

## ВІДГУК

офіційного опонента, доктора фармацевтичних наук, професора Березнякової Наталі Леонідівни на дисертацію *Михальченка Євгена Костянтиновича* на тему «*Синтези, властивості та перетворення 7-заміщених 3-бензил-8-пропілксантинів*», представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226-«Фармація, промислова фармація»

**1. Актуальність теми дисертаційної роботи та її зв'язок з державними і галузевими програмами, пріоритетними напрямками розвитку науки та техніки.** Дисертаційна робота Михальченка Євгена Костянтиновича на тему «Синтези, властивості та перетворення 7-заміщених 3-бензил-8-пропілксантинів», присвячена одній з пріоритетних завдань фармацевтичної галузі – цілеспрямованому пошуку нетоксичних біологічно активних сполук з високими показниками біологічної дії, з метою розширення арсеналу оригінальних конкурентоздатних лікарських засобів. Великі синтетичні можливості в одержанні нових ефективних лікарських засобів представляють похідні ксантину, які проявляють широкий спектр біологічної дії та мають наявний арсенал методів синтезу. Перспективним напрямком пошуку біологічно активних ксантинів є дослідження їх реакцій з новими реагентами, а саме із різноманітними гетероциклічними фармакофорами, що приводить до утворення невідомих класів сполук. Дана обставина є цікавою, як з точки зору органічної хімії, так і з точки зору синтезу низки нових біологічно активних молекул.

Таким чином, систематичне дослідження хімічних перетворень похідних 3-бензил-8-пропілксантину, розробка на цій основі оригінальних методів синтезу нових класів потенційно біологічно активних сполук, а також вивчення їх хімічних і біологічних властивостей є актуальною проблемою.

Дисертаційна робота Михальченка Євгена Костянтиновича виконана згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри біологічної хімії Запорізького державного медичного університету «Синтез, фізико-хімічні властивості N-заміщених пуринів, ксантинів та їх гетероанельованих похідних» (№ 0110U000908). Автором роботи особисто проведено синтез нових сполук серед 7-заміщених похідних 3-бензил-8-пропілксантину, вивчено їх фізико-хімічні та фармакологічні властивості.

**2. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, які викладені у дисертаційній роботі.** Достовірність одержаних автором результатів щодо синтезованих сполук ґрунтовно підтверджено даними елементного аналізу та спектральними

методами аналізу (ІЧ-,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектроскопія та мас-спектрометрія). Слід відмітити коректне та вдале використання методів 1D- ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  АРТ) та 2D- ( $^1\text{H}$  та  $^{15}\text{N}$  НМВС), що дозволило дисертанту достовірно трактувати тонку структуру певних синтезованих сполук. Поставлені в роботі мета і завдання реалізовані повною мірою і на високому науковому рівні. Достовірність одержаних результатів біологічних досліджень також є безсумнівною, оскільки всі експериментальні дослідження виконані з використанням сучасних загальноприйнятих методів і коректних підходів до встановлення специфічної фармакологічної активності сполук. Все це у комплексі дозволило об'єктивно визначити вектор наукового пошуку та обрати найбільш достойні структури серед похідних 3,7,8-заміщених ксантинів для подальшого вивчення біологічної дії.

Усі наукові положення і висновки, які сформульовані в дисертаційній роботі є достатньо обґрунтованими і достовірними та ґрунтуються на одержаних результатах теоретичних і експериментальних досліджень. Висновки за окремими розділами та загальні висновки викладені чітко, коректно, є науково обґрунтованими та відповідають змісту наведеного матеріалу.

**3. Наукова новизна** дисертаційної роботи не викликає сумнівів. Хотіла би відмітити декілька принципових моментів новизни рецензованого дослідження.

- Автором опрацьовано ряд оригінальних та результативних підходів до цілеспрямованого синтезу біологічно активних сполук, що дозволило одержати близько 111 неописаних у літературі похідних 3-бензил-8-пропілксантину та продуктів їх хімічної модифікації.
- Вперше розроблено препаративні методики синтезу 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти та її функціональних похідних – солей, естерів, амідів, гідразиду та іліденгідрозидів.
- Автором вперше підібрано умови й розроблено методики гетероциклізації гідразиду 3-бензил-8-пропіл-7-[2'-оксо-2'-(3'',5''-диметилпіразол-1''-іл)етил]ксантин, а також здійснено вивчення ймовірного механізму перебігу реакцій з використанням *in silico*-розрахунків зміни загальної енергії.
- Вперше одержані похідні 3-бензил-7-(4'-R-5'-меркапто-1',2',4'-тріазоліл-3')-8-пропілксантину; 7-([4'-ацетил-5'-R-4',5'-дигідро-1',3',4'-оксадіазол-2'-іл]метил)-3-бензил-8-пропілксантинів та вивчена їх реакційна здатність.
- Автором проведений ґрунтовний аналіз результатів фармакологічного тестування 7-заміщених 3-бензил-8-пропілксантинів на гостру токсичність, антибактеріальну, фунгіцидну, антиоксидантну, діуретичну, гіпоглікемічну, актопротекторну та кардіопротекторну активності, що дало змогу встановити певні закономірності між характером і природою замісників та проявом біологічної дії.

