

## ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації “Реакція азосполучення в аналізі  $\beta$ -лактамних та тетрациклінових антибіотиків”  
здобувача ступеня доктора філософії  
з галузі знань 10 “Природничі науки” за спеціальністю 102 “Хімія”  
Костів Оксани Ігорівни

### *1. Актуальність теми дисертації*

Сучасну медицину та сільське господарство важко уявити без використання антибіотиків. Однак, надмірне розповсюдження цих біологічно-активних речовин призвело до виникнення проблеми резистентності з одного боку і проблеми фальсифікації ліків з іншого. За статистикою найпоширенішою за застосуванням у медичній практиці є група  $\beta$ -лактамних антибіотиків, зокрема, пеніциліни та цефалоспорини; у ветеринарії доволі часто вживаними залишаються тетрациклінові антибіотики, зокрема окситетрациклін. Масове використання лікарських та ветеринарних препаратів на основі антибактеріальних речовин потребує виконання простих, експресних рутинних аналізів та достатньо чутливих методів контролю якості ліків на всіх етапах їхнього виробництва, зберігання та застосування, а також у біологічних рідинах, продуктах харчування тощо.

Спектрофотометричні (СФ) та вольтамперометричні (ВА) методики відповідають цим вимогам, однак для визначення антибіотиків їх використовують досить обмежено. Оскільки досліджувані антибіотики амоксицилін та окситетрациклін є фенольними сполуками, а цефтріаксон та цефтазидим містять первинну ароматичну аміногрупу у своїй структурі, то ефективні аналітичні форми для їхнього визначення можуть бути отримані завдяки реакціям діазотування та азосполучення з відповідними реагентами. Саме тому розроблення та впровадження нових СФ та ВА методик визначення антибіотиків, зокрема в комбінованих препаратах, які є більш ефективними, порівняно з однокомпонентними засобами, а також їхніх залишків у біологічних рідинах та продуктах харчування, досі залишається одним із важливих завдань сучасної аналітичної та фармацевтичної хімії.

Тему дисертації затверджено на засіданні Вченої ради Львівського національного університету імені Івана Франка, протокол № 43/12 від 06.12.2017 р.

## **2. Зв'язок теми дисертації з державними програмами, науковими напрямами університету та кафедри**

Дисертаційне дослідження виконано в межах державних бюджетних тем “Закарпатські цеоліти в аналітичній хімії розсіяних елементів, бактерицидних, протипухлинних засобів та інших біологічно активних речовин” (2017-2018 рр. № 0116U001541) та “Багатофункціональні матеріали клиноптилоліт–перехідні метали у хімічному аналізі та біології” (2019-2021 рр., № 0119U002207).

## **3. Особистий внесок здобувача в отриманні наукових результатів**

Дисертаційна робота є розгорнутим самостійно виконаним науковим дослідженням, у якому викладено індивідуальний підхід до вивчення спектрофотометричних та електрохімічних властивостей азосполук  $\beta$ -лактамних та тетрациклінових антибіотиків: цефтріаксону (ЦЕФТР), цефтазидиму (ЦЕФТ), амоксициліну (АМ) та окситетрацикліну (ОТЦ). Такі сполуки отримано вперше на основі реакції азосполучення із фенольними реагентами (резорцином (Рез), 2-метифенолом (2-Мет), 8-оксихіноліном (8-Окс)) та ароматичними амінами (сульфаніламідом (САМ), сульфатіазолом (СТЗ) та фуксином (Фукс)), а також 1-діазо-2-нафтол-4-сульфо кислотою (ДНСК). Дисертантка дослідила оптимальні умови взаємодії в системах АМ–САМ(СТЗ), ОТЦ–Фукс, ОТЦ–ДНСК, ЦЕФТР–8-Окс, ЦЕФТР–2-Мет, ЦЕФТ–Рез, ЦЕФТ–2-Мет, ЦЕФТ–8-Окс згідно реакцій діазотування та азосполучення: вплив кислотності середовища на обидві реакції, концентрації реагентів, тривалості процесів, послідовності додавання реагентів. На підставі проведених СФ та ВА досліджень здобувачка встановила  $\lambda_{\max}$  і  $\bar{\epsilon}_{\lambda}$  для отриманих азосполук, співвідношення компонентів та імовірні схеми їх утворення; дослідила селективність аналітичних реакцій АН з реагентами за наявності біологічно активних та допоміжних речовин, які використовують у лікарських засобах. Здобувачка вивчила електрохімічну поведінку азосполуки АМ з діазотованим САМ та продукту власного азосполучення діазотованого ЦЕФТР і запропонувала схеми електродних процесів відновлення утворених азосполук. На підставі проведених досліджень Костів О.І. розробила та валідувала СФ та ВА методики визначення досліджуваних антибіотиків у лікарських формах. Результати досліджень, які наведено у дисертаційній роботі та опубліковано у наукових статтях, належать авторці і є її науковим доробком.

