

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора фармацевтичних наук, професора Переходи Ліни Олексіївни на дисертаційну роботу Деркач Галини Олегівни на тему «Синтез та вивчення кореляції «структура – біологічна активність» похідних 5-амінометилентіазолідинонів», представлена до офіційного захисту в спеціалізовану Вчену раду Д 35.600.02 при Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького, на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія і фармакогнозія

1.Актуальність теми дисертаційної роботи та її зв’язок з державними і галузевими програмами, пріоритетними напрямками розвитку науки та техніки. Пошук нових ефективних біологічно активних сполук є важливим етапом впровадження в медичну практику нових оригінальних препаратів та необхідною складовою для створення в Україні власних інноваційних лікарських засобів. Провідна роль у створенні нових ліків належить спеціалістам в галузі спрямованого синтезу нових біологічно активних сполук. Дисертаційна робота Деркач Галини Олегівни, яка належить саме до таких досліджень, присвячена пошуку ефективних БАР в ряду 5-амінометилензаміщених похідних 4-тіазолідинону, поглибленню вивчення методів їх синтезу та біологічної активності. Похідні 4-тіазолідинону впродовж останніх десятиріч демонструють високий інтерес з боку науковців, серед них виявлені потенційні протидіабетичні, протипухлинні, протизапальні, протимікробні засоби, інгібітори взаємодії антиапоптичних білків Bcl-XL та BH3, TNF α , некроптозу, JSP-1 та PIM-1/2 протеїнкіназ, трипаноциди, тощо. Попередніми дослідженнями вже буде доведено, що саме присутність в структурі перспективних молекул 4-тіазолідинонового кільця зумовлює поліфармакологічність дії та є визначальним для реалізації біологічного ефекту. Враховуючи цей факт, логічним є проведення подальшої оптимізації 4-тіазолідинону як базового “структурного блоку” шляхом його функціоналізації замісниками, що можуть покращити зв’язування з різними рецепторами. Логіку, тактику та планування експерименту Галина Олегівна достатньо обґрунтувала різноплановим та критичним аналізом літературних даних по опрацюванню та вдосконаленню методів синтезу, вивченю фізико-хімічних та біологічних властивостей 5-піразолілзаміщених та 5-арил(алкіл)-амінометилентіазолідинонів. Тому актуальність рецензованої дисертаційної роботи Деркач Галини Олегівни не викликає жодних сумнівів.

Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно комплексного плану робіт кафедр хімії фармацевтичного факультету; біологічної та медичної хімії імені академіка Г.О. Бабенка та кафедри мікробіології, вірусології та імунології Івано-Франківського національного медичного університету (№ державної реєстрації 0112U008505).

2. Ступінь обґрутованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, які викладені у дисертаційній роботі.

Дисертаційна робота добре спланована, мета і постановка завдання для вирішення цієї мети чітко сформульовані та аргументовані. Всі експериментальні дослідження виконані на високому науковому рівні з використанням загальноприйнятих підходів до встановлення біологічних і фармакологічних властивостей синтезованих сполук. Сукупність хімічних перетворень, спектральних характеристик та хроматографічних даних з використанням сучасних фізико-хімічних методів аналізу (спектроскопія ^1H та ^{13}C ЯМР, рентгеноструктурний аналіз, хромато-мас-спектроскопія) переконливо підтверджує будову та індивідуальність синтезованих сполук. Результати докінгових досліджень не викликають сумнівів, враховуючи, що для проведення досліджень використовувалась відома комп’ютерна програма *AutoDock Vina®*. Всі результати теоретичних та експериментальних досліджень, сформульовані лаконічно, є науково обґрутованими та відповідають змісту наведеного матеріалу. Обсяг наукового матеріалу, наведений в дисертації, дозволяє вважати отримані автором результати достовірними та надійними, а наукові положення, висновки і рекомендації, що винесені на захист, обґрутованими. Поставлені в роботі завдання реалізовані повною мірою і на високому науковому рівні.

