

Відгук

офіційного опонента завідувача кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету, доктора фармацевтичних наук, професора Георгія Вікторії Акіпівни на дисертаційну роботу Юшина Ігоря Михайловича на тему «Синтез та біологічна активність похідних тiazолідину з піразоліновим фрагментом у молекулах», подану до спеціалізованої вченої ради ДФ 35.600.060, створену згідно з наказом ректора Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація»

Актуальність теми. Сучасні підходи фармацевтичної хімії у цілеспрямованому пошуку нових потенційних АФІ дозволяють вирішити багато питань, що раніше вирішувались лише емпіричним шляхом і могли бути підтверджені тільки за результатами клінічних випробувань. Серед найбільш надійних – структурна модифікація відомих АФІ або доведено активних речовин з використанням гібрид-фармакофорного підходу та залученням штучного інтелекту. Трендом сучасних досліджень у медичній хімії є структурна модифікація з одержанням гібридних молекул, що поєднують декілька фармакофорів. За рахунок цього можна або розширити спектр фармакологічної дії або підвищити її, підвищити вибірковість токсичності, поліпшити фармакокінетичні властивості тощо.

Безсумнівно важливим на сьогодні є пошук нових хіміотерапевтичних агентів. Основні їх групи – протипухлинні та антибактеріальні препарати потребують постійного пошуку та оновлення. Для антимікробних препаратів це пов'язано у першу чергу з антибіотикорезистентністю. Крім того, іноді (як, наприклад, під час пандемії) критично зростає попит на лікарські засоби з цієї групи або виявляється необхідність їх включення до певних протоколів лікування. Що стосується проблеми онкозахворювань, то за думкою більшості науковців саме таргетна та персоналізована хіміотерапія відкриє нові можливості у боротьбі з різними видами раку. І якщо для розвитку персоналізованої медицини та фармації важливим фактором є політична воля, то новітні засоби для хіміотерапії є необхідною умовою реалізації цієї волі. Саме включення в сучасні протоколи хіміотерапії раку новітніх засобів вже подовжило життя та його якість сотням тисяч пацієнтів. Великі інтернаціональні команди науковців напружено працюють над пошуком та створенням таких засобів. Кожного року відомі представники великої фарми виводять на ринок десятки нових ліків. Вже з початку 2023 року FDA ухвалила застосування низки протипухлинних засобів вперше або для нових видів раку, наприклад zanubrutinib (Brukinsa, BeiGene USA, Inc.), pembrolizumab (Keytruda, Merck), irtobrutinib (Jaypirca, Eli Lilly and Company), elacestrant (Orserdu, Stemline Therapeutics, Inc.), sacituzumab govitecan-hziy (Trodelvy, Gilead

Sciences, Inc.), abemaciclib (Verzenio, Eli Lilly and Company), комбінація dabrafenib (Tafinlar, Novartis) з trametinib (Mekinist, Novartis) рекомендована для застосування в педіатричній практиці для пацієнтів від 1 року.

З огляду на публікації науковців Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького наукова група проф. Лесика Р.Б. у співробітництві з відомими групами науковців Польщі, Австрії, Франції плідно працює в цьому напрямку і вже одержала ряд вражаючих результатів, що свідчить про перспективність пошуку протиракових засобів в ряду похідних тiazолідинону шляхом різнобічних хімічних модифікацій найбільш активних речовин. Таким чином, заплановані та проведення дослідження є актуальними як з точки зору обраного напрямку досліджень, так і з огляду на запропоновану методологію.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом комплексної науково-дослідної роботи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (державна реєстрація 0116U004500, 0121U107504).

Наукова новизна одержаних результатів. У рецензованій роботі уперше описано спрямований синтез гібридних піразолін/тіазолідонових молекул як потенційних АФІ для хіміотерапії онкологічних захворювань та бактеріальних інфекцій. Оригінальним є підхід і до дизайну досліджень – кожній хімічній модифікації передують обґрунтування можливих напрямків та доцільності з огляду на хіміотерапевтичний потенціал та наявні відомості щодо активності та методів синтезу структурних аналогів.

В ході реалізації завдань дисертаційної роботи уперше досліджено шляхи одержання антипірилзаміщених біциклічних тіазолідонових та 1,3,4-тіадіазолів з 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазидом; нові неконденсовані 5-заміщені 4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]-5*H*-тіазол-2-они, конденсовані піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-они/тіони. Цікавими і оригінальними є дослідження з синтезу гібридів, що містять 3 фармакофорні гетероцикли – піразолін, тіазол, та піридин, а також відповідних аддуктів Міхаеля. Для синтезу нових тіопірано[2,3-*d*]тіазолів здійснено оригінальні хімічні перетворення піразолінвмісних дієнофілів в умовах реакції *гетеро*-Дільса-Альдера, а також взаємодією 4-тіоксо-2-тіазолідинону з 5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-карбальдегідом в умовах реакції Кньюенагеля. На основі 5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-карбальдегідом також одержано раніше не описані тієно[2,3-*c*]піразоли. В процесі виконання дисертаційної роботи автором синтезовано 70 нових речовин.

