

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора фармацевтичних наук, професора Омелянчик Людмили Олександрівни на дисертаційну роботу Михальченка Євгена Костянтиновича «СИНТЕЗИ, ВЛАСТИВОСТІ ТА ПЕРЕТВОРЕННЯ 7-ЗАМІЩЕНИХ 3-БЕНЗИЛ-8-ПРОПІЛКСАНТИНІВ», поданої до спеціалізованої Вченої ради ДФ 17.600.13 Запорізького державного медичного університету МОЗ України з правом до розгляду та проведення разового захисту на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація»

Актуальність теми дисертації. Дисертаційна робота Михальченка Євгена Костянтиновича на тему: «Синтези, властивості та перетворення 7-заміщених 3-бензил-8-пропілксантинів», присвячена одній з важливих проблем фармації та медицини – цілеспрямованому пошуку нових біологічно активних сполук на основі ксантину. Структура ксантину надає максимальну можливість для одержання різноманіття його похідних через наявність позицій N¹, N³, N⁷ та C⁸ для заміщення.

Препарати на основі природних та синтетичних ксантинів (амінофілін, пентоксифілін, пропентофілін, доксофілін, етофілін, теокор, теофібрат, сплантин тощо) володіють широким спектром фармакологічної активності (протизапальної, антимікробної, діуретичної, антиоксидантної тощо) і входять до переліку найбільш ефективних лікарських засобів. Поряд з цим, фармацевтична промисловість України в своєму арсеналі має обмежену кількість вітчизняних лікарських засобів (у тому числі серед них повністю відсутні похідні ксантину), і в основному займається випуском препаратів-дженериків.

Тому тема, обрана дисертантом для дослідження є актуальною, так як надає широкі можливості модифікації ксантинової матриці і пошуку нових біологічно активних речовин серед похідних 3,7,8-заміщених ксантинів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота 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).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність.

Достовірність одержаних автором результатів не викликає сумніву, тому що для їх інтерпретації дисертантом використано сучасний пакет фізико-хімічних методів аналізу, а саме елементний аналіз, ІЧ-спектрофотометрію та ^1H ЯМР, ^{13}C ЯМР-, двомірну $\text{HNBC}^1\text{H} \ ^{15}\text{N}$ ЯМР-спектроскопію, мас-, хромато-мас-спектрометрію, хроматографічні методи, загальноприйняті і коректні підходи до встановлення фармакологічних властивостей синтезованих сполук та методи математичної статистики.

Наукові положення, висновки і рекомендації, сформульовані у дисертаційній роботі, базуються на експериментальному матеріалі і логічно витікають з отриманих результатів. Висновки за окремими розділами та загальні є науково обґрунтованими, викладені автором чітко та коректно.

Вважаю, що поставлені в роботі завдання реалізовані повною мірою і на високому науковому рівні.

Дисертант при виконанні та написанні дисертаційної роботи дотримувався принципів академічної доброчесності.

Наукова новизна одержаних результатів. Наукова новизна роботи не викликає сумнівів, так як у процесі її виконання дисертантом вперше проведені квантово-механічні розрахунки реакцій – замикання імідазольного циклу при побудові вихідного 3-бензил-8-пропілксантину; гетероциклізації гідразида 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти з утворенням

піразольного циклу у якості замісника; побудови оксадіазольного циклу у бічному ланцюзі шляхом гетероциклізації іліденгідразидів 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти, які дозволили запропонувати ймовірні механізми протікання цих реакцій.

Вперше розроблені препаративні методики синтезу, не описані в літературі, 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти та її функціональних похідних (солей, естерів, амідів, гідразиду та іліденгідразидів).

Розроблені препаративні методики синтезу нових 3-бензил-8-пропілксантину, його солей та 7-алкіл(алкеніл-, аралкіл-, гетерилалкіл-) заміщених похідних.

Запропоновано в якості зручної базової молекули гідразид 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти для подальшого утворення п'ятичленних нітрогеновмісних гетероциклів у бічному ланцюзі ксантинового біциклу.

Вперше розроблені методики гетероциклізації гідразиду 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти за якими одержано 3-бензил-8-пропіл-7-[2'-оксо-2'-(3'',5''-диметилпіразол-1''-іл)етил]ксантин, який поєднує у своїй структурі дві гетероциклічні системи.

Вперше одержані похідні 7-([4'-ацетил-5'-R-4',5'-дигідро-1',3',4'-оксадіазол-2'-іл]метил)-3-бензил-8-пропілксантинів, що поєднують у своїй структурі ксантиновий та оксадіазольний цикли.

