ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу
ТКАЧЕНКА Павла Володимировича
«Пошук біологічно активних речовин в ряду модифікованих похідних 3(5)-амінопіразолу»,
представлену до спеціалізованої вченої ради Д.64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

1 Актуальність теми дисертаційної роботи та її зв'язок з державними і галузевими програмами, пріоритетними напрямками розвитку науки та техніки. Піразоли на сьогодні можна вважати досить розповсюдженими нітрогеновмісними сполуками як в природі, так і в хімічних колекціях науковців. Структурні модифікації піразольного циклу, його об'єднання з азольними чи азиновими системами, перехід до ізостерних аналогів знаходяться в центрі уваги багатьох програм розробки активних фармацевтичних агентів. Основним шляхом підвищення рівня молекулярного різноманіття все ще залишається розробка оригінальних препаративних методик, придатних для одержання цільових бібліотек нових сполук. Саме такий підхід, спрямований на розширення хімічного простору модифікованих похідних 5-амінопіразолу, зумовлює актуальність представленого дослідження.

Протягом кількох десятиліть науковцями Національного фармацевтичного університету проводяться системні дослідження різноманітних функціоналізованих похідних малих гетероциклічних систем з метою пошуку нових фармацевтичних агентів різнонаправленої дії. Представлена робота є логічним продовженням зазначених робіт і вносить суттєвий внесок в формування цілісної уяви щодо методів синтеза, властивостей та перспектив застосування одержаних продуктів.

Дисертант зміг знайти свою нішу в хімії сполук із заданими або завідомо прогнозуємими властивостями на основі відомих в фармакологічному плані скафолдів, і зосередили свою увагу на вирішенні однієї із актуальних проблем сучасної медичної хімії – пошуку принципово нових протимікробних та протигрибкових засобів.

Сформульовані у дисертаційній роботі цілі і задачі, проведені дослідження та отримані результати в повній мірі відповідають критерію актуальності.

Дисертаційну роботу виконано згідно плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету «Хімічний синтез і аналіз біологічно активних речовин, створення лікарських засобів синтетичного походження» (№ державної реєстрації 0103U000475), «Органічний синтез та аналіз БАР, розробка лікарських засобів на основі синтетичних та напівсинтетичних субстанцій» (№ державної реєстрації 0114U000943) та

«Молекулярний дизайн і цілеспрямований синтез нових біологічно активних органічних речовин та їх фокусованих комбінаторних бібліотек» (№ державної реєстрації 0114U000944).

2 Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Достовірність одержаних результатів не викликає сумнівів. Логіка, стратегія та планування експерименту базуються на ретельному аналізі літературних даних з досліджуваної проблеми. Обсяг проведених синтетичних робіт, вибір фізико-хімічних методів доведення будови синтезованих сполук, обґрунтування підходу до біологічного експерименту є достатніми та відповідають поставленим задачам.

Висновки за окремими розділами та до дисертаційної роботи в цілому є науково обґрунтованими, викладені автором чітко та коректно.

3 Загальні дані про структуру дисертації та аналіз її змісту. Дисертаційна робота складається із вступу, шести розділів, загальних висновків та списку літератури. Обсяг основного тексту дисертації становить 114 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 18 таблицями, 57 рисунками та 9 схемами. Список використаних джерел містить 185 найменувань.

Перший розділ – огляд літератури, містить відомості щодо хімії та фармакології лінійних похідних на основі полізаміщеного піразолу. Автором доведено доцільність пошуку малотоксичних речовин протимікробної та протигрибкової дії серед похідних зазначеного класу. Об’єм та викладений матеріал огляду літератури є цілком достатнім для розуміння поставленої в дисертації проблеми.

Другий розділ присвячений обговоренню загального дизайну дослідження та методів, які були використані для досягнення поставлених цілей.

Третій розділ безпосередньо містить обговорення експериментальних даних стосовно синтезу функціональних похідних, одержаних на основі базової структури – 4-арилсульфоніл-5-амінопіразолу з метою пошуку біологічно активних сполук з протимікробною та протигрибковою дією. Автором розроблено ряд препаративних методик одержання 4-арилсульфоніл-5-амінопіразолів з заміщеними тіольною та амінною функціями в положенні 3 гетероциклу. Детально розглянуто реакції алкілування та ацилування, переконливо доведено регіонаправленість взаємодій. Структуру синтезованих речовин доведено сучасними фізико-хімічними методами: елементний аналіз, ЯМР-спектроскопія.

