

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу

Сазонова Кирила Дмитровича

«Синтез та біологічна активність нових амідних похідних

інденохіноксалинового ряду»,

подану на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 102

«Хімія»

Актуальність тематики дослідження

Стрімке зростання інфекційних хвороб та онкологічних захворювань в сучасному світі є однією з основних проблем людства, тому розробка простих та надійних методик отримання органічних субстанцій, які мають лікувальну дію, залишається актуальним завданням. Важливу роль в цьому відіграють сучасні комп'ютерні технології, що допомагають спрогнозувати біологічну активність сполук, ще до етапу її синтезу, тим дозволяючи розробникам суттєво зекономити час і ресурси. Взаємодія між лікарською субстанцією та ДНК може відбуватись за рахунок різного роду взаємодій, одним із яких є інтеркаляція – вбудовування плоскої молекули хромофора між двома сусідніми парами основ ДНК (π - π -стекингова взаємодія). Серед сполук-інтеркаляторів вагоме значення мають N-гетероциклічні сполуки з конденсованими плоскими циклами, зокрема похідні інденохіноксалинового ряду, які мають широкий спектр фармакологічної активності. Саме тому обґрунтованим та актуальним є дослідження Сазонова К. Д., присвячене розробці зручного та універсального методу синтезу нових амідних похідних інденохіноксалинового ряду, визначенню їх афінитету до ДНК та оцінці пов'язаної з нею біологічної активності.

Ступінь обґрунтованості результатів, їх наукова новизна

При вирішенні поставлених завдань дисертант отримав нові наукові результати, які за своєю сутністю і змістом повністю відповідають кваліфікаційному рівню доктора філософії за спеціальністю 102 «Хімія».

У дисертації:

- здійснено регіоселективний підхід до синтезу 6-заміщених похідних 11H-інденохіноксалинону на прикладі 11-оксоіндено[1,2-b]інденохіноксалин-6-карбонової кислоти;
- розроблено ефективний метод амідування інденохіноксалинових кислот, який дозволяє приєднувати нітрогеновмісні складові різної будови (естери амінокислот, аміни, аміноспирти);
- синтезовано та ідентифіковано дев'ять нових амідів відповідної інденохіноксалинової кислоти, які містять в лінкерному амідному ланцюзі фрагменти природи;
- проведено віртуальний скринінг всіх синтезованих сполук, який засвідчує потенційну можливість їх використання як лікарських засобів з протиінфекційною та протипухлинною дією; молекулярним докінгом доведено можливість їх інтеркаляції до ДНК;
- підтверджено афінитет всіх синтезованих карбоксамідів до ДНК, розраховано константи асоціації комплексів та визначено характер взаємодії сполук, що містять лінкерні аміногрупи;
- встановлено антибіотичну, антигрибкову та анагетичну дію окремих представників синтезованих амідів.

Одержані результати є науково обґрунтованими і достовірними, оскільки повністю підтверджені сучасними та взаємодоповнюючими експериментальними методами досліджень та узгоджуються з літературними даними. Напрями перебігу реакцій та будова нових сполук підтверджені сучасними фізико-хімічними методами (ЯМР ^1H , мас-спектрометрія, елементний аналіз), а наукові положення та висновки, сформульовані у дисертації, ґрунтуються саме на цих експериментальних даних.

Структура і зміст дисертаційної роботи

Дисертаційна робота Сазонова К.Д. є логічно побудованим завершеним дослідженням, викладена на 156 сторінках і складається з анотації

(українською та англійською мовами), вступу, де зазначено актуальність, новизну, мету і завдання дослідження, п'яти розділів, висновків, списку використаної літератури та додатків.

Анотація за змістом повністю відповідає дисертаційній роботі. У **вступі** дисертації визначено мету дослідження (с. 19), яка полягає в розробці ефективного методу синтезу нових амідних похідних 11-оксоіндено[1,2-*b*]інденохіноксалін-6-карбонової кислоти, визначення їх афінності до ДНК та біологічного потенціалу. На мою думку, вона чітко демонструє відношення даної роботи до вирішення актуальних завдань сучасної біоорганічної хімії та підкріплена добре сформованим списком завдань, об'єктом і предметом дослідження. Крім того, у вступі дисертант навів актуальність тематики дослідження та вказав на зв'язок дисертації з науковими-дослідними темами кафедри органічної та фармацевтичної хімії ОНУ імені І.І. Мечникова, що підкреслює вагомість виконаних досліджень.

Основні результати роботи Сазонова К.Д. висвітлено у розділах 1–5 дисертації.

