

ВІДГУК
офіційного опонента

доктора фармацевтичних наук, професора Георгіяна Вікторії Акович на дисертацію Кришчин-Дилевич Анни Петрівни на тему «4-Тіазолідинони та спорідені гетероцикли в дизайні протипаразитарних та протипухлинних агентів як поліфармакологічних лікоподібних молекул», представлену на здобуття наукового ступеня доктора 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. Дисертаційна робота Кришчин-Дилевич Анни Петрівни на тему «4-Тіазолідинони та спорідені гетероцикли в дизайні протипаразитарних та протипухлинних агентів як поліфармакологічних лікоподібних молекул» присвячена актуальній проблемі сучасної фармацевтичної хімії – спрямованому дизайну та пошуку потенційних лікарських засобів із поліфармакологічними властивостями на основі 4-тіазолідинону та його похідних. Вибір об'єктів дослідження і постановка проблеми є аргументованими та сучасними. Робота є логічним продовженням одного із успішних напрямків львівської наукової школи – пошуку нових «лікоподібних молекул» із протипухлинними властивостями. Хімічна бібліотека, створена проф. Лесиком та його науковою групою, складає більш ніж 6000 сполук на основі тіазолу, 4-тіазолідинону та споріднених гетероциклів, серед яких чимала частка володіє протираковою активністю. Враховуючи наведене, автор мала суттєву теоретичну платформу для продовження досліджень протипухлинного потенціалу похідних 4-тіазолідинону, що вдало поєднала із розробкою поліфармакологічних молекул із подвійною протипаразитарною та протипухлинною дією. Застосований гібрид-фармакофорний підхід для дизайну нових «лікоподібних молекул» є, без сумніву, актуальним напрямком сучасної медичної хімії. Вважаю за необхідне відзначити вдалий вибір об'єктів дисертаційної роботи. Похідні роданін-3-карбонових кислот, 2-амінотіазол-4-онів та гібридні молекули, що вміщують індольний цикл мають значну перспективу для раціонального дизайну структури потенційних лікарських засобів, що зумовлено їх синтетичною доступністю та можливістю модифікації, доведеним широким профілем біологічної активності, в тому числі для фармакотерапії онкологічних та інфекційних захворювань. Окрім вище зазначених переваг дослідження, слід відзначити актуальність розробки лікарських засобів для терапії т.з. «світових забутих хвороб», до яких відносяться трипаносомози і які, як правило, є поза увагою великих фармацевтичних компаній. Тому опрацювання раціональних підходів до дизайну потенційних антирипаносомних та/або протипухлинних

агентів з використанням інноваційних підходів розробки лікарських засобів є безперечно важливим і актуальним питанням медичної хімії.

Дослідження виконувалось у відповідності із планом комплексної науково-дослідної роботи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (державна реєстрація 0116U004500, шифр теми ІН 10.06.0001.16).

2. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Достовірність одержаних автором результатів не викликає сумніву, так як для інтерпретації хімічної структури синтезованих сполук використано сучасний пакет фізико-хімічних методів аналізу, а для встановлення біологічних властивостей – загальноприйняті та ефективні методи.

Структура і чистота гетероциклічних похідних надійно підтверджена методами ЯМР-спектроскопії, мас-, хромато-мас-спектрометрії, рентгеноструктурного аналізу. У роботі імпонує фахове і різнопланове використання ^1H та ^{13}C ЯМР-спектроскопії, що дозволило дисертанту достовірно трактувати структуру синтезованих сполук.

Логіку, послідовність досліджень та планування експерименту автор обґрунтувала критичним аналізом літературних даних щодо терапії трипаносомозів, лейшманіозів та малярії, а також можливості застосування стратегії перепрофілювання для розробки нових активних малих молекул. Аналіз кореляції протипаразитарно-протипухлинна активність тіазолідинонів із подвійною дією та результати QSAR-аналізу *in-house* бібліотеки дозволив сформулювати сфокусовані бібліотеки сполук для синтезу. Гібрид-фармакофорний підхід із використанням фрагментів найактивніших сполук дозволив отримання нових молекул із високою протипухлинною активністю.

