проти грампозитивних мікроорганізмів, проблема ж пошуку сполук, ефективних щодо грамнегативних мікроорганізмів є ще більш актуальною.

Тіосульфонати (сульфонотіоати), сполуки з $-SO_2-S-$ групою, є предметом активних досліджень у пошуку нових протимікробних речовин. Постійно зростаюча кількість публікацій у цьому напрямку свідчить про їх значний потенціал, багато тіосульфонатів показують високу активність як щодо грампозитивних, так і щодо грамнегативних мікроорганізмів, однак на сьогодні немає інформації про комерційно доступні для медичного використання антимікробні препарати з тіосульфонатною групою. Дослідження, виконані у рамках даної дисертаційної роботи, є ще одним кроком до появи таких препаратів на ринку, а отже, є важливими та актуальними.

2. Наукові результати, їх новизна та достовірність. У рамках роботи було вперше здійснено систематичну оптимізацію умов одержання двох перспективних біологічно активних речовин – S-етил 4-ацетамідобензенсульфонотіоату та S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоату, зокрема порівняно ефективність різних алкілюючих агентів, досліджено вплив температури, розчинника, часу реакції, наявності каталізатора міжфазного переносу, показано ефективність використання ультразвуку для інтенсифікації процесу. Підтвердженням новизни і вагомості результатів є одержання автором патенту України на корисну модель «Спосіб одержання S-етил-4-ацетамідобензенсульфотіоату». Також було проведено широке дослідження біологічної активності даних сполук, що продемонструвало їх перспективність, зокрема вивчено протимікробну активність на 26 музейних і клінічних штаммах патогенів людини, зокрема 19 штаммах бактерій і 7 штаммах грибів, вивчено противірусну активність щодо герпесвірусів першого і другого типів. Було встановлено, що досліджувані сполуки відносяться до 4-го і 5-го класів токсичності згідно GHS-класифікації, а отже є низькотоксичними, що підтверджує можливість їх медичного застосування. Також у роботі доведено перспективність застосування даних сполук як активних інгредієнтів у складі лікарських форм. Зокрема, для біологічно активної речовини S-етил 4-ацетамідобензенсульфонотіоату запропоновано склади та технології одержання порошку нашкірного та мазі для гнійних ран, для діючої речовини S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоату запропоновано склад композиції для виробництва таблеток, що диспергуються в ротовій порожнині. Для зазначених лікарських форм у роботі розроблено методи якісного і кількісного визначення діючих речовин. Усі дослідження, наведені у роботі, виконані на високому рівні, з застосуванням сучасних, відповідних до поставлених завдань методів аналізу, а отже, одержані результати є достовірними.

3. Практичне значення отриманих результатів. Дана дисертаційна робота є продовженням дослідження тіосульфонатних сполук несиметричної будови, що є науковим напрямом кафедри ТБСФБ Національного університету «Львівська політехніка» (державна реєстрація № 0119U002252). Результати роботи, зокрема антибактеріальна, протигрибкова та противірусна активність досліджуваних сполук та лікарських форм на їх основі, свідчать про необхідність їх подальших доклінічних досліджень, та можливість практичного медичного застосування у майбутньому.

Проведено апробацію отримання S-етил 4-ацетамідо- і S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоату в умовах лабораторії синтезу АФІ, а також порошку нашкірного і ТДРП в умовах технологічної лабораторії АТ «Фармак». Окрім того, технологія виготовлення порошку нашкірного апробована в умовах навчально-виробничої аптеки ДНП ЛНМУ ім. Данила Галицького, що підтверджує практичну цінність наведених у роботі висновків та рекомендацій.

Результати, одержані при виконанні роботи, запроваджено в освітньо-науковий процес кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та

біотехнології НУ «Львівська політехніка» та кафедри мікробіології ДНП ЛНМУ ім. Данила Галицького.

