

## ВІДГУК

офіційного опонента, д-ра фарм. н., доц. Воскобойніка Олексія Юрійовича 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», що представлена до спеціалізованої вченої ради Д 35.600.02 при Львівському національному медичному університеті ім. Данила Галицького 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.* Структурна модифікація існуючих активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) є однією з перших науково обґрунтованих стратегій пошуку нових біологічно активних сполук. Разом з тим названа стратегія є однією з найбільш поширеніх у застосуванні та ефективних. Зазначений факт пояснюється тим, що впродовж періоду медичного застосування АФІ накопичується значний обсяг інформації про особливості її фармакодинаміки та фармакокінетики, в тому числі про особливості метаболізму, біологічну дію метаболітів, взаємодію з різноманітними молекулярними системами організму (рецептори, ензими тощо). Зазначена інформація значно полегшує проведення спрямованого синтезу похідних з заданими фармакологічними параметрами, спрощує та здешевлює спрямований пошук потенційних АФІ в цілому. Необхідно зазначити, що структурна модифікація існуючих лікарських препаратів може привести до повної зміни фармакологічного профілю, що дає можливість одержати перспективні АФІ з унікальними властивостями, що можуть стати цінними для сучасної медичної науки. Враховуючи зазначене, можна зробити висновок про актуальність та високу перспективність досліджень спрямованих на створення потенційних АФІ за рахунок комбінування структурних фрагментів відомих лікарських препаратів з фармакофорними структурними фрагментами, в тому числі гетероциклічними залишками. Саме зазначеній тематиці по спрямованому пошуку біологічно активних речовин серед похідних 4-тіазолідинону, оксадіазолу та тріазолу з фрагментами нестероїдних протизапальних засобів диклофенаку та ібупрофену в молекулах і присвячене дисертаційне дослідження Шепети Ю.Л.

Дисертаційна робота є фрагментом комплексних науково-дослідних робіт 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.** Представлена робота являє собою приклад ретельно спланованого дослідження. Автором обрано виправдані підходи до конструювання сполук з заданими структурними характеристиками та визначення біологічної активності речовин. Результати синтетичних досліджень не викликають сумніву, адже індивідуальність та структура одержаних речовин проводилась сучасними фізико-хімічними методами дослідження, зокрема ВЕРХ-МС,  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектрометрії. Вивчення протизапальної, антитрипаносомної та протипухлинної активності та гострої токсичності проведено у відповідності до сучасних підходів до фармакологічного скринінгу. Висновки викладені чітко та є теоретично й експериментально обґрунтованими, мета дослідження досягнута, а завдання виконані.

**3. Новизна дисертаційних досліджень.** Автором вперше розроблено методи формування раніше невідомих сполук, в молекулах яких поєднано фрагмент 1,2,4-триазол-3-тіолу, 1,3,4-оксадіазол-2-тіолу, 3Н-тіазолу та 4-тіазолідинону з залишками диклофенаку або ібuproфену. Показана можливість S-алкілювання 1,3,4-оксадіазол-2-тіолів та 1,2,4-триазол-3-тіолів похідними 2-хлорооцтової кислоти (естером та амідами). Встановлена можливість використання реакції гідразидів 2-(4-ізобутилфеніл)пропіонової та 2-(2,6-дихлорофеніламіно)-фенілоцтової кислот з тіокарбоніл-біс-тіогліколевою кислотою для формування похідних роданіну з фрагментами зазначених НПЗЗ. Розроблено альтернативний метод синтезу 2-(4-ізобутилфеніл)-N-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)-пропіонаміду взаємодією хлорангітриду ібuproфену з 3-амінороданіном. Показана ефективність {5-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)-бензил]-4Н-1,2,4-триазол-3-ілсульфаніл}оцтових кислот як реагентів в дизайні тіазолідин-триазольних гіbridних молекул, що дозволило одержати раніше неописані похідні роданіну. Розроблено методи синтезу 5-амінометилен-4-тіазолідинонів з фрагментами диклофенаку або ібuproфену в положенні 3 або 5 базового гетероциклу. Показана можливість використання ацильованих тіосемікарбазидів диклофенаку як ефективних S,N-бінуклеофілів в реакціях [2+3]-циклоконденсації.

В рамках роботи одержано 152 нові гетероциклічні сполуки, серед яких вперше ідентифіковано речовини з високою протипухлинною, антитрипаносомною

та протизапальною дією. Встановлено особливості взаємозв'язку «будова - біологічна дія» в ряду раніше неописаних речовин.