## **4. Достовірність та обґрунтованість отриманих результатів та запропонованих автором вирішень, висновків, рекомендацій**

Одержані результати є науково обґрунтованими і достовірними, оскільки їх повністю підтверджено сучасними та взаємодоповнюючими експериментальними методами досліджень. Більш того, одержані результати узгоджуються з літературними даними. Достовірність результатів дисертації підтверджено значним масивом одержаних експериментальних даних з використанням

сучасного обладнання, яке пройшло державну повірку. Одержані результати багаторазово апробовано у вигляді доповідей на конференціях різного рівня та перевірено під час рецензування публікацій у фахових виданнях. Розроблені методики апробовано на модельних розчинах та реальних лікарських засобах. Окремі із розроблених методик валідовано.

#### ***5. Ступінь новизни основних результатів дисертації порівняно з відомими дослідженнями аналогічного характеру***

У дисертаційній роботі вперше:

- оптимізовано умови діазотування цефтріаксону, цефтазидиму, сульфаніламідів та фуксину (кислотність середовища, вплив надлишку діазотуючого реагенту натрій нітриту тощо), виходячи з подальшого азосполучення отриманих солей діазонію із відповідними фенольними реагентами (резорцином, 2-метилфенолом, 8-оксихіноліном) чи антибіотиками (амоксициліном та окситетрацикліном), відповідно;
- вивчено оптимальні умови взаємодії окситетрацикліну та амоксициліну із ДНСК, діазосолями Фукс, САМ та СТЗ (кислотність середовища (для АМ-САМ(СТЗ), ОТЦ-Фукс – рН 10,5, ОТЦ-ДНСК – середовище 10 М NaOH, ЦЕФТР та ЦЕФТ – середовище 1,6 М NaOH), надлишок реагенту (для САМ та СТЗ – 5-кратний, для ДНСК – 2,5-кратний щодо відповідних АН, у випадку Фукс – 1,33-кратний надл. ОТЦ до фуксину, для 8-Окс – 7-кратний, для Рез та 2-Мет – 10-кратний надлишок щодо цефалоспоринів);
- на основі реакції азосполучення розроблено методики визначення амоксициліну з діазотованим сульфатіазолом та сульфаніламідом, окситетрацикліну з 1-діазо-2-нафтол-4-сульфоокислотою та діазотованим фуксином, діазотованого цефтазидиму з резорцином, 8-оксихіноліном, 2-метилфенолом та діазотованого цефтріаксону з 8-Окс і 2-Мет у одно та багатокомпонентних лікарських засобах;
- розраховано  $\lambda_{\max}$ ,  $\bar{\epsilon}_{\lambda}$  азосполук амоксициліну, окситетрацикліну, цефтріаксону та цефтазидиму та метрологічні характеристики їхнього СФ визначення у таких аналітичних формах;
- з'ясовано селективність аналітичних реакцій АН з реагентами за наявності біологічно активних та допоміжних речовин;
- валідовано СФ методики визначення АМ з САМ та СТЗ, а також ЦЕФТР із 8-Окс;
- запропоновано імовірні схеми утворення азосполук на основі АМ, ОТЦ, ЦЕФТ та ЦЕФТР з досліджуваними реагентами за допомогою СФ та ВА досліджень;
- досліджено електрохімічну поведінку АМ та продукту його азосполучення з діазотованим САМ і запропоновано схему електродного процесу відновлення утвореної азосполуки;
- розроблено і валідовано ВА методику визначення АМ у таблетках;

- досліджено електрохімічну поведінку ЦЕФТР та продукту власного азосполучення діазотованого ЦЕФТР;
- розроблено ВА методику визначення ЦЕФТР в однокомпонентних препаратах.

