

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Сича Ігоря Володимировича «Синтез, хімічні та біологічні властивості 5-заміщених похідних 2-тіо(аміно)-1,3,4-тіадіазолу»**, що представлена до спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті 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. Пошук нових лікарських засобів є нагальною потребою сучасної медичної науки, отже, будь-які системні дослідження, метою яких є створення нових високоефективних препаратів, здатних конкурувати з нині існуючими, є актуальними. Дисертаційна робота Сича І. В., яка належить саме до таких досліджень, присвячена пошуку потенційних лікарських субстанцій на основі базових молекул 5-заміщених похідних 2-тіо(аміно)-1,3,4-тіадіазолу. Загальновідомо, що робота по створенню нових лікарських препаратів є комплексною та довготривалою та включає багато етапів, кожен з яких є самостійним дослідженням. За останні роки опублікована серія робіт, в яких доведено, що завдяки різноплановим хімічним властивостям 1,3,4-тіадіазольного фрагменту, його поєднання в одній молекулі з іншими гетероциклами та ароматичними фрагментами є доцільним для подальшого цілеспрямованого пошуку нових ефективних БАР. Зазначена дисертаційна робота виконана у відповідності з планом проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України і є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Молекулярний дизайн і цілеспрямований синтез нових біологічно активних органічних речовин і їх фокусованих комбінаторних бібліотек» (№ державної реєстрації НДР: 0114U000944).

2. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дослідження є добре спланованим, вдало вибрані вихідні сполуки синтезу, що стало запорукою успішного виконання дисертаційної роботи. Мета роботи і постановка завдань для вирішення цієї мети чітко сформульовані та аргументовані. Сукупність хімічних перетворень, спектральних характеристик та хроматографічних даних переконливо підтверджує будову та індивідуальність синтезованих сполук. Достовірність одержаних автором результатів фармакологічних досліджень не викликає сумніву, враховуючи, що використано загальноприйняті і коректні підходи до встановлення біологічних і фармакологічних властивостей синтезованих сполук. Усі

наукові положення і висновки ґрунтуються на результатах теоретичних та експериментальних досліджень, сформульовані дисертантом чітко, коректно і лаконічно, є науково обґрунтованими та відповідають змісту наведеного матеріалу.

3. Новизна дисертаційних досліджень. Одержані дисертантом результати, наведені у вступній частині, висновках до кожного експериментального розділу, а також у загальних висновках дисертації відповідають критеріям новизни в області органічної, фармацевтичної хімії в ряду 5-заміщених похідних 2-тіо(аміно)-1,3,4-тіадіазолу і засвідчують високий науковий рівень рецензованої роботи. Наукова новизна роботи не викликає сумнівів. Хотілось би відмітити декілька принципових моментів новизни рецензованого дослідження.

- В процесі виконання роботи за допомогою класичних та удосконалених методів синтезу одержано 81 нову сполуку, будову та індивідуальність яких встановлено сучасними фізико-хімічними методами.
- Вперше досліджено протисудомні, діуретичні, антимікробні та антигрибкові властивості нових, не описаних в літературі синтезованих сполук.
- У результаті реалізації рецензованого наукового проекту ідентифіковано високоактивну молекулу N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензамід для поглибленого вивчення як потенційний прототип протисудомного лікарського засобу (патент України на винахід №UA117931C2 від 25/10/2018).
- Встановлено якісні і кількісні закономірності зв'язку «структура-активність» в ряду синтезованих 5-заміщених похідних 2-тіо(аміно)-1,3,4-тіадіазолу як потенційних протисудомних засобів. На основі QSAR-аналізу запропоновано рекомендації щодо раціонального дизайну потенційних антиконвульсантів з групи похідних 1,3,4-тіадіазолу.
- Розроблено оригінальні методики якісного та кількісного аналізу перспективної сполуки протисудомної дії, які можуть бути використані в подальшому при підготовці аналітичної нормативної документації.

В пошуках шляхів досягнення поставленої мети дисертантом виконано великий обсяг патентно-пошукових, синтетичних, аналітичних робіт, а також обробку та систематизацію результатів фармакологічних дослідів. Фармакологічні випробовування цілком підтвердили сподівання щодо правильності вибору об'єктів дослідження, серед нових синтезованих 5-заміщених похідних 2-тіо(аміно)-1,3,4-тіадіазолу ідентифіковано 5 “сполук-хітів” з протисудомною, діуретичною, антимікробною та антигрибковою активностями.