**4. Теоретичне значення результатів дослідження.** Представлені автором результати є теоретично значимими у галузях препаративної органічної хімії, медичної хімії та фармацевтичної хімії. Теоретичне значення у галузі органічної хімії мають результати синтетичних досліджень та систематизовані дані про спектральні характеристики одержаних речовин. Теоретичну цінність у галузі медичної хімії та фармакології мають одержані автором результати SAR досліджень.

**5. Практичне значення одержаних результатів.** Автором розроблено нові підходи до синтезу та перетворення раніше невідомих похідних 4-тіазолідинону, 3Н-тіазолу, 1,2,4-триазолу та 1,3,4-оксадіазолу з фрагментами диклофенаку та ібупрофену у молекулах, що є практично значимим для галузі синтетичної органічної хімії. Виявлені особливості перебігу реакцій, також мають практичну цінність, оскільки дозволяють більш ефективно планувати синтез цільових речовин. Практичну значимість для галузі фармацевтичної хімії мають результати спектральних досліджень, які можуть бути використані при розробці методів аналізу одержаних речовин, якщо останні буде впроваджено в медичну практику. Для галузі медичної хімії практичну значимість мають розроблені автором підходи до конструювання біологічно активних агентів.

Виявлені автором сполуки з вираженою фармакологічною дією мають практичне значення з огляду на можливість їх впровадження в медичну практику.

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

**6. Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях.** Результати, що одержані автором в процесі дисертаційного дослідження представлені науковій спільноті у вигляді 7 статей (з них 2 у виданнях, що включені до міжнародної наукометричної бази Scopus). Матеріал, що викладений в статтях відповідає дисертаційній роботі та відображає її зміст повністю. Наукова новизна дисертаційної роботи додатково підтверджена патентом України на корисну модель. Також, окремі фрагменти дисертаційної роботи було освітлено на наукових зібраннях з питань органічної, фармацевтичної та медичної хімії та опубліковані у вигляді 14 друкованих робіт апробаційного характеру.

**7. Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації та автореферату, завершеності дисертації в цілому.** Дисертаційна робота викладена на 227 сторінках друкованого тексту (включно з додатками) і складається зі вступу, чотирьох розділів (в тому числі одного оглядового розділу і трьох розділів власних досліджень), висновків, списку літературних джерел та додатків. Робота ілюстрована 86 схемами, 9 рисунками і 25 таблицями. Перелік використаних літературних джерел містить 210 найменувань.

*Перший розділ* являє собою критичний аналіз опублікованих даних про підходи до конструювання та структурної модифікації неконденсованих похідних тіазолідинону, триазолу та оксадіазолу, зокрема тих, що містять фрагменти ібупрофену та диклофенаку. Характерною рисою огляду є те, що автор сконцентрував увагу на реакціях, що передбачають використання сучасних методів активації (мікрохвильовий синтез, обробка ультразвуком). Додатково автором обговорено опубліковані результати досліджень біологічної активності сполук, в молекулах яких поєднано 4-тіазолідинонів, триазолів та оксадіазолів з фрагментами нестероїдних протизапальних засобів диклофенаку та ібупрофену в молекулах. Огляд вдало систематизовано та викладено на високому рівні.

В *другому розділі* автором приведено результати власних досліджень спрямованих на розробку методів одержання та хімічної модифікації речовин, в структурі яких поєднано триазольні та оксадіазольні цикли з залишками диклофенаку та ібупрофену. В якості вихідних сполук для синтезу як оксадіазол-вмісних, так і триазол-вмісних похідних використано гідразиди 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілоцтової та 2-(4-ізобутилфеніл)пропіонової кислот. Для формування оксадіазольного фрагменту проводили взаємодію названих гідразидів з карбон дисульфідом в лужному середовищі з подальшим підкисленням. В той самий час для синтезу похідних з триазольним циклом було використано реакцію з етил(феніл)ізотіоціанатом з подальшою циклізацією утворених заміщених тіосемікарбазидів в лужному середовищі. Необхідно зазначити, що продукти описаних вище перетворень містили тіольний фрагмент, а отже являли собою зручний об'єкт структурної модифікації. Враховуючи зазначене, автором було досліджено взаємодію одержаних тіол-вмісних похідних з такими алкілуючими агентами як етиловий естер хлороцтової кислоти, N-арилхлорацетаміди, а також хлороацетаміди на основі 3,5-діарилпіразолінів та 2-аміно-5-бензилтіазолів. Авторами встановлені оптимальні умови та особливості перебігу зазначених реакцій алкілювання. Проведені хімічні перетворення дозволили автору сформувати комбінаторну бібліотеку сполук для їх подальшого скринінгу на

наявність біологічної дії. Також в рамках даного розділу детально обговорено спектральні характеристики одержаних речовин.

