

ВІДГУК

офіційного опонента доктора хімічних наук, професора Лубенець Віри Ільківни на дисертацію Хилюка Дмитра Володимировича на тему “Синтез, перетворення та біологічна активність 2,3-диарил(гетерил) 4-тіазолідонів”, представлену на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 - фармацевтична хімія та фармакогнозія

1. Актуальність теми дисертації та її зв'язок з державними чи галузевими програмами, пріоритетними напрямками розвитку науки і техніки.

Дисертація присвячена розробці та вдосконаленню методів синтезу, вивченню фізико-хімічних властивостей та біологічної активності 2,3-диарил (гетерил) -4-тіазолідинонів.

У зв'язку з постійною необхідністю пошуку нових біологічно активних субстанцій для створення ефективних фармацевтичних препаратів різного призначення дисертантом обрані похідні 4-тіазолідинону, який є одним з привілейованих гетероциклів сучасного процесу дизайну інноваційних лікарських субстанцій. Це зумовлено як суттєвим спектром їх біологічної активності, так і їх синтетичними можливостями для формування різнопланових рядів перспективних похідних 4-тіазолідинонів. 4-Тіазолідинони, особливо їх 5-ен-похідні, характерні спорідненістю до різних біомішеней, що розглядається як перевага у реалізації концепції *multi-target drugs* (концепція багатоцільових ліків), а використання різноманітності 5-енового фрагмента дозволяє досягти бажаних комбінацій фармакологічного ефекту, наприклад, в рамках гібрид-фармакофорного підходу.

Тематика даної роботи є незаперечно науково обгрунтованою та актуальною, оскільки сьогодні є практичний інтерес щодо ціленапрявленого формування фокусованих бібліотек нових гетероциклічних сполук для біологічного скринінгу з метою виявлення серед них практично корисних субстанцій.

Безумовним підтвердженням актуальності проведених у дисертаційній роботі досліджень є її виконання у руслі наукової тематики згідно з планом проблеми «Фармація» МОЗ України і є фрагментом комплексних науково-дослідних робіт Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (державна реєстрація № 0111U010499, шифр теми ІН 10.06.0001.11; державна реєстрація 0116U004500, шифр теми ІН 10.06.0001.16).

2. Ступінь обгрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Достовірність одержаних автором результатів не викликає сумніву, тому що для їх інтерпретації використано сучасний пакет фізико-хімічних методів аналізу та загальноприйняті підходи до встановлення біологічних і фармакологічних властивостей синтезованих сполук.

Структура і чистота гетероциклічних похідних надійно підтверджена ЯМР спектроскопією, хромато-мас-спектрометрією, елементним та рентгеноструктурним аналізом. Фармакологічні дослідження проведено коректними методами з використанням традиційних методик. Дизайн біологічної частини дисертаційної роботи обгрунтовано сучасними *in silico* підходами, серед яких молекулярний докінг, а також *SAR- i COMPARE* аналізами.

Наукові положення та висновки, сформульовані у дисертаційній роботі, ґрунтуються на одержаних результатах. Висновки за окремими розділами та загальні є науково обгрунтованими, викладені автором чітко та коректно.

Новизна дисертаційних досліджень.

Наукова новизна роботи не викликає сумнівів. Дисертантом розроблено методи синтезу та отримано 66 невідомих раніше похідних 2,3-диарил(гетерил)-4-тіазолідинонів.

Показано, що трикомпонентна "one-pot" циклоконденсація амінів, альдегідів і меркаптооцтової кислоти, є ефективним підходом до синтезу 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів. Дисертантом встановлено, що проведення зазначеної реакції в середовищі бензену з використанням насадки Діна-Старка чи дициклогексилкарбодііміду в діоксані за параметрами виходів і чистоти продукту є альтернативними синтетичними підходами, що можуть використовуватися паралельно в залежності від поставленого завдання.

Запропоновано нові можливості використання реакції тіонування сульфідом фосфору (P_2S_5) або реактивом Лоуссона, для хімічної модифікації похідних 4-тіазолідинону.