4. Теоретичне значення результатів дослідження. Одержані автором результати мають теоретичне значення в галузях медичної, органічної та фармацевтичної хімії. Теоретичне значення мають результати синтетичних досліджень, адже автором опрацьовано методики синтезу багатьох класів

сполук. В роботі наведено теоретичне узагальнення експериментального синтетичного матеріалу і даних біологічного скринінгу, в результаті чого запропонована бібліотека біологічно активних сполук та ідентифіковано «сполуку-лідер» протисудомної дії. Особливу цінність становлять результати аналізу взаємозв'язку «структура-дія». Одержані дані можуть бути використані для цілеспрямованого синтезу нових високоєфективних протисудомних препаратів.

5. Практичне значення результатів дослідження. В роботі наведено систематичне дослідження фізичних, хімічних та біологічних властивостей нових похідних 1,3,4-тіадіазолу, а саме: 2-(R-аміно)-5-R-1,3,4-тіадіазолів; 2-N-феніламіно-5-(R)-1,3,4-тіадіазолів; 2-N(R)-5R¹-1,3,4-тіадіазол-2-іл-арилсульфонамідів; амідів 5-(R-аміно)-1,3,4-тіадіазол-2-іл-тіоацетатної кислоти; 5-феніламіно-1,3,4-тіадіазол-2-ілтіо-1-фенону; 5-R-(арил)ациламіно-1,3,4-тіадіазол(3H)-2-тіонів; анілідів 5-R-феніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл-тіоацетатної кислоти; анілідів 5-(R)-ациламіно-1,3,4-тіадіазол-2-ілтіоацетатної кислоти; етилового естеру 5-(R)-ациламіно-1,3,4-тіадіазол-2-ілтіоацетатної кислоти як потенційних біоактивних агентів. Зазначені сполуки є новими, цікавими реагентами для досліджень в хімії гетероциклічних сполук. Виявлено ряд нових високоактивних сполук з перспективною протисудомною активністю. Ідентифіковано потенційний лікарський засіб протисудомної дії, для якого проведено ряд поглиблених доклінічних досліджень. Запропоновані методи контролю якості перспективної сполуки можуть бути використані для подальшої фармацевтичної розробки.

В роботі було вперше визначено набір найбільш інформативних дескрипторів для похідних 2,5-дизаміщених 1,3,4-тіадіазолів та запропоновано математичну модель прогнозування протисудомної дії для сполук цього ряду, що має практичне значення для створення нових лікарських засобів. Фрагменти роботи впроваджено в навчальний та науковий процеси ряду ВНЗ та науково-дослідних установ України та Болгарії.

6. Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях. Результати дисертаційного дослідження повною мірою відображено у 6 статтях у наукових фахових виданнях, з них 2 – в іноземних виданнях, представлено на 12 наукових зібраннях з актуальних питань органічної та фармацевтичної хімії різних рівнів. За результатами дисертаційної роботи одержано патент України на винахід. Вважаю, що опубліковані результати достатньо повно відображають зміст дисертаційної роботи.

7. Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації та автореферату, завершеності дисертації в цілому. Дисертаційна робота викладена на 204 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 160 сторінок друкованого тексту.

Робота ілюстрована 39 таблицями, 23 рисунками та 50 схемами. Список використаних джерел містить 185 найменувань, з них 32 кирилицею та 153 латиницею. Автореферат дисертації як за структурою, так і за змістом відповідає основним положенням дисертації. Мовний стиль дисертації відповідає сучасним філологічним нормам, характеризується якісним представленням використаних формул, змістовністю табличного і графічного матеріалу.

Перший розділ (літературний огляд) під назвою "**Методи синтезу, біологічна активність та реакційна здатність похідних 1,3,4-тіадіазолу**" є самодостатнім науково-пошуковим дослідженням, що досить вичерпно розкриває сучасний стан: а) існуючих методів синтезу 1,3,4-тіадіазольного циклу; б) даних останніх років щодо фармакологічної дії зазначеного класу сполук; в) даних по обговоренню реакційної здатності і хімічних перетворень похідних 1,3,4-тіадіазолу. Вказані позиції літературного огляду добре скомпоновані і складають необхідне літературне підґрунття для синтетичних розділів роботи. Автор наголошує на надзвичайно широкому спектрі біологічних властивостей, що характерно для похідних 1,3,4-тіадіазолу та перспективності подальшого пошуку фармакологічних агентів серед приведеного вище класу сполук.

