

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора фармацевтичних наук, професора Переходи Ліни Олексіївни на дисертаційну роботу Шепети Юлії Леонідівни на тему «Синтез, перетворення та біологічна активність похідних 4-тіазолідинону, оксадіазолу та тріазолу з фрагментами нестероїдних протизапальних засобів диклофенаку та ібупрофену в молекулах», 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

Актуальність теми дисертації та її зв'язок з державними чи галузевими програмами, пріоритетними напрямками розвитку науки і техніки. Дисертаційна робота Шепети Юлії Леонідівни присвячена вирішенню однієї з пріоритетних проблем в сфері охорони здоров'я – створенню оригінальних конкурентоздатних лікарських засобів. Предмет дослідження стосується синтетичного напрямку Львівської наукової школи хімії біологічно активних речовин похідних 4-тіазолідинону та споріднених гетероциклічних систем (Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик, Д.В. Камінський, А.П. Крицишин), яка має суттєві досягнення як в науковому, так і практичному плані. З цього витікає безумовна актуальність обраної дисертанткою тематики. В дисертації Юлії Леонідівни сформовано окремий вектор пошуків нових БАР, спрямований на похідні 4-тіазолідинону, оксадіазолу та тріазолу з фрагментами нестероїдних протизапальних засобів диклофенаку та ібупрофену в молекулах, які раніше не піддавалися систематичному вивченню. Такий підхід є перспективним і досить поширеним серед методів створення нових ліків. Він полягає в модифікації вже відомих лікарських засобів з метою покращення їх фармакологічних характеристик, а також розширення спектру біологічної активності їх поліфункціональних похідних. Незважаючи на насиченість фармацевтичного ринку НПЗЗ, проблема створення нових препаратів, що мають протизапальну активність, високу селективність та кращі параметри безпеки, залишається на разі актуальною. Тому покращення фармакологічних параметрів та пошук нових видів біологічної активності відомих нестероїдних протизапальних лікарських засобів диклофенаку та ібупрофену шляхом введення до їх структур інших біофорних фрагментів, є актуальним та важливим напрямком сучасної фармацевтичної науки.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. 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 0116U004500, шифр теми ІН 10.06.0001.16).

Наукова новизна отриманих результатів. Наукова новизна досліджень представлених у дисертаційній роботі Шепети Юлії Леонідівни зумовлена розробкою наукового напрямку хімічної модифікації відомих нестероїдних протизапальних лікарських засобів диклофенаку та ібупрофену шляхом введення до їх структур інших біофорних фрагментів (4-тіазолідинового, тріазольного та оксадіазольного, тощо).

Дисертанткою за допомогою класичних та удосконалених методів синтезу одержано 152 нові сполуки та встановлено основні фізичні, фізико-хімічні характеристики одержаних речовин. Вперше проведено системне дослідження протипухлинної, антитрипаносомної та протизапальної активності синтезованих сполук та виявлено 2 «сполуки-хіти» з протипухлинною, 2 «сполуки-хіти» з антитрипаносомною дією та 26 «сполук-хітів» з протизапальним ефектом і задовільними токсикометричними параметрами. Встановлені закономірності зв'язку «хімічна будова – активність» в ряду синтезованих похідних. На основі SAR-аналізу та докінгових досліджень запропоновано рекомендації до раціонального дизайну потенційних лікарських засобів для фармакотерапії сонної хвороби, онкологічних захворювань та запальних процесів. Перспективність та наукова новизна досліджень підтверджується патентом України на корисну модель.