В рамках *третього розділу* автором описано результати досліджень спрямованих на синтез та встановлення фізико-хімічних характеристик сполук, в молекулах яких поєднано тіазолідиноновий цикл з залишками диклофенаку або ібупрофену. Автором досліджено особливості перебігу реакції гідразидів 2-(2,6-дихлорофеніламіно)фенілоцтової та 2-(4-ізобутилфеніл)пропіонової кислот з тіокарбоніл-біс-тіогліколевою кислотою. Показано, що зазначена реакція приводить до утворення відповідних похідних 2-тіоксо-4-тіазолідинону. Додатково автором опрацьовано зустрічний синтез названих речовин. В подальшому одержані 2-(2-((2,6-дихлорофеніл)аміно)феніл)-N-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)ацетамід та 2-(4-ізобутилфеніл)-N-(4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл)пропанамід були досліжені як метиленактивні субстрати в реакціях Кньовенагеля. Показано, що взаємодія названих вище сполук з альдегідами різноманітної будови веде до утворення відповідних 5-арил(гетерил)іденпохідних. Автором проведено детальний аналіз спектральних характеристик одержаних речовин, що зокрема дозволило встановити Z-конфігурацію ариліденового фрагменту. Також в рамках даного розділу описано синтез та фізико-хімічні властивості роданін-триазольних та роданін-піразолінових гіbridних похідних з фрагментом диклофенаку, а також (4-оксотіазолідин-5-іліденметил)гідразидів з фрагментами диклофенаку та ібупрофену.

*В четвертому розділі* представлено результати дослідження протизапальної, антитрипаносомної та протиракової активностей синтезованих сполук. Дослідження протизапальної активності 63 синтезованих сполук на моделі карагенінового набряку дозволило як виявити сполуки, що за рівнем фармакологічної дії перевищують препарати порівняння, так і встановити закономірності взаємозв'язку «будова-протизапальна дія». Проведені докінгові дослідження по відношенню до ЦОГ-1, ЦОГ-2, 5-ЛОГ та 5-ліпооксигеназа активуючого протеїну дозволило зробити обґрунтовані припущення стосовно механізму, що лежить в основі прояву протизапальної активності синтезованих сполук. Також для 17 синтезованих сполук проведено дослідження протитрипаносомної активності по відношенню до штаму *Trypanosoma brucei brucei*, за результатами якого виявлено ряд перспективних сполук. За результатами проведеного скринінгу протиракової дії 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}-ацетамід та N'-3-етил-4-тіазолідинон-5-іліденметилгідразид 2-(4-ізобутилфеніл)пропіонатної кислоти ідентифіковано як потенційні

протиракові агенти. Для найбільш активних, за результатами скринінгу протизапальної дії, сполук визначені параметри токсичності.

Загальне враження від дисертації є виключно позитивним, разом з тим, в роботі, як і в будь якому об'ємному дослідженні, присутні типографські помилки, невдалі вислови та фрагменти, що потребують додаткового пояснення.

Зокрема:

1. На стор. 33 автором у вигляді уточнення вказано термін «альдіміни» як синонім до терміну «основи Шиффа». Більш коректним в даному випадку є термін «азометини».

2. На схемі 1.6 (стор. 36) в структурі сполук **8** замісник R помилково замінений на атом Гідрогену.

3. На мою думку термін основи Шиффа некоректно застосовувати по відношенню до сполук **11**, адже зазначені сполуки є гідрозонами гідразидів.

4. На мою думку, при описі синтезу сполуки **21** (стор. 39) автор невдало оперує терміном «реалізація ретросинтетичної схеми». За результатами Ретросинтетичного аналізу встановлюються «сintonii», які б могли бути використані для конструювання молекули та розробляється відповідна схема синтезу, яка реалізується.

5. На схемі 1.38 (стор. 53) представлено методи одержання сполуки **68** за двома методами. Відповідно до схеми метод А передбачає використання Платини у якості катализатора, що не відповідає вмісту цитованої роботи. Насправді представлена циклізація відбувається в умовах електролізу на платиновому електроді.

6. При описі синтезу сполуки **81** (стор. 57) автор використовує термін «гаалогензаміщені бромтолуени», більш коректним є використання терміну «галогензаміщені бензилброміди».

7. На стор. 61 сполуки **94** та **95** описані як ті, в структурі яких поєднано залишок ізоніазиду та оксадіазольний фрагмент, що є не коректним, оскільки саме гідразидний залишок ізоніазиду слугував матрицею для формування оксадіазольного фрагменту. Примітно, що автор цитованої публікації також трактує одержані сполуки як «гібриди ізоніазиду та оксадіазолу».

