РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу

САЗОНОВА Кирила Дмитровича

Синтез та біологічна активність нових амідних похідних інденохіноксалінового ряду,

подану на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 Хімія

Дисертацію Сазонова К.Д. присвячено розробці зручного та ефективного методу синтезу амідних похідних 11-оксоіндено[1,2-b]хіноксалін-6-карбонової кислоти, дослідженню їх фізико-хімічних характеристик, афінітету до ДНК, а також деяких біологічних властивостей.

Актуальність дослідження. Органічна хімія є провідна наукою, що забезпечує перший етап розробки сучасних та безпечних ліків, а саме синтез біологічно активних речовин. Таким чином, розробка простих та надійних методик отримання органічних субстанцій, які мають лікувальну дію залишається важливою та своєчасною задачею. До того ж, особливу роль відіграють сучасні комп'ютерні технології, які дозволяють спрогнозувати біологічну активність сполук, що дозволяє цілеспрямовано підійти до безпосереднього їх одержання при максимально раціональному використанні ресурсів.

Серед сполук-інтеркаляторів вагоме значення мають N-гетероциклічні сполуки з конденсованими плоскими циклами, зокрема похідні інденохіноксалінового ряду. Важливу роль в утворенні комплексів ліганд-ДНК відіграє не лише інденохіноксаліновий цикл, а й будова лінкерних ланцюгів, які відповідальні за додаткові взаємодії, що стабілізують комплекс. На сьогоднішній день описаний синтез похідних із замісниками відносно простої будови (-Hal, -Alk, $-NO_2$, $-NH_2$ тощо), які отримують конденсацією заміщених *о*-фенілендіамінів з ди- або три- кетосполуками. Інденохіноксалінові похідні із лінкерами більш складної будови потребують розробки подальших стадій синтезу. Введення до інденохіноксалінового фармакофору біологічно споріднених фрагментів, таких як амідні групи, викликає науковий і

практичний інтерес і потребує розробки простих і ефективних способів амідування.

Дисертаційну роботу виконано на кафедрі органічної та фармацевтичної хімії Одеського національного університету імені І.І. Мечникова в межах науково-дослідної теми № 368 «Пошук шляхів синтезу нових похідних нітрогеновмісних гетероциклів з біологічною активністю» (2024-2029 рр., № держреєстрації 0124U005001).

Враховуюче викладене вище, ***актуальність дисертаційної роботи*** Сазонова К.Д., яку присвячено розробці зручного та універсального методу синтезу нових амідних похідних інденохіноксалінового ряду, визначенню їх афінітету до ДНК та оцінці пов'язаної з нею біологічної активності, ***безумовно не викликає сумнівів***.

Структура та зміст дисертації. Дисертаційна робота Сазонова К.Д. складається із анотації, вступу, 5 розділів, висновків, списку цитованої літератури, який налічує 140 джерел, містить 63 рисунки, 13 таблиць та 3 додатки. Загальний обсяг дисертаційної роботи становить 151 сторінку.

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми дисертаційної роботи, сформульовано мету та завдання дослідження, зазначено наукову новизну і практичну значимість отриманих результатів.

У **першому розділі** наведено огляд літератури, в якому систематизовано дані літературних джерел щодо методів синтезу інденохіноксалінових похідних та аналізу їх біологічної активності.

У **другому розділі** наведено методики, умови й основні етапи хімічних досліджень та біологічного скринінгу, опис реактивів, характеристики устаткування та обладнання, які застосовувались у роботі.

Третій розділ присвячено прогнозуванню *in silico* біологічної активності амідів. За допомогою програми ADMETlab 2.0. проаналізовано їх фізико-хімічні параметри та встановлено, що за правилами Ліпінські вони можуть бути віднесені до "drug-like". Скринінг фармакологічних властивостей за допомогою PharmMapper підтвердив здатність амідів зв'язуватись з

біологічними мішенями, переважна більшість яких приймають участь у реплікації ДНК та поділі клітин. Молекулярним докінгом підтверджено, що усі сполуки можуть утворювати комплекси включення із двоспіральними полінуклеотидами, тобто є потенційними інтеркаляторами до ДНК. Показано, що 11-оксоіндено[1,2-b]хіноксалін-6-карбонова кислота значно поступається за виграшем в енергії зв'язування з ДНК у порівнянні з її амідними похідними, що підтвердило доцільність їх синтезу та подальших досліджень.