У **першому розділі** представлено огляд літератури, в якому систематизовано дані літературних джерел щодо методів синтезу інденохіноксалінових похідних та аналізу їх біологічної активності. Окремо увагу приділено інтеркаляційному способу взаємодії сполук цього класу із ДНК. Охарактеризовано *in silico* методи, які застосовувались в роботі. На підставі аналізу літературних джерел автор констатує, що основним методом синтезу сполук з інденохіноксаліновим каркасом є циклоконденсація ди- або трикарбонільних сполук із *o*-діаминами. Варіювання природи карбонільної компоненти або замісників в бензеновому циклі діамінів розширює коло похідних інденохіноксалінового ряду. Також можливою є функціоналізація цих сполук по карбонільній групі в інденовому циклі. Автор обґрунтовує свій вибір амідів оксоінденохіноксалінкарбонової кислоти як об'єктів дослідження біодеградабельною природою амідних зв'язків, а також літературними даними, що інденохіноксалінові похідні з довгими лінкерними

ланцюгами амідної природи мають покращені біологічні властивості порівняно з іншими аналогами.

У **другому розділі** представлено методики синтезу як досліджуваних, так і вихідних сполук, їх ідентифікаційні параметри. Наведено методики, умови й основні етапи хімічних досліджень та біологічного скринінгу, опис реактивів, характеристики устаткування та обладнання, які застосовували у роботі.

Третій розділ присвячено прогнозуванню *in silico* біологічної активності амідів, які планувалося синтезувати. За допомогою програми ADMETlab 2.0. проаналізовано їх фізико-хімічні параметри та встановлено, що за правилами Ліпінського вони можуть бути віднесені до “drug-like”. Оцінка фармакокінетичних характеристик показала, що всі сполуки з невеликою долею ймовірності здатні абсорбуватися у кишечнику людини, а деякі з них можуть проникати через гематоенцефалічний бар'єр. Згідно прогнозу всі синтезовані речовини є доволі токсичними, проте високі значення відповідних параметрів опосередковано можуть вказувати на можливість їх інтеркаляції до ДНК, що в свою чергу вказує на їх потенціал для лікування пухлин або вірусних інфекцій.

Скринінг фармакологічних властивостей веб-сервером PharmMapper підтвердив здатність амідів зв'язуватись з біологічними мішенями, переважна більшість яких приймає участь у реплікації ДНК. Більшість досліджуваних сполук з високою вірогідністю можуть інгібувати протеїнкінази, які відіграють ключову роль у процесі зростання та поділі клітин. Крім того, деякі з них потенційно можуть пригнічувати дію інтерферон-індукованої протеїнкінази, надмірна активність якої призводить до запалення та пошкодження тканин.

Молекулярним докінгом підтверджено, що усі сполуки можуть утворювати комплекси включення із двоспиральними полінуклеотидами, тобто є потенційними інтеркаляторами до ДНК.

Четвертий розділ присвячено опису синтезу базової сполуки – 11-оксоіндено[1,2-*b*]хіноксалін-6-карбонової кислоти та розробці на її основі ефективного та універсального методу синтезу амідних похідних. Було доведено регіоселективність реакції синтезу цієї кислоти при конденсації 2,3-діамінобензойної кислоти з нінгідрином і встановлено, що утворюється кислота із карбоксильною групою в положенні 6 інденохіноксалинового каркасу. Описано етапи розробки способу амідкування 11-оксоіндено[1,2-*b*]хіноксалін-6-карбонової кислоти та визначений найефективніший метод – шляхом активації карбоксильної групи етиловим естером монохлорвугільної кислоти. Цим методом синтезовано дев'ять нових амідних похідних 11-оксоіндено[1,2-*b*]хіноксалін-6-карбонової кислоти з естерами амінокислот, амінами різної будови, аміноетанолом. Нові отримані сполуки охарактеризовано елементним аналізом, ЯМР спектроскопією, хромато-мас-спектрометрією.

П'ятий розділ присвячено визначенню афінитету отриманих сполук до ДНК, а також дослідженню їх антибактеріальної, антифунгальної та анальгетичної активності. Встановлено, що всі синтезовані карбоксаміди є високоафінними лігандами ДНК та за своїм афінитетом є близькими до відомого препарату аміксину, що дозволяє їх розглядати як потенційні противірусні агенти з можливою імуномодуляторною дією. Показано, що взаємодія N-[3-(диметиламіно)пропіл]-11-оксоіндено[2,1-*b*]хіноксалін-6-карбоксаміду з ДНК в електронних спектрах відображується як батохромний зсув смуг поглинання з одночасним гіпохромізмом, що експериментально доводить їх взаємодію шляхом «чистої» інтеркаляції. Для інших сполук спостерігався лише батахромний зсув, без гіпохромного ефекту, що вказує на те, що разом з інтеркаляцією можливе додаткове зв'язування в малому чи великому жолобах за рахунок лінкерних груп, або поверхнєве зв'язування.

Протимікробний скринінг сполук підтвердив антибактеріальні властивості N-[3-(диметиламіно)пропіл]-11-оксоіндено[2,1-*b*]хіноксалін-6-карбоксаміду по відношенню до *S. aureus*, а N-(2-гідроксіетил)-11-

оксоіндено[2,1-b]хіноксалін-6-карбоксаміду – до *E.coli*, як попередньо було передбачено *in silico* методом. Дослідження антифунгальної активності щодо *C. albicans*, яке також було спрогнозовано *in silico*, виявило цю властивість у сполук N-[3-(диметиламіно)пропіл]-11-оксоіндено[2,1-b]хіноксалін-6-карбоксаміду та метил 2-[(11-оксоіндено[1,2-b]хіноксалін-6-карбоніл)аміно]-3-фенілпропаноату. 2-(Діетиламіно)етил-4-[(11-оксоіндено[2,1-b]хіноксалін-6-карбоніл)аміно] бензоат був протестований на прояв аналгетичної активності, яка вивчалася *in vivo* на термічних та хімічних моделях болю. Аналіз динаміки аналгетичної активності мазей з концентраціями 3 та 5 % свідчить про те, що вони здатні впливати на центральний компонент ноцицептивної системи та пригнічувати больові відчуття у піддослідних тварин.

Повнота наукових положень дослідження у дисертації та публікаціях

У дисертації Сазонова К.Д. чітко сформульовано наукові положення та повністю розкрито їхній зміст відповідно до тематики дослідження. Вони відображені у 3 наукових статтях, 2 з яких включені у наукометричні бази Scopus та Web of Science. Крім того, результати досліджень апробовано на 5 конференціях. Опубліковані праці у повній мірі охоплюють матеріал дисертаційної роботи.

Практичне значення наукових результатів

Практичне значення одержаних результатів полягає в розробленні зручної, ефективної і препаративно доступної методики амідкування для одержання карбоксамідних похідних інденохіноксалінового ряду, що дає можливість здійснювати цілеспрямований дизайн нових біологічно активних сполук з широким спектром дії. Віртуальним скринінгом за програмою PharmMapper спрогнозовано протиракову та противірусну активність синтезованих сполук. Експериментальним біологічним скринінгом виявлено

низку перспективних з точки зору практичного застосування нових біологічно активних сполук, які проявляють антимікробну, антигрибкову та анальгетичну дію.

Окремі матеріали дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес кафедри органічної та фармацевтичної хімії факультету хімії та фармації Одеського національного університету імені І.І. Мечникова.

Відомості про дотримання академічної доброчесності

Ознайомившись із науковими публікаціями та дисертацією Сазонова К.Д., ознак порушення академічної доброчесності не виявила.

Зауваження

1. Раніше не описані сполуки – амідні похідні 11-оксоіндено[1,2-b]інденохіноксалін-6-карбонової кислоти – бажано було б охарактеризувати більш повно за допомогою УФ-спектроскопії, ІЧ-спектроскопії, ¹³C ЯМР-спектроскопії, а також вказати в методиках синтезу їх колір. Крім того, автор зазначає, що для ідентифікації синтезованих сполук використовувалась хроматомас-спектрометрія високої роздільної здатності (HRMS), однак в методиках синтезу результати цього методу не наводяться.

2. У схемі синтезу естерів амінокислот (рис. 4.7, ст.100) спирт, який є в цій реакції реактантом, слід було б вказати над стрілкою, а не під нею.

3. Робота містить деяку кількість друкованих помилок, невдалих виразів, іноді застосовується застаріла номенклатура (ст. 58, 59, 61, 64, 106 (“бензол” замість “бензен”, тощо).

Ці зауваження не впливають на загальну високу оцінку роботи. В цілому, дисертаційна робота свідчить про високий теоретичний, експериментальний та науковий рівень автора. Одержаний значний обсяг експериментальних даних, інтерпретація яких на високому рівні дозволяють вважати дисертаційну роботу завершеним науковим дослідженням.

Висновок щодо відповідності дисертації вимогам

Дисертація Сазонова К.Д. на тему «Синтез та біологічна активність нових амідних похідних інденохіноксалинового ряду», подана на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 «Хімія», є цілісним завершеним науковим дослідженням, яке розглядає актуальні проблеми синтезу сполук інденохіноксалинового ряду та дослідженню їх біологічної активності. Вважаю, за актуальністю обраного напрямку, рівнем визначених завдань, методами їх вирішення, обсягом експериментального матеріалу, новизною, науковим та практичним значенням одержаних результатів та висновків дисертація відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» та «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 року, а її автор, Сазонов Кирило Дмитрович, заслуговує присудження йому ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 «Хімія».

Рецензент

кандидат хімічних наук, доцент,
доцент кафедри органічної та фармацевтичної
хімії Одеського національного
університету імені І.І. Мечникова

Надія ФЕДЬКО



ОСОБИСТИЙ ПІДПИС ПІДТВЕРДЖУЮ
Перший проректор ОНУ ім. І.І.Мечникова

Майя НІКОЛАЄВА

21.05. 2025 р.