Другий розділ «Синтез та фізико-хімічні властивості 2-N-заміщених -5-(R)-1,3,4-тіадіазолів» присвячений розробці методів синтезу ряду сполук приведеного вище класу та дослідженню їх спектральних характеристик. Шляхом циклізації тіо(фенілтіо)семікарбазиду та аліфатичних карбонових кислот одержано ряд 2-аміно-5-(R)-1,3,4-тіадіазолів та 2-N-феніламіно-5-(R)-1,3,4-тіадіазолів як базових блоків для подальших хімічних перетворень. Взаємодією вихідних сполук 2-аміно-5-R-1,3,4-тіадіазолів в середовищі б/в піридину з ди- та тризаміщеними арилсульфохлоридами був одержаний ряд 2-R¹-N(5-R)-1,3,4-тіадіазол-2-іл-арилсульфонамідів як перспективних БАР діуретичної та антимікробної дії. Хімічна модифікація модельної сполуки 2-аміно-5-етил-1,3,4-тіадіазолу проведена ацилюванням хлорангідридами арил(алкіл) заміщених кислот. Ґрунтуючись на даних літератури, які свідчать про високу антимікробну та протигрибкову активність сполук, в структурі яких присутній 1,3,4-тіадіазольний цикл, автором розроблено методику синтезу гетероциклічних структур, що поєднують у своїй будові два 1,3,4-тіадіазольних цикли з метою одержання синергічного ефекту. Ацилюванням базових структур 2-аміно-5-(R)-1,3,4-тіадіазолів хлорангідридами гетерилзаміщених кислот одержані поліядерні гетероциклічні структури, що містять поряд з 1,3,4-тіадіазольним циклом 1,2,3-тріазолу як перспективні антиконвульсанти.

В третьому розділі «Синтез та фізико-хімічні властивості 5-R-ацил(арил)аміно-1,3,4-тіадіазол (3H)-2-тіонів та дослідження реакцій їх алкілювання» можна виділити два напрямки досліджень: одержання амідів 5-R-феніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл-тіоацетатної кислоти та одержання

поліядерних гетероциклічних структур 1,3,4-тіадіазольного ряду. Автором описаний метод препаративного одержання ряду вихідних речовин 5-R-ацил(арил)аміно-1,3,4-тіадіазол (3H)-2-тіонів, реакцій їх алкілування та одержання анілідів 5-R-феніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл-тіоацетатної кислоти. В рамках даного розділу автором також проведено дослідження алкілування трьох модельних сполук 5-R-ариламіно-1,3,4-тіадіазол-2-тіонів амідами хлорацетатної кислоти та α - хлорацетофеноном в умовах лужного каталізу. Безсумнівним здобутком автора є ефективна і малостадійна синтетична стратегія побудови поліядерних гетероциклічних структур 1,3,4-тіадіазольного ряду, що містять у своїй структурі фуран, тіофен, 1,2-оксазол, шляхом циклізації N-гетерилзаміщених тіосемікарбазидів з дисульфідом карбону та подальшого алкілування одержаних напівпродуктів. Побудова розділу є досить чіткою і сприймається легко. Всі синтетичні дослідження, наведені у 2 та 3 розділах, супроводжуються доведенням структури одержаних речовин спектральними методами.

Четвертий розділ «Обговорення результатів біологічної активності синтезованих сполук» є дуже важливим для загальної оцінки роботи, бо після ознайомлення з ним стає зрозумілим, що поставлена автором мета досягнута, оскільки цілеспрямований синтез в певній групі речовин привів до виділення ефективних біологічно активних речовин протисудомної, діуретичної, протимікробної та протигрибкової дії. Слід зазначити, що результати фармакологічних досліджень свідчать про успішність проведеного автором цілеспрямованого синтезу. За результатами фармакологічного скринінгу синтезованих 2,5-дизаміщених похідних 1,3,4-тіадіазолу виявлена 1 сполука з високою антимікробною активністю та 9 сполук, що мають чутливість по відношенню як до грампозитивних, так і до грамнегативних бактерій, 10 сполук з помірною протигрибковою активністю, сполука з вираженою діуретичною та 14 сполук з високою протисудомною дією, серед яких виявлено 3 «сполуки-хіти». Результати біологічних випробувань досліджуваних сполук, що були співставлені в межах регресійного аналізу, дозволили визначити параметри, що найбільш адекватно відображують залежність «структура-протисудомна дія» в ряду досліджуваних 2, 5-дизаміщених 1,3,4-тіадіазолів. Дисертантом отримано ряд статистично вірогідних QSAR-моделей, що призначені для доекспериментального прогнозування ефективних антиконвульсантів в ряду 5-заміщених похідних 2-(R-аміно)-1,3,4-тіадіазолу. За результатами проведених біологічних випробувань, як новий потенційний антиконвульсант, рекомендовано N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)- 2-нітробензамід, протисудомна активність якого статистично достовірно перевищує активність референс препарату Депакіну. Автором проведений комп'ютерний прогноз, за результатами якого перспективна сполука відноситься до 4 класу токсичності. Отримані дисертантом результати молекулярного докінгу

