

Голові разової спеціалізованої вченої
ради у Одеському національному універси-
теті ім. І.І. Мечникова,
доктору хімічних наук, професору
Олені МАРЦИНКО

ВІДГУК

офіційного опонента, кандидата хімічних наук, доцента кафедри фармації
та технології органічних речовин «Український державний університет
науки і технологій» Навчально-науковий інститут «Український державний
хіміко-технологічний університет»

Варениченко Світлани Анатоліївни

на дисертаційну роботу **Сазонова Кирила Дмитровича**

на тему: «Синтез та біологічна активність нових амідних похідних інденохінокса-
лінового ряду», подану у разову спеціалізовану вчену раду Одеського національ-
ного університету ім. І.І. Мечникова на здобуття наукового ступеня доктора філо-
софії з галузі знань 10 «Природничі науки» за спеціальністю 102 «Хімія»

1. Актуальність дисертаційної роботи та її зв'язок з державними чи га- лузевими науковими програмами.

Актуальність дослідження зумовлена зростаючою потребою у створенні но-
вих біологічно активних сполук із широким спектром дії, зокрема противірусної,
протипухлинної, антибактеріальної та протигрибкової. Сучасні виклики, пов'язані
з розвитком антибіотикорезистентності, появою нових вірусних інфекцій і зрос-
танням захворюваності на онкопатології, вимагають пошуку ефективних та селек-
тивних агентів. У цьому контексті інденохіноксалинові карбоксаміди становлять
інтерес як потенційні інтеркалятори до ДНК, що можуть впливати на процеси клі-
тинної реплікації та трансляції. Проведення *in silico* скринінгу, молекулярного до-
кінгу, спектроскопічних та біологічних досліджень дозволило виявити нові спо-
луки з перспективними фармакологічними властивостями, що робить це дослі-
дження актуальним для подальшої розробки протиінфекційних і протипухлинних
лікарських засобів, а також місцевих анальгетиків.

Робота виконувалась в рамках науково-дослідної теми «Пошук шляхів син-
тезу нових похідних нітрогеновмісних гетероциклів з біологічною активністю»
(2024-2029 рр., № держреєстрації 0124U005001).

2. Ступінь обґрунтованості наукових положень в дисертації, їх достові- рність і новизна.

Достовірність та обґрунтованість результатів і висновків, представлених у роботі, забезпечено коректним застосуванням таких фізико-хімічних методів як хімічний синтез, тонкошарова і препаративна хроматографія, ЯМР ^1H -спектроскопія, хроматомас-спектрометрія, спектрофотометрія, флуоресцентна спектроскопія, віртуальний та експериментальний скринінг.

Наукова значимість одержаних результатів полягає у встановленні біологічного потенціалу нових амідних похідних 11-оксоінденохіноксалін-6-карбонової кислоти: віртуальний скринінг та молекулярний докінг виявили їх здатність до інтеркаляції в ДНК і перспективу протиінфекційної та протипухлинної дії; спектроскопічно підтверджено афінитет до ДНК і охарактеризовано механізм взаємодії; експериментально доведено антибактеріальну, протигрибкову та знеболювальну активність окремих сполук.

3. Загальні дані про структуру дисертації та аналіз її змісту.

Дисертаційна робота складається із анотації, вступу, п'яти розділів, загальних висновків, списку літератури та додатків. Обсяг основного тексту дисертації становить 151 сторінки друкованого тексту. В роботі представлено 63 рисунки і 13 таблиць. Список використаних джерел складається з 140 найменувань.

У **першому розділі** подано огляд літератури, в якому узагальнено інформацію з джерел щодо методів синтезу інденохіноксалинових похідних та дослідження їхньої біологічної активності. Особливу увагу приділено інтеркаляційному механізму взаємодії цих сполук з ДНК. Також охарактеризовано *in silico* методи, використані в дослідженні.

У **другому розділі** описано методики синтезу як досліджуваних, так і вихідних сполук, а також їхні ідентифікаційні характеристики. Подано умови, основні етапи проведення хімічних досліджень і біологічного скринінгу, наведено методики, описано використані реактиви, а також характеристики обладнання та устаткування, задіяного у дослідженні.

У **третьому розділі** представлено *in silico* прогнозування біологічної активності запланованих до синтезу амідів. За допомогою ADMETlab 2.0 проаналізовано їх фізико-хімічні властивості, встановлено відповідність правилам Ліпінські. Фармакокінетичний аналіз показав низьку ймовірність абсорбції в кишечнику, проте деякі сполуки можуть проникати через гематоенцефалічний бар'єр. Висока токсичність, мутагенність і генотоксичність вказують на потенціал інтеркаляції в ДНК та можливість застосування в лікуванні пухлин і вірусних інфекцій.

Скринінг через PharmMapper підтвердив здатність амідів взаємодіяти з біологічними мішенями, пов'язаними з реплікацією ДНК і клітинним поділом, зокрема білками *E. coli*, *S. aureus* та *C. albicans*. Молекулярне докінгування підтвердило формування комплексів з двоспіральною ДНК, що свідчить про їхній потенціал як інтеркаляторів.

Четвертий розділ присвячено синтезу амідних похідних 11-оксоіндено[1,2-b]хіноксалін-6-карбонової кислоти. Визначено найефективніший підхід активації карбоксильної групи з використанням етилового естеру монохлорвугільної кислоти. За цим методом було синтезовано нові амідні похідні 11-оксоіндено[1,2-b]хіноксалін-6-карбонової кислоти. Як реагенти використовувалися естери амінокислот, аміни різної структури та аміноетанол.

П'ятий розділ присвячено вивченню здатності синтезованих сполук взаємодіяти з ДНК, а також дослідженню їх антибактеріальної, протигрибкової та знеболювальної активності. Встановлено, що всі синтезовані карбоксаміди мають високий афінитет до ДНК, що дозволяє розглядати їх як потенційні противірусні засоби з можливими імуномодулювальними властивостями. Для амідів, що містять аміногрупи в лінкерному амідному ланцюзі, методом спектрофотометрії визначено тип взаємодії з ДНК. Антимікробні властивості підтвердили, що N-[3-(диметиламіно)пропіл]-11-оксоіндено[2,1-b]хіноксалін-6-карбоксамід проявляє активність проти *Staphylococcus aureus*, а N-(2-гідроксіетил)-11-оксоіндено[2,1-b]хіноксалін-6-карбоксамід – проти *Escherichia coli*, що узгоджується з попередніми *in silico* прогнозами. *In silico* прогноз антифунгальної активності щодо *Candida albicans* підтвердився для двох 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.

Окремо досліджено знеболювальну активність сполуки 2-(діетиламіно)етил-4-[(11-оксоіндено[2,1-b]хіноксалін-6-карбоніл)аміно]бензоату. Ефективність тестували *in vivo* на термічних і хімічних моделях болю.

Загалом, виявлена аналгетична дія сполуки на різних моделях болю свідчить про її перспективність як основи для створення місцевих знеболювальних засобів, що потребує подальшого вивчення.

4. Повнота опублікування результатів дисертації, кількість наукових публікацій та конкретний особистий внесок здобувача.

Основні результати дослідження, викладені у дисертації, були опубліковані у 8 наукових працях, включаючи 3 статті, з них 2 у виданнях, що індексуються міжнародною базою даних Scopus. Також представлено 5 тез доповідей на конференціях різного рівня.

5. Загальна оцінка дисертації та зауваження.

В цілому дисертаційна робота справляє позитивне враження. В дисертаційній роботі немає суттєвих недоліків, разом з тим виникають деякі питання та зауваження.

- Стр. 37 як недолік літературного методу синтезу О-заміщених оксимів автор наводить використання токсичного розчинника ТГФ. Але у своїй роботі автор пропонує використання ще більш токсичного розчинника - хлороформу.

- Трапляються неточності у описанні версії програми для *in silico* прогнозування, наприклад, стр. 52 ADMETlab 3.0, тоді як на стр. 2, 5, 69 вказано ADMETlab 2.0. Використовувались обидві версії програми?

- Дуже ускладнює роботу з дисертацією, що методики досліджуваних речовин наведено у розділі 2, стр. 60-63, а сам опис розроблених методик лише у 4-му розділі. До того ж самим автором вказано, що «Третій розділ присвячено прогнозуванню *in silico* біологічної активності амідів, які планувалося синтезувати». Тому логічніше було б навести експериментальну частину після 4го розділу, де наводиться опис розробленої методики амідкування?

- Додаткову складність додає відсутність наскрізної або нумерації по розділам, оскільки і у літературному огляді і в основній частині дисертації містить сполуки 1-11.

- У розділі 2, стр. 61-63, при описі спектрів ЯМР використовується різний стиль оформлення і одночасно позначення і латинськими і українськими літерами, наприклад, для сполуки 6 «¹H ЯМР спектр δ, м.д., МГц», тоді як для сполуки 7 вже «¹H ЯМР спектр (300 MHz, DMSO-d₆), δ, ppm:». Краще було б дотримуватися одного стилю оформлення. Для жодного синтезованої сполуки не зроблено ¹³C ЯМР. Чому?

- На стр. 74 автором вказано «Хроматомас-спектри високої роздільної здатності (HRMS) сполук 1-6 були отримані на приладі Agilent 1260 Infinity UHPLC у поєднанні з мас-спектрометром Agilent 6224 Accurate Mass TOF» Але при описі спектральних характеристик сполук 1-6 наведено дані мас-спектрометрії низької роздільної здатності, наприклад, сполука 2 «Вихід – 0.76 г (60%). Тпл.= 247-249 °C; 361 [M+]». Чому так? Чому не вказані дані мас-спектрометрії високої роздільної здатності?

- На стр. 74 для сполук 7-11 стосовно методу іонізації вказано - «Іонізація здійснювалася пучком атомів Аргону з енергією 10 кВ (речовини розчиняли у 3-нітробензиловому спирті)», тобто FAB, але при у описі сполук 7-11 вже вказується як метод іонізації електронний удар, наприклад сполука 7 «MS (EI), *m/z*: 360 [M]⁺». Так який же метод іонізації було використано?

- На стр. 94, рис. 4.5 Б наведено мас-спектр кислоти 1 у вигляді карбосилат іону низької роздільної здатності, тоді як при описі спектральних даних на стр. 58 вказано про наявність позитивно зарядженого піку молекулярних іонів, 276 [M+].

- Викликає непорозуміння наступна фраза на стр. 99 «В результаті ми отримали п'ять раніше не описаних в літературі продуктів 2-6 (рис. 4.10, табл. 4.2), що містили амідні лінкерні ланцюги у вигляді амінокислотних фрагментів з виходами 40-60%. [122-124].» У табл. 4.2 вказано 10 сполук, що тоді стосовно сполук 7-11? Адже далі по тексту жодного пояснення стосовно їх походження не надано.

- Висновок 1 на стр. 130 не є висновком до даної дисертаційної роботи, а є відомим фактом з літературних джерел.

Втім зазначені зауваження жодним чином не впливають на загальне гарне враження від дисертаційної роботи і не зменшують зазначені наукові результати.

Відсутність порушень академічної доброчесності.

Порушень академічної доброчесності не виявлено. Усі результати дисертації отримані автором самостійно й викладені в опублікованих роботах; у співавторських публікаціях використано лише власні наукові напрацювання.

6. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Сазонова Кирила Дмитровича «Синтез та біологічна активність нових амідних похідних інденохіноксалінового ряду» оформлена відповідно до вимог «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», затвердженого наказом Міністерства освіти і науки України №40 від 12 січня 2017 року. На підставі проведеного аналізу можна зробити висновок, що за своєю актуальністю, обсягом виконаних досліджень, науковою новизною, достовірністю одержаних результатів, обґрунтованістю висновків, практичним значенням та оформленням відповідає вимогам «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 та «Про внесення змін до деяких постанов Кабінету Міністрів України з питань підготовки та атестації здобувачів наукових ступенів», затвердженої Постановою Кабінету Міністрів України №502 від 19 травня 2023 року, а її автор, Сазонов Кирило Дмитрович, заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 «Хімія» в галузі знань 10 «Природничі науки».

Доцент кафедри фармації та технології органічних речовин «Український державний університет науки і технологій» ННІ «Український державний хіміко-технологічний університет», кандидат хімічних наук, доцент



Світлана ВАРЕНИЧЕНКО

Підпис канд. хім. наук Світлани ВАРЕНИЧЕНКО засвідчую, учений секретар, кандидат філологічних наук, доцент




Тетяна РАДКЕВИЧ