Окремим фрагментом роботи, який має значну практичну цінність, стала розробка дизайну фокусованої бібліотеки сполук, її *in silico* тестування та планування біологічного експерименту.

Четвертий розділ, в якому представлено результати залучення 4-арилсульфоніл-5-амінопіразолів до реакцій гетероциклізації, ілюструє широту хімічного мислення дисертанта. Автором розроблено низку препаративних методик синтеза, які значно розширяють можливість одержання полізаміщених конденсованих систем з ядром імідазо[1,2-*b*]піразолу та піразоло[1,5-*a*]піримідину з метою подальшого біологічного тестування.

Пятий розділ містить дані щодо результатів мікробіологічного скринінга синтезованих речовин. Слід відмітити обґрунтованість вибору сполук та стратегії вивчення впливу синтезованих сполук на мікробну клітину. Автором запропоновано трьохетапний експеримент, який включає широкий мікробіологічний скринінг 46 синтезованих сполук за стандартним набором тест-культур референтних штамів грампозитивних, грамнегативних бактерій та грибів роду *Candida* (6 штамів), направлене тестування 9 найбільш активних речовин за розширеним спектром музейних та клінічних референтних тест-штамів (37 штамів) та окреме дослідження динаміки формування *in vitro* стійкості штамів мікроорганізмів і грибів роду *Candida* до синтезованих сполук.

У шостому розділі викладено методики синтезу усіх описаних в дисертаційній роботі речовин, їх фізико-хімічні та спектральні характеристики. Також наведено методи ідентифікації та кількісного визначення субстанції 4-(4'-хлорофеніл)сульфо-3-етилтіо-5-амінопіразолу.

4 Новизна дисертаційних досліджень полягає у систематизації досліджень щодо синтезу функціоналізованих похідних на основі базового фрагмента 3(5)-амінопіразолу та їх біологічного тестування з метою пошуку речовин з протимікробною та протигрибковою активністю.

Розроблено способи синтезу ряду нових полізаміщених піразолів, зокрема 4-алкіл/арилсульфоніл-5-аміно-3-метилтіопіразолів та 4-алкіл/арилсульфоніл-5-аміно-3-(*N*-алкіл/ариламіно)піразолів; вперше досліджено реакції їх алкілування та ацилювання. Автором запропоновано новий синтетичний підхід щодо введення амінної функції в третє положення гетероциклу (амінування *S*-метильних похідних), що дозволило розширити коло синтетично доступних речовин і виключити використання токсичних ізотіоціанатів.

В ході проведення низки гетероциклізацій за участю 4-арилсульфоніл-5-аміно-3-алкілтіопіразолів та 4-арилсульфоніл-5-аміно-3-(*N*-ариламіно)піразолів, зокрема в реакціях з α-галогенокетонами та α,β-дикарбонільними реагентами, запропоновано нові методики синтезу, що значно збільшує синтетичну доступність кінцевих продуктів.

В ході виконання роботи автором синтезовано близько 100 раніш не описаних в літературі сполук, структуру та індивідуальність яких підтверджено сучасними фізико-хімічними методами.

Вперше проведено широкий мікробіологічний скринінг ряду синтезованих речовин, визначено спектр і рівень їх протимікробної активності по відношенню до музейних та клінічних штамів мікроорганізмів, досліджено можливість формування *in vitro* стійкості мікроорганізмів і грибів роду *Candida* до тестуємих речовин, та визначено перспективні сполуки для подальшої розробки в якості протимікробних та протигрибкових агентів.

За результатами біологічних досліджень проведено узагальнення даних щодо напрямків цілеспрямованої модифікації базової структури для досягнення максимального фармакологічного ефекту.

Наукова новизна проведеного дослідження підтверджена патентом України на корисну модель.

***5* Теоретична та практичне значення результатів дослідження.** У роботі представлено системне дослідження щодо синтезу та вивчення властивостей полізаміщених похідних піразолу, що поєднують в своїй структурі низку фармакофорних фрагментів протимікробного спрямування. Слід зазначити, що дослідження, проведені дисертантом значно підвищують синтетичну доступність ряду похідних на основі 4-арилсульфоніл-5-амінопіразолу. Розроблені препаративні методики одержання відповідних 3-алкілтіо- та 3-ариламінозаміщених продуктів, а саме: 4-алкіл/арилсульфоніл-5-аміно-3-метилтіопіразолів, 4-алкіл/арилсульфоніл-5-аміно-3-(*N*-алкіл/ариламіно)піразолів, 2-метил/арил-6-метилтіо-7-арилсульфоніл-1*H*-імідазо[1,2-*b*]піразолів, 2-метилтіо-3-фенілсульфонілпіразоло[1,5-*a*]піримідинів, 2-метилтіо-3-фенілсульфонілпіразоло[1,5-*a*]піримідин-7(4*H*)-онів в подальшому можуть бути використані цілеспрямованому синтезі біологічно активних речовин.