Для синтезованих речовин уперше встановлено високий рівень протиракової, протимікробної та протигрибкової активності. Виявлено 20 сполук-хітів, що рекомендовані для поглибленого вивчення.

Практичне значення одержаних результатів. Запропоновані дисертантом препаративні методики синтезу нових піразолілзаміщених тiazолідинонів, тіопірано[2,3-*d*]тіазолів, піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-онів/тіонів, 1,3,4-тіадізолів та тієно[2,3-*c*]піразолів можуть бути використані для синтезу подібних сполук та їх модифікації. Слід відзначити високі виходи більшості з синтезованих речовин, широке використання мультикомпонентних однореакторних синтезів та доволі м'які умови одержання цільових продуктів, що дозволяє віднести запропоновані методики до «зелених» та перспективних для масштабування. Спектральні характеристики синтезованих речовин та дані рентгеноструктурного аналізу поповнюють світову бібліотеку даних щодо властивостей хімічних речовин. Виявлені серед синтезованих речовин сполуки-хіти мають потенційне значення як оригінальні перспективні АФІ хіміотерапевтичного спрямування.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій дисертації, їх достовірність. Наукові положення, висновки і рекомендації, сформульовані в дисертаційній роботі є обґрунтованими і достовірними, а експеримент, з якого вони витікають, – добре спланованим, структурованим і достатнім. На підставі того факту, що дисертант в своїй роботі використовував загальноприйняті наукові підходи до синтезу та дослідження біологічно активних речовин, а для доведення їх будови – сучасні фізико-хімічні методи аналізу, одержані в ході дисертаційних досліджень результати не викликають сумнівів. Слід відзначити широке і доречне використання найбільш сучасних та надійних методів для доведення будови та чистоти синтезованих речовин – рентгеноструктурного аналізу, ЯМР-спектроскопії, в тому числі двомірної, хроматомас-спектрометрії.

Повнота викладення дисертації в опублікованих працях. Виконані експериментальні дослідження достатньо широко представлені науковій спільноті у вигляді публікацій. Про високий рівень проведення досліджень свідчить публікація результатів у авторитетних виданнях, що індексуються базою даних Scopus та/або Web of science, зокрема, *Molecules* (Q1), *Journal of Molecular Structure* (Q2), *Letters in Drug Design & Discovery* (Q3), *MolBank* (Q4, 2 статті). Ще 1 стаття опублікована у фаховому виданні України, що відноситься до категорії Б. Дисертацію було представлено громадськості на вітчизняних і міжнародних конгресах та конференціях (в тому числі 5 – з усними доповідями), про що свідчать 11 публікацій в їх матеріалах.

Зауваження щодо змісту та оформлення дисертації. Дисертація викладена на 237 сторінках друкованого тексту (обсяг основного тексту - 162 сторінки). Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, чотирьох розділів власних досліджень, висновків, списку використаної літератури та додатків. Робота ілюстрована 35 таблицями та 168 рисунками. Список використаних джерел містить 192 найменувань.

У *першому* розділі автором надано критичний аналіз інформації, наведеної в науковій літературі щодо підходів до синтезу та результатів дослідження фармакологічної/біологічної активності гібридних/конденсованих гетероциклічних систем, що включають піразолін та тiazолідин, а також їх прекурсорів. Слід зазначити, що саме ґрунтовний аналіз наукових результатів в цьому напрямку дозволив спланувати синтетичні підходи до одержання цільових продуктів, а також визначити вектори фармакологічних/біологічних досліджень.