Практичне значення результатів дослідження. В ході виконання експериментальної частини роботи авторкою розроблено препаративні методики, що можуть бути покладені в основу синтезу великої групи нових біологічно активних речовин – *S*-алкілованих похідних 5-[1-(4-ізобутилфеніл)етил]-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіолів, 5-[2-(2,6-дихлорофеніламіно) бензил]-оксадіазол-2-тіолів та 4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіолів, 2-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)феніл]-*N*-(роданін-3-іл)ацетамідів, 2-{5-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)бензил]-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілсульфаніл}-*N*-(роданін-3-іл)ацетамідів та *N*'-3-арил-4-тіазоліди-нон-5-іліденметилгідрозидів 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетатної кислоти, що можуть бути використані для синтезу структурних аналогів та мають практичне значення для проведення наукових досліджень та навчального процесу вищих навчальних закладів. Поповнена бібліотека фізичних та спектральних характеристик раніше невідомих органічних біологічно активних сполук похідних 4-тіазолідинону, оксадіазолу та тріазолу з фрагментами нестероїдних протизапальних засобів диклофенаку та ібупрофену в молекулах, що може бути використана для встановлення будови їх нових структурних аналогів. Результати фізико-хімічних досліджень, фармакологічного скринінгу та SAR-аналізу можуть бути використані науковцями для подальшого пошуку нових біологічно активних субстанцій протизапальної дії. Практичне значення роботи не викликає сумнівів враховуючи, що розроблені методики синтезу вже впроваджені до використання в вищих навчальних та наукових закладах України: ВНМУ імені М.І. Пирогова, НФаУ та ЗДМУ (акти впровадження від 05.05.2020 р., 14.01.2020 р., 05.05.2020 р), що підтверджено відповідними актами впровадження.

Аналіз основного змісту роботи, ступінь обґрунтованості наукових положень та висновків. Дисертаційна робота викладена на 227 сторінках друкованого тексту та складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків, списку літератури та додатків. Робота ілюстрована 25 таблицями (59 с.), 86 схемами (32 с.) та 9 рисунками (6 с.), перелік використаної літератури містить 210 джерел. Дисертаційна робота починається з анотації, яка оформлена згідно вимог наказу № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертації».

У вступі чітко сформульовані мета та завдання дослідження, а також окреслені основні здобутки щодо новизни та практичного значення роботи.

Перший розділ «Синтез та біологічна активність похідних оксадіазолу, тріазолу та 4-тіазолідинону як потенційних «лікоподібних молекул» (огляд літератури) містить дані наявної у літературно-патентних джерелах інформації про види біологічної активності, що характерні для гібридних молекул 4-тіазолідинонів, тріазолів та оксадіазолів, комбінованих з диклофенаком та ібупрофеном. В цьому розділі наведений аналіз сучасного стану синтетичних підходів до одержання та хімічної модифікації похідних 4-тіазолідинону, оксадіазолу та тріазолу з фрагментами нестероїдних протизапальних засобів диклофенаку та ібупрофену, наведені їх переваги та недоліки з метою вибору раціональних методик їх одержання. Наведені в огляді дані є безперечним обґрунтуванням перспективності подальших досліджень даного класу сполук та надають підґрунття для раціонального планування експерименту. Синтетична частина роботи представлена у двох розділах.

У *другому розділі* «Синтез, фізико-хімічні властивості оксадіазолів та тріазолів з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в молекулах» експериментально доведено, що гідразиди диклофенаку та ібупрофену є ефективними реагентами в реакціях гетероциклізації і можуть бути використані для синтезу похідних 1,3,4-оксадіазол-2-тіолів та 1,2,4-тріазол-3-тіолів як вихідних сполук для наступних хімічних перетворень. В цій частині роботи викликають інтерес запропоновані автором препаративні методики алкілування 1,3,4-оксадіазол-2-тіолів та 1,2,4-тріазол-3-тіолів 2-хлороацетамидами на основі ароматичних та гетероциклічних амінів. Авторкою проведено всебічне вивчення структури синтезованих сполук із залученням сучасних найбільш інформативних методів інструментального аналізу.

Третій розділ «Синтез, перетворення та фізико-хімічні властивості похідних 4-тіазолідинону з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в молекулах» присвячений синтезу 2-тіоксо-4-тіазолідинонів, 2-іміно-4-тіазолідинонів, тіазолідин-тріазольних гібридних молекул та 3*H*-тріазолів. Як основні синтетичні здобутки автора можна назвати підбір умов алкілування та розробку ефективного методу синтезу 1,3,4-оксадіазол-2-тіолів та 1,2,4-тріазол-3-тіолів з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в структурі, в реакції з 2-хлороацетамидами на основі 3,5-діарилпіразолінів, 2-аміно-5-бензилтіазолів та 2-аміно-4,5-диметилтіофену. Шляхом внесення структурних модифікацій по амідній групі одержані неописані в літературі нові *S*-заміщені вказаних