Слід відзначити, що проведені поглиблені фармакологічні дослідження, вивчення цитотоксичності, разом з *in vitro* експериментальним встановленням механізмів дії знайдених сполук-хітів складає вагомую частину доклінічних досліджень нових прототипів лікарських засобів.

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

3. Новизна дисертаційних досліджень. Наукова новизна роботи не викликає сумнівів. Хотіла б відмітити декілька принципових моментів новизни рецензованого дослідження.

- У загальному, автор запропонувала оригінальну стратегію до раціонального дизайну «лікоподібних молекул» із поліфармакологічним профілем, як наприклад, наявність подвійної протипаразитарної та протипухлинної активності, яка, враховуючи її

нетривіальність, безсумнівно є певним вкладом у медичну та фармацевтичну хімію.

- У контексті попереднього автор вперше опрацювала оригінальний підхід до формування потенційно активних молекул шляхом поєднання різних фармакофорів у молекулах, що дозволило отримати нові сполуки із високою протираковою та антибактеріальною дією.
- На основі сучасних алгоритмів машинного навчання застосованих для QSAR-аналізу автор вперше сформулювала закономірності взаємозв'язку «структура – антитрипаносомна дія» для різних похідних тiazолідинону, що включали 5-єнаміно-роданін-3-карбонові кислоти, тіопіранотіазоли та тiazол/тіазолідинон-феніліндол/імідазотіадіазольні гібриди, що може розглядатись як теоретичне підґрунтя ймовірного прогресу в фармакотерапії трипаносомозів.
- На основі фармакологічних досліджень встановлено ймовірні механізми реалізації антипроліферативної дії сполук-хітів, що полягають в інгібуванні полімеризації тубуліну для ряду 5-ариліден-2-(4-гідроксифеніл)амінотіазол-4(5*H*)-онів та індукції апоптозу для метилового естеру 5-флюоро-3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметил)-1*H*-індол-2-карбонової кислоти.
- У результаті реалізації рецензованого наукового проекту ідентифіковано високоактивну молекулу – метиловий естер 5-флюоро-3-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-5-іліденметил)-1*H*-індол-2-карбонової кислоти – для поглибленого вивчення як потенційний прототип протипухлинного лікарського засобу.

Новизна та пріоритет дослідження підтверджено 3 патентами України на корисну модель.

4. Теоретичне значення результатів дослідження. Автор опрацювала ряд оригінальних підходів до спрямованого синтезу біологічно активних сполук, що важливо для теорії сучасної медичної хімії. Вважаю за необхідне виділити такі теоретично важливі аспекти роботи:

- запропонований автором підхід до дизайну сфокусованих бібліотек сполук для синтезу на основі статистичної оцінки подвійної протипухлинної та протипаразитарної дії;
- розроблення методів отримання та структурної функціоналізації похідних 2-тіоксо-4-тіазолідинон-3-карбонових кислот та альтернативного методу синтезу 5-іліденроданін-3-сукцинімідів.
- встановлення особливостей синтезу поліциклічних молекул на основі азолідинон-індолів;
- коректний підхід до вибору фармакологічних моделей для поглибленого вивчення цитотоксичності та механізмів дії ідентифікованих сполук-хітів;

- оригінальна та сучасна стратегія спрямованого дизайну поліфармакологічних молекул із застосуванням гібрид-фармакофорного підходу.