Наукова новизна дисертаційної роботи підтверджена трьома патентами України на корисну модель.

**4. Теоретичне значення результатів дослідження.** Автором опрацьовано ряд оригінальних підходів до спрямованого синтезу біологічно активних молекул, що має вагоме теоретичне значення в галузі сучасної фармацевтичної та медичної хімії. Так, комплексне застосування молекулярного докінгу, *in vitro*- та *in-vivo*-досліджень дозволило автору встановити закономірності взаємозалежності зв'язку «структура-активність». В дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення експериментального синтетичного матеріалу і даних фармакологічного тестування, в результаті чого запропонована бібліотека біологічно активних сполук. Автором проведено всебічне вивчення структури синтезованих речовин із залученням сучасних найбільш інформативних методів інструментального аналізу. Такі дані мають важливе теоретичне значення для подальшого розвитку досліджень. Фармакологічний скринінг дозволив встановити базові молекулярні фрагменти для реалізації специфічної активності досліджуваної групи сполук.

**5. Практичне значення одержаних результатів.** У роботі наведено систематичне дослідження фізичних, хімічних та біологічних властивостей 7-заміщених 3-бензил-8-пропілксантинів, синтезовано комбінаторні ряди вищевказаних похідних, які можуть бути використані для подальшого фармакологічного скринінгу. Зазначені сполуки є новими та цікавими реагентами для досліджень в хімії гетероциклічних сполук. Автором запропоновано альтернативні препаративні методики одержання в одній молекулі двох фармакофорних фрагментів пов'язаних метиленовим лінкером – ксантинового й азольного гетероциклів, що має практичне значення для виробництва лікарських засобів. Поповнено банк ІЧ-, <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-ЯМР та хромато-мас-спектрами раніше невідомих органічних біологічно активних молекул, які можуть бути доцільним для встановлення будови їх нових структурних аналогів. Автором ідентифіковано перспективну сполуку – L-аргінінову соль 3-бензил-8-пропілксантиніл-7-іл ацетатної кислоти як потенційний актопротективний та кардіопротективний засіб. Для цієї сполуки розроблено проект МКЯ «Методи контролю якості». Фрагменти роботи впроваджено в навчальний та науковий процеси ряду ВНЗ та науково-дослідних установ України.

**6. Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях.** За матеріалами дисертації опубліковано 19 наукових робіт, які в повній мірі вісвітлюють її зміст та містять 4 статті у наукових фахових виданнях (в тому числі 1 журнал в країні, яка входить до Європейського Союзу (Естонія), 1 стаття у нефармацевтичному виданні України, 3 патенти України на корисну модель та 9 тез доповідей. Результати досліджень доповідались на міжнародних та вітчизняних наукових конференціях різних рівнів. Все це свідчить про безперечно достойний рівень наукових досліджень Михальченка Є.К.

Вважаю, що опубліковані результати достатньо повно відображають зміст дисертаційної роботи.

**7. Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації та автореферату, завершеності дисертації в цілому.** Дисертаційна робота, загальний обсяг якої становить 262 сторінки, має стандартну структуру, що включає анотацію, вступ, огляд літератури, двох експериментальних розділів, що висвітлюють синтетичні дослідження, виконані автором, та одного розділу, присвяченого обговоренню результатів фармакологічного скринінгу та хіміко-технологічні аналітичні аспекти її виготовлення, висновків, списку використаних джерел до кожного розділу та 6 додатків, які викладено на 45 сторінках. Мовний стиль дисертації відповідає сучасним філологічним нормам, характеризується якісним представленням використаних формул, змістовністю табличного і графічного матеріалу.

У першому розділі дисертаційної роботи наведено літературний огляд присвячений предиктивним технологіям розробки нових лікарських засобів. Висвітлено сучасні методи синтезу, хімічна модифікація та біологічна дія похідних ксантину. Аналіз світового досвіду щодо перспективності цієї групи сполук, як потенційних активних фармацевтичних інгредієнтів, подано доречно з критичними підходами.

Другий розділ дисертаційної роботи присвячений методам синтезу, хімічним перетворенням та вивченню властивостей 7-R-3-бензил-8-пропілксантинів та на їх основі шляхом хімічної модифікації отримана серія нових солей, естерів, амідів, гідразиду 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти. Цікавим у теоретичному плані представленої наукової роботи є результати проведених *in-silico*-розрахунків біодоступності для 3-бензил-8-пропілксантину як базової структури.