#### **6. Перелік наукових праць, які відображають основні результати дисертації**

*Основні результати дисертаційної роботи викладено у п'яти наукових статтях, три з яких опубліковані у фахових виданнях, що індексуються у наукометричних базах Scopus та Web of Science (з цих журналів два належать до третього квартилю (Q3) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank) та одному патенті України на винахід.*

##### *6.1. Публікації у наукових фахових виданнях, які включено до міжнародних наукометричних баз*

1. **Kostiv O.** Development and validation of the simple and sensitive spectrophotometric method of amoxicillin determination in tablets using sulphanilamides / **O. Kostiv**, O. Korkuna, P. Rydchuk // Acta Chim. Slov. – 2020, Vol. 67, No. 1. – P. 23–35. (IF=1,263; Scopus, квартиль Q3). (Особистий внесок здобувачки: спектрофотометричне дослідження оптимізації умов діазотування САМ та СТЗ та вивчення умов азосполучення отриманих солей діазонію із амоксициліном, участь у формулюванні основних положень та висновків. Написання та оформлення статті).

2. **Костів О.І.** Реакція азосполучення цефалоспоринових антибіотиків з 8-оксихіноліном та її застосування в аналізі лікарських засобів / **О.І. Костів**, О.Я. Коркуна, М.П. Орнат // Methods Objects Chem. Anal. – 2020. – Vol. 15, No. 3. – P. 144–155. (Web of Science). (Особистий внесок здобувачки: спектрофотометричне дослідження умов діазотування ЦЕФТ та ЦЕФТР та вивчення умов азосполучення отриманих солей діазонію із фенольним реагентом 8-оксихіноліном, визначення цефалоспоринових антибіотиків у лікарських формах, участь у формулюванні основних положень та висновків. Написання та оформлення статті).

3. **Костів О.І.** Спектрофотометричне визначення цефтазидиму у ліках із застосуванням резорцину та 2-метилфенолу / **О.І. Костів**, О.Я. Коркуна, М.В. Шередько // Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii. – 2021. – No. 1, – P. 35-44. (Scopus, квартиль Q3). (Особистий внесок здобувачки: спектрофотометричне дослідження умов діазотування цефтазидиму та вивчення умов азосполучення солі діазонію ЦЕФТ із фенольними реагентами резорцином та 2-метилфенолом, визначення ЦЕФТ у лікарських засобах, участь у формулюванні основних положень та висновків. Написання та оформлення статті).

##### *6.2. Статті у наукових фахових виданнях України*

1. **Костів О.** Вольтамперометричне визначення цефтріаксону за реакцією азосполучення / **О. Костів**, П. Ридчук, О. Коркуна // Вісн. Львів. ун-ту. Серія хім.

– 2019. – Вип. 60., Ч.1 – С. 200–209. (Особистий внесок здобувачки: вольтамперометричне дослідження процесу відновлення продукту власного азосполучення на ртутному крапельному електроді, ВА визначення ЦЕФТ у лікарських засобах, участь у формулюванні основних положень та висновків. Написання та оформлення статті).

2. **Костів О.**, Коркуна О., Янчук Л., Смолінська М. Застосування азосполуки окситетрацикліну з 1-аміно-2-нафтол-4-сульфо кислотою для спектрофотометричного аналізу ветеринарних препаратів / **О. Костів**, О. Коркуна, Л. Янчук, М. Смолінська // Вісн. Львів. ун-ту. Серія хім. – 2021. – Вип. 62. – С. –156-167. (Особистий внесок здобувачки: спектрофотометричне вивчення умов азосполучення солі діазонію 1-аміно-2-нафтол-4-сульфо кислоти із окситетрацикліном, участь у формулюванні основних положень та висновків. Написання та оформлення статті).