«сполуки-лідера» до судомних біомішеней свідчать на користь ГАМК-ергічного механізму дії.

Розділ 5 «Розробка методик контролю якості N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензаміду як перспективної субстанції протисудомної дії» присвячений розробці методів ідентифікації та кількісного визначення субстанції N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензаміду. Дисертант не обмежився синтезом біологічно активних речовин, а виконав також дослідження необхідні для подальшого впровадження найбільш активної речовини як потенційного лікарського препарату. З цією метою ним було розроблено проект МКЯ на перспективну субстанцію відповідно до вимог Державної Фармакопеї України.

Дисертація оформлена відповідно до вимог до кандидатських дисертацій, а зміст автореферату є ідентичним основним положенням дисертації. Загальна оцінка роботи є позитивною. При розгляді дисертаційної роботи виникли деякі зауваження та рекомендації:

➤ у таблицях 2.2, 2.4, 2.8 при доведенні будови ароматичних протонів мультиплетні сигнали повинні бути інтерпретовані точніше, тобто варто наводити систему синглетів, дублетів та триплетів. Окрім того, потрібно наводити константи спін-спінової взаємодії;

➤ для «сполуки-лідера» необхідно було вивчити токсичність *in vivo*, а необмежуватись результатами комп'ютерного прогнозування, до того ж доцільно було навести гостру токсичність препарату порівняння Депакіну;

➤ вважаю недоцільним введення спектроскопії ^1H ЯМР до МКЯ, оскільки цей метод сьогодні є недоступним для рутинного фармацевтичного аналізу на виробництві;

➤ в таблиці 2.3 наведені дуже низькі (54-57%) виходи 2-R¹-N(5-R)-1,3,4-тіадіазол-2-іл-арилсульфонамідів, можливо варто було б спробувати змінити умови проведення реакції з метою підвищення виходів цільових продуктів;

➤ напрямок реакції алкілування тіонів **3.03 {1-3}** (Схема 3.2) більш переконливо можна було б довести з використанням рентгеноструктурного аналізу;

➤ в якості побажання, хочу також звернути увагу автора на найбільш ефективні сполуки протисудомної дії **3.09 {3}** та **2.08 {7}**, які за рівнем своєї активності практично не поступаються «сполуці-лідеру», вони також можуть бути перспективні для подальших досліджень;

На додаток до зроблених раніше зауважень слід зазначити наявність в тексті окремих невдалих висловів та стилістичних помилок. Однак, зазначені недоліки легко усунути, вони мають окремий характер і не впливають на основні висновки та положення роботи та на загальну оцінку роботи, яка є позитивною.

8. Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в 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 високоактивної сполуки, а саме N-(5-етил-[1,3,4]тіадіазол-2-іл)-2-нітробензаміду з протисудомною активністю необхідно провести поглиблені доклінічні дослідження, а результати вивчення взаємозв'язку «структура-дія» використати для оптимізації «сполуки-лідера». Результати досліджень впровадити до навчального процесу при викладанні таких дисциплін, як органічна хімія, медична хімія та фармацевтична хімія.

9. Висновок про відповідність дисертації вимогам положення.
Узагальнюючи приведене вище можна зробити висновок, що дисертаційна робота Сича Ігоря Володимировича «Синтез, хімічні та біологічні властивості 5-заміщених похідних 2-тіо(аміно)-1,3,4-тіадіазолу» є завершеною науковою працею і за актуальністю та об'ємом виконаних досліджень, новизною одержаних результатів, їх теоретичним та практичним значенням, ступенем обґрунтованості наукових положень повністю відповідає вимогам до кандидатських дисертацій, а її автор, Сич Ігор Володимирович, заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент

доктор фармацевтичних наук, професор
завідувач відділу медичної хімії ДУ «Інститут
фармакології та токсикології НАМН України»

А.М.Демченко