3. Наукова новизна. Автором представлено результати фундаментального дослідження, що мало на меті розробку методів синтезу, вивчення фізико-хімічних та фармакологічних властивостей 5-амінометилен-тіазолідинонів. У процесі виконання експериментальної частини дисертації розроблено ефективні методи синтезу 132 нових сполук, структура яких підтверджена даними ^1H та ^{13}C ЯМР спектроскопії, елементного аналізу та в окремих випадках – рентгеноструктурним аналізом. При виконанні дисертаційних досліджень автором запропоновано ефективні методики синтезу та сформульовано ряд критеріїв для спрямованого синтезу 5-амінометилентіазолідинонів. Вивчені фізико-хімічні параметри нових сполук та вперше одержані дані про їх біологічну активність. На основі комплексу досліджень, який включав синтез, фармакологічний скринінг, SAR- і *COMPARE* аналіз, молекулярний докінг, ідентифіковано високоактивні сполуки.

Отримані дисертантом результати, наведені у вступній частині, у висновках до кожного експериментального розділу, а також у загальних висновках дисертації відповідають критеріям новизни в галузі органічної, фармацевтичної та медичної хімії серед похідних тіазолідинону і засвідчують високий науковий рівень рецензованої роботи.

Хотілось би звернути увагу на основні наукові положення:

- Встановлено, що 5-етокси-метилентіазолідинони, етиловий естер 5-етоксиметilen-2-(4-оксо-2-тіоксотіазо-лідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти та 5-етокси-метилентіазо-ло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6-он легко взаємодіють з амінами в середовищі спиртів з утворенням відповідних єнамінів. При вивченні реакції амінолізу 5-етоксиметилентіазолідинонів показано можливість заміни етоксигрупи на аміногрупу шляхом

використання «донора» аміаку гідрокарбонату амонію. Встановлено, що використання 3,5-диарилпіразолінів як амінокомпоненти при взаємодії з 5-етоксиметилентіазолідинонами є ефективним підходом до дизайну піразолін-тіазолідинонових кон'югатів.

- Виявлено, що взаємодія ($2H$ -[1,2,4]-тріазол-3-ілсульфаніл)-оцтової кислоти з триетилорторміатом в ацетангідриді є двохстадійним процесом, що включає реакції гетероциклізації та конденсації за метиленактивною групою з утворенням 5-етоксиметилентіазоло[3,2 b][1,2,4] тріазол-6-ону.
- Вперше встановлено, що взаємодія 5-етоксиметилентіазоло[3,2 b][1,2,4]тріазол-6-ону з гідразин-гідратом в етанолі проходить з рециклізацією проміжного єнаміну і утворенням важкодоступного 4-($2H$ -[1,2,4]тріазол-5-ілсульфаніл)-1,2-дигідропіразол-3-ону.

Фармакологічні випробування цілком підтвердили сподівання щодо правильності вибору об'єктів дослідження, серед нових синтезованих 5-амінометилентіазолідинонів вперше ідентифіковано 5 високоселективних трипаноцидів та 1 сполуку з високою протипухлинною дією. Ідентифіковано також одну сполуку як потенційний нестероїдний протизапальний лікарський засіб з невисокою токсичністю, відсутністю ульцерогенної дії та впливу на загальні показники крові. Особливо успішним є тестування на протимікробну та протигрибкову активність, виявлено 17 перспективних сполук. Ідентифіковано сполуку, що характеризується значною протистафілококовою активністю, проявляє властивості інгібітора бактеріальної β -лактамази розширеного спектру і відрізняється високою антикандинозною активністю, за рівнем якої значно переважає клотrimазол та флуконазол.

Наукова новизна одержаних результатів підтверджена деклараційним патентом України на винахід UA118268 C2 «(5Z)-5-[(4-Етил-сульфаніл-сульфоніл-аніліно)-метилен]-4-тіоксотіазолідин-2-он з високим рівнем протистафілококової і антикандинозної активності та спосіб його одержання» (2018 р.).

4. Теоретичне значення результатів дослідження. Дисертаційна робота Деркач Галини Олегівни є підґрунтям подальших наукових досліджень в ряду 5-амінометилен-4-тіазолідинонів. Одержані автором результати синтетичних досліджень мають теоретичне значення в галузях медичної, органічної та фармацевтичної хімії. В роботі наведено теоретичне узагальнення експериментального синтетичного матеріалу і даних біологічного скринінгу, в результаті чого запропонована бібліотека біологічно активних сполук для поглиблених досліджень, що проявляють протипухлинну, протизапальну, антитрипаносому, протимікробну та протигрибкову активності. Сформульовано критерії для спрямованого синтезу біологічно активних сполук з групи 5-амінометилен-4-тіазолідинонів.

Завдяки проведеним рентгеноструктурним дослідженням дана робота є суттєвим внеском у розвиток структурної органічної хімії. На основі аналізу кореляції «структурно-активність» сформульовано ряд положень для дизайну структури біологічно активних сполук з групи 5-амінометилен-4-тіазоліди-

нонів, що є ефективним підґрунтям для розробки нових засобів з протизапальною, протипухлиною, протитрипаносомною, протимікробною та протигрибковою активністю.

5. Практичне значення одержаних результатів. Авторкою роботи проведено великий обсяг синтетичних досліджень, здобутком яких стали оригінальні препаративні методики одержання 5-амінометилен-4-тіазолідинонів, дослідження їх фізичних, хімічних та біологічних властивостей. Розроблені препаративні методики можуть бути покладені в основу синтезу та перетворень нових функціональних похідних 5-аміно-метилен-4-тіазолідинонів. Поповнена бібліотека ^1H та ^{13}C ЯМР спектрів новими спектрами 132 раніше невідомих гетероцикліческих сполук. Проведено спрямований синтез та одержано 132 нові гетероцикліческі сполуки, серед яких вперше виявлено 17 малотоксических речовин з перспективною протимікробною та протигрибковою активностями, по 1 сполуці з високою протипухлиною та протизапальною діями та 5 високоселективних трипансцидів, які рекомендовані для подальших поглиблених досліджень. На основі аналізу кореляції «структур – дія» та докінгових досліджень запропоновано рекомендації до раціонального дизайну потенційних лікарських засобів для фармакотерапії захворювань. Наукова новизна роботи підтверджена патентом України на винахід № UA118268 «(5Z)-5-[(4-Етил-сульфанілсульфоніл-аніліно)-метилен]-4-тіоксо-тіазолідин-2-он з високим рівнем протистафілококової і антиканадіозної активності та спосіб його одержання».

Результати проведених досліджень впроваджено у наукову та навчально-методичну роботу вищих навчальних закладів України.

6. Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях. Наведені в дисертації Деркач Галини Олегівни результати досліджень з необхідною повнотою відображені у 19 наукових роботах, що опубліковані у міжнародних високоцітованих виданнях та провідних фахових виданнях України, з яких 7 статей у наукових фахових виданнях (4 статті у журналах, реферованих у Scopus) та 11 тез доповідей. Матеріали фрагментів дисертаційної роботи доповідалися на конференціях, що можна вважати достатнім рівнем апробації результатів дисертації. За результатами дисертації одержано 1 патент України на винахід. Все це свідчить про безперечно високий рівень рецензованої роботи. Опубліковані у наукових фахових виданнях результати повністю відображають зміст дисертаційної роботи.

7. Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації та автореферату, завершеності дисертації в цілому. Дисертаційна робота викладена на 230 сторінках друкованого тексту, має стандартну структуру – вона складається зі вступу, огляду літератури, двох експериментальних розділів, що висвітлюють синтетичні дослідження, виконані автором, та одного розділу, присвяченого обговоренню результатів фармакологічного скринінгу, загальних висновків, списку використаних джерел та 2 додатків. Робота ілюстрована 39 таблицями, 35 рисунками та 55 схемами, перелік використаної літератури містить 282 джерела. Мовний стиль дисертації відповідає сучасним фі-

логічним нормам, характеризується якісним представленням використаних формул, змістовністю табличного і графічного матеріалу.

