

ВІДГУК

офіційного опонента доктора фармацевтичних наук, професора Коваленка Сергія Івановича на дисертаційну роботу Лелюха Мар'яна Івановича на тему «Синтез та біологічна активність похідних тіазолідину з тіа(окса)діазольними фрагментами у молекулах», 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. Похідні тіазолідинів викликають великий інтерес для сучасної органічної та медичної хімії як потенційні лікарські засоби, що обумовлено їх широким спектром біологічної активності та різносторонніми можливостями в плані хімічної модифікації. Завдяки досягненням у молекулярній біології ідентифіковано афінитет похідних 4-тіазолідину до відомих біомішеней інноваційних лікарських засобів, серед яких PPAR γ -рецептори, біосистема апоптозу Bcl-X_L/BAX, регуляторні цитокіни TNF/TNFRs-1, ключові ензими запальних процесів COX-2 та 5-LOX, що дозволило обґрунтувати традиційну для наведеного класу органічних сполук протизапальну, протиракову, антимікробну та гіпоглікемічну активність. Особливе значення серед похідних тіазолідину мають функціонально заміщені 4-оксоаналогі – 4-тіазолідинони як важливий клас сполук з доказово доведеною ефективністю у терапії цукрового діабету та супутніх ускладнень, запальних, інфекційних та вірусних захворювань, а також різних видів раку. Перспективним в контексті пошуку потенційних біологічно активних сполук є поєднання 4-тіазолідинового скафолду з іншими гетероциклами, зокрема 1,3,4-тіа(окса)діазольними, особливо враховуючи встановлений значний фармакологічний потенціал останніх в плані протипухлинної, антимікробної, протівірусної, протизапальної дії. Серед даного класу сполук ідентифіковані інгібітори гістондеацетилази, теломерази та кіназ як потенційні протипухлинні засоби, індуктори мітохондріально-опосередкованого апоптозу, а також інгібітори ряду інших фізіологічно важливих ферментів та білків: α -глюкозидази, катепсину К, тирозинази, пірофосфатази та фосфодіестерази, біосистеми ЦОГ-2/5-ЛОГ тощо. Важливо відзначити, що поєднання ядра 1,3,4-тіадіазолу або 1,3,4-оксадіазолу з різними гетероциклічними фрагментами в ряді випадків супроводжувалось виникненням синергічного ефекту

Дисертаційна робота виконувалась у відповідності до науково-дослідних робіт Львівського національного медичного університету імені Д. Галицького у рамках тематики «Синтез нових фізіологічно активних речовин, похідних неконденсованих, конденсованих і макрогетероциклічних азолідонів та споріднених гетероциклічних систем, вивчення їх фізико-хімічних властивостей та біологічної активності, дослідження різних видів рослин західного регіону з метою одержання нових лікарських засобів, розробка технології лікарських форм нових складів та опрацювання сучасних методів фармацевтичного та хіміко-токсикологічного аналізу» (№ державної реєстрації 0103U001894).

2. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Достовірність одер-

жаних автором результатів не викликає сумніву, оскільки для реалізації синтетичних досліджень використано відомі та препаративні методики синтезу і хімічної модифікації похідних тiazолідинону та 1,3,4-тіа(окса)діазолів. Структура і чистота гетероциклічних похідних достовірно підтверджена елементним аналізом, ^1H , ^{13}C ЯМР-спектроскопією, хромато-мас спектрометрією та рентгеноструктурним аналізом. Вивчення протипухлинної та противірусної активності *in vitro* здійснено в рамках міжнародних наукових програм Національного інституту здоров'я (США). Вивчення антипротозойної активності сполук проводилося в Національному музеї природничої історії (Париж, Франція). Антифіброзна активність досліджувалась на кафедрі фармакології та токсикології Маастрихтського університету (Нідерланди).

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. Хотів би відмітити декілька принципових моментів новизни рецензованого дослідження.

- В результаті взаємодії 2-хлоро-*N*-(1,3,4-тіа(окса)діазол-2-іл)ацетамідів з тiоціанатами синтезовано відповідні похідні 2-імінотіазолідин-4-ону, досліджено їх аміно-імінну таутомерію на основі спектральних методів і даних рентгеноструктурного аналізу ключових сполук, а також здійснено їх хімічну модифікацію в умовах реакції Кньюенагеля з ароматичними альдегідами та похідними ізатину.
- Шляхом алкілювання калійних солей 2,4-тіазолідиндіону та його 5-ариліденпохідних 2-хлоро-*N*-(5-арил-1,3,4-оксадіазол-2-іл)ацетамідами одержано групу *N*-(1,3,4-оксадіазол-2-іл)заміщених амідів 2,4-діоксотіазолідин-3-ацетатної кислоти та їх 5-арил(ізатин)іліденпохідних.
- Здійснено синтез нових неконденсованих похідних 4-тіазолідинону та 1,3,4-оксадіазолу, з'єднаних між собою 2-оксо-2,3-дигідроіндол-1-ілацетамідним лінкерним угрупованням на основі реакції алкілюванням *N*-(1,3,4-оксадіазол-2-іл)заміщеними 2-хлороацетамідами похідних ізатину та їх наступній взаємодії з метиленактивними 4-тіазолідинонами.
- На основі реакції [2+3]-циклоконденсації *N'*-(6-арилімідазо[2,1-*b*]тіадіазол-5-ілметиліден)тіосемікарбазонів з різними еквівалентами діелектрофільного синтону $[\text{C}_2]^{2+}$ одержано серії 2-гідразонопохідних 4-тіазолідинону та структурно спорідненої 2,3-дигідротіазольної системи.
- Проведено спрямований синтез 165 нових сполук, серед яких вперше виявлено низькотоксичні 3 сполуки як потенційні протипухлинні агенти, 10 сполук з антитрипаносомною дією, 3 сполуки з селективним противірусним ефектом та 2 похідні з суттєвою антифіброзною активністю. На основі аналізу кореляції «структура – дія» та докінгових досліджень запропоновано рекомендації до раціонального дизайну потенційних протипухлинних та антитрипаносомних агентів.

Наукова новизна роботи підтверджена патентом України на корисну модель № 69858 (2012 р.).

4. Теоретичне значення результатів дослідження. В результаті досліджень автор удосконалив та запропонував ряд методик синтезу 1,3,4-

тіа(окса)діазол-тіазолідинонових систем та структурно споріднених гетероциклів, біологічна активність яких досліджена методами традиційного скринінгу та з використанням *in silico* підходів. Вважаю за необхідне виділити такі теоретично важливі аспекти роботи:

- на основі детального аналізу літературних даних дисертант обґрунтував перспективу та пріоритетність пошуку нових фармакологічно активних сполук серед 1,3,4-тіа(окса)діазолзаміщених 4-тіазолідинонів та споріднених гетероциклічних систем;
- в ході синтетичних досліджень автором значно розширено вектори використання традиційних підходів до синтезу та можливих напрямків хімічної модифікації похідних 4-тіазолідинонів та 2,3-дигідротіазолів з 1,3,4-тіа(окса)діазольними або імідазо[2,1-*b*]тіадіазольними фрагментами у молекулах;
- вперше встановлено значний протипухлинний потенціал 1,3,4-оксадіазолзаміщених 2-імінітіазолідин-4-онів та 5-ариліден-2,4-діоксотіазолідин-3-ацетатних кислот, серед яких виділено високоактивні сполуки з селективним інгібуючим впливом та вираженим цитостатичним ефектом щодо окремих ліній ракових клітин;
- на основі гнучкого молекулярного докінгу та *COMPARE* аналізу групи потенційних протипухлинних агентів висунуто гіпотези про можливий механізм дії високоактивних сполук;
- скринінгові дослідження синтезованих сполук дозволили ідентифікувати групу 5-незаміщених 2-(1,3,4-тіа(окса)діазол-2-іл)імінітіазолідин-4-онів, які проявили суттєвий інгібуючий вплив на рівень життєдіяльності культур клітин легеневих фіброblastів;
- дослідження протівірусної активності групи 5-іліденпохідних 1,3,4-тіа(окса)діазолзаміщених 2-імінітіазолідин-4-онів продемонстрували їх ефективність щодо окремих штамів вірусу грипу типу А та В.