Другий розділ містить результати експериментальних досліджень з синтезу та хімічних перетворень неконденсованих гетероциклічних молекул на основі піразолінвмісних тiazолідинів. Імпонує, що всі хімічні модифікації попередньо обґрунтовані з точки зору медичної хімії та сплановані з позицій класичного органічного синтезу. Наведені перетворення є послідовними і кропіткими, в ряді випадків їх результат є неочікуваним. Автором дискутується механізми та утворення продуктів 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазиду у реакціях [2+3]-циклоконденсації з монохлороцтовою кислотою та у однореакторному синтезі з монохлороцтовою кислотою та ароматичними альдегідами; 3-антипірилзаміщеного (Z)-3-аміно-2-(4-оксотiazолідин-2-іліден)гідразиніліден)тiazолідин-4-ону з алілсаліциловим альдегідом в середовищі оцтової кислоти, в результаті чого одержано нові речовини. Реалізація іноді непередбачуваних і дискусійних напрямків хімічних перетворень та запропонованих механізмів надійно підтверджується рентгеноструктурним аналізом. Дисертантом проведено ряд перетворень, що ґрунтуються на реакційній здатності активної метиленової групи 4-[(3-метил-1H-піразол-5-іл)аміно]-5H-тiazол-2-ону, зокрема в реакціях Кньовенагеля, реалізовано препаративний синтез цього ключового інтермедіату з ізороданіну. Встановлено, що продукти конденсації Кньовенагеля - 5-ариліден 4-[(3-метил-1H-піразол-5-іл)аміно]-5H-тiazол-2-они можна одержати з кращим виходом трьохкомпонентною однореакторною реакцією ізороданіну, піразолінового аміну та ароматичного альдегіду. Для реалізації біоізоостерної заміни була здійснена спроба делокалізації подвійного зв'язку у положенні 5 тiazолідинового ядра (5-енового зв'язку) у похідного роданіну з 5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-оновим фрагментом з метою порівняльного дослідження залежності структура – біологічна активність. Проте за різних температурних режимах в результаті реакції одержано 4-(5-гідрокси-3-метил-1-феніл-1H-піразол-4-ілметилен)-5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-он.

Комплексом фізико-хімічних досліджень з залученням рентгеноструктурного аналізу доведено що 5-(4-бромобензиліден)-4-[(3-метил-1H-піразол-5-іл)аміно]-5H-тiazол-2-он існує у вигляді аміноформи як в кристалічному стані, так і в розчині, а для 4-((5-гідрокси-3-метил-1-феніл-1H-піразол-4-іл)метил)-3-метил-1-феніл-1H-піразолін-5-ону характерна прототропна таутомерія, а також є наявність у кристалі двох таутомерних форм, що знаходяться в динамічній рівновазі.

Третій розділ присвячено хімічній модифікації тiazолідинової матриці у піразолін-тіазолідинових гібридах з одержанням споріднених гетероциклічних структур - тіазольної та тіадіазольної. Така модифікація є вельми привабливою з точки зору фармакофорного підходу.

Цільові тіазол-піразолінові кон'югати та аддукти Міхаеля синтезовано з (*E*)-3-(2-фторфеніл)-1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-2-пропен-1-ону, що в свою чергу одержано в результаті конденсації Кляйзена-Шмідта 1-[4-метил-2-(2-піридиламіно)-тіазол-5-іл]-етанону з 2-фторобензальдегідом. Дисертантові вдалося збільшити вихід продукту застосуванням як каталізатора *трет*-бутилату калію в середовищі етанолу. Аддукт Міхаеля також переведено у водорозчинний метансульфонат. Спектроскопією ЯМР та рентгеноструктурним аналізом доведено транс-конфігурацію подвійного зв'язку та існування сполук у формі *E*-ізомерів.

Тіадіазол-піразолінові/піразольні гібриди синтезовано відповідно селективним каталітичним *S*-алкілюванням 5-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-тіолу 2-хлоро-1-[3-(4-метоксифеніл)-5-феніл-3,4-дигідропіразол-2-іл]етаном, а також взаємодією 4-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенілпіразол-4-іл)тіосемікарбазиду з еквімолярною кількістю CS₂ з подальшим алкілюванням одержаного гібридного продукту 2-хлоро-*N*-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідробензотіофен-2-іл)ацетамідом.

У *четвертому розділі* описано синтез конденсованих гетероциклічних систем з використанням функціоналізованих похідних піразоліну та тіазолідину. Тіопірано[2,3-*d*]тіазоли синтезовано реакцією *гетеро*-Дільса-Альдера на основі піразолінвмісних дієнофілів. Сплановано та реалізовано стратегію синтезу 3-метил-1-фенілпіразоло[4',3':5,6]тіопірано[2,3-*d*]тіазол-6(1*H*)-ону та піразоло[3,4-*b*]тіазоло[5,4-*e*]піридин-6-онів/тіонів.

П'ятий розділ містить обговорення результатів дослідження біологічної активності синтезованих речовин (протиракової, протимікробної, протигрибкової, протизапальної). Ці результати повною мірою підтверджують адекватність обраних дисертантом критеріїв для спрямованого синтезу біологічно активних сполук на основі піразолін-тіазолідинонів. За результатами біологічних випробувань ідентифіковано високоактивні сполуки з групи 5-(1,3-дифенілпіразол-4-іліден)заміщених 4-азолідинонів з найкращою цитотоксичною дією на окремі ракові клітини, серед яких клітинні лінії Jurkat Т-лейкозу людини володіють найбільшою чутливістю до окремих молекул з задовільними індексами селективності дії. Встановлено, що (5*Z*)-5-[(4-фторофеніл)метилен]-4-[(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)аміно]тіазол-2-он має виражену цитотоксичну дію на клітини ліній MCF-7 (карциноми молочної залози людини) і Jurkat (Т-лейкозу людини), ідентифіковано високоактивну молекулу (4-[[2-[1-(2-фторофеніл)-3-[4-метил-2-(2-піридиламіно)тіазол-5-іл]-3-оксопропіл]сульфанілацетил]аміно]бензоат) з суттєвим цитотоксичним впливом на клітинні лінії лейкемії, недрібноклітинного рак легень, меланому, раку нирки та молочної залози, методом *in silico* встановлено, що зазначена сполука є потенційним інгібітором PAPR1/2 та індуктором апоптозу. 5-(1,3-дифеніл-1*H*-піразол-4-ілметилен)-2,4-тіазолідиндіон проявив активність щодо

