

ВІДГУК

офіційного опонента кандидата фармацевтичних наук, доцента Воскобойніка Олексія Юрійовича на дисертаційну роботу Григорів Галини Валеріївни на тему «Синтез та біологічна активність конденсованих 2-аміно-3-*R*-4*H*-піранів на основі 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду», що подана 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.

Актуальність теми дисертаційної роботи та її зв'язок з державними і галузевими програмами, пріоритетними напрямками розвитку науки та техніки.

Багатокомпонентні реакції являють собою унікальний метод конструювання органічних молекул, в тому числі, тих, що містять поліконденсовані фрагменти та хіральні центри. Необхідно зазначити, що все частіше названий тип перетворень переходить зі сфери дослідницької органічної хімії у практичну площину, а сам підхід стає потужним синтетичним інструментом. Так, окремі багатокомпонентні реакції були відкриті більше 100 років тому, однак тільки протягом останніх десятирічь набули популярності, як синтетичний метод. До таких реакцій, наприклад, належить реакція Біджінеллі, що була відкрита у 1891 році, однак стала широко вживаним методом лише на рубежі 20-го та 21-го сторіччя. Цьому сприяли багаточисленні модифікації, що дозволили підвищити виходи та значно розширити сферу застосування методу, розробка підходів комбінаторної хімії та впровадження альтернативних методів активації реакцій, зокрема «мікрохвильового» синтезу. На сьогоднішній день багатокомпонентна конденсація за Ганчем є одним з основних методів синтезу 1,4-дигідропіридинів, чотирикомпонентна реакція Угі дозволяє одержати бісаміди, які є унікальними вихідними речовинами для синтезу різноманітних гетероциклічних похідних, а реакція Греко все більше розглядається як ефективний метод формування поліконденсованих похідних хіноліну.

Багатокомпонентні реакції мають свої переваги на недоліки. Серед переваг можна відмітити структурну унікальність продуктів реакції, скорочення часу, що витрачається на конвертацію вихідних речовин у продукти реакції, та енергоефективність процесів. Серед основних недоліків значна кількість факторів, які можуть впливати на результат реакції, та, як

наслідок певні складнощі у контролюванні її перебігу. Це обумовлює необхідність накопичення значного досвіду застосування багатокомпонентних реакцій у органічному синтезі, отже подібні дослідження є вкрай актуальними.

Дисертаційна робота Григорів Галини Валеріївни присвячена саме всебічному вивченню багатокомпонентних реакцій на основі 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду, як методу синтезу потенційних біологічно активних сполук і є цінним внеском у розвиток органічної та медичної хімії.

Дисертаційна робота виконана у відповідності до плану НДР Національного фармацевтичного університету за темою «Органічний синтез та аналіз БАР, розробка лікарських засобів на основі синтетичних та напівсинтетичних субстанцій» (№ державної реєстрації 0114U000943, 2014-2019 рр.).

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, які сформульовані у дисертаційній роботі.

Висновки дисертаційної роботи, що сформульовані автором, ґрунтуються на одержаних результатах теоретичних і експериментальних досліджень та є науково обґрунтованими. Завдання, що поставив перед собою автор, повністю відповідають меті дослідження та були виконані в повному обсязі. Виконання синтетичної експериментальної частини було виконане згідно загальноприйнятих підходів, а встановлення природи продуктів реакції було здійснено за допомогою комплексу сучасних фізико-хімічних методів дослідження, зокрема ^1H та ^{13}C ЯМР-спектроскопією, хромато-мас-спектрометрією, ІЧ-спектроскопією. В окремих випадках для безпечного встановлення будови одержаних речовин було застосовано рентгеноструктурний аналіз. Дослідження біологічної активності проводилось згідно сучасних стандартів.

Наукова новизна дисертаційних досліджень.

Бензо[*e*][1,2]оксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксид є відомим з 60х-70х років 20-го сторіччя, зазначена сполука містить «активний» метиленовий фрагмент та є перспективним об'єктом структурної модифікації. В той самий час, за даними реферативних баз даних роботи, що присвячені дослідженню реакційної здатності зазначеного вище гетероциклічної системи є порівняно малочисленими, а його використання в багатокомпонентних реакціях є майже невідомим. Таким чином, можна вважати, що автор вдало обрав об'єкт дослідження. Автором було вперше досліджено особливості перебігу трикомпонентної взаємодії за участю 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду, карбонільвмісних сполук різної будови та малонітритилу або етил

ціаноацетату та показана ефективність зазначеного перетворення як методу конструювання біологічно активних сполук.

Автором вперше показано, що реакція 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду з ароматичними альдегідами та малонідинітрилом перебігає як багатокомпонентна конденсація та веде до утворення 2-аміно-4-*R*-4*a*,10*b*-дігідро-4*H*-бензо[*e*]пірано[3,2-*c*][1,2]оксатіін-3-карбонітрил 5,5-діоксидів. Додатково, досліджений вплив природи основного каталізатора та терміну проведення взаємодії на вихід конденсованих 2-аміно-4*H*-піран-3-карбонітрилів при зазначеній реакції. Вперше показано неоднозначність перебігу реакції 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду з ароматичними альдегідами та етилціаноацетатом, досліджено можливість керування напрямком зазначеного перетворення варіюванням співвідношення реагентів, модифікацією умов реакції. Вперше розроблений метод одержання 7-арил-7,14-дігідробензо[5,6][1,2]оксатііно[4,3-*b*]бензо[5,6][1,2]оксатііно[3,4-*e*]піридин-6,6,8,8-тетраоксидів кип'ятінням 2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду, етил 2-ціано-3-арилакрилатів та амонію ацетату в оцтовій кислоті. Вперше показана можливість взаємного перетворення етил 2-аміно-4-арил-4*a*,10*b*-дігідро-4*H*-бензо[*e*]пірано[3,2-*c*][1,2]оксатіін-3-карбоксилат 5,5-діоксидів та триетиламоній 3-((4-гідрокси-2,2-діоксидобензо[*e*][1,2]оксатіін-3-іл(арил)метил)бензо[*e*][1,2]оксатіін-4-олат 2,2-діоксидів. Додатково досліджено особливості проведення трикомпонентних та двокомпонентних конденсацій на основі 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду та гетероциклічних, аліциклічних та аліфатичних альдегідів (в тому числі аліфатичних діальдегідів). Вперше показана можливість синтезу біс-похідного бензо[*e*]пірано[3,2-*c*][1,2]оксатііну. Автором одержано раніше невідомий клас спіро-конденсованих похідних на основі реакції 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду, метиленактивних нітрилів та заміщених ізатинів. Для одержаних сполук досліджено протизапальну, аналгетичну, протимікробну дію та вплив на згортання крові.

Теоретичне та практичне значення результатів дослідження.

Теоретичне значення мають виявлені закономірності перебігу багатокомпонентних реакцій, встановлені методом рентгеноструктурного дослідження особливості будови 2-аміно-4-(2'-метоксифеніл)-4*H*-пірано[3,2-*c*][1,2]бензоксатіін-3-карбонітрил 5,5-діоксиду та триетиламоній 3-((4-гідрокси-2,2-діоксидобензо[*e*][1,2]оксатіін-3-іл)(феніл)метил)бензо[*e*][1,2]оксатіін-4-олат 2,2-діоксиду, встановлені спектральні характеристики синтезованих сполук, дані про взаємозв'язок «структура-біологічна дія». Практичне значення мають розроблені методи хімічної модифікації 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду та одержані сполуки з вираженою

біологічною дією, що можуть стати основою високоефективних лікарських препаратів.