5. Практичне значення результатів дослідження. У роботі наведено систематичне дослідження фізичних, хімічних та біологічних властивостей похідних роданін-3-карбонових кислот, азолідинон-індолів, тіопіранотіазолу, піразолідин-тіазолідиноннів. Зазначені сполуки є новими, цікавими реагентами для досліджень в хімії гетероциклічних сполук. Виявлено ряд нових високоактивних та малотоксичних сполук з перспективною протипухлинною та протитрипансомною активністю. На основі детального аналізу кореляції «структура-активність», в тому числі сучасними *in silico* методами, сформульовано ряд положень для дизайну нових похідних 4-тіазолідиноннів із антитрипаносомною активністю. Ідентифіковано потенційний прототип лікарського засобу із протираковою дією, для якого проведено ряд поглиблених доклінічних фармакологічних досліджень. Фрагменти роботи впроваджено у навчальний та науковий процеси ряду ВНЗ України.

6. Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях. За матеріалами дисертації опубліковано 54 наукові роботи, серед яких 29 статей у наукових фахових виданнях України та інших країн, в тому числі 3 розділи монографій, 3 патенти та 22 тези доповідей на наукових форумах різного рівня. Серед друкованих праць автора особливо заслуговують на увагу публікації (у співавторстві з Р.Б. Лесиком, Д.В. Камінським, С.В. Голотою та іншими співробітниками) у *European Journal of Medicinal Chemistry* (-2017; 140:542-594, -2017; 141:162-168, -2019; 174:292-308), *Bioorganic Chemistry* (2019; 86:126-136), *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* (2020; 30:127616), *Archiv der Pharmazie* (2020, e2000342), а також монографія в *IntechOpen* (2020), які висвітлюють методичні підходи до раціонального дизайну антитрипаносомних та протипухлинних агентів і є прикладом професійної та високоякісної презентації наукового доробку. Крім того, зазначені видання індексуються міжнародними БД Scopus та Web of Science, що свідчить про безперечно достойний рівень наукових досліджень Крищишин-Дилевич А.П.

7. Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації та автореферату, завершеності дисертації в цілому. Дисертаційна робота складається із вступу, огляду літератури, шести експериментальних розділів, загальних висновків, списку літератури та додатків. Загальний обсяг дисертації 481 сторінка. Робота ілюстрована 74 таблицями і 69 рисунками та 49 схемами. Перелік використаної літератури включає 479 джерел.

В огляді літератури узагальнено сучасні підходи у дизайні лікарських засобів та особливості терапії трипаносомозів, лейшманіозів та малярії.

Розглянуто стратегію перепрофілювання в розробці лікоподібних молекул як антипроліферативних агентів із подвійною протипаразитарною та/чи протипухлинною активностями. У другому розділі наведено методики проведених досліджень. У третьому розділі окреслено напрямки дизайну сфокусованих бібліотек сполук, в тому числі на основі статистичної оцінки подвійної протипухлинної та протипаразитарної дії. У четвертому розділі наведено методи синтезу 5-єнамін-4-тіазолідинонів та 5-іліден-4-тіазолідинон-3-алканкарбонових кислот як потенційних протиракових агентів. У п'ятому розділі дисертації представлено синтез і дослідження біологічної активності тіазолідинон/тіазол-індольних гібридних молекул. Шостий розділ присвячений синтезу та вивченню конденсованих похідних тіазолідинону та інших поліциклічних гетероциклів. 7 Розділ присвячений Дизайну, синтезу та дослідженню гібридних молекул, що вміщують індольний цикл, 4-тіазолідинон, 3,5-діарилпіразол та тіопіранотіазольну систему. У сьомому розділі наведено результати *in silico* досліджень одержаних біологічно активних тіазолідинонів та результати поглибленого вивчення механізмів реалізації фармакологічних ефектів ряду найперспективніших сполук-хітів рецензованої дисертаційної роботи.

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 недоліків дисертаційної роботи.