### *6.3. Патенти України на винахід*

1. Патент України на винахід № 120717. МПК G01N 27/00 (2020). Спосіб вольтамперометричного визначення амоксициліну у фармацевтичних препаратах / О.Я. Коркуна, П.В. Ридчук, **О.І. Костів**. – №а201801406. – заявл. 13.02.2018; опубл. 27.01.2020, Бюл. № 2. Заявник і власник – Львівський національний університет імені Івана Франка. (Особистий внесок здобувачки: вольтамперометричне дослідження процесу відновлення продукту азосполуки АМ із САМ на ртутному крапельному електроді, ВА визначення АМ у лікарських засобах, участь у формулюванні основних положень та висновків. Написання та оформлення патенту).

У перелічених наукових статтях повною мірою відображено основні положення та результати дисертаційного дослідження.

### *7. Апробація основних результатів дослідження на конференціях, симпозиумах, семінарах тощо*

1. **Костів О. І.**, Коркуна О. Я. Застосування реакції азосполучення для спектрофотометричного визначення амоксициліну // Тези допов. Київської конф. з аналітичної хімії “Сучасні тенденції 2016”, 18-22 жовтня 2016, Київ. – С. 130-131.

2. **Костів О. І.**, Коркуна О. Я. Оптимальні умови взаємодії амоксициліну з деякими реагентами, що містять у своїй структурі первинну ароматичну аміногрупу // Хімічні проблеми сьогодення (ХПС-2017): зб. тез допов. Десятої Української наук. конф. студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю / Донецьк. нац. ун.-т ім. В. Стуса, 27–29 березня 2017, Вінниця, ТОВ “Нілан-ЛТД”, 2017. – С.19.

3. **Костів О. І.**, Коркуна О. Я. Нові спектрофотометричні методики визначення амоксициліну з діазотованими реагентами: сульфаніловою кислотою,

стрептоцидом, сульфатіазолом та бензидином // Зб. наук. праць XVI Наук. конф. “Львівські хімічні читання – 2017”, 28 травня – 31 травня 2017, Львів. – С. У10.

4. **Костів О. І.**, Коркуна О. Я. Спектрофотометричне визначення амоксициліну у лікарських препаратах із застосуванням реакції азосполучення // Тези допов. Київської конф. з аналітичної хімії “Сучасні тенденції 2017” / Київ. нац. ун-т ім. Т. Шевченка, 18–21 жовтня 2017, Київ. – С. 168-169.

5. **Костів О. І.**, Коркуна О. Я., Грийцаровська І. А. Використання сульфаніламиду та сульфатіазолу для визначення вмісту амоксициліну у лікарських формах та валідація розроблених методик // Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій: тези допов. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народж. д. фарм. н., проф. О. М. Гайдукевича, 12-13 квітня 2018, Харків: НФаУ. – С. 333

6. **Костів О. І.**, Шередько М. В., Максимів І. Р., Коркуна О. Я. Встановлення оптимальних умов діазотування цефтазидиму та подальшого його азосполучення з фенольними реагентами // Хімічні проблеми сьогодення (ХПС-2019): зб. тез допов. XII Української наук. конф. студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю / Донецьк. нац. ун.-т ім. В. Стуса, 19–21 березня 2019, Вінниця, ТОВ “Нілан-ЛТД”, 2019. – С.12.

7. **Костів О. І.**, Коркуна О. Я., Ридчук П. В., Хавчук М. М. Застосування реакції азосполучення для вольтамперометричного визначення амоксициліну // Зб. наук. праць XVII Наук. конф. “Львівські хімічні читання – 2019”, 2 червня – 5 червня 2019, Львів. – С. У43.