Повнота викладення основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях. Наведені у дисертаційній роботі результати відображені у 5 статтях, серед яких, особливо хотілось би відзначити статтю у журналі *RSC Advances*. Зазначене видання засновано Королівським Хімічним Товариством та є одним з найавторитетніших як у Великій Британії, так і у світі, і наявність такої публікації безумовно свідчить про вкрай високий рівень роботи. Наукова новизна дисертаційної роботи додатково підтверджена 4 патентами України на корисну модель. Результати дисертаційного дослідження були представлені науковій спільноті на наукових зібраннях з питань органічної та медичної хімії. Так в матеріалах міжнародних та всеукраїнських конференцій опубліковано 13 тез доповідей. Всі зазначені матеріали у повному обсязі відображають результати досліджень та висновки представлені в роботі.

Структура дисертаційної роботи. Дисертаційна робота викладена на 199 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 3 розділів, висновків, списку використаних джерел та додатків.

Перший розділ дисертаційної роботи являє собою критичний огляд опублікованих відомостей про методи формування та біологічну активність сполук, що містять фрагменти 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду та та 2-аміно-4*H*-пірану. Огляд є повним, добре структурованим та свідчить про високу компетентність автора у пошуку, систематизації та узагальненню літературних даних.

У **другому розділі** приведені результати синтетичних досліджень, зокрема дані про особливості взаємодії 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду з метиленактивними нітрилами та карбонільними сполуками різноманітної будови, наведений вплив різноманітних факторів на будови продуктів реакції, наведені методики синтезу таких сполук як 2-аміно-3-*R*-4,6-дигідропірано[3,2-*c*][2,1]бензоксатіін 5,5-діоксиди, спіро[(2-аміно-4,6-дигідропірано[3,2-*c*][2,1]бензоксатіін 5,5-діоксид)-4,3'-(індолін-2'-они)], амоній 3-[(4-гідрокси-2,2-діоксидобензо[*e*][1,2]оксатіін-3-іл)(*R*)метил]бензо[*e*][1,2]оксатіін-4-олат 2,2-діоксиди, 7-*R*-7,14-дигідробензо[5,6][1,2]оксатіін[4,3-*b*]бензо[5,6][1,2]оксатіін[3,4-*e*]піридин 6,6,8,8-тетраоксиди тощо.

У **третьому розділі** представлено результати скринінгу протимікробної, протизапальної, анагетичної активності та впливу синтезованих сполук на згортання крові. Показано, що спіро[(2-аміно-3-ціано-4,6-дигідропірано[3,2-*c*][2,1]бензоксатіін 5,5-діоксид)-4,3'-(*N*-

етиліндолін-2'-он]) проявляє виражену антибактеріальну дію, а 2-аміно-5'-метил-2'-оксоспіро[бензо[e]пірано[3,2-с][1,2]оксатіін-4,3'-індолін]-3-карбонітрил 5,5-діоксид є протизапальним агентом. Також серед 2-аміно-4-арил-4,6-дигідропірано[3,2-с][2,1]бензоксатіін-3-карбонітрил 5,5-діоксидів були ідентифіковані сполуки, що впливають на згортання крові. Додатково автором встановлені певні кореляції «будова біологічна дія».

У **додатках** автором представлено дані спектральних методів дослідження (^1H -, ^{13}C -ЯМР-спектроскопія, ІЧ-спектрометрія, мас-спектрометрія (EI), тощо), фізико-хімічні та спектральні характеристики субстанції потенційного лікарського засобу з антибактеріальною активністю, відбитки одержаних ним патентів на корисну модель, відбитки актів впровадження у навчальну та наукову роботу підрозділів ЗВО України.

Загальна оцінка роботи є позитивною. Представлене дослідження є вдало спланованим стратегічно та виконано на вкрай високому науковому рівні. Тим не менш в роботі присутні типографські помилки, невдалі вислови та ряд незначних недоліків:

- як у дисертаційній роботі, так і у авторефераті дисертації умови реакції приведено англійською мовою, що можна вважати незначним недоліком у оформленні;
- зміст статті за посиланням [9] не відповідає реакції на схемі 1.2;
- на схемі 1.6, автором приводиться послідовність реакцій, в яких однією зі стадій є введення тетрагідропіранового захисту фенольного гідроксилу. Реагентом, що використовується для даного перетворення є дигідропіран (DHP), однак на схемі вказаний тетрагідропіран (THP);
- по тексту дисертаційної роботи (наприклад стор. 52) автор використовує термін «бензальдегіди» для позначення ароматичних альдегідів, що не є цілком коректним;
- в окремих випадках автором використаний не зовсім коректний підхід до нумерації синтезованих сполук, так наприклад в рамках дисертаційної роботи було одержано три сполуки серії 2.12 (2.12 a,c,h) на мою думку більш коректним було би позначити їх 2.12 a-c;
- в методі синтезу сполуки 2.7a-q (стор. 66) автор вказує, що в реакційну суміш додавалось 0,014 мл триетиламіну, на мій погляд в цьому випадку краще було би вказати кількість крапель;
- в методі синтезу сполуки 2.7г (стор. 66) автор вказує, що для синтезу був використаний ароматичний альдегід 2.5г, названа

вище сполука (4-формілбензойна кислота) є не альдегідом, а ароматичною альдегідокислотою;

- автором на стор. 67 приведені методи синтезу сполуки 2.10a, на мій погляд не є коректним представляти Метод А та Метод Б як альтернативні, адже вони різняться тільки кількістю одного з реагентів;
- на стор. 97 сполуки 2.28q,r помилково позначені як 2.28o,p;
- автор при плануванні досліджень біологічної дії спирався на структурну подібність синтезованих сполук до відомих фармакотерапевтичних засобів, зокрема похідних 4-гідроксикумарину, які є антикоагулянтами непрямой дії і для яких встановлення їх фармакологічного ефекту можливо тільки *in vivo*. Тим не менш автором для скринінгу впливу на згортання крові обрана модель *in vitro*, яка є оптимальною тільки для антикоагулянтів прямої дії.

Також, хотілось почути відповідь автора стосовно таких дискусійних питань:

- Чим був обумовлений вибір L-лізину як каталізатору конденсації 1,2-бензоксатіін-4(3H)-он 2,2-діоксиду з бензальдегідом та малонідинітрилом, і чи може це вплинути на стереоселективність реакції?
- Чи досліджувались процеси, що відбуваються при підкисленні розчинів солей типу 2.10, 2.16, 2.21, 2.25.

Всі зазначені вище зауваження не є принциповими та не впливають на загальне, як вже зазначалось, **позитивне** враження від роботи.

Рекомендації щодо подальших досліджень у науковому напрямку за темою дисертації. Рекомендується дослідити стереохімічну складову багатокомпонентних конденсацій на основі 2,2-бензоксатіін-4(3H)-он 2,2-діоксиду. Виявлені автором сполуки з вираженою фармакологічною дією рекомендуються до подальших досліджень з метою створення інноваційних лікарських засобів.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці. Автором одержано значний масив даних про можливість застосування конденсацій на основі 1,2-бензоксатіін-4(3H)-он 2,2-діоксиду, в тому числі багатокомпонентних, як методу конструювання перспективних біологічно активних агентів. Зазначені відомості рекомендуються до впровадження науковим групам, що здійснюють пошук біоактивних агентів серед споріднених класів речовин.

Висновок про відповідність дисертації вимогам положення.

Узагальнюючи наведене вище можна зробити висновок, що дисертаційна робота Григорів Галини Валеріївни «Синтез та біологічна активність конденсованих 2-аміно-3-*R*-4*H*-піранів на основі 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду» є завершеною кваліфікаційною працею, яка за актуальністю обсягом виконаних досліджень, обґрунтованістю наукових положень і висновків, новизною одержаних результатів, теоретичним та практичним значенням відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України №567 від 24 липня 2013 року зі змінами, а її автор, Григорів Галина Валеріївна, заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Офіційний опонент:

доцент кафедри органічної і біоорганічної хімії Запорізького державного медичного університету, кандидат фармацевтичних наук, доцент



Воскобойнік О.І.

Воскобойнік О.І.

ДТВЕРДЖУЮ
Доктор Заводського
медичного університету
20 ____ р. Підпис

В. В. Солодуненко