

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Сюмки Євгенії Ігорівни на тему: «Синтез, хімічні та біологічні властивості моно- та біс-похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу», представлену для офіційного захисту в спеціалізовану вчену раду 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 дисертації та її зв'язок з державними чи галузевими програмами, пріоритетними напрямками розвитку науки та техніки. Актуальним напрямком сучасної фармацевтичної науки є цілеспрямований синтез нових сполук з вираженою біологічною активністю. Враховуючи той факт, що багато лікарських засобів містять гетероциклічний фрагмент, дослідження з дизайну саме цього сегменту органічних сполук є перспективним. На особливу увагу заслуговують похідні спірооксіндолу, оскільки багато представників цього ряду по-перше споріднені до оксіндольних алкалоїдів, по-друге виявляють широкий спектр біологічної активності, а саме: антибактеріальну, протигрибкову, противірусну, протизапальну, антиалергічну, протипухлинну, протисудомну дію тощо. У роботі запропоновано цікавий підхід до синтезу лікоподібних структур – створення «подвійних ліків», які містять дві однакові фармакофорні групи, що об'єднані ковалентно в одній молекулі. Як генеральна ідея активно використовується гіпотеза про можливість приводити до значного збільшення біологічної активності у порівнянні з відповідними монопохідними спірооксіндолів.

Дисертаційна робота Сюмки Є.І. присвячена синтезу і вивченню хімічних властивостей нових біологічно активних речовин – похідних моно- та біс-спіро-2-оксіндол[3,3']піролу та виявленню серед них перспективних сполук в сенсі вивчення біологічної дії.

Дисертаційна робота виконана згідно з планом проблемної комісії «Фармація» МОЗ та АМН України і є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Хімічний синтез і аналіз біологічно-активних речовин, створення лікарських засобів синтетичного походження» (номер державної реєстрації 0103U000475, термін дії 2003-2013 рр.) і «Органічний синтез та аналіз БАР, розробка лікарських засобів на основі синтетичних та напівсинтетичних субстанцій» (номер державної реєстрації 01143U000943, термін дії 2014-2019 рр.).

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Достовірність представлених у роботі даних фізико-хімічних, біологічних досліджень та обґрунтованість висновків, зроблених на їх основі, не викликає сумнівів. Будова і склад всіх синтезованих сполук надійно підтверджена сучасними фізико-хімічними методами аналізу. Зокрема, методами ІЧ-, ЯМР ^1H , ^{13}C спектроскопії, хромато-мас-спектрометрія, елементний аналіз); дослідження

біологічних властивостей з використанням стандартних методик (в системах *in silico*, *in vitro* та *in vivo*). Вважаю, що наукові положення і висновки сформульовані автором ґрунтуються на одержаних результатах теоретичних і експериментальних досліджень та науково обґрунтовані.

Наукова новизна одержаних результатів.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що дисертантом шляхом трикомпонентної взаємодії ізатину з α -амінокислотами та диполярофілами на основі *bis*-малеїнімідів (*N,N'*-гексаметилен-*bis*-малеїнімід, *N,N'*-етилен-*bis*-малеїнімід, *N,N'*-*m*-фенілен-*bis*-малеїнімід та *N,N'*-*bis*-малеїнімідоксаліламін відповідно) синтезовано нові ряди похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу. Досліджено перебіг трикомпонентної конденсації ізатинів, α -амінокислот з *N,N'*-гексаметилен-*bis*-малеїнімідом та встановлена її залежність від співвідношення та природи реагентів і розчинників. Несиметричні моно-похідні поєднують у своїй структурі два високоактивних фармакофори: ядро спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу та малеїнімідний фрагмент – нові потенційні БАР, а *bis*-похідні спіро-2-оксіндол[3,3']піролу, які містять дві однакові ковалентно сполучені фармакофорні групи, в свою чергу, є потенційними новими подвійними БАР.

Досліджено подальші хімічні перетворення синтезованих похідних шляхом модифікації NH-групи пірольного фрагменту в положенні 4' (алкілювання, ацилювання, нітрузування).

Вперше одержано дані про біологічну активність синтезованих моно- та *bis*-похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу. Знайдено сполуки, які виявили виражену інгібуючу активність відносно протеїнказ, протимікробну, антиоксидантну та протизапальну активності та є перспективними БАР.

Наукова новизна отриманих результатів підтверджена патентами України на корисну модель № 124687 від 25.04.2018, бюл. № 8/2018 та № 130910 від 26.12.2018, бюл. № 24/2018.

Теоретичне та практичне значення результатів дослідження.