Одержані дані мікробіологічного скринінга є підґрунтям для подальшої модифікації базової структури з метою поліпшення протимікробних та протигрибкових властивостей сполук даного ряду. Автором для подальшого вивчення запропоновано субстанцію 4-(4’-хлорофеніл)сульфо-3-етилтіо-5-амінопіразолу, на яку розроблено методики ідентифікації та визначення кількісного вмісту, та субстанцію протимікробної дії – *N*-(2’-флюоро-4’-бромофеніл)-(5-аміно-4-фенілсульфоніл-3-метилтіопіразол-1-іл)ацетамід.

На особливу увагу заслуговують результати щодо динаміки формування резистентності *C.albicans* ATCC 885-653 до 4-(4’-хлорофеніл)сульфо-3-етилтіо-5-амінопіразолу. Адже за результатами, формування резистентності відбувається у 32 рази повільніше, ніж до препарата порівняння – ністатину, при цьому його мінімальна фунгістатична концентрація (12,5 мкг/мл) у чотири рази нижча за МФстК ністатину (50 мкг/мл).

Запропонована бібліотека сполук з базовою структурою 4-арилсульфоніл-5-амінопіразолу на сьогодні вже є готовим продуктом для біологічного скринінгового тестування на інші види активності, і може бути цікавою для фахівців галузі медичної хімії.

6 Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях. За результатами дисертаційної роботи опубліковано 5 статей (3 з них – у фахових виданнях, 2 – у закордонних), оформлено патент України на корисну модель; матеріал, представлений до захисту, пройшов наукову апробацію на конференція міжнародного та національного рівня.

Зміст автореферату та публікацій дає повну інформацію щодо обсягу наукової роботи, виконаної дисертантом. Автореферат у повній мірі відповідає змісту дисертації. Мова дисертації і стиль подання матеріалу відповідають необхідному рівню.

7 **Зауваження та загальна оцінка дисертації.** Дисертаційна робота Ткаченка П. В. є завершеним науковим дослідженням. Робота написана загалом грамотною українською мовою, хоча зустрічаються помилки, стилістичні неузгодження та невдалі вислови тощо.

Разом з тим в результаті детального ознайомлення з текстом дисертації виникли декілька зауважень та запитань.

1. Чи був проведений пошук сполук по базі Scifinder, щоб визначити які з синтезованих сполук є вперше синтезованими, а які вже описано в науковій літературі?

2. Чи не спостерігали Ви утворення домішки продуктів моноацилювання за аміногрупою при проведенні реакції сполук **6** з ангідридами кислот?

3. Чим, на Ваш погляд, можна пояснити регіоселективність реакції 5-аміно-4-арилсульфоніл-3-метилтіопіразолів з *N*-арилхлорацетамідами і утворення ізомерів в аналогічній взаємодії з α-галогенокетонами?

4. Чи було встановлено при проведенні PASS-аналізу можливість прояву противірусної активності для сполук даного ряду?

5. Чим Ви пояснюєте вибір саме протимікробного та протигрибкового напряму для фармакологічних досліджень?

Відповідність дисертації вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів». На підставі вищевикладеного вважаю, що дисертаційна робота «Пошук біологічно активних речовин в ряду модифікованих похідних 3(5)-амінопіразолу» є самостійним завершеним науковим дослідженням, яке за актуальністю, новизною, достовірністю одержаних результатів і висновків, теоретичним і практичним значенням, повнотою публікацій відповідає вимогам п.11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567 (зі змінами), а її автор **Ткаченко Павло Володимирович** заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент
Професор кафедри органічної хімії
Харківського національного університету
імені В. Н. Каразіна,
доктор хімічних наук, професор С.М. Коваленко

Підпис Коваленко С. М. засвідчую
Начальник служби управління персоналом
Харківського університету
імені В.Н. Каразіна С.М.Куліш