8. При описі синтезу сполуки **102** (стор. 64, схема 1.62) автором вказано, що одним з проміжних продуктів є похідне бензодіоксану, що є помилковим. В даному випадку мова йде про похідне 1,3-бензоксазину.

9. На схемі 1.66 (стор. 66) допущено помилку у структурі сполуки **109** (відсутній амінний атом Нітрогену).

10. При описі  $^1\text{H}$  ЯМР спектральних даних сполуки 2.12 (табл. 2.3, стор. 85) автором вказано трипротонний квадруплет при 1.21 м.ч. В спектрі сполуки 2.12 квадруплет може відповісти тільки метиленовій групі етоксикарбонільного залишку, але зазначений сигнал має бути двопротонним та реєструватись приблизно при 3.80-4.00 м.ч.

11. При описі  $^1\text{H}$  ЯМР спектральних даних сполуки 2.20 (табл. 2.3, стор. 85) сигнал при 7.32 м.ч. асоційовано з протоном положення 5 тіазольного циклу. Насправді зазначений протон знаходиться в положенні 4 названої гетероциклічної системи.

12. В дисертаційні роботі описано ряд структур, що містять два асиметричних атоми Карбону (2.24, 2.25, 2.57-2.59). Враховуючи, що синтез зазначених продуктів передбачав використання рацемічних сумішей обох вихідних сполук цілком ймовірним є утворення суміші діастереомерів. В той самий час, за текстом дисертації автор не обговорює таку можливість, та не вказує жодних особливостей ВЕРХ-МС та ЯМР- та мас-спектральних властивостей. Також, враховуючи можливість формування діастереомерних пар дискусійним є питання доцільності вивчення продуктів 2.24, 2.25, 2.58 та 2.59 на протизапальну активність.

Зазначені зауваження не є принциповими, та не впливають на, як вже зазначалось, позитивне враження від роботи.

Також, хотілось би почути відповідь автора на наступні питання:

1. При синтезі S-алкільованих похідних 1,3,4-оксадіазол-2-тіолу з фрагментами диклофенаку та ібупрофену в молекулах автором синтезовано 11 похідних з залишком диклофенаку (сполуки 2.4-2.14) та всього 3 похідних з залишком ібупрофену (2.15-2.17). З чим пов'язана вибірковість по відношенню до продуктів модифікації диклофенаку.

2. Враховуючи встановлений наприкінці 20-го сторіччя факт про фармакологічну нееквівалентність енантіомерів ібупрофену, чи вважає автор доцільним подальші дослідження, що б мали за мету синтез та встановлення біологічної активності описаних азагетерил-вмісних похідних на основі індивідуальних оптических ізомерів ібупрофену.

**8. Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці.** Розроблені автором підходи до створення нових біологічно активних речовин на основі комбінування залишків відомих протизапальних лікарських препаратів та азагетероциклічних фрагментів можуть

бути використані науковими групами, що займаються розробкою інноваційних лікарських препаратів. Для 2-[2-(2,6-дихлорофеніламіно)-феніл]-N-{5-[3-(нафтіл-2)-5-(4-метоксифеніл)-4,5-дигідропіразол-1-ілметилен]-4-оксо-2-тіоксотіазолідин-3-іл}-ацетамід та N'-3-етил-4-тіазолідинон-5-ілidenметилгідразид 2-(4-ізобутилфеніл)пропіонатної кислоти, що були ідентифіковані як перспективні протипухлинні агенти, рекомендується провести поглиблені дослідження з метою їх можливого впровадження в медичну практику. окремі результати дисертаційного дослідження рекомендується впровадити до навчального процесу при викладанні таких дисциплін як органічна хімія, медична хімія, фармацевтична хімія.

#### **9. Висновок про відповідність дисертації вимогам положення.**

Узагальнення наведеного вище дозволяє зробити висновок, 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 завершеною науковою працею і за рівнем актуальності, обсягом проведених досліджень, науковою новизною, теоретичною і практичною цінністю одержаних результатів, ступенем обґрунтованості наукових положень, повнотою висвітлення одержаних результатів у фахових виданнях повністю відповідає вимогам Порядку присудження наукових ступенів, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України 567 від 24.07.2013 р. (із змінами, внесеними згідно з постановами № 656 від 19.08.2015 р. і № 1159 від 30.12.2015 р.) та вимогам, які ставляться до дисертаційних робіт на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02, а її автор Шепета Юлія Леонідівна заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент

доцент кафедри органічної  
і біоорганічної хімії Запорізького  
державного медичного університету,  
д-р., фарм. н., доц.



ПІДТВЕРДЖУЮ  
відділу кадрів Запорізького  
державного медичного університету  
20 \_\_\_\_ р. Підпис

О.Ю. Воскобойнік