Як метод синтезу 5-ариліден-2,3-дизаміщених-4-тіазолідинонів, вперше запропоновано використання трикомпонентної "one-pot" циклоконденсації амінів, альдегідів і як тіольних агентів 3-арил-2-меркаптоакрилової кислоти.

На основі фармакологічних досліджень сформовано оригінальну сфокусовану бібліотеку з 66 гетероциклічних сполук, похідних 2,3-диарил (гетерил)-4-тіазолідинонів, з практично цінними властивостями щодо пошуку нових ефективних субстанцій з протипухлинною, антитрипаносомною та противірусною діями.

Подано дані фізико-хімічних характеристик і структури синтезованих сполук, що підтверджено даними хромато-мас-спектрометрії, 1H та ^{13}C ЯМР-спектроскопії, елементним аналізом, а особливості деяких структур - рентгеноструктурним аналізом.

Теоретичне значення результатів дослідження.

Автор опрацював ряд оригінальних підходів до спрямованого синтезу біологічно активних сполук, що важливо для теорії як тонкого органічного синтезу, так і сучасної медичної хімії. Вважаю за необхідне виділити наступні аспекти роботи:

- розроблено ефективні методи синтезу нових похідних 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинону
- показано, що трикомпонентні циклоконденсації: 1) амінів, альдегідів та меркаптооцтової кислоти; 2) ароматичних нітрилів, альдегідів, меркаптооцтової кислоти в присутності триетиламіну; 3) амінів, циклогексанону або ізатину та меркаптооцтової кислоти є ефективними підходами до синтезу 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів
- встановлено, що 2,3-дизаміщені 4-тіазолідинони легко вступають в реакцію тіонування при дії P_2S_5 чи реактиву Лоуссона
- виявлено, що 2,3-дизаміщені 4-тіазолідинони можуть вступати в реакцію Кньюенагеля як 5-метиленактивні гетероцикли і залежно від їх структури розроблені умови синтезу 5-ариліден-2,3-дизаміщених-4-тіазолідинонів.

3. Практичне значення результатів дослідження.

У роботі наведено системне дослідження фізичних, хімічних та біологічних властивостей похідних 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів. Одержані структури є оригінальними та перспективними реагентами в хімії гетероциклічних сполук. Виявлено ряд нових перспективних сполук з високою біологічною активністю, зокрема протипухлинною, антитрипаносомною та противірусною. На основі детального аналізу кореляції «структура-дія» та докінгових досліджень можливого механізму запропоновано рекомендації до раціонального дизайну потенційних лікарських субстанцій різного спрямування.

4. **Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях.** За результатами дисертації опубліковано 20 наукових робіт, з яких 6 статей у наукових фахових виданнях, 1 розділ у колективній монографії та 12 тез доповідей, та 1 патент України на корисну модель.

5. **Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації та автореферату, завершеності дисертації в цілому.** Дисертаційна робота викладена на 180 сторінках друкованого тексту та складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків, списку літератури та двох додатків (2 с.). Робота ілюстрована 29 таблицями, 55 схемами і 19 рисунками, перелік використаної літератури містить 194 джерела.

У першому розділі дисертантом показано особливості хімії та фармакології 2,3-дизаміщених похідних 4-тіазолідинону. Подано інформацію щодо класичних методів, а також інноваційних підходів в оптимізації методів синтезу 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів. Розглянуто інформацію щодо хімічних перетворень об'єктів досліджень та їх фармакологічний потенціал, а саме дані щодо протимікробної, противірусної, протиракової, протизапальної, анальгетичної, антиоксидантної, антигіпертензивної та протиішемічної дії. На основі ґрунтовного аналізу літературних даних в галузі зазначених похідних обговорено переваги та недоліки відомих методів синтезу та зроблено аналіз контроверсійних публікацій щодо методів синтезу 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів.