Вперше одержані похідні 3-бензил-7-(4'-R-5'-меркапто-1',2',4'-тріазоліл-3')-8-пропілксантину та вивчена їх реакційна здатність.

Вперше показана можливість введення у якості замісника до молекули ксантину гетероциклічних систем тіазолу та тіазолідину.

Синтезовано 111 не описаних в літературі сполук, будова та індивідуальність яких підтверджена сучасними фізико-хімічними методами аналізу.

Вперше отримані дані про антибактеріальну, фунгіцидну,

антиоксидантну, діуретичну, гіпоглікемічну, актопротекторну та кардіопротекторну активності синтезованих сполук. Встановлено певні закономірності взаємозв'язку «будова – дія». Для найбільш активних сполук запропонований ймовірний механізм дії на підставі розрахунків молекулярного докінгу.

Наукова новизна та пріоритет досліджень захищені 3 патентами України на корисну модель.

Теоретичне значення результатів дослідження. Дисертантом проведено комплексні дослідження, що включали аналіз попередніх досягнень в галузі органічної, фармацевтичної хімії та фармакології. Аналізуючи літературні джерела стосовно нових методів синтезу в ряду 7-заміщених 3-бензил-8-пропілксантинів, вивчення біологічних властивостей зазначених сполук, автором відмічено відсутність достатньої інформації, щодо узагальнення методів синтезу серед цього ряду сполук та вивчення їх біологічної активності і вже на цій базі здійснено цілеспрямований синтез нових біологічно активних сполук в ряду похідних ксантину.

Розширено бібліотеку ІЧ-, ^1H ЯМР- ^{13}C ЯМР-, мас-, хромато-мас-спектрів похідних 7-заміщених 3-бензил-8-пропілксантинів, що, в свою чергу, може стати в нагоді науковцям-синтетикам.

В роботі наведено теоретичне узагальнення експериментального синтетичного матеріалу і даних біологічного скринінгу, в результаті чого запропонована бібліотека біологічно активних сполук вивченого ряду для використання науковцями в подальшому цілеспрямованому синтезі.

Практичне значення одержаних результатів. Дисертаційна робота вирішує важливу практичну задачу фармації з пошуку малотоксичних біоактивних сполук в ряду похідних 7-заміщених 3-бензил-8-пропілксантинів. Для синтезованих речовин розроблено препаративні методики синтезу, визначено фізико-хімічні властивості та підтверджено індивідуальність. Вивчення біологічної активності сполук дозволило встановити закономірності «будова-дія» та рекомендувати до поглибленого

дослідження малотоксичну субстанцію – L-аргінін 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетат для якої підтверджено високі показники актопротективної дії. Для стандартизації субстанції сполуки- лідера розроблено проєкт МКЯ.

Результати роботи впроваджено в науковий і освітній процес ряду кафедр закладів вищої освіти України.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах і авторефераті. За матеріалами дисертації опубліковано 19 робіт, які в повній мірі відображають її зміст, з них, 4 статті у наукових фахових виданнях (в тому числі 1 журнал в країні, яка входить до Європейського Союзу (Єстонія), 1 стаття у нефаховому виданні України, 3 патенти України на корисну модель та 9 тез-доповідей.

Вважаю, що публікації повністю відображають основний зміст дисертаційної роботи.

Аналіз дисертаційної роботи. Дисертаційна робота Михальченка Євгена Костянтиновича на тему: «Синтези, властивості та перетворення 7-заміщених 3-бензил-8-пропілксантинів» складається з анотації, вступу, огляду літератури, трьох розділів експериментальних досліджень, висновків, списку використаних джерел до кожного розділу та 5 додатків. Обсяг основного тексту 158 сторінок, робота проілюстрована 41 таблицею, 75 рисунками. Бібліографія включає 293 назв джерел літератури, в тому числі 231 іноземною мовою.

У першому розділі (огляд літератури) (30 сторінок) проведено аналіз даних літератури за останні 5 років стосовно методик синтезу, результатів біологічної активності та перспектив, щодо створення лікарських засобів в ряду 7-заміщених 3-бензил-8-пропілксантинів, що дозволило автору визначити мету і задачі дослідження.

У другому розділі «СИНТЕЗ ТА ВИВЧЕННЯ РЕАКЦІЙНОЇ ЗДАТНОСТІ ПОХІДНИХ 3-БЕНЗИЛ-8 ПРОПІЛКСАНТИНУ» (41 сторінки) було розглянуто синтез та фізико-хімічні властивості 3-бензил-

8-пропілксантину, 3-бензил-8-пропілксантинідів та 7-заміщених похідних 3-бензил-8-пропілксантину, 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти та її солей та фізико-хімічні властивості функціональних похідних 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти, детально наведено експериментальну частину.