8. **Костів О.І.**, Орнат М.П., Коркуна О.Я., Скробала В.Е. Спектрофотометричне визначення цефтріаксону в лікарських засобах за допомогою 8-оксихіноліну // Зб. тез Всеукр. наук.-практич. конф. з міжнар. участю “Сучасні питання молекулярно-біохімічних досліджень та лабораторного скринінгу у клінічній та експериментальній медицині – 2020”, 05-06 березня 2020, Запоріжжя. – С. 16.

9. **Костів О.І.**, Грийцаровська І.А., Коркуна О.Я., Хавчук М.М. Валідація спектрофотометричної методики визначення амоксициліну на основі реакції азосполучення у суспензії для ін’єкцій “Амоксицилін 15% L.A” // Тези доп. XXI Міжнар. конф. студентів, аспірантів та молодих вчених “Сучасні проблеми хімії”/ Київ. нац. ун-т ім. Т. Шевченка, 20–22 травня 2020, Київ. – С. 24.

10. **Костів О.І.**, Коркуна О.Я., Янчук Л.В., Спектрофотометричне визначення окситетрацикліну за реакцією азосполучення з фуксином та 1-діазо-2-нафтол-4-сульфо кислотою // Зб. тез допов. Київської конф. з аналітичної хімії: Сучасні тенденції 2020, 21–23 жовтня, Наукове видання, Київ: “LAT&K”, 2020. – С. 24.

11. **Костів О.І.**, Коркуна О.Я., Ридчук П.В., Хавчук М.М., Валідація вольтамперометричної методики визначення амоксициліну // Сьомий наук. семін. студентів, аспірантів і молодих учених “Прикладні аспекти електрохімічного

аналізу”, 15–16 жовтня 2020, Львів: Малий видавн. центр хім. та фізичн. факульт. ЛНУ ім. І. Франка, 2020. – С. 21.

12. **Костів О.І.**, Коркуна О.Я., Орнат М.П. Валідація спектрофотометричної методики визначення цефтріаксону за допомогою 8-оксихіноліну у порошок для приготування розчинів для ін’єкцій “Цефтріаксон” // XIII Всеукр. наук. конф. студентів та аспірантів “Хімічні Каразінські читання – 2021”, 20–21 квітня, Харків, 2021. – С. 38-39.

13. **Костів О.І.**, Коркуна О.Я., Орнат М.П., Футрик А.Н. Азосполука цефтріаксону з 2-метилфенолом, як дериват для спектрофотометричного визначення антибіотика у ліках // V Всеукр. наук. конф. “Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи”. Зб. матеріалів конф., 15 квітня 2021, Житомир, 2021. – С. 25.

14. **Костів О.І.**, Коркуна О.Я. Реакція азосполучення в аналізі  $\beta$ -лактамних та тетрациклінових антибіотиків // Зб. наук. праць: XVIII Наук. конф. “Львівські хімічні читання – 2021”, 31 травня – 2 червня, Львів: Видавництво від А до Я, 2021. – С. У19.

#### ***8. Наукове значення виконаного дослідження із зазначенням можливих наукових галузей та розділів програм навчальних курсів, де можуть бути застосовані отримані результати***

Отримані результати розширюють уявлення про хімічні властивості  $\beta$ -лактамних та тетрациклінових антибіотиків та доповнюють теоретичні аспекти СФ та ВА методів визначення антибіотиків, а тому мають важливе наукове значення для аналітичної, органічної та фармацевтичної хімії. Результати дисертаційної роботи можуть бути цікавими фахівцям контрольно-аналітичних лабораторій фармацевтичної, харчової промисловості, а також можуть бути використані у навчальних курсах “Оптичні методи аналізу”, “Електрохімічні методи аналізу” тощо.

Розроблену методику спектрофотометричного визначення амоксициліну у таблетках “Амоксиклав квіктаб” за реакцією азосполучення із діазотованим сульфаніламідом впроваджено у лабораторний практикум дисципліни за вибором студента “Аналіз лікарських засобів” для студентів освітнього рівня “магістр” хімічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка.