У другому розділі проведено синтез та вивчення фізико-хімічних властивостей 2,3-диарил(гетерил) 4-тіазолідонів, також гомологічних до них *спіро* похідних. Дисертантом оптимізована методика трьохкомпонентної циклоконденсації амінів, альдегідів та меркаптооцтової кислоти та показано, що співвідношення реагентів 1:1:2, є ефективним підходом до синтезу 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів в середовищі безводного бензену з використанням насадки Діна-Старка або дициклогексилкарбодііміду в діоксані або безводному тетрагідрофурані. Досліджено трьохкомпонентну циклоконденсацію "one-pot" для синтезу 2-спірозаміщених 4-тіазолідинонів з використанням в якості оксосполук циклогексанону та ізатину, проте у випадку використання ізатину безводний бензен був замінений на толуол та для досягнення позитивного результату змінено співвідношення реагентів до 1:1:10.

Проведено модифікацію за положенням 4 базового гетероциклу реакцією тіонування сполук 2.1 і 2.11 дією P_2S_5 бо реактивом Лоуссона, що підтверджено синтезом серії 4-тіазолідинтіонів як потенційних біологічно активних сполук та відкриває нові можливості хімічних трансформацій похідних 4-тіазолідинону.

Структура і склад синтезованих сполук підтверджено елементним аналізом, методами хромато-мас-спектрометрії, 1H та ^{13}C ЯМР-спектроскопії, а особливості структури сполуки 4-арил-1-тіа-4-азаспіро[4.5]декан-3-онів достовірно встановлені методом рентгено-структурного аналізу.

У третьому розділі подано результати синтезу та дослідження фізико-хімічних властивостей 5-ен-2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів. Досліджено методи синтезу 5-ариліден-2,3-диарил-4-тіазолідинонів та запропоновано модифіковану версію реакції Кньовенагеля щодо доцільності використання як основного каталізатора трет-бутилату калію в середовищі ізопропілового спирту, що реалізовано на прикладі різних 4-заміщених бензальдегідів та цинамового альдегіду. Досліджено реакцію Кньовенагеля спірозаміщених 4-арил-1-тіа-4-азаспіро[4.5]декан-3-онів з деяким ароматичними альдегідами в умовах модифікованої версії та одержано і охарактеризовано ряд 5-ариліденових похідних.

Дисертантом також опрацьовано альтернативний підхід до синтезу 5-ариліден-2,3-дизаміщених-4-тіазолідинонів, при використанні трьохкомпонентної "one-pot"

циклоконденсації з амінами, альдегідами і тіольних компонентів за участі 3-арил-2-меркаптоакрилових кислот. Це дозволило реалізувати ретросинтетичну схему 5-ариліденроданіни – 5-ариліден-2,3-дизаміщені-4-тіазолідинони.

Розроблено метод синтезу 5-ариліден-2-арил-4,5-дигідро-1,3-тіазол-4-онів в умовах одностадійної «one-pot» реакції нітрилів ароматичних кислот, ароматичних альдегідів та меркаптооцтової кислоти при довготривалому кип'ятінні в середовищі метанолу та присутності триетиламіну.

Особливості структури одержаних спірозаміщених індолю-тіазолідинонів встановлено методом рентгеноструктурного аналізу, що дозволило однозначно підтвердити утворення 5'-(4-ізопропілбензиліденліден)-3'-(4-хлорофеніл)-спіро[3H-індол-3,2'-тіазолідин]-2,4'(1H)-діону. Структура і склад синтезованих сполук підтверджено елементним аналізом, методами хромато-мас-спектрометрії, ^1H та ^{13}C ЯМР-спектроскопії.

У четвертому розділі подано результати вивчення біологічної активності нових 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів, зокрема з протипухлинною, протитрипаносомною та противірусною активностями, що характеризуються порівняно невисокою токсичністю та згідно з класифікацією К.К. Сидорова та відносяться до малотоксичних сустанцій ($\text{LD}_{50} = 350\text{--}860 \text{ мг/кг}$), що відповідає вимогам до потенційних «лікоподібних молекул» як прототипів інноваційних лікарських субстанцій. У наведеному розділі представлено детальне обговорення кореляції «структура - активність» досліджуваної групи сполук, в тому числі на основі використання сучасних комп'ютерних методів скринінгу біологічної активності.