1. На мій погляд кореляційні дослідження деяких вибірок, що містять 11, 24-30 речовин при плануванні досліджень (розділ 3), є досить ризикованими і вимагають на мою думку спроби застосування різних підходів непараметричної статистики. Оскільки автор ґрунтувався на експериментальних результатах, розширити вибірки можна було б за рахунок результатів інших наукових груп, наведених в літературі, за умови однакових експериментальних підходів.
2. Обговорення результатів спектральних досліджень автором винесено у окремі підрозділи відповідних розділів (розділи 4-7). На мою думку, більш доцільно було б обговорювати доказ структури цільових продуктів і, відповідно, напрям перебігу реакції, одразу після їх синтезу, а власно спектральні характеристики синтезованих речовин наводити в експериментальній частині розділу.
3. До докінгових досліджень (розділ 8), крім нативних лігандів, вважаю за доцільне більш широко залучати препарати/молекули, що були використані у дослідженнях *in vitro* та *in vivo* як препарати порівняння або ті, що мають подібний механізм дії..

4. Узагальнення зв'язку структура-активність дисертантом наводяться в кожному розділі для окремих груп структур. На мою думку, доречним було б наприкінці зробити узагальнення щодо такого зв'язку між групами та відповідно визначити рекомендації щодо подальшого пошуку речовин з поліфармакологічною дією.
5. В роботі зустрічаються невдалі вислови, термінологічні неточності, окремі друкарські помилки. Здебільшого структура нітрильного радикалу зазначена на схемах нелінійною, що є некоректним. На мій погляд, методики біологічних досліджень представлено занадто докладно, достатньо було зазначити принцип або метод дослідження та надати посилання.

У плані продовження наукової дискусії виникли запитання до дисертанта?

6. Чи спостерігалась в експерименті залежність біологічної активності від ізомерії молекул? Чи враховували Ви при проведенні докінгових досліджень можливість різного просторового розташування у випадку вірогідності цис-транс-ізомерії? Чи вважаєте Ви за доцільне для сполук досліджувати окремо біологічну активність оптичних/стеричних ізомерів (за їх наявності)?
7. Якою мірою виявилась коректною одержана Вами математична модель (розділ 3) для одержаних в ході виконання дисертації експериментальних даних (розділи 4-7) і чи є необхідність у корекції цієї моделі?

Наведені зауваження **не є суттєвими** для загальної **позитивної оцінки** рецензованої роботи, її наукової та практичної цінності.

8. Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці. Запропонована дисертантом математична модель для прогнозування протипухлинної дії тіазолідинонів щодо різних ліній раку на основі встановленої їх протитрипаносомної активності та певних дескрипторів дозволяє оптимізувати пошук протиракових агентів. Запропоновані препаративні методики синтезу похідних 4- тіазолідинонів та гетероциклічних систем на їх основі мають практичне значення для науковців, що працюють в галузі синтезу органічних речовин подібної будови. Спектральні характеристики синтезованих речовин надають нову наукову інформацію щодо інтерпретації їх будови. Проведені автором *in silico* дослідження демонструють

прийнятність комп'ютерних програм для прогнозування та аналізу одержаних даних.

9. Висновок про відповідність дисертації вимогам положення.

На основі вищевикладеного можна зробити висновок, що дисертаційна робота Крищишин-Дилевич Анни Петрівни на тему «4-Тіазолідинони та спорідені гетероцикли в дизайні протипаразитарних та протипухлинних агентів як поліфармакологічних лікоподібних молекул» є завершеною науково-дослідною працею і за обсягом виконаних досліджень, своєю актуальністю, ступенем обґрунтованості наукових положень, новизною одержаних результатів, теоретичним та практичним значенням, висновками відповідають вимогам «Порядку присудження наукових ступенів» до докторських дисертацій, а її автор Крищишин-Дилевич Анна Петрівна, заслуговує присвоєння вченого ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент

Завідувач кафедри фармацевтичної хімії
Національного фармацевтичного університету,
професор, доктор фармацевтичних наук

В.А. Георгіянець

Підпис В.А.Георгіянець засвідчую

Провідний фахівець з питань кадрової
роботи відділу кадрів НФаУ



О.В. Купіна