4. Оцінка змісту дисертації та її структури. Дисертаційна робота складається зі вступу, шести розділів, висновків, списку використаних джерел (372 найменування), та додатків (14 додатків, 21 с.). Робота містить 54 таблиці та 139 рисунків. Загальний обсяг дисертації – 297 сторінок, обсяг основного тексту дисертації 203 сторінки.

У вступі обґрунтовано актуальність теми дисертаційної роботи, наведено мету, основні завдання та методи дослідження, подано наукову новизну і практичне значення одержаних результатів, продемонстровано зв'язок роботи з науковими напрямками кафедри, обговорено особистий внесок автора у межах даного дослідження, наведено інформацію про публікації автора, що стосуються дисертації.

У *Розділі 1* (огляд літератури) наведено інформацію щодо підходів до синтезу тіосульфонатів симетричної та несиметричної будови з різноманітних сполук-попередників (тіолів, дисульфідів, тіосульфінатів, сульфеніл- та сульфонілгалогенідів, солей тіосульфонових та сульфінових кислот, сульфонілгідразидів), обговорено переваги і недоліки наведених шляхів, зокрема з точки зору зеленої хімії. У другій частині розділу обговорюються напрямки біологічної активності сполук з тіосульфонатним фрагментом. Огляд складено на основі сучасних публікацій, його зміст цілком відображає сучасні тенденції розвитку шляхів синтезу тіосульфонатів та досліджень їх біологічної активності.

Розділ 2 присвячений матеріалам та методам дослідження. У ньому наведено структурно-логічну схему дисертаційного дослідження, що відображає напрями, підходи та послідовність виконання завдань роботи, охарактеризовано вихідні та допоміжні речовини та розчинники, що використовувались у роботі. Також обговорено особливості використання методів ідентифікації сполук та інших методів дослідження властивостей діючих речовин та готових лікарських форм, а також досліджень їх біологічної активності. Розділ добре структурований, дає вичерпну характеристику всіх матеріалів та методів, що використовувались при виконанні роботи.

Розділ 3 описує одержання та властивості досліджуваних тіосульфонатів, він складається з трьох частин. У першій наведено *in silico* оцінку властивостей двох сполук – об'єктів дослідження (S-етил 4-ацетамідо- і S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоатів), зокрема їх параметрів лікоподібності. У другій частині наведено обґрунтування вибору методу синтезу та оптимізації його умов для досліджуваних сполук, проведено порівняння практичної ефективності різних алкілюючих агентів, впливу співвідношення реагентів, розчинника, температури, присутності каталізатора міжфазного переносу, на основі чого запропоновано оптимальні умови одержання кожної сполуки як з точки зору практичного виходу, так і з точки зору зеленої хімії. Для сполук наведено

результати їх фізико-хімічних досліджень, що можуть бути використані для їх ідентифікації та кількісного визначення у готових лікарських формах – ^1H -, ^{13}C -, ІЧ-, УФ-спектроскопія, мас-спектрометрія, рентгеноструктурний і рентгенофазний аналіз, дериватографічні дослідження, якісні реакції, спектрофотометричні параметри. У третій частині розділу наведено результати вивчення біологічної активності та токсичності досліджуваних тіосульфонатів. Протимікробна активність досліджувалась методом дифузії в агар та шляхом встановлення мінімальних бактерицидних та фунгіцидних концентрацій, гостра токсичність оцінювалась шляхом внутрішньошлункового введення, на білих щурах. Для S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоату також було проведено оцінку здатності інгібувати реплікацію вірусів простого герпесу першого і другого типів на інфікованій моделі клітин А-549. Наведені результати біологічної активності та токсичності дозволяють оцінити потенціал практичного застосування досліджуваних сполук як високий.

У Розділі 4 представлено розробку складу та технології виготовлення порошку для наскірного застосування з антимікробною активністю, що містить S-етил 4-ацетамідобензенсульфонотіоат як діючу речовину, його фізико-хімічні та фармако-технологічні показники. Описано методи ідентифікації діючої речовини у лікарській формі, зокрема ІЧ-спектроскопією та рентгенофазним аналізом.