Аналіз основного змісту роботи, ступінь обґрунтованості наукових положень та висновків. Дисертаційна робота викладена на 227 сторінках друкованого тексту та складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків, списку літератури та додатків. Робота ілюстрована 25 таблицями (59 с.), 86 схемами (32 с.) та 9 рисунками (6 с.), перелік використаної літератури містить 210 джерел. Дисертаційна робота починається з анотації, яка оформлена згідно вимог наказу № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертації».

У вступі чітко сформульовані мета та завдання дослідження, а також окреслені основні здобутки щодо новизни та практичного значення роботи.

Перший розділ «Синтез та біологічна активність похідних оксадіазолу, тріазолу та 4-тіазолідинону як потенційних «лікоподібних молекул» (огляд літератури) містить дані наявної у літературно-патентних джерелах інформації про види біологічної активності, що характерні для гібридних молекул 4-тіазолідинонів, тріазолів та оксадіазолів, комбінованих з диклофенаком та ібупрофеном. В цьому розділі наведений аналіз сучасного стану синтетичних підходів до одержання та хімічної модифікації похідних 4-тіазолідинону, оксадіазолу та тріазолу з фрагментами нестероїдних протизапальних засобів диклофенаку та ібупрофену, наведені їх переваги та недоліки з метою вибору раціональних методик їх одержання. Наведені в огляді дані є безперечним обґрунтуванням перспективності подальших досліджень даного класу сполук та надають підґрунття для раціонального планування експерименту. Синтетична частина роботи представлена у двох розділах.

У *другому розділі* «Синтез, фізико-хімічні властивості оксадіазолів та тріазолів з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в молекулах» експериментально доведено, що гідразиди диклофенаку та ібупрофену є ефективними реагентами в реакціях гетероциклізації і можуть бути використані для синтезу похідних 1,3,4-оксадіазол-2-тіолів та 1,2,4-тріазол-3-тіолів як вихідних сполук для наступних хімічних перетворень. В цій частині роботи викликають інтерес запропоновані автором препаративні методики алкілування 1,3,4-оксадіазол-2-тіолів та 1,2,4-тріазол-3-тіолів 2-хлороацетамидами на основі ароматичних та гетероциклічних амінів. Авторкою проведено всебічне вивчення структури синтезованих сполук із залученням сучасних найбільш інформативних методів інструментального аналізу.

Третій розділ «Синтез, перетворення та фізико-хімічні властивості похідних 4-тіазолідинону з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в молекулах» присвячений синтезу 2-тіоксо-4-тіазолідинонів, 2-іміно-4-тіазолідинонів, тіазолідин-тріазольних гібридних молекул та 3*N*-тріазолів. Як основні синтетичні здобутки автора можна назвати підбір умов алкілування та розробку ефективного методу синтезу 1,3,4-оксадіазол-2-тіолів та 1,2,4-тріазол-3-тіолів з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в структурі, в реакції з 2-хлороацетамидами на основі 3,5-діарилпіразолінів, 2-аміно-5-бензилтіазолів та 2-аміно-4,5-диметилтіофену. Шляхом внесення структурних модифікацій по амідній групі одержані неописані в літературі нові *S*-заміщені вказаних