У третьому розділі описаний синтез 3-бензил-8-пропіл-7-[2'-оксо-2'-(3'',5''-диметилпіразол-1''-іл)етил]ксантинів та їх хімічні перетворення. Як основні синтетичні здобутки автора можна назвати препаративні методики синтезу іліденопохідних гідразиду 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти, що стали основою для одержання нових 7-([4'-ацетил-5'-R-4',5'-дигідро-1',3',4'-оксадіазол-2'-іл]метил)-3-бензил-8-пропілксантинів. Дуже цікавими з синтетичної точки зору дослідженнями автора є одержання 3-бензил-7-([4'-R-5'-меркапто-1',2',4'-тріазол-3'-іл]метил)-8-пропілксантини, оскільки поєднують в одній молекулі ксантиновий та тріазольний гетероцикли.

Четвертий розділ дисертації містить ґрунтовні результати фармакологічних досліджень антиоксидантної, діуретичної, протимікробної, протигрибкової та гіпоглікемічної видів активності синтезованих сполук та параметри їх гострої токсичності. На основі отриманих результатів автору вдалося виявити цікаві структурно-біологічні закономірності і виділити перспективні напрямки для подальшого пошуку нових біологічно активних молекул. Результати проведених фармакологічних випробувань дають підставу стверджувати, що мета, поставлена на початку роботи, успішно досягнута, оскільки серед синтезованих 7-заміщених похідних 3-бензил-8-

пропілксантинів одержано значну кількість перспективних АФІ. Необхідно відмітити завершену логічну послідовність всіх проведених досліджень, результати яких інтерпретовано сучасними статистичними методами аналізу.

Вважаю, що поставлені в роботі завдання реалізовані повною мірою і на високому науковому рівні. Однак, поряд із загальною високою оцінкою, на яку заслуговує робота Михальченка Є.К. слід відмітити деякі зауваження та пропозиції:

- відсутність нумерації сполук, а також умов перебігу реакції в деяких схемах синтезу в першому розділі (літературний огляд) в деякій мірі ускладнює знайомство з дисертацією;
- в розділі 4 (фармакологічні дослідження) доцільним було поглиблено вивчити та описати фармакологічну дію речовини-хіта;
- по тексту зустрічаються орфографічні та граматичні помилки, русизми та неточності в назвах деяких сполук;
- в якості побажання, можна порекомендувати автору в подальшому для перспективної сполуки L-аргініна 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетат, з вираженою актопротективною дією провести поглиблені фармакологічні тестування та впровадити у помислове виробництво.

В процесі ознайомлення з дисертацією виникли такі запитання:

1. Чи не проводили ви спроб замикання тіазилідинового циклу з ароматичним замісником використовуючи в якості вихідної речовини сполуку 3.40?
2. При розробці проекту «Методів контролю якості» для кількісного визначення сполуки-лідера ВІ обрали метод ВЕРХ, проте, чи можливо проведення титрометричного методу для запропонованої лікарської форми?

Однак зроблені вище зауваження не мають принципового характеру, залишаючись переважно дискусійними та не знижують загальної високої оцінки роботи.

**8. Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження на практиці.** Запропановані дисертантом методи синтезу 7-заміщених похідних 3-бензил-8-пропілксантинів та їх структурних аналогів можуть мати практичне використання у наукових лабораторіях, які займаються пошуком активних фармацевтичних інгредієнтів. Методологія планування, алгоритм запропонованого пошуку біологічно активних сполук при незначній адаптації та вдосконаленні з успіхом можуть бути використані у практичній діяльності вузькоспеціалізованих наукових груп. Для одержаної високоактивної сполуки протимікробного та протигрибкового типу дії, а також встановлення закономірності між характером і природою замісників та проявом біологічної активності доцільним є продовження поглиблених фармакологічних тестувань з експериментальним встановленням механізмів дії.

**9. Висновок про відповідність дисертації вимогам положення.** Отже, у підсумку можна зробити висновок, що дисертаційна робота Михальченка

Євгена Костянтиновича на тему «Синтези, властивості та перетворення 7-заміщених 3-бензил-8-пропілксантинів» є закінченою науковою працею і за своєю актуальністю, обсягом виконаних досліджень, новизною, практичною значимістю, обсягом проведених досліджень та ступенем обґрунтованості наукових положень та висновків цілком відповідає вимогам п. 10 «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 167 від 6 березня 2019 р., що пред'являються до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

**Офіційний опонент:**

професор кафедри медичної хімії  
Національного фармацевтичного  
університету МОЗ України,  
доктор фармацевтичних наук

Н.Л. Березнякова

Підпис професора Н.Л. Березнякової засвідчую.  
Провідний фахівець з питань кадрової роботи  
відділу кадрів НФаУ



О.В. Купіна