5. Практичне значення результатів дослідження. Розроблено методи синтезу та перетворень 1,3,4-тіа(окса)діазолзаміщених 4-тіазолідинонів та їх функціональних похідних. В результаті дослідженні біологічної активності синтезованих сполук виявлено нові високоефективні похідні з протипухлинною, антитрипаносомною, протівірусною та антифіброзною дією, які є перспективними для подальших поглиблених досліджень. Встановлено ряд закономірностей в контексті залежності «структура – фармакологічна дія» та сформульовано прогностичні характеристики для дизайну «лікоподібних» молекул.

Фрагменти роботи впроваджено в навчальний та науковий процеси Запорізького державного медичного університету, Національного університету «Львівська політехніка» та Національного фармацевтичного університету (акти впровадження від 11.10.2016 р., 18.10.2016 р. та 20.11.2016 р.).

6. Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях. За матеріалами дисертації опубліковано 21 наукову роботу, з яких 6 – статті у наукових фахових виданнях, 14 тез доповідей на вітчизняних та закордонних наукових форумах різного рівня та 1 патент на корисну модель. Матеріали дисертаційної роботи висвітлені однією статтю англomовного журналу *European Journal of Medicinal Chemistry*, котрий включено до бази Scopus.

7. Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації та автореферату, завершеності дисертації в цілому. Дисертаційна робота викладена на 242 сторінках друкованого тексту та складається з вступу, п'ятих розділів, висновків, списку літератури та 3 додатків; ілюстрована 57 таблицями і 54 рисунками, перелік використаної літератури містить 260 джерел.

В огляді літератури представлено основні підходи до синтезу конденсованих та неконденсованих систем на основі 1,3,4-тіа(окса)діазолів та тіа(окса)діазол-заміщених 4-тіазолідинонів як перспективних об'єктів сучасної медичної хімії, а також окреслено основні напрямки їх біологічної активності.

У другому розділі наведено методи синтезу 2-(1,3,4-тіа(окса)діазол-2-іл)-імінотіазолідин-4-онів та шляхи їх хімічної модифікації в умовах реакції Кнью-венагеля з утворенням серій відповідних 5-іліденопохідних.

В третьому розділі описано синтез, перетворення та встановлення будови нових амідів моно- та дикарбонових кислот 2,4-діоксотіазолідинового ряду з тіа(окса)діазольними фрагментами в молекулах, а також неконденсованих похідних 4-тіазолідинону та 1,3,4-оксадіазолу, з'єднаних між собою 2-оксо-2,3-дигідроіндол-1-ілацетамідним лінкерним угрупованням

Четвертий розділ дисертації присвячений синтезу 2-гідразонопохідних 4-тіазолідинонів та 2,3-дигідротіазолів з 6-арилімідазо[2,1-*b*]-1,3,4-тіадіазольними фрагментами у молекулах на основі реакції відповідних імідазо[2,1-*b*]-тіадіазол-заміщених тіосемікарбазонів як вихідних сполук з різними еквівалентами діелектрофільного синтону (α -галогенкарбонові кислоти, α -бромо- γ -бутиролактон, етил-2-хлороацетоацетат та α -бромацетофенони).

У п'ятому розділі наведено результати фармакологічного скринінгу синтезованих сполук на протипухлинну, антитрипаносомну, противірусну та антифіброзну 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 недоліків дисертаційної роботи та почути відповідь на ряд дискусійних запитань:

- на сторінці 4 автореферату автор допустив помилку, трактуючи одержання сполуки **2.5** алкілуванням 2-аміно-5-етил-1,3,4-тіазолу (**2.4**) алілбромідом. Насправді сполуку **2.5** одержано шляхом алкілування 5-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-тіолу **2.3**, на що вказано в дисертацію на сторінці 56;
- автору не потрібно було повторюватися, вказуючи на сторінках 62, 70, 73, 99, 107, 118, 135, 143 та 154 обладнання на якому проводилось фізико-хімічні дослідження. Достатньо було б зазначене вказати єдиний раз в експериментальній частині;
- автор не завжди коректно у експериментальній частині наводить хімічні назви сполук згідно сучасної номенклатури, не вказує їх просторову будову (E-, Z-ізомери), не завжди вказує на всі функціональні групи у молекулах (наприклад, сполуки **4.17-4.48**), використовує префікс «сульфаніл», тощо;

- при наведенні даних ^1H ЯМР-спектрів в таблицях необхідно було б показати хімічні зсуви ароматичних протонів, тим більш, що вони досить легко інтерпретуються;
- автор при інтерпретації ^1H ЯМР-спектрів 5-ізатиніліден-2-(1,3,4-тіа(окса)діазол-2-іл)імінотіазолідин-4-онів вказує на нехарактерний хімічний зсув протону 4 положення ізатину і пояснює це впливом карбонільної групи тіазолідинового циклу. На нашу думку, автор дане ствердження повинен трактувати більш сміливіше, як аттрактивну взаємодію або водневий зв'язок, який і стабілізує молекулу у вигляді Z-ізомеру;
- в таблицях 4.8-4.10, 4.13, 4.14 азометиновий протон (-N=CH-) відповідних сполук автор трактує як 5-CH=, імідазол, що не є не досить коректним;
- при обговоренні ^1H ЯМР-спектрів 5-метил-(етил-)заміщених (Z)-2-(((E)-(2-етил-6-арилімідазо[2,1-b][1,3,4]тіадіазол-5-іл)метилен)гідразоно)-3-арилтіазолідин-4-онів автору бажано було пояснити специфічне розщеплення протону 5 положення тіазолідину та додаткове розщеплення сигналів протонів замісника наявністю асиметричного центру у молекулі;
- автор обговорює високу протипухлинну, противірусну, антитрипаносомну та антифіброзну активності синтезованих сполук, проте не наводить дані щодо вираженості фармакологічного ефекту еталонів порівняння, що є не коректним.

Крім того, у роботі іноді зустрічаються помилки при оформленні, наприклад, не пронумеровані схеми, не наведений спектр сполуки 2.45 у таблиці 2.18, зустрічаються невдалі вислови, формулювання, тощо.

Наведені зауваження не є суттєвими для загальної позитивної оцінки рецензованої роботи, її наукової та практичної цінності. Взагалі робота справляє гарне враження, написана доброю українською науковою мовою, компактна і легко читається. Враховуючи значний науковий доробок дисертація гідно презентує львівську школу органічної і фармацевтичної хімії.

8. Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці. Запропоновані дисертантом методики синтезу похідних 4-тіазолідинону та 2,3-дигідротіазолу з 1,3,4-тіа(окса)діазольними та імідазо[2,1-*b*]-тіадіазольними фрагментами у молекулах можуть мати практичне використання у наукових лабораторіях, які займаються пошуком біологічно-активних сполук. Встановлені кореляції «структура-активність» можуть бути використані для подальшої оптимізації структурно споріднених гетеросистем з метою потенціювання їх протипухлинного чи антитрипаносомного ефекту. Результати проведених *in silico* досліджень можуть бути використані для експериментального встановлення механізмів реалізації протипухлинної дії. Результати дослідження варто впровадити у навчальний процес при викладанні професійно-орієнтованих дисциплін для студентів вищих навчальних закладів хімічного та фармацевтичного профілю.

9. Висновок про відповідність дисертації вимогам положення. На основі вищевикладеного можна зробити висновок, що дисертаційна робота Лелюха Мар'яна Івановича «Синтез та біологічна активність похідних тіазолідину з тіа(окса)діазольними фрагментами у молекулах» є завершеною науково-дослідною працею і за обсягом виконаних досліджень, своєю актуальністю,

ступенем обґрунтованості наукових положень, новизною одержаних результатів, теоретичним та практичним значенням, висновками повністю відповідає вимогам п. 13 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника» Постанови Кабінету Міністрів України, а її автор Лелюх Мар'ян Іванович, заслуговує присвоєння вченого ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент

Завідувач кафедри органічної та біоорганічної хімії
Запорізького державного медичного університету
професор, доктор фармацевтичних наук