У вступі до дисертації наведені дані, що обґрунтують актуальність проблеми та мету роботи, згідно з якою сформульовані необхідні завдання.

Перший розділ дисертаційної роботи містить огляд літературних джерел, що досить вичерпано розкриває особливості хімії та фармакології 5-амінометилен-4-тіазолідинонів, та дозволяє об'єктивно обґрунтувати методологію досліджень. Наведені в огляді дані літератури ретельно проаналізовані авторкою, що і дозволило їй досить чітко аргументувати мету та поставлені завдання.

В *другому розділі* описаний ефективний підхід до синтезу нових рядів 5-амінометилен-4-тіазолідинонів шляхом взаємодії 2,4-тіазолідинону, 4-тіоксо-2-тіазолідинону, 2-амінотіазол-4(5*H*)-ону та похідних 2-тіоксо-4-тіазолідинону з триетилортотформіатом в середовищі ацетангідриду. Одержано відповідні 5-етоксиметиленпохідні, причому у випадку псевдотіогідантойну, 3-(4-гідроксифеніл)-роданіну та 4-(4-гідроксифеніламіно)-5*H*-тіазол-2-ону поряд з утворенням відповідного 5-етоксиметиленпохідного відбувається супутнє ацилювання фенольного гідроксулу та аміногрупи. Експериментально доведено, що 5-етоксиметилентіазолідинони легко взаємодіють з первинними і вторинними ароматичними та аліфатичними амінами в середовищі спиртів з утворенням відповідних єнамінів. В цьому розділі також описано одержання 5-амінометилен-4-тіазолідинонів на основі амінокислот, що було реалізовано амінолізом 5-етоксиметилен-4-тіазолідинонів в середовищі ацетатної кислоти. При використанні 5-етоксиметиленізороданіну в реакції з піперазином утворюється похідне біс-ізороданінового ряду, а у випадку фенілгідразину, як амінокомпоненти, окрім взаємодії по етоксильній групі спостерігається супутній аміноліз 4-тіоксогрупи з утворенням 5-фенілгідразино-метилен-4-фенілгідразоно-2-тіазолідинону. Описано реакції амінолізу 5-етоксиметилентіазолідинонів та показано можливість заміни в цьому синтезі етоксигрупи на аміногрупу. Показано, що використання 3,5-диарилпіразолінів як амінокомпоненти при взаємодії з 5-етоксиметилентіазолідинонами є ефективним підходом до дизайну піразолін-тіазолідинонових кон'югатів. Висновок про утворення цільових продуктів та виділення їх в чистому вигляді здійснено на основі аналізу спектрів ЯМР та хромато-мас-спектрів. Остаточно особливості структури 5-(піразол-1-іл)метилен-4-(ариламіно)-5*H*-тіазол-2-онів вивчено методом рентгеноструктурного аналізу модельної сполуки, на основі результатів якого однозначно підтверджено утворення піразолін-тіазолідинонового кон'югату, його Z-конфігурацію та аміноформу тіазолідинового фрагменту, а також показано, що у кристалічній решітці зазначеної сполуки молекули з'єднані водневими зв'язками у димери.

У *третьому розділі* описаний синтез важкодоступного 4-(2*H*-[1,2,4]тріазол-5-ілсульфаніл)-1,2-дигідропіразол-3-ону, що відбувається при кип'ятінні 5-етоксиметилентіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол-6-ону з гідразингідратом в етанолі. Показано, що для етилових естерів 2-(5-R-амінометилен-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти характерна єнаміно-імінна

таутомерія, що є причиною характерного дублювання сигналів або утворення мультиплетів у спектрах ^1H і ^{13}C ЯМР. В розділі також описуються особливості структури етилових естерів 2-(5-R-амінометилен-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-3-фенілпропіонової кислоти, які остаточно підтверджено методом рентгеноструктурного аналізу, на основі якого однозначно підтверджено Z-конфігурацію 5-енамінового фрагменту. Рентгеноструктурний аналіз 4-(2*H*-[1,2,4]тріазол-5-ілсульфаніл)-1,2-дигідро-піразол-3-ону підтвердив прототропну таутомерію тріазольного фрагменту, яку обґрунтовано існуванням двох типів кристалів, що сформовані таутомерними формами з атомами Гідрогену у положеннях N2 та N1, відповідно.