#### ***9. Практична цінність результатів дослідження із зазначенням конкретного підприємства або галузі, де вони можуть бути застосовані***

Отримані результати розширюють і доповнюють хіміко-аналітичні властивості досліджуваних антибіотиків, а розроблені методики визначення амоксициліну з діазотованим сульфатіазолом та сульфаніламідом, окситетрацикліну з 1-діазо-2-нафтол-4-сульфо кислотою та діазотованим фуксином, діазотованого цефтазидиму з резорцином, 8-оксихіноліном, 2-метилфенолом та діазотованого цефтріаксону з 8-Окс і 2-Мет можуть бути застосовані до аналізу одно- та багатокомпонентних лікарських засобів,

біологічних рідин після відповідної пробопідготовки та впроваджені у лабораторії із контролю якості лікарських засобів фармацевтичних підприємств. Також розроблені методики можна застосовувати для оцінки вмісту антибіотиків у змивних водах фармацевтичних підприємств.

Методики спектрофотометричного визначення окситетрацикліну за реакцією азосполучення із діазотованим фуксином та 1-діазо-2-нафтол-4-сульфо кислотою впроваджено у практику лабораторії високоефективної рідинної хроматографії ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів.

### ***10. Оцінка структури дисертації, її мови та стилю викладення***

Дисертація за структурою, мовою та стилем викладення відповідає вимогам МОН України.

Дисертацію заслухано та обговорено на фаховому семінарі кафедр аналітичної хімії та органічної хімії Львівського національного університету імені Івана Франка (протокол № 1 від 18 червня 2021 року).

У ході обговорення суттєвих зауважень, які стосуються основних положень дисертаційної роботи, не було висунуто.

Загалом дисертаційна робота Костів Оксани Ігорівни “Реакція азосполучення в аналізі β-лактамних та тетрациклінових антибіотиків” є завершеною науковою працею в межах поставлених завдань, у якій розв’язано наукове завдання – вивчення умов реакції діазотування та азосполучення досліджуваних антибіотиків і розроблення селективних спектрофотометричних та вольтамперометричних методик визначення амоксициліну, окситетрацикліну, цефтріаксону та цефтазидиму, а також проведено апробацію розроблених методик на одно- і багатокомпонентних лікарських формах.

На основі вищесказаного можна зробити такі висновки щодо поданої дисертаційної роботи:

1. За актуальністю обраної теми, обсягом, достовірністю та рівнем апробації отриманих результатів, науковою новизною, обґрунтованістю висновків, практичною цінністю дисертаційна робота “Реакція азосполучення в аналізі β-лактамних та тетрациклінових антибіотиків” відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. “Про затвердження вимог до оформлення дисертації” та п. 10 “Тимчасового порядку присудження ступеня доктора філософії” (Постанова Кабінету Міністрів України від 06 березня 2019 р. № 167, зі змінами згідно з Постановою Кабінету Міністрів України від 09 червня 2021р №608).

2. Дисертація відповідає спеціальності 102 Хімія (галузь знань 10 “Природничі науки”).

3. Наукові праці Костів О.І., опубліковані за результатами дисертаційної роботи, за кількістю та якістю відповідають п. 11 “Тимчасового порядку присудження ступеня доктора філософії” (Постанова Кабінету Міністрів України

від 06 березня 2019 р. № 167, зі змінами згідно з Постановою Кабінету Міністрів України від 09 червня 2021р №608).

4. Дисертація “Реакція азосполучення в аналізі  $\beta$ -лактамних та тетрациклінових антибіотиків” Костів Оксани Ігорівни рекомендується для подання до розгляду та захисту у спеціалізованій вченій раді.

Рецензенти:

доктор хімічних наук, доцент,  
професор кафедри органічної хімії

В.С. Матійчук

кандидат хімічних наук, доцент,  
завідувачка кафедри аналітичної хімії

Л.О. Дубенська

18 червня 2021 р.

*Підписи проф. Матійчука В.С. та доц. Дубенської Л.О. засвідчую.*

Вчений секретар  
Львівського національного  
університету імені Івана Франка, доц.

О.С. Грабовецька