Автором запропоновано три методики синтезу 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл етанової кислоти прямою взаємодією з хлорацетатною кислотою (метод А); або хлорацетамідом (метод Б) чи естерами хлороацетатної кислоти (метод В). Показано, що метод В є найбільш препаративною методикою. Синтезовані її водорозчинні солі та амід, а також синтезовані неописані в літературі естери 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти. Для подальшого розширення спектру пошуку біологічних сполук в якості базової молекули був отриманий гідразид 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти. Будову та індивідуальність 65 не описаних в літературі сполук підтверджено даними елементного аналізу, ІЧ-, ¹Н ЯМР-спектроскопії, мас-спектрометрії та хроматографією в тонкому шарі сорбенту. В кінці розділу наведені висновки.

У третьому розділі «ХІМІЧНІ ПЕРЕТВОРЕННЯ ТА ГЕТЕРОЦИКЛІЗАЦІЇ НА ОСНОВІ ГІДРАЗИДУ 3-БЕНЗИЛ-8-ПРОПІЛКСАНТИН-7-ІЛ АЦЕТАТНОЇ КИСЛОТИ І ЙОГО ПОХІДНИХ» (44 сторінки) наведено синтез і фізико-хімічні властивості 3-бензил-8-пропіл-7-[2'-оксо-2'-(3'',5''-диметилпіразол-1''-іл)етил]ксантину, іліденпохідних гідразиду 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти та гетероциклізація на їх основі, перетворення тіосемікарбазидів 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти, 3-бензил-7-[(4'-R-5'-меркапто-1',2',4'-триазол-3'-іл)метил]-8-пропілксантинів, 7-заміщених похідних 3-бензил-8-пропілксантину, які містять у бічному ланцюзі тіазольне або дигідротіазольне ядро. Детально описано експериментальну частину.

Дорадно відзначити, що в межах наукового дослідження дисертантом вперше одержані 3-бензил-7-[(4'-R-5'-меркапто-1',2',4'-триазол-3'-

іл)метил]-8-пропілксантини, що поєднують в одній молекулі ксантиновий та тіазольний гетероцикли, а також їх S-заміщені похідні. На основі отриманих N-алкіл(феніл)гідразинокарботіоамідів вперше синтезовані сполуки, які поєднують в одній молекулі ксантиновий та тіазольний або дигідротіазольний цикли. Методами 1D- (^1H та ^{13}C АРТ) та 2D- (^{15}N та ^1H НМВС) підтверджена тонка хімічна структура (2''-[2''-(3-бензил-8-пропілксантин-7-іл)-ацетил]-гідразино}-3''-етил-4-оксотіазолідин-5''-іл)-ацетатної кислоти, а також двумірний гетероядерний ЯМР-експеримент дозволив внести корекцію по віднесенню сигналів ^{15}N до положень атомів Нітрогену в ксантиновому біциклі.

Розділ закінчується висновками.

У четвертому розділі «ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ СИНТЕЗОВАНИХ СПОЛУК» (41 сторінка) наведено обговорення результатів дослідження біологічної дії синтезованих сполук *in vitro*, що включає дослідження антибактеріальної та фунгіцидної, антиоксидантної активностей; *in vivo*, що включає дослідження гострої токсичності, гіпоглікемічної, діуретичної, актопротективної та кардіопротективної дій.

Дослідження гострої токсичності 29 синтезованих сполук показало, що їх LD_{50} знаходяться в межах 363–2890 мг/кг, тобто вони відносяться до IV та V класів токсичності за класифікацією Сидорова К. К.

Автором проведено аналіз залежності біологічної дії синтезованих сполук від їх будови, в результаті чого встановлено, що наявність в ароматичному кільці атомів Флюору та Хлору одночасно значно підвищувало фунгіцидну дію в порівнянні з вихідним 3-бензил-8-пропілксантином. Також, до значного підвищення фунгіцидної активності привела комбінація 3-бензил-8-пропілксантину з 5-тіо-4-феніл-1,2,4-триазолом, до підвищення показників антиоксидантної активності та зниження гострої токсичності приводить наявність у 7 положенні 3-бензил-8-пропілксантину залишку ацетатної кислоти, а також його модифікації за рахунок реакції солеутворення; заміщення гідроксилу карбоксильної групи на *n*-пропокси групу приводить до

збільшення діуретичної активності; заміщення гідроксилу карбоксильної групи на амідну або N-фенілгідразинокарботіоамідну групу підвищує показники гіпоглікемічної активності та знижує показники гострої токсичності. Знайдені закономірності дозволили виявити ряд перспективних напрямів для подальшого пошуку нових біологічно активних сполук.