В *четвертому розділі* дисертації авторкою переконливо доведено, що мета, поставлена на початку роботи, успішно досягнута, враховуючи, що ідентифіковано ряд перспективних сполук з антигрибковою, протимікробною, протипухлинною, протизапальною та протитрипаносомною активністю та низькими токсикометричними параметрами *in vitro* та *in vivo*. В цьому розділі описані результати фармакологічного вивчення синтезованих 5-амінометилен-4-тіазолідинонів та встановлені нові закономірності кореляції «хімічна структура – біологічна активність».

Загальна оцінка роботи є беззаперечно **позитивною**. Проте у дисертаційній роботі наявні дискусійні моменти. Серед яких хотілося б зазначити наступні:

- На мій погляд, при проведенні поглиблених досліджень протизапальної активності перспективної сполуки **2.76** доцільнішим було б порівняння її активності з препаратами, що є селективними (мелоксикам, німесулід) або високоселективними інгібіторами ЦОГ-2 (целекоксиб та ін);
- При описанні докінгових досліджень для більшої наглядності слід було навести значення афінності ендогенних лігандів або референс–препаратів до обраних біомішеней та порівняти їх зі значеннями для синтезованої сполуки;
- Для визначення гострої токсичності більш коректно використовувати той же спосіб уведення сполуки, який описаний у моделі дослідження активності *in vivo*, а саме внутрішньошпунктовий, а не внутрішньочеревинний. А також доречним було в таблицях поряд з даними токсичності перспективних сполук навести токсичність препаратів порівняння;
- Використана автором термінологія є неоднорідною – поряд з сучасною номенклатурою ІЮПАК зустрічаються тривіальні назви;
- У дисертаційній роботі присутні друкарські помилки, зустрічаються неточності; в назві таблиці **2.5** (на стор.80), нумерації сполуки в таблиці **4.24** (на стор.186) та рис. **4.6** (на стор. 188), зустрічаються помилки в нумерації сполук (на стор. 87).

Наведені зауваження не є принциповими і жодною мірою не впливають на, як вже зазначалось, схвалюне сприйняття роботи.

8. Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження на практиці. Запропоновані дисертанткою підходи до створення нових активних фармацевтичних інградієнтів можуть бути з успіхом використані у наукових лабораторіях, які займаються пошуком біологічно активних сполук. Для всіх високоактивних сполук необхідно провести поглиблені дослідження, а результати вивчення взаємозв'язку «структурно-дія» використовувати для оптимізації «сполук-хітів». Результати досліджень рекомендувати науковцям, що працюють за спорідненими тематиками.

Більш широко впроваджувати результати власних досліджень у навчальний процес при викладанні професійно-орієнтованих дисциплін для студентів ВНЗ хімічного та фармацевтичного профілю.

9. Висновок про відповідність дисертації вимогам положення. На основі всього вищезазначеного можна зробити висновок, що дисертаційна робота Деркач Галини Олегівни на тему «Синтез та вивчення кореляції «структура – біологічна активність» похідних 5-амінометилентіазолідинонів» являє собою завершене наукове дослідження, яке повністю відображає вирішення наукових задач, поставлених дисертанткою і є свідченням високої наукової кваліфікації виконавця. Дисертаційна робота є завершеною науковою працею, яка характеризується актуальністю, новизною, теоретичним та практичним значенням та в цілому відповідає п. 11 "Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника", що пред'являються до кандидатських дисертацій, а її авторка заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент:
завідувач кафедри медичної хімії
Національного фармацевтичного університету,
доктор фармацевтичних наук

 Л. О. Перехода

Підпись професора Л. О. Переходи засвідчує
Провідний фахівець з питань кадрової роботи
відділу кадрів НФаУ



О.В. Купіна