гетероциклів. В цій частині роботи викликають цікавість запропоновані Юлією Леонідівною препаративні методики синтезу піразолін-діазольних кон'югатів, причому їй вдалося запропонувати новий алкілюючий агент – 2-хлоро-1-(3,5-діарил-4,5-дигідропіразол-1-іл)етанон. При взаємодії гідрозидів 2-(4-ізо-бутилфеніл)пропіонатної та 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетатної кислот з тіокарбоніл-біс-тіогліколевою кислотою одержано нові похідні 2-тіоксо-4-тіазолідинону (роданіну). Запропоновано зустрічний метод синтезу 2-(4-ізобутилфеніл)-N-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-пропіонаміду, який базується на реакції ацилювання хлорангідридом ібупрофену 3-амінороданіну і може бути використаний як альтернативний метод синтезу 2-тіоксо-4-тіазолідинонів з залишками нестероїдних протизапальних засобів в структурі. При вивченні реакції Кньовенагеля різноманітних оксосполук і 2-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)феніл]-N-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)ацетаміду, 2-(4-ізобутилфеніл)-N-(4-оксо-2-тіоксо-тіазолідин-3-іл)-пропіонаміду та 2-{5-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)-бензил]-4H-1,2,4-тріазол-3-ілсульфаніл}-N-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-ацетамідів одержано серії біологічно активних 5-іліденроданінів, для яких на основі спектрів ¹H ЯМР встановлено Z-конфігурацію іліденового фрагменту, що важливо для проведення *in silico* досліджень з молекулярного докінгу до потенційних біологічних мішеней. Будова всіх синтезованих сполук доведена комплексом фізико-хімічних методів та не викликає сумнівів.

У четвертому розділі «Біологічна активність похідних оксадіазолу, тріазолу та 4-тіазолідинону з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в молекулах» дисертанткою обговорені результати фармакологічного скринінгу синтезованих речовин. Безсумнівним здобутком дисертації Юлії Леонідівни є досить об'ємні біологічні дослідження, які проводилися за декількома напрямками. Саме ця частина роботи характеризує перспективність речовин як потенційних фармакологічних об'єктів та дозволяє оцінити успішність проведеного спрямованого пошуку БАР. З цієї точки зору спрямований синтез, проведений авторкою, можна визнати успішним, оскільки їй вдалося одержати низку нових ефективних та малотоксичних сполук з протизапальною активністю, причому серед тестованих 63 сполук ідентифіковано 26 похідних, що перевищують ефект ібупрофену, 19 нових молекул з дією сильнішою ніж кетанов та 4 речовини, що мають вищу активність, ніж диклофенак натрію. Ідентифіковано шість груп гетероциклічних похідних як потенційних протизапальних агентів.

Методом молекулярного докінгу обґрунтовано ймовірний вплив сполук-хітів на 5-ліпооксигеназу, причому як прямий, так і опосередкований через приєднання до ліпооксигеназу активуючого протеїну (FLAP), що є підґрунтям для поглибленого вивчення можливих механізмів реалізації ефекту та проектування нових нестероїдних протизапальних засобів з групи оксадіазолів, тріазолів та тіазолідинів. Вперше встановлено, що N⁴-тіазолідинон-5-іліденметилгідрозиди 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілацетатної кислоти пригнічують ріст паразитів роду *Trypanosoma brucei brucei* у мікромольних

концентраціях, що відкриває новий напрямок для пошуку сполук для фармакокорекції сонної хвороби.

Поєднання 4-тіазолідинонового кільця з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в одній молекулі є перспективною комбінацією структурних каркасів для дизайну нових «лікоподібних» молекул, що продемонстровано на прикладі 2-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)-феніл]-N-{5-[3-(нафтил-2)-5-(4-метоксифеніл)-4,5-дигідропіразол-1-ілметилен]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл}-ацетаміду та N-3-етил-4-тіазолідин-5-іліденметилгідрозиду 2-(4-ізобутилфеніл)пропіонатної кислоти, які проявили суттєвий рівень протипухлинної активності.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Достовірність одержаних автором синтетичних результатів досліджень не викликає сумнівів, враховуючи що вона підтверджена комплексом спектральних методів аналізу (^1H та ^{13}C ЯМР спектроскопією, хромато-мас-спектроскопією). Фармакологічна частина роботи виконана з використанням загальноприйнятих і коректних підходів до встановлення специфічної біологічної активності сполук. Усі наукові положення і висновки, сформульовані авторкою, ґрунтуються на одержаних результатах теоретичних і експериментальних досліджень. Висновки за окремими розділами та загальні висновки викладені коректно і є науково обґрунтованими. Вважаю, що поставлене в роботі завдання реалізоване в повній мірі і на належному рівні.

Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях. За результатами дисертаційної роботи опубліковано 22 наукових роботи, з яких 7 статей у наукових фахових виданнях (2 статті у журналах, реферованих у науковометричній базі Scopus), одержано 1 патент України на корисну модель. Матеріали фрагментів дисертаційної роботи опубліковані в 14 тезах доповідей і доповідалися та обговорювались на з'їздах та конференціях різних рівнів. Обсяг наукового матеріалу достатній для обґрунтування основних положень і висновків дисертації. Опубліковані роботи достатньо повно відображають зміст дисертаційної роботи.

Автореферат оформлений відповідно до вимог та відображає основні положення та висновки дисертації.

Зауваження щодо оформлення дисертації та автореферату, завершеності дисертації в цілому. Дисертація оформлена відповідно до вимог та містить усі необхідні компоненти кваліфікаційної роботи – безсумнівна актуальність, значний обсяг виконаних експериментальних досліджень, отриманий із використанням сучасних методів дослідження, наукова новизна, достовірні і науково обґрунтовані висновки, повнота викладення результатів роботи у фахових виданнях, теоретичне та практичне значення та вагомі науково обґрунтовані результати. Загальна оцінка роботи є беззаперечно *позитивною*.

При розгляді дисертаційної роботи виникли деякі зауваження та рекомендації:

1. На схемі 2.2, 2.5 та 2.6 (стор 80,90,91 відповідно) алкілювання 1,3,4-оксадіазол-2-тіолів та 1,2,4-тріазол-3-тіолів наводиться в присутності NaOH, в той же час по тексту та в експериментальній частині зазначається, що реакцію проводили в присутності KOH;
2. При доведенні будови синтезованих сполук 2.18-2.20, що мають у своїй структурі три метиленові групи, бажано було б теоретично обґрунтувати віднесення їх сигналів на спектрах ^1H ЯМР;
3. Хотілось би почути думку автора, з якою метою в синтезі S-алкілованих похідних 2-меркапто-1,3,4-оксадіазолу та 3-меркапто-1,2,4-тріазолу додається кілька кристалів калію йодиду (опис експериментів п 2.3, стор 101, 103);
4. В дисертаційній роботі бажано було б навести посилання на літературні джерела, що були підґрунтям для вибору біологічних мішеней для молекулярного докінгу та комп'ютерних програм, що використовувались для досліджень;
5. Зустрічаються помилки в нумерації сполук (S-алкіловані похідні 3-меркапто-1,2,4-тріазолу помилково мають номери 2.3-2.25, стор. 103.).

Наведені недоліки не впливають на позитивну оцінку роботи, а також на теоретичну та практичну значимість одержаних результатів.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження на практиці. Запропоновані дисертанткою підходи до синтезу нових біологічно активних сполук можуть бути з успіхом використані у наукових лабораторіях, що працюють за спорідненими тематиками. Для всіх високоактивних сполук необхідно провести поглиблені дослідження, а результати вивчення взаємозв'язку «структура-дія» використати для оптимізації «сполук-хітів». Більш широко впроваджувати результати власних досліджень у навчальний процес при викладанні професійно-орієнтованих дисциплін для студентів ВНЗ хімічного та фармацевтичного профілю

Відповідність дисертації вимогам п. 10 «Порядку присудження наукових ступенів» На підставі викладеного вище вважаю, що дисертаційна робота Шепети Юлії Леонідівни на тему «Синтез, перетворення та біологічна активність похідних 4-тіазолідинону, оксадіазолу та тріазолу з фрагментами нестероїдних протизапальних засобів диклофенаку та ібупрофену в молекулах» є завершеним науковим дослідженням, яке за актуальністю, новизною, достовірністю результатів і висновків, теоретичним і практичним значенням, публікаціям у фахових виданнях, відповідає вимогам п 10 «Порядку присудження наукових ступенів», затверджено-


го постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567 (зі змінами), а її авторка Шепета Юлія Леонідівна заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук зі спеціальності 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент:

завідувач кафедри медичної хімії

Національного фармацевтичного університету,

доктор фармацевтичних наук

 Л. О. Перехода

Підпис професора Л. О. Переходи засвідчую

Провідний фахівець з питань кадрової роботи

відділу кадрів НаУ



 О.В. Купіна