

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора фармацевтичних наук, професора Переходи Ліни Олексіївни на дисертаційну роботу Хилюка Дмитра Володимировича на тему «Синтез, перетворення та біологічна активність 2,3-диарил(гетерил) 4-тіазолідонів», представлену 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. Дисертаційна робота Хилюка Дмитра Володимировича є вдалим прикладом комплексного дослідження, яке присвячене пошуку нових біологічно активних речовин з покращеними параметрами фармакологічних властивостей серед 2,3-дизаміщених похідних 4-тіазолідинонів. Похідні 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів демонструють стабільно високий інтерес з боку науковців, серед них ідентифіковано нові протипухлинні агенти, інгібітори СОХ-2 з протизапальною та анагетичною активністю, інгібітори РНК-залежної ДНК-полімерази з противірусною дією, тощо. Відповідно зростає інтерес до синтезу нових молекул, що містять зазначений фармакофор. Отже поглиблене вивчення методів синтезу, біологічної активності, встановлення взаємозв'язку між структурою і дією в ряду 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів представляє безперечний інтерес та підводить до логічного висновку про доцільність подальшого цілеспрямованого пошуку ефективних БАР серед названих сполук. Крім того, не можна не відзначити, що робота Хилюка Дмитра Володимировича є логічним продовженням успішного розвитку Львівської наукової школи хімії біологічно активних речовин серед похідних тіазолідину, тіазолу та споріднених гетероциклічних систем (Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик, Д.В. Камінський, А.П. Крищишин), яка має суттєві досягнення як в науковому, так і практичному плані. Все це зумовлює актуальність рецензованої дисертаційної роботи Хилюка Дмитра Володимировича.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана 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 обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, які викладені у дисертаційній роботі.

Дослідження є добре спланованим, мета роботи і постановка завдання для вирішення цієї мети чітко сформульовані та аргументовані. Обсяг наукового матеріалу, наведений в дисертації, цілком достатній для обґрунтування

основних положень і висновків дисертації, які враховують всі результати теоретичних та експериментальних досліджень. Висновки сформульовані чітко, коректно і лаконічно, є науково обґрунтованими та відповідають змісту наведеного матеріалу. Достовірність одержаних автором результатів не викликає сумніву, враховуючи, що для інтерпретації результатів використано сучасний пакет фізико-хімічних методів аналізу (спектроскопія ^1H та ^{13}C ЯМР, рентгеноструктурний аналіз, хромато-мас-спектроскопія) та загальноприйняті і коректні підходи до встановлення біологічних і фармакологічних властивостей синтезованих сполук. 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 2,3-дизаміщених похідних 4-тіазолідинону. У процесі виконання експериментальної частини дисертації автором запропоновано ефективні методики синтезу 66 нових сполук, структура яких підтверджена даними спектроскопії ^1H та ^{13}C ЯМР, елементного аналізу та в окремих випадках – рентгеноструктурним аналізом. При виконанні дисертаційних досліджень 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 тіазолідину і засвідчують високий науковий рівень рецензованої роботи.

Хотілось би **звернути** увагу на основні наукові положення:

Вперше одnoreакторною циклоконденсацією амінів, оксосполук та меркаптооцтової кислоти одержано серії нових 2,3-диарил-4-тіазолідинонів, 1-тіа-4-азаспіро[4.5]декан-3-онів, спіро[3*H*-індол-3,2'-тіазолідин]-2,4'(1*H*)-діонів та 3-(антипірил-4)-2-заміщені-4-тіазолідинонів. та одержано 2,3-дизаміщені-4-тіазолідинтіони.

Встановлено, що 2,3-дизаміщені 4-тіазолідинони легко вступають в реакцію тіонування під дією P_2S_5 чи реактиву Лоуссона, вивчені особливості проведення реакції та синтезовані 2-феніл-3-(4-метилфеніл)-4-тіазолідинтіон та 4-(4-метилфеніл)-1-тіа-4-азаспіро[4.5]-декан-3-тіон.

Запропоновано методи синтезу 5-ариліден-2,3-дизаміщених-4-тіазолідинонів, що базуються на реакції Кньовенагеля або трикомпонентній "one-pot" циклоконденсації амінів, альдегідів/кетонів і 3-арил-2-меркаптоакрилових кислот, одержаних лужним гідролізом різноманітних 5-ариліден-2-тіоксо-4-тіазолідинонів.

Вперше показано, що цільові 5-ариліден-4-тіазолідинтіони можна одержати в реакції з ароматичними альдегідами в середовищі ізопропанолу та

4-феніл-2,4-дигідро-1,2,4-тріазол-3-тіону та 4-аміноантипірину є ефективним методом синтезу 3-гетерилзаміщених 4-тіазолідинонів, що продемонстровано одержанням оригінального тріазол-тіазолідинонового кон'югату (2-(4-метоксифеніл)-3-[4-(4-феніл-5-тіоксо-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-3-іл-метокси)феніл]-4-тіазолідинону) та 3-(1,5-диметил-3-оксо-2-арил-2,3-дигідро-1*H*-піразол-4-іл)-2-заміщених(спірозаміщених)-4-тіазолідинонів. Встановлено, що 2,3-дизаміщені 4-тіазолідинони легко вступають в реакцію тіонування при дії P_2S_5 чи реактиву Лоуссона, що підтверджено синтезом 2-феніл-3-(4-метилфеніл)-4-тіазолідинтіону та 4-(4-метилфеніл)-1-тіа-4-азаспіро[4.5]декан-3-тіону. Висновок про утворення цільових продуктів та виділення їх в чистому вигляді здійснено на основі аналізу спектрів ПМР та хромато-мас-спектрів. Остаточню будову синтезованих спірозаміщених 4-тіазолідинонів підтверджено методом РСА.

У третьому розділі описаний синтез серії 5-ариліденпохідних реакцією Кньовенагеля на основі 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів як 5-метиленактивних гетероциклів в середовищі ізопропанолу при використанні *трет*-бутилату калію як каталізатора. Показано, що застосування традиційної для 4-тіазолідинонів системи ацетатна кислота – ацетат натрію є не придатним для реакції Кньовенагеля 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів за рахунок слабшої СН-кислотності метиленової групи у положенні 5 базового гетероциклу. Вперше запропоновано метод синтезу 5-ариліден-2,3-дизаміщених-4-тіазолідинонів, який базується на використанні у трикомпонентній "one-pot" циклоконденсації з амінами та альдегідами як тіольних агентів 3-арил-2-меркаптоакрилових кислот, одержаних лужним гідролізом 5-ариліден-2-тіоксо-4-тіазолідинонів (5-ариліденроданів). В розділі також описуються особливості структури спірозаміщених 5-ариліден-4-тіазолідинонів, які остаточно підтверджено методом рентгеноструктурного аналізу.

Описаний синтез цільових 5-ариліден-4-тіазолідинтіонів, спірозаміщених 4-арил-1-тіа-4-азаспіро[4.5]декан-3-онів та спіро[3*H*-індол-3,2'-тіазолідин]-2,4'(1*H*)-діонів реакцією з ароматичними альдегідами в середовищі ізопропанолу при використанні *трет*-бутилату калію як каталізатора за аналогією зі структурно подібними 4-тіазолідинонами.

В цьому розділі також описаний ефективний підхід до синтезу нових 5-ариліден-2-арил-4,5-дигідро-1,3-тіазол-4-онів шляхом трикомпонентної взаємодії тіогліколевої кислоти, ароматичних нітрилів і альдегідів в присутності триетиламіну.

В четвертому розділі дисертації, автором переконливо доведено, що мета, поставлена на початку роботи, успішно досягнута, враховуючи, що фармакологічні випробовування цілком підтвердили сподівання щодо правильності вибору об'єктів дослідження. В результаті проведення фармакологічних досліджень ідентифікований ряд перспективних агентів з протипухлинною, противірусною та протитрипаносомою активністю та низькими токсикометричними параметрами *in vitro* та *in vivo*. В цьому розділі описані результати фармакологічного вивчення синтезованих 2,3-дизаміщених 4-

структурних аналогів. Виявлено ряд нових високоактивних та малотоксичних сполук з перспективною протипухлинною, протитрипаносомною та противірусною активністю, які рекомендовані для подальших поглиблених досліджень. Встановлено ряд закономірностей «структура – дія», надано рекомендації для молекулярного дизайну потенційних засобів з протипухлинною, протитрипаносомною та противірусною активністю.

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

6. Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях. Наукові праці, що висвітлюють зміст роботи, опубліковано у міжнародних високо цитованих виданнях та провідних фахових виданнях України. За результатами дисертації опубліковано 20 наукових робіт, з них 6 статей в наукових фахових виданнях, 1 розділ у колективній монографії та 12 тез доповідей. Одержано 1 деклараційний патент на корисну модель. Вважаю, що опубліковані результати достатньо повно відображають зміст рецензованої дисертаційної роботи та свідчать про безперечно високий її рівень.

7. Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації та автореферату, завершеності дисертації в цілому. Дисертаційна робота викладена на 180 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 29 таблицями, 19 рисунками та 55 схемами, перелік використаної літератури містить 194 джерела. Мовний стиль дисертації відповідає сучасним філологічним нормам, характеризується якісним представленням використаних формул, змістовністю табличного і графічного матеріалу.

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

Перший розділ дисертаційної роботи містить огляд літературних джерел та є самодостатнім науково-пошуковим дослідженням, що досить вичерпано розкриває особливості хімії та фармакології 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів. Наведені в огляді дані літератури проаналізовані автором, що і дозволило йому досить чітко аргументувати мету та поставлені завдання.

В *другому розділі* описаний ефективний підхід до синтезу нових рядів 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів шляхом трикомпонентної "one-pot" циклоконденсації амінів, альдегідів та меркаптооцтової кислоти у співвідношенні реагентів 1:1:2. Описаний альтернативний синтетичний підхід проведення зазначеної реакції в середовищі бензену з використанням насадки Діна-Старка чи дициклогексилкарбодііміду в діоксані. Показано, що використання циклогексанону чи ізатину в якості оксосполуки є ефективним підходом до синтезу 2-спірозаміщених 4-тіазолідинонів, а саме 1-тіа-4-азаспіро[4.5]декан-3-онів та спіро[3*H*-індол-3,2'-тіазолідин]-2,4'(1*H*)-діонів. Використання в трикомпонентній "one-pot" циклоконденсації в якості амінів 5-(4-амінофеноксиметил)-

трет-бутилату калію як каталізатора за аналогією зі структурно подібними 4-тіазолідинонами.

Показано, що спірозаміщені 4-арил-1-тіа-4-азаспіро[4.5]декан-3-они та спіро[3*H*-індол-3,2'-тіазолідин]-2,4'(1*H*)-діони легко утворюють ариліденпохідні при взаємодії з ароматичними альдегідами в середовищі ізопропанолу та *трет*-бутилату калію як каталізатора.

Показано, що трикомпонентна взаємодія тіогліколевої кислоти, ароматичних нітрилів і альдегідів в присутності триетиламіну є ефективним підходом до синтезу 5-ариліден-2-арил-4,5-дигідро-1,3-тіазол-4-онів.

Вперше ідентифіковано серед нових синтезованих 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів 2 «сполуки-хіти» з високою протипухлинною активністю та 1 «сполука-хіт» з антитрипаносомною дією. Особливо успішним є тестування нових сполук на противірусну активність, виявлено 7 сполук з селективним противірусним ефектом на штами *Vaccinia*, *Cowpox*, коронавірус SARS, вірус біологічної зброї Такарібе, гепатит С.

Ідентифіковано високоактивний 8-(*трет*-бутил)-4-(4-хлорофеніл)-2-[(*Z*)-1-(4-метоксифеніл)метиліден]-1-тіа-4-азаспіро[4.5]декан-3-он, який у 2.7 разів перевищує ефект лікарського засобу ніфуртімоксу щодо *Trypanosoma brucei gambiense*. Наукова новизна одержаних результатів підтверджена деклараційним патентом України на корисну модель № 114936 (2017 р.).