Четвертий розділ присвячено 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 11-оксоіндено[1,2-b]хіноксалін-6-карбонової кислоти при конденсації 2,3-діамінобензойної кислоти з нінгідрином і встановлено, що утворюється кислота із карбоксильною групою в положенні 6 інденохіноксалінового каркасу. Описано етапи розробки способу амідування 11-оксоіндено[1,2-b]хіноксалін-6-карбонової кислоти та визначений найефективніший метод – шляхом активації карбоксильної групи етиловим естером монохлорвугільної кислоти. Цим методом синтезовано десять амідних похідних 11-оксоіндено[1,2-b]хіноксалін-6-карбонової кислоти (з них дев'ять сполук описано вперше) з естерами амінокислот, амінами різної будови, аміноетанолом. Нові отримані сполуки охарактеризовано елементним аналізом, ЯМР спектроскопією, хромато-мас-спектрометрією. Визначено температури плавлення всіх синтезованих речовин та константи іонізації сполук, що мають аміногрупи у складі бічного ланцюга.

П'ятий розділ присвячено визначенню афінітету отриманих сполук до ДНК, а також дослідженню антибактеріальної, антифунгальної та анальгетичної активності. Встановлено, що всі синтезовані карбоксаміди є високоафінними лігандами ДНК та за своїм афінітетом є або близькими до відомого препарату аміксину, або навіть переважають його, що дозволяє їх розглядати як потенційні противірусні агенти з можливою імуномодуляторною дією.

Для сполук з аміногрупами у складі лінкерного амідного ланцюга методом спектрофотометрії досліджено спосіб їх зв’язування з ДНК. Показано, що взаємодія N-[3-(диметиламіно)пропіл]-11-оксоіндено[2,1-b]хіноксалін-6-карбокс- аміду 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 поверхневе 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. Дослідження антиноцицептивної активності дослідних зразків мазей на моделі АІТЦ-індукованого болю показало, що місцеві нанесення аплікації засобів сприяли зменшенню больової чутливості у піддослідних тварин, особливо при використанні 5% мазі, що свідчить про здатність даного засобу блокувати периферичні ноцицептори, зокрема, TRPV1 та P2X-рецептори.

Відомості про дотримання академічної доброчесності. В дисертаційній роботі та наукових публікаціях здобувача відсутні ознаки порушення академічної доброчесності.

Ступінь обґрунтованості результатів та їх наукова новизна. Достовірність результатів дисертації не викликає сумнівів, оскільки значний масив експериментальних даних одержано з використанням сучасних фізико-хімічних методів, проходили апробацію під час доповідей на конференціях різного рівня та публікацій у рецензованих фахових наукових виданнях. Висновки до кожного розділу та загальні висновки є науковими, відображають зміст кожного розділу та дисертаційної роботи є обґрунтованими на основі одержаних експериментальних даних та відомих теоретичних уявлень.

Наукова новизна представленої роботи здобувача полягає у:

1. здійснений регіоселективний підхід до синтезу 6-заміщених похідних 11H-інденохіноксалінону на прикладі 11-оксоіндено[1,2-b]інденохіноксалін-6-карбонової кислоти;
2. запропонований зручний, ефективний та універсальний метод амідування інденохіноксалінових кислот, який дозволяє приєднувати аміновмісні складові різної будови (естери амінокислот, аміни, аміноспирти);
3. синтезовано та ідентифіковано дев’ять нових амідів, які містять в лінкерному амідному ланцюзі фрагменти: метил- та етил-2-аміноацетату; метил 3-амінопропаноату; етил 2-[(2-аміноацетил)аміно] ацетату; метил 2-аміно-3-фенілпропаноату; новокаїну, 2,6-диметилпіримідину, етаноламіну та морфоліну;
4. для останніх чотирьох вищезгаданих сполук, а також для описаної в літературі сполуки з N,N-диметилпропанаміном визначено константи протонування;
5. спектроскопічними методами підтверджений афінітет синтезованих карбоксамідів до ДНК, розраховані константи асоціації комплексів та визначений характер взаємодії сполук, що містять лінкерні аміногрупи;
6. експериментальним дослідженням біологічної активності встановлена антибіотична, антигрибкова та аналгетична дія окремих представників синтезованих амідів.

Щодо практичною значущості одержаних результатів, особливо відмітити необхідно наступне:

1. Запропоновано зручну, ефективну і препаративно доступну методику амідування для одержання карбоксамідних похідних інденохіноксалінового ряду, що дає можливість здійснювати цілеспрямований дизайн нових біологічно активних сполук з широким спектром дії.

2. Експериментально виявлено низку перспективних з точки зору практичного застосування нових біологічно активних сполук, які проявляють антимікробну, антигрибкову та аналгетичну дію.