Для подальшого поглибленого фармакологічного дослідження автором запропоновано L-аргініна 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетат, який проявляє виражену актопротективну дію та відноситься до практично нетоксичних речовин (V клас за класифікацією Сидорова К. К.). Для стандартизації субстанції «сполуки-лідера» розроблено проєкт МКЯ.

В кінці четвертого розділу наведено висновки та загальні висновки, що витікають зі всієї дисертаційної роботи.

Висновки автора ґрунтуються на достовірному фактичному матеріалі.

Особистий внесок здобувача. Аналіз та систематизація літературних даних, синтетична частина роботи виконані особисто автором.

Постановка основних завдань, обговорення отриманих результатів, основних положень та висновків проведено за участю наукового керівника. В ході наукового дослідження, за допомогою інших вчених, виконано фізико-хімічні методи аналізу, досліджена біологічна активність, тому співавторами наукових праць є, насамперед, науковий керівник та науковці, спільно з якими були проведені вищезазначені дослідження.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці.

Результати дослідження біологічної дії, а також встановлені взаємозв'язки «будова-дія» можуть бути використані у подальшому цілеспрямованому пошуку нових біологічно активних сполук з метою створення на їх основі нових лікарських засобів у ряду 7-заміщених 3-бензил-8-пропілксантинів, а також у підготовці студентів фармацевтичних закладів освіти та на етапах післядипломного навчання провізорів і спеціалістів фармацевтичної промисловості, а також у практичній фармації.

Загальна оцінка роботи є беззаперечно **позитивною**. Високо оцінюючи експериментальний рівень дисертаційної роботи, слід, проте, **відмітити деякі зауваження, пропозиції та поставити дисертанту запитання:**

1. Чому при одержанні сполуки 2.3 (рис. 2.1) – вихідної для подальшого синтезу Ви не виділяли проміжний продукт 2.2, який би був підґрунтям та беззаперечним доказом існування ізомеру В (рис. 2.2)?
2. Чим зумовлене одержання такої значної кількості іліденгідідрозидів 3-бензил-8-пропілксантин-7-іл ацетатної кислоти 26 сполук, порівняно з іншими класами?
3. Для доведення будови сполуки (2''-{[2'-(3-бензил-8-пропілксантин-7-іл)-ацетил]-гідразино}-3''-етил-4-оксотіазолідин-5''-іл)-ацетатної кислоти (3.48), була виконана низка методів ЯМР-спектроскопії: 1D- (¹H та ¹³C АРТ) та 2D- (¹⁵N та ¹H НМВС), але до них бажано б було також додати рентгеноструктурні дослідження.
4. Бажано було б на схемах синтезу нових сполук вказувати їх вихід.
5. При описанні у розділі 4 (Дослідження біологічної активності синтезованих сполук. Визначення сполуки – лідера) взаємозв'язків «будова-біологічна дія» було б доцільним вказати класи найактивніших сполук.
6. У роботі зустрічаються невдалі вислови та формулювання, граматичні помилки, тривіальні хімічні назви.

Проте, викладенні зауваження і пропозиції мають рекомендаційний характер і не впливають на загальну позитивну оцінку виконаних досліджень.

Відповідність дисертації вимогам положення. На підставі вищевикладеного вважаю, що дисертаційна робота Михальченка Євгена Костянтиновича на тему: «Синтези, властивості та перетворення 7-заміщених 3-бензил-8-пропілксантинів» є завершеною науковою працею і за актуальністю тематики, обсягом виконаних досліджень, ступенем обґрунтованості наукових положень і рекомендацій, результатами впровадження, повнотою викладення результатів роботи у фахових виданнях,

теоретичним і практичним значенням відповідає вимогам пп.10,11 «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України №167 від 6 березня 2019р., а її автор Михальченко Євген Костянтинович – заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

Офіційний опонент:

доктор фармацевтичних наук,

професор кафедри хімії

Запорізького національного університету

МОН України

[Handwritten signature]

Л. О. Омелянчик

Підпис засвідчую

НАЧАЛЬНИК
ВІДДІЛУ КАДРІВ



[Handwritten signature]

[Handwritten signature]