Розділ 5 присвячений розробці складу та технології мазі для лікування гнійних ран, з тією ж діючою речовиною – S-етил 4-ацетамідобензенсульфонотіоатом. Здійснено обґрунтування вибору концентрації діючої речовини у мазі, вибору типу та складу маzewої основи, досліджено вплив додавання до мазі рамноліпідів у якості біосурфактантів. Для одержаних мазей проведено мікробіологічні і фармако-технологічні дослідження, розроблені методи ідентифікації та кількісного визначення діючої речовини в мазі за допомогою УФ- та ІЧ-спектроскопій.

У Розділі 6 описано розробку складу та технології виготовлення, та результати фармако-технологічних випробувань таблеток, що диспергуються в ротовій порожнині, які виявляють протигерпетичну дію, з S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоатом у якості біологічно активної речовини, описано використання ІЧ-спектроскопії для ідентифікації діючої речовини в таблетках.

Загальні висновки містять 8 пунктів, у них коротко підсумовано результати проведених досліджень, вони логічно сліднують із даних, які наведено у розділах роботи.

Анотація повно відображає зміст, основні результати та висновки дисертаційної роботи, ступінь новизни та практичне значення одержаних результатів, особистий внесок здобувача при виконанні роботи.

5. Повнота викладення наукових результатів у опублікованих працях. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 20 наукових робіт, що у повній

мірі відображають її результати, зокрема 1 патент України на винахід та 1 патент України на корисну модель, 3 статті у виданнях, що включені до міжнародних наукометричних баз, 2 статті у фахових виданнях України, а також 13 тез доповідей на всеукраїнських та міжнародних науково-практичних конференціях, наукових семінарах.

6. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача. Оцінюючи позитивно рецензовану роботу, хочу звернути увагу на окремі дискусійні питання, що потребують додаткової аргументації, пояснень у під час публічного захисту або потребують урахування у науковій роботі.

Зауваження до роботи:

- Автором проведена величезна робота по оптимізації умов одержання двох цільових сполук. Однак, у обговоренні її результатів (підрозділ 3.2) варто було б краще розмежувати поняття «виходу» та «конверсії», наприклад, при дослідженні зміни виходу відносно часу реакції. Також з тексту роботи не всюди зрозуміло, чи при оптимізації умов мова іде про практичний вихід, чи про вихід за результатами аналізу реакційної суміші.

- Для дослідження одержаних речовин був використаний мас-спектрометричний аналіз методом прямого введення зразка з використанням мас-спектрометра типу Q-TOF, а також ^1H та ^{13}C ЯМР спектроскопія, однак для них не наведено дані ВЕРХ. Така інформація могла б бути дуже цікавою з практичної точки зору – високоефективні рідинні хроматографи з діодно-матричним детектором набагато дешевші та ширше використовуються для контролю чистоти субстанцій, ніж ЯМР та мас-спектрометрія.

- Твердження автора про перспективи використання тіосульфонатів у тваринництві як заміни заборонених у Євросоюзі антибіотиків (с. 63) може бути дискусійним. Хоча тіосульфонати не підпадають під деякі формальні визначення «антибіотиків», наслідки їх застосування можуть бути подібними до наслідків застосування останніх – потенційний розвиток резистентних мікроорганізмів, що приведе до неможливості застосування цих тіосульфонатів у медицині, це питання ще потребує ретельного дослідження.

- При визначенні питомих коефіцієнтів поглинання досліджуваних сполук для побудови калібрувальних графіків наведено коефіцієнти кореляції, однак було б добре навести також похибки вимірювань величин, наприклад, маси зразків при приготуванні наважок, та інших.