грампозитивного референтного штаму *Staphylococcus aureus*, а також найкращу дію щодо грибків роду *Sacharomyces cerevisiae* та статистично достовірно індукував ріст мікроорганізмів-продуцентів протизапальних агентів (бутират та інші), таких як *Blautia*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Succinivibrionaceae*, *Coriobacteriales*, що свідчить про його непряму протизапальну дію.

Дисертантом встановлено окремі закономірності впливу зв'язку визначеної активності з хімічною структурою речовин.

Дисертаційна робота написана сучасною науковою мовою, логічно викладена та добре структурована. Висновки відповідають завданням та змісту дисертаційної роботи. Під час рецензування дисертаційної роботи порушень академічної доброчесності (фабрикації, фальсифікації) виявлено не було.

Загальна оцінка роботи безумовно є позитивною. Тим не менш в процесі ознайомлення з роботою виникли окремі зауваження:

1. В роботі зустрічаються окремі друкарські помилки, калька з іноземних термінів (субституент, стартовий реагент), неоднорідна хімічна термінологія (діетиловий ефір/етер).

2. Розподіл досліджень на розділи є логічним, але нерівномірним. Розділ 2 на мою думку є завеликим. Можливо, сприйняття інформації могло б полегшити об'єднання деяких підрозділів та схем, перенесення у додатки або в опис експериментів спектральних характеристик.

3. З огляду літератури впливає перспективність пошуку протидіабетичних засобів в ряду тiazолідин-піразолінових похідних. Логічно було б провести *in silico* дослідження синтезованих речовин на відповідних мішенях для виявлення або спростування такого їх потенціалу.

4. На мою думку роботу прикрасило б проведення QSAR-досліджень. Наведені зауваження скоріш носять редакційний характер і жодним чином не впливають на високу оцінку дисертаційної роботи.

На обговорення у науковій дискусії виносяться такі запитання:

1. Чи не спостерігали Ви наявність поліморфізму для синтезованих речовин?

2. Як здійснювався відбір сполук для скринінгу? Чи досліджували водорозчинну сіль? Які основні закономірності структура - активність Ви спостерігали для сполук, що виявили протиракову та протимікробну активність?

3. Якими Ви бачите подальші перспективи та напрямки досліджень в ряду споріднених гібридних гетероциклічних структур?

Рекомендації щодо використання результатів дослідження.

Запропонована дисертантом методологія поетапної хімічної модифікації похідних тiazолідінону та його структурних аналогів з метою одержання гібридних молекул з потенційною протираковою та антимікробною активністю створює перспективи оптимізації подальших досліджень в цьому

напрямку. Розроблені ефективні препаративні здебільшого «зелені» методики синтезу, що забезпечують високі виходи та прийнятну «фармацевтичну» чистоту цільових продуктів, є корисними для науковців, що працюють в галузі медичної хімії та органічного синтезу. Результати вивчення протиракової та антимікробної активності, вивчення *in silico* потенційного механізму протипухлинної дії можуть стати фрагментами освітнього та наукового процесу для студентів ЗВО.

Висновок

За результатами аналізу дисертаційної роботи Юшина Ігоря Михайловича на тему «Синтез та біологічна активність похідних тiazолідину з піразоліновим фрагментом у молекулах», наукових публікацій, в яких висвітлені основні її положення, можна зробити висновок, що за обсягом проведених досліджень, актуальністю, науковою новизною, практичною значимістю, ступенем обґрунтованості наукових положень та висновків вона відповідає вимогам до оформлення дисертацій, затверджених наказом Міністерства освіти та науки № 40 від 12.01.2017 р. та вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44, а її автор Юшин Ігор Михайлович заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація, галузь знань 22 – Охорона здоров'я.

Офіційний опонент

Завідувач кафедри фармацевтичної
хімії Національного фармацевтичного
університету
доктор фармац. наук, професор



Вікторія ГЕОРГІЯНЦ

Підпис В.А.Георгіянц засвідчую
Провідний фахівець з кадрової роботи
відділу кадрів НФаУ




Віра ДВЕРНИЦЬКА