Вважаю, що опубліковані результати достатньо повно відображають зміст дисертаційної роботи. Автореферат дисертації як за структурою, так і за змістом відповідає основним положенням дисертації. Загальна оцінка роботи є **позитивною**.

Проте необхідно відзначити **ряд зауважень** до дисертаційної роботи.

- Бажано було б обговорити, який з методів (А або Б) слід застосувати в залежності від природи замісників R та R' у структурі амінів та альдегідів при проведенні трьохкомпонентної циклоконденсації (стор.63)
- При описі експериментів спостерігається не відповідність у співвідношення реагентів: при одержанні сполук 2.22-2.26 у методиці подано співвідношення реагентів амінізатин-меркаптооцтова кислота (1:1:2), а в розділі 2.2.2. стор.73 дисертант вказує, що для досягнення задовільного виходу, чистоти цільових продуктів та суттєвого скорочення тривалості перебігу реакції було запропоновано зміну співвідношення реагентів з 1:1:2 на 1:1:10, що не відображено в описі експериментів, оскільки в іншому співвідношенні при зменшенні кількості меркаптооцтової кислоти продукт не був виділений
- В описі методики одержання 5-ариліден-2-арил-4,5-дигідро-1,3-тіазол-4-онів (стор. 110) очевидно помилково кількість ароматичного нітрилу подана у молях, а не у ммольях
- Дещо дивним є забарвлення (темно-фіолетовий колір) синтезованої сполуки 2-(4-амінофеніл)-3-(4-диметиламінофеніл)-4-тіазолідинону (2.9), що одержана деацитуванням ацетиламіногрупи сполуки 2.7, яка є дрібнокристалічним порошком білого кольору.
- Доцільно було б дотримуватись однієї назви реагенту - меркаптооцтова чи тіоглікогева кислота.
- Дисертаційна робота не позбавлена граматичних помилок в тексті та опечаток. Вказані зауваження не є кваліфікаційними і принциповими та не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

6. Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці.

Запропоновані дисертантом методи синтезу можуть мати практичне використання у наукових лабораторіях, які займаються пошуком біологічно-активних сполук. Планування, логіка і тактика експерименту при незначній адаптації та вдосконаленні можуть бути з успіхом застосовані у практичній діяльності вузькоспеціалізованих наукових груп з пошуку біологічно активних сполук як потенційних лікарських субстанцій. Впровадження результатів дослідження у навчальний процес слід продовжити при викладанні професійно-орієнтованих дисциплін для студентів вищих учбових закладів фармацевтичного та хімічного профілю.

7. Висновок про відповідність дисертації вимогам положення.

Дисертаційна робота Хилюка Дмитра Володимировича "Синтез, перетворення та біологічна активність 2,3-диарил(гетерил) 4-тіазолідонів", є завершеним науковим дослідженням в межах поставлених цілей та задач, яке відзначається новизною та практичною значимістю. В цілому матеріал роботи справляє позитивне враження та дозволяє зробити висновок, що за актуальністю теми, загальним обсягом, науковим та експериментальним рівнем виконання, новизною та достовірністю отриманих результатів, теоретичною вагомістю і практичною цінністю дисертаційна робота відповідає вимогам, які ставить ДАК України до кандидатських дисертацій та відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника» (постанова Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013р.), що висуваються до кандидатських дисертацій, а її автор Хилук Дмитро Володимирович заслуговує присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент
доктор хімічних наук, професор
кафедри технології біологічно
активних сполук, фармації та біотехнології
Національного університету
"Львівська політехніка "

 В.І. Лубенець

Підпис д.х.н., проф. Лубенець В.І. засвідчує
Вчений секретар Національного університету
"Львівська політехніка "



 Р.Б. Брилинський