- Також є кілька незначних стилістичних зауважень до роботи. Не зовсім зрозуміло, чому автор використовує для однієї досліджуваної сполуки (S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоату) українську аббревіатуру АМАБТ, для іншої (S-етил 4-ацетамідобензенсульфонотіоату) англійську 4-AAETS, а також наводить деяку інформацію на схемах реакції англійською мовою. Схеми реакцій та формули бажано було б зобразити в одному стилі (шрифт та довжини зв'язків), а також

спрощує сприйняття схем, особливо в умовах великої кількості формул на ній, та дозволяє розрізнити кінець ланцюгу та місце приєднання радикалу (у разі його присутності). Також полегшила би сприйняття огляду літератури нумерація структур у його синтетичній частині, а не лише у обговоренні біологічної активності. У кількох схемах (1.3, 1.10, 1.26) та у тексті роботи для позначення атому йоду використаний символ «J» замість «I», на рис. 1.7 у сполуки 14 не зображено частину антрахіноїдного ядра. Діаграми, на яких зображено вплив АМАБТ та ацикловіру на реплікацію *in vitro* ВПГ-1 в клітині А-549 (рис. 3.22 та 3.23) наведено для різних діапазонів концентрацій, що ускладнює їх співставлення, те ж саме стосується рис. 3.24 та 3.25, для ВПГ-2.

Запитання до здобувача:

- Хотілось би почути від автора обґрунтування вибору як досліджуваних речовин саме цих двох тіосульфонатів – S-етил 4-ацетамідо- і S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоату.

- Потребує пояснення під час захисту погляд на оптимізацію шляхів одержання досліджуваних сполук з точки зору зеленої хімії. З одного боку, автор рекомендує використати більш безпечні розчинники або проведення синтезу без розчинника, що цілком відповідає концепції зеленої хімії, з іншого – обирає спосіб одержання цільових сполук виходячи з солей тіосульфокислот, що для досягнення хорошого виходу принципово вимагає застосування сильних алкілюючих агентів з доведеною канцерогенністю та мутагенністю, зокрема диетилсульфату.

- Цікаво, чи здобувачка вивчала стабільність досліджуваних сполук при різних рН. Це дозволило б пояснити, чи зміна ефективності протимікробної дії при зміні рН середовища пов'язана з руйнуванням самих сполук, чи з іншими причинами.

Зазначені зауваження не є принциповими, носять дискусійний характер та підтверджують складність теми дисертації, не знижуючи її значимості і не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

7. Оформлення дисертації, дотримання вимог академічної доброчесності.

Оформлення дисертації відповідає усім необхідним вимогам, робота написана державною мовою, з використанням загальновизнаної термінології, структура викладення інформації забезпечує її нормальне сприйняття, висновки є логічними наслідками одержаних результатів.

При ознайомленні з дисертаційним дослідженням та науковими публікаціями автора, порушень академічної доброчесності (текстових запозичень, використання наукових ідей, результатів та матеріалів інших авторів без посилання на джерела та ін.) не виявлено, дисертація є самостійно виконаною, оригінальною працею, що також підтверджує наявна довідка про результати перевірки на академічний плагіат дисертації Фізер Любові Віталіївни.

8. Загальний висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам. Дисертаційна робота Фізер Любові Віталіївни та тему «Синтез, властивості, біологічна активність тіосульфонатів та технології створення лікарських форм на їх основі» є завершеним комплексним науковим дослідженням, що за актуальністю, обґрунтованістю, обсягом, рівнем новизни та практичною цінністю одержаних результатів відповідає вимогам до оформлення дисертацій, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. №40 Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою КМУ від 12 січня 2022 р. № 44, та іншим нормативним вимогам, а її автор – Фізер Любов Віталіївна, на підставі публічного захисту, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

Рецензент:

Доцент кафедри технології біологічно активних
сполук, фармації та біотехнології,
Національний університет
«Львівська політехніка»,
к. х. н., доцент



Андрій КАРХУТ

Підпис засвідчую:

Вчений секретар
Національного університету
«Львівська політехніка»



Роман БРИЛИНСЬКИЙ