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

Повнота викладення змісту дисертації в опублікованих працях. Результати дисертаційної роботи Сазонова К.Д. в достатній мірі відображені у 8 наукових працях, серед яких 3 статті у фахових періодичних наукових виданнях (із них 2 індексуються в Scopus), 5 тезах доповідей на конференціях різного рівня.

Дисертаційна робота написана літературною науковою українською мовою та містить значний масив експериментальних досліджень. До змісту дисертаційної роботи є наступні **зауваження, запитання та побажання:**

1. Напрацювання автора, які увійшли до його кваліфікаційної роботи недоцільно вказувати у висновках до розділу 1 (стор. 56, пункт 5).
2. Не зрозумілою є методика, подана автором у п.2.1.1 (стор. 57): «…до концентрованого водного розчину (75 мл)…» Якої речовини? Далі по тексту «…Розчин збирали і повторно розчиняли…». Про що йде мова?
3. Чим обумовлено вибір концентрацій сполук 7-11 (30,5; 5,0; 11,2; 67,0; 44 мкМ) при дослідженні їх кислотно-основних властивостей? На підставі чого автор вирішив застосувати ітераційний алгоритм розрахунку рКа, реалізований в програмі SpectroCalcH5A? Чому автором не використанні класичні підходи до встановлення рК за даними

спектрофотометрії (метод зсуву рівноваги, алгебраїчний метод, метод Комаря тощо)? Результати визначення величин рК завжди бажано підтверджувати іншим аналітичним методом (потенціометрія, кондуктометрія тощо).

4. Автор не коментує та не обговорює мас-спектр (рис. 4.9), що ускладнює знайомство з дисертаційною роботою. Чи не було би більш інформативним дослідити мас-спектр при іонізації електронним ударом замість іонізації бомбардуванням швидкими атомами?
5. У спектрах поглинання систем «сполука 7 – ДНК» (рис. 5.6) спостерігається ізобестична точка при 280-285 нм, яку автор жодним чином не коментує. Чим обумовлено наявність ізобестичної точки в дослідженій системі?
6. В дисертаційній роботі зустрічаються опечатки, невдалі вислови, технічні недоліки тощо. Наприклад, стор. 68 зі спектру флуоресценції не можливо отримати значень оптичної густини; на стор. 77 наведено невдалі визначення понять log P та log D; стор. 103 – «дивні» довірчі інтервали, наприклад ±0,00; рис. 5.3, позначення осі ординат, має бути Ілюм, відн.од.; невдало організовано рис. 5.6 – інтенсивність світлопоглинання закономірно змінюється зі зміною концентрації ДНК, а підписи концентрації ДНК позначені хаотично, що ускладнює знайомство з роботою; є неточності в оформленні списку використаної літератури, наприклад [112], а в роботі [131] (те саме стор.6, стор. 12, Додаток А) автор не зміг правильно написати власне прізвище.

Однак, вищевказані зауваження та побажання не є принциповими, не носять систематичний характер і не впливають на основні наукові положення та загальне позитивне враження від роботи, не стосуються і не зменшують наукову та практичну цінність дисертаційної роботи.

Загальний висновок по дисертаційній роботі. Дисертаційна робота Сазонова Кирила Дмитровича «***Синтез та біологічна активність нових амідних похідних інденохіноксалінового ряду***» є завершеною науковою

працею. За актуальністю, науковою новизною, обсягом експериментальних досліджень, теоретичним і практичним значенням отриманих результатів, обґрунтованістю наукових висновків, їх достовірністю, якістю оформлення відповідає вимогам нормативних актів щодо дисертацій, зокрема, 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 від 12.01.2022 року № 44 зі змінами внесеними згідно з Постановою Кабінету Міністрів України від 21.03.2022 року № 341, Постановою Кабінету Міністрів України від 19.05.2023 року № 502 та Постановою Кабінету Міністрів України від 03.05.2024 року № 507, а її автор, Сазонов Кирило Дмитрович, заслуговує на присудження йому ступеня доктора філософії з галузі знань 10 – Природничі науки за спеціальністю 102 – Хімія.

Рецензент:
доцент кафедри аналітичної та
токсикологічної хімії Одеського
національного університету
імені І. І. Мечникова,
канд. хім. наук, доцент Денис СНІГУР

Підпис Дениса СНІГУРА
засвідчую:
Проректор з наукової роботи Одеського
національного університету
імені І. І. Мечникова,
член-кор. НАН України,
д-р. біол. наук, професор Володимир ІВАНИЦЯ