Усі наукові дослідження викладені в дисертаційній роботі, можуть бути використані науковцями в галузях синтезу гетероциклів, багатокомпонентних взаємодій, пошуку біологічно активних речовин. Показано, що реакція 1,3-диполярного циклоприєднання азометинілідів, отриманих *in situ* із ізатинів та α -амінокислот з диполярофілами на основі *bis*-малеїнімідів є ефективним способом одержання моно- та *bis*-похідних складної гетероциклічної системи спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-*c*]піролу та може бути рекомендована як препаративна.

Проведений фармакологічний скринінг синтезованих сполук виявив речовини з вираженою інгібуючою активністю відносно протеїнказ, протимікробною, антиоксидантною та протизапальною активностями. Обрано та запатентовано «сполуки-лідери» з вираженим рівнем зазначених видів біологічної дії, які є перспективними БАР для подальших поглиблених фармакологічних досліджень.

Результати наукових досліджень впроваджено в науково-педагогічні процеси: кафедр фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії

Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (м. Львів), кафедри медичної та біоорганічної хімії Харківського національного медичного університету (м. Харків), кафедри органічної і біоорганічної хімії Запорізького державного медичного університету (м. Запоріжжя), кафедри загальної хімії Тернопільського державного медичного університету ім.

І.Я. Горбачевського (м. Тернопіль).

Повнота викладення основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях. За матеріалами дисертації опубліковано 21 наукова робота, у тому числі 6 статей у фахових журналах, 13 тез доповідей на конференціях різного рівня, отримано 2 патента України на корисну модель. Опубліковані матеріали у повному обсязі відображають результати досліджень та висновки, представлені у роботі.

Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації та автореферату, завершеності дисертації в цілому. Дисертаційна робота складається зі вступу, чотирьох розділів, загальних висновків, списку використаних джерел (153 найменування), додатків.

В огляді літератури (*розділ 1*) дисертантом висвітлено сучасні підходи та досягнення науковців світу в галузі синтезу та дослідження реакційної здатності спіро-2-оксіндолів та їх біс-аналогів. Показано перспективність реакції [3+2] диполярного циклоприєднання азометинілідів в синтезі цільових сполук. Висвітлено відомості щодо біологічної активності природних і синтетичних сполук з ядром спіро-2-оксіндолу. Висловлено ідею про доцільність дослідження біс-похідних в сенсі створення подвійних ліків на їх основі. Автором опрацьовано значний обсяг літературних даних. Огляд побудований на вдало підібраному значному фактичному матеріалі. При цьому обґрунтовано вибір об'єктів, доцільність та актуальність запланованих досліджень.

Другий розділ присвячено синтезу та хімічним перетворенням спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролів на основі трикомпонентної взаємодії ізатинів, α -амінокислот та *N,N'*-гексаметилен-*bis*-малеїніміду. Дисертантом досліджено умови проведення реакції 1,3-диполярного циклоприєднання азометинілідів, знайдені умови одержання несиметричних гексаметилен-*N*-малеїнімідопохідних спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролу та їх симетричних *bis*-похідних, оптимізовані умови проведення реакції. Досліджено реакцію нітрузування синтезованих сполук з метою розширення рядів потенційних БАР.

Третій розділ присвячено дослідженню реакції 1,3-диполярного циклоприєднання з використанням різноманітних диполярофілів та вивчення впливу даних комбінувань на прояв біологічних властивостей. Як диполярофіли було використано *N,N'*-етилен-*bis*-малеїнімід, *N,N'*-*bis*-малеїнімідоксаламін та *N,N'*-*m*-фенілен-*bis*-малеїнімід, що дозволило отримати нові *bis*-похідні спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролу, в яких з'єднання двох спірогетероциклічних фрагментів відбувається у різний спосіб: за рахунок етиленового, оксаламідного ланцюгу або бензенового

кільця. Для синтезованих сполук досліджено реакції нітрузування, алкілювання, ацилювання.

Четвертий розділ присвячено вивченню біологічної дії похідних спіро-2-оксіндол-3,3'-піролу. Слід зазначити ретельно спланований експеримент та його багатовекторність. Спочатку було досліджено гексаметилен-N-малеїнімідопохідні спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролу та їх біс-аналоги, як потенційні інгібітори протеїнкіназ. Дослідження складалося з декількох етапів, включаючи експерименти *in silico* та *in vitro*. Як результат знайдено сполуку-лідер, що дозволило зробити висновок щодо перспективності досліджуваних похідних для подальшого пошуку нових біологічно активних речовин із інгібуючою активністю стосовно протеїнкінази СК2 та рецептора фактора росту фібробластів (FGFR1). Дослідження протимікробної активності було проведено двома методами: методом кратних серійних розведень і методом дифузії в агар модифікації колодязів. Синтезовані сполуки показали високий рівень протимікробної активності, встановлені певні зв'язки структура-дія. Проведено дослідження антиоксидантної активності різних груп похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу *in vitro*. Відібрано сполуки: 1'-(гексаметилен-N-малеїнімідо)-5'-бензил-2a',6a'-дигідро-1'H-спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-2,2',6'(1H,1'H,5'H)-тріон **2.6(5)**, гексаметилен-N,N'-біс-(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]пірол-4'-нітрузо-5'-бензил-2a',5a'-дигідро-2,2',6'(1H,1'H,5'H)-тріон) **2.8**, етилен-N,N'-біс(спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с] пірол-4'-нітрузо-5'-метил-2a',5a'-дигідро-2,2',6'(1H,1'H,5'H)-тріон) **3.6(1)**, які проявили найбільш потужні антиоксидантні властивості і були відібрані для подальшого вивчення протизапальної (антиексудативної) активності.

Автореферат дисертації як за структурою, так і за змістом відповідає основним положенням дисертації.

Загальна оцінка роботи – **позитивна**. Однак виникають деякі запитання та зауваження:

1) Яким чином визначали тривалість перебігу реакції трикомпонентної конденсації між ізатином, α -амінокислотами та похідними малеїніміду? Повідомляється, що із саркозином реакція триває 5 годин (стор. 66), а на стор. 67 автор зазначає, що структура амінокислот суттєво впливає на перебіг реакції.

2) Молекули синтезованих систем спіроіндол-3,3'-піроло[3,4-с]піролу містять у своєму складі принаймні 3 асиметричних атоми Карбону, тому є імовірність існування декількох оптичних ізомерів для сполук згаданої системи. І Чи було досліджено автором стереоселективність утворення продуктів реакції трикомпонентної конденсації? Лише одного разу (стор. 71) автором висловлюється припущення щодо просторової будови піроло[3,4-с] пірольного фрагменту ґрунтуючись на значеннях КССВ протонів Н-2a' і Н-5a' та протонів Н-5' і Н-5a'. Чому для дослідження просторової будови синтезованих сполук не було використано метод РСА або кореляційних методик метода ЯМР?

3) З метою розширення рядів і вивчення взаємозв'язку «структура-дія» автором природньо застосовано спробу хімічної модифікації NH-групи. Досліджено реакції нітродування, алкілування, ацилювання. Чи була зроблена спроба дослідити реакції утворення інших похідних, наприклад сечовин, тіосечовин, уреїдів, отже представники таких класів відомі БАР?

4) Для модифікації спіропіролідиноксіндолу **3.18** (стор. 114) автор використовує реакцію з ангідридами кислот. При цьому умови проведення реакції для різних ангідридів не однакові. Час реакції з оцтовим ангідридом 10 хвилин, з пропіоновим ангідридом – 1 год. Чим це можна пояснити?

5) Розділ 4 присвячено вивченню біологічної активності синтезованих сполук. Відбір сполук для вивчення їх протизапальної активності ґрунтується на результатах попередніх досліджень антиоксидантної активності різних груп похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу проведені *invitro*. Чи не могли би Ви пояснити стратегію досліджень? Чи є припущення щодо механізму протизапальної дії?

6) Доцільним було дослідити гостру токсичність синтезованих сполук, вивчаючи їх біологічну дію. Нажаль, цих досліджень проведено не було.

7) У загальних висновках роботи не зазначається підтвердження або спростування ідеї використання біс-похідних як більш ефективних у сенсі біологічної дії порівняно з їх моно-аналогами. Чи спостерігалась така тенденція взагалі?

Проте, слід зазначити, що зроблені зауваження не зменшують наукової цінності роботи, а поставлені запитання мають дискусійний характер. Автором повністю виконані поставлені завдання і досягнуто мети дисертаційної роботи. Робота є наслідком великого обсягу експериментальних досліджень.

Висновок про відповідність дисертації вимогам положення.

З огляду на сказане, можна зробити висновок, що дисертаційна робота Сюмки Євгенії Ігорівни «Синтез, хімічні та біологічні властивості моно- та біс-похідних спіро-2-оксіндол[3,3']піролу» є завершеною науково-дослідною працею. Достовірність результатів досліджень, їх рівень та обсяг, актуальність і наукова новизна свідчать, що робота відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України №567 (із змінами) від 24 липня 2013 р., а її автор – **Сюмка Євгенія Ігорівна** заслуговує на присвоєння наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Завідувач відділу медичної хімії
ДУ «Інститут фармакології
та токсикології НАМН України»
доктор фармацевтичних наук, професор

Підпис проф. Демченко А.М. засвідчую



А.М.Демченко

Засвідчую про виконання
з наукової роботи
Проф. Григор'єва
Г.С.