4. Теоретичне значення результатів дослідження. Дисертаційна робота Хилюка Дмитра Володимировича є підґрунтям подальших наукових досліджень в ряду 2,3-диарил(гетерил) 4-тіазолідонів. 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, антитрипаносомну, противірусну активності. Сформульовано критерії для спрямованого синтезу біологічно активних сполук з групи 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів.

Завдяки проведеним рентгеноструктурним дослідженням дана робота є суттєвим внеском у розвиток структурної органічної хімії. На основі аналізу кореляції «структура-активність» сформульовано ряд положень для дизайну структури біологічно активних сполук з групи 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів, що є ефективним підґрунтям для розробки нових засобів з протипухлинною, протитрипаносомною та противірусною активністю.

5. Практичне значення одержаних результатів. У роботі наведено систематичне дослідження фізичних, хімічних та біологічних властивостей 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів. Автором розроблено препаративні методики, що можуть бути покладені в основу синтезу та перетворень 2,3-дизаміщених 4-тіазолідинонів та їх функціональних похідних. Поповнена бібліотека ¹H та ¹³C ЯМР спектрів раніше невідомих органічних біологічно активних сполук, що може бути використана для встановлення будови їх нових

тіазолідинонів та встановлені нові закономірності кореляції «хімічна структура – біологічна активність».

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

- В підрозділі 3.1.1 зазначається, що 5-ариліден-2,3 -диарил-4-тіазолідинони 3.1- 3.10 одержані за реакцією Кневенагеля в присутності каталізатора *трет*-бутилата калію у середовищі ізопропанолу. Враховуючи низькі виходи цільових продуктів (35-56%), можливо доцільно було б спробувати провести дану реакцію в інших умовах або використати інший основний каталізатор (ацетат піперидину або ацетамід в середовищі оцтової кислоти);
- Використана автором термінологія є неоднорідною –поряд з сучасною номенклатурою ІЮПАК зустрічаються тривіальні назви (ацетатна-оцтова, 2-пропанол-ізопропанол і т.д) ;
- В таблиці 3.7 не наведені константи спін-спінової взаємодії для сполук 3.37 та 3.38. ;
- Відсутність експериментальної частини у «фармакологічному» розділі викликає певні ускладнення при ознайомленні з інформацією;
- Дискусійним є використання ряду рисунків докінгових досліджень, наведених в дисертації. На рисунках 4.2 - 4.6, візуалізація зон зв'язування перспективних сполук в активних центрах ферментів не має графічного підтвердження, а саме: відсутні типи зв'язків, що утворюються (водневі, Ван-дер-Ваальсові, тощо) та не візуалізовані фрагменти молекул, за рахунок яких відбувається зв'язування з амінокислотами активного сайту ферменту. Крім того, відсутність такої візуалізації не дає змоги виявити чинники, які можуть покращити ліганд-рецепторну взаємодію. Також, на мою думку, в дисертації слід було навести значення афінності ендогенних лігандів або референс-препаратів до обраних біомішеней та порівняти їх зі значеннями для нових синтезованих сполук;
- Доречно було б в списку літератури дати більше посилань на власні наукові публікації;
- У дисертаційній роботі присутні друкарські помилки, зустрічається неточність нумерації сполук в назвах таблиці 2.1 (на стор.63) та табл. 2.6 (на стор. 74).

Наведені зауваження не є принциповими і жодною мірою не впливають на схвальне сприйняття роботи.

8. Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження на практиці. Запропоновані дисертантом підходи до створення нових біологічно активних агентів 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 «структура-дія» використати 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 Хилюка Дмитра Володимировича на тему « Синтез, перетворення та біологічна активність 2,3-диарил(гетерил) 4-тіазолідонів» являє собою завершене наукове дослідження, яке повністю відображає вирішення наукових задач, поставлених дисертантом і є свідченням високої наукової кваліфікації виконавця. Дисертаційна робота є завершеною науковою працею, яка характеризується актуальністю, новизною, 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 автор 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, професор

Підпис професора Л. О. Переходи засвідчую

В.о. начальника відділу кадрів НФаУ

