

ВІДГУК

офіційного опонента

**на дисертаційну роботