ВІДГУК

офіційного опонента

професора закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної технології, стандартизації та сертифікації ліків Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету, доктора хімічних наук, професора Журавель Ірини Олександрівни на дисертаційну роботу *Сазонова Кирила Дмитровича* «***СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ НОВИХ АМІДНИХ ПОХІДНИХ ІНДЕНОХІНОКСАЛІНОВОГО РЯДУ***», подану до спеціалізованої вченої ради при Одеському національному університеті імені І. І. Мечникова на здобуття ступеня доктора філософії галузі знань 10 «Природничі науки» за спеціальністю 102 «Хімія»

1 Актуальність теми дисертаційної роботи. Дисертаційна робота Сазонова Кирила Дмитровича присвячена сучасному напрямку медичної хімії – пошуку нових біологічно активних агентів в ряду низькомолекулярних гетероциклічних сполук. Запропонований та реалізований підхід базується на достатній теоретичній базі і полягає у реалізації сучасної концепції таргет-орієнтованого синтезу, а саме в моделюванні ліганд – рецепторних взаємодій з метою оптимізації розробки прототипів потенційних лікарських засобів.

Вважаю за необхідне відзначити вдалий вибір об’єктів дисертаційної роботи, оскільки представлені структури є синтетично доступними та мають достатній потенціал для подальшого раціонального дизайну. Вибір біологічних мішеней також є актуальним і перспективним. Зокрема, низькомолекулярні інтеркалятори ДНК становлять певний інтерес для антибактеріальної і противірусної терапії та відкривають шлях до реалізації

фармакологічної корекції онкологічних станів. Позитивним є розуміння пріоритету досинтетичного аналізу сполук та врахування економічних та екологічних чинників при розробці синтетичної схеми.

Все це зумовлює актуальність рецензованого дослідження, яке, окрім теоретичного та практичного значення для хімічної і фармацевтичної науки, має суттєве соціальне значення і спрямування на забезпечення здоров'я людини. Враховуючи наведене новизна та сучасність рецензованого дослідження не викликають сумніву.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана у відповідності до плану науково-дослідної роботи 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., № державної реєстрації 0124U005001).

Наукова новизна отриманих результатів. У дисертаційній роботі представлено сучасний підхід до оцінки афінітету нових синтезованих похідних 11-оксоіндено[1,2-b]інденохіноксалін-6-карбонової кислоти по відношенню до ДНК.

Автором систематизовано та обґрунтовано вибір ДНК в якості біомішені для молекулярного докінгу в алгоритмі пошуку противірусних та протимікробних агентів, механізм дії яких пов'язаний з інгібуванням синтезу нуклеїнових кислот.

На основі реалізації запропонованого алгоритму пошуку активних біомолекул визначено ряд сполук з високим рівнем впливу на досліджувані рецептори.

Доведено регіоселективність циклоконденсації нінгідрину з 2,3-діамінобензойною кислотою; запропоновано препаративну схему одержання цільової 11-оксоіндено[1,2-*b*]хіноксалін-6-карбонової кислоти з виходом 70%.

Розроблено препаративно зручний, ефективний та універсальний метод амідування 11-оксоіндено[1,2-*b*]інденохіноксалін-6-карбонової кислоти та досліджено протолітичні властивості амідованих похідних.

Вперше отримані експериментальні дані щодо прояву антибактеріальної та аналгетичної активності речовинами ряду амідованих похідних 11-оксоіндено[1,2-*b*]інденохіноксалін-6-карбонової кислоти.

Практичне значення отриманих результатів. У роботі запропоновані ефективні методи синтезу та визначені фізико-хімічні характеристики ряду похідних 11-оксоіндено[1,2-*b*]інденохіноксалін-6-карбонової кислоти.

Сформовано підхід до пошуку інтеркаляторів ДНК патогенних клітин з використанням програмних сервісів ADMETlab 2.0 та MOE 2014.09.01, що надає можливість практичного застосування алгоритму іншими науковцями й може стати інструментом оптимізації таргет-орієнтованого синтезу.

Проведено скринінг синтезованих сполук щодо появу протимікробної та аналгетичної дії.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Достовірність одержаних результатів не викликає сумнівів. Для проведення та інтерпретації віртуальних та квантово-хімічних розрахунків автором використано сучасні розрахункові платформи. Доведення будови синтезованих речовин здійснено з використанням фізико-хімічних методів аналізу. Синтез об’єктів дослідження здійснено за загальноприйнятими методами. Встановлення біологічних властивостей синтезованих сполук проводили за рекомендованими методиками з дотриманням етичних норм і правил.

Логіка, стратегія та планування експерименту базуються на ретельному аналізі літературних даних з досліджуваної проблеми.

Структуру, склад і чистоту синтезованих сполук надійно підтверджено елементним аналізом, методами ^{1}H ЯМР-спектроскопії та мас-спектрометрії.

Основні положення, представлені дисертантом, його пояснення і висновки базуються на достатньому масиві експериментальних даних, є достовірними і науково обґрунтованими.

Повнота викладення матеріалів дослідження. За матеріалами дисертації опубліковано три статті у фахових наукових виданнях, дві з них – у виданнях, що індексуються базами даних *Scopus* та *Web of Science*. Окремі фрагменти дисертаційної роботи обговорювалися на наукових форумах різного рівня; за результатами опубліковано тези 5 доповідей.

Оцінка структури та змісту дисертації. Дисертаційна робота складається із вступу, огляду літератури, чотирьох розділів власних досліджень, загальних висновків, списку використаних літературних джерел та трьох додатків. Загальний обсяг дисертаційної роботи становить 151 сторінку. Список цитованої літератури містить 140 джерел. Текст дисертації проілюстровано 63 рисунками та 13 таблицями.

В огляді літератури охарактеризовано основні синтетичні підходи до побудови інденохіноксалінового циклу та його функціоналізації, деталізовано механізми інтеркаляції молекули ДНК різноманітними хімічними сполуками, проведено аналіз існуючих досягнень медичної хімії та фармації щодо наявного арсеналу інтеркаляторів та біологічної активності похідних інденохіноксалінового ряду, обгрунтовано доцільність і актуальність досліджень у цьому напрямку. А також охарактеризовано *in silico* методи, які застосовувались в роботі.

У другому розділі описано методики синтезу сполук, охарактеризовано їх спектральні та фізико-хімічні параметри та наведено методи біологічного скринінгу.

У третьому розділі представлено і обговорено результати *in silico* встановлення біологічного профілю амідів 11-оксоіндено[1,2-b]інденохіноксалін-6-карбонової кислоти з розгалудженими лінкерними замісниками, здійснено ідентифікацію потенційних біологічних мішеней та

наведено результати докінгових розрахунків щодо їх взаємодії з молекулою ДНК. Автором встановлено, що усі сполуки представленого ряду здатні утворювати стійкі комплекси включення із двоспіральними полінуклеотидами.

Четвертий розділ містить опис синтетичних підходів до отримання амідних похідних 11-оксоіндено[1,2-b]хіноксалін-6-карбонової кислоти. Автором запропоновано ефективний та універсальний метод їх синтезу, а саме з використанням етилового естеру монохлорвугільної кислоти. Обговорено регіоселективність реакції 2,3-діамінобензойної кислоти з нінгідрином.

П'ятий розділ містить результати експериментального визначення афінітету отриманих сполук до ДНК та дослідження їх антимікробної та знеболюючої активності.

Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації. Текст дисертаційної роботи викладений з дотриманням наукового стилю, в якому відсутні порушення академічної доброчесності, а науково-прикладні, теоретичні та практичні положення, результати та висновки, що представлені в дисертаційній роботі, автором отримані особисто.

Оцінюючи дисертаційну роботу Сазонова К.Д. в цілому **позитивно**, вважаю за необхідне висловити деякі міркування та зауваження:

- Для підтвердження регіоселективності циклоконденсаціїї 2,3-діаміно-бензойної кислоти з нінгідрином доцільно було б використати більш інформативні методи, як-то рентгеноструктурний аналіз або двовимірну спектроскопію.
- Потребує пояснення твердження «зазначений принцип працює виключно за умови відсутності інших замісників в бензеновому кільці *о*-фенілендіамінів» щодо синтезу синтезу 6-заміщених інденохіноксалінонів (стор. 95).

- Алгоритми ADMET-фільтрування є малочутливими до незначних змін в базовій структурі, наприклад, подовження лінкерного ланцюга, тому використана віртуальна база структур (11 сполук одного ряду) недостатня для формулювання висновків щодо впливу окремих фрагментів молекули на прояв фармакологічної дії.
- Відсутність грунтовних знань з фармакології в деяких випадках не дозволяє автору надавати вірну інтерпретацію отриманих результатів, зокрема висновки щодо фармакокінетики сполук за результатами лише віртуальних розрахунків є занадто категоричними. Зокрема, значення параметрів, наведені в таблиці 3.2 не можна вважати фармакокінетичними характеристиками (стор. 78).
- Одним із можливих механізмів антибактеріальної дії речовини є вплив на ферментні системи мікробної клітини. Чи не логічно було провести молекулярний докінг на афінітет до цих білків?
- Результати молекулярного докінгу краще бажано додатково представляти у форматі 2D візуалізації взаємодії ДНК з молекулою-лігандом.
- Оскільки для визначення аналгетичної активності було використано скринінгову модель «гаряча пластина» (термічне роздратування кінцівок щурів), для якої характерний переважно центральний механізм формування болю, цілком доречно було би обрати препарат порівняння саме з таким механізмом дії.
- В тексті зустрічаються орфографічні помилки, стилістичні неузгодження, некоректні вирази та терміни («хромофор» замість «фармакофор», «правила Ліпінського» замість «правила Ліпінські», «жолоб, канавка» замість «борозенка або major groove / minor groove» тощо).

Вище зазначені зауваження не носять принципового характеру та суттєво не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи, не знижують її наукової та практичної цінності. У порядку проведення наукової дискусії вважаю доцільним поставити декілька питань:

1. З якою метою проведено ідентифікацію потенційних мішеней з використанням PharmMapper, якщо докінг з жодною з них здійснено не було?
2. Чи можна вважати коректною запропоновану вами процедуру оцінки інтеркаляції, оскільки розрахунки проводили при незмінній структурі ДНК, а реальна інтеркаляція зазвичай супроводжується локальною деформацією подвійної спіралі?
3. Чому в розділі 3.3 при розрахунках афінітету не було використано ліганд-порівняння?
4. Вихід 11-оксоіндено[1,2-b]хіноксалін-6-карбонової кислоти за запропонованою вами схемою становить 70%. Які сполуки становлять домішки? Чи аналізували реакційну суміш?
5. З якою метою досліджували протолітичні властивості сполук **7-11** (розділ 4.3)? Чим ви пояснюєте фіксування однієї константи іонізації?
6. Чи є запропонований Вами алгоритм пошуку інтеркаляторів універсальним, адже результати, наведені в роботі, стосуються одного класу сполук?

Відповідність дисертації вимогам МОН. Дисертаційна робота Сазонова Кирила Дмитровича «Синтез та біологічна активність нових амідних похідних інденохіноксалінового ряду» є самостійним завершеним науковим дослідженням, яке за своєю актуальністю, науковою новизною, повнотою викладення матеріалу, теоретичним та практичним значенням, повнотою публікацій 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 КМУ від 12 січня 2022 року № 44 (зі

змінами), а її автор, Сазонов Кирило Дмитрович, заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань «Природничі науки» за спеціальністю 102 «Хімія».

Офіційний опонент:
професор закладу вищої освіти
кафедри фармацевтичної технології,
стандартизації та сертифікації ліків
Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації
Національного фармацевтичного університету,
доктор хімічних наук, професор Ірина ЖУРАВЕЛЬ

Підпис І. Журавель засвідчую
Начальник [illegible] О. [illegible]

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Національний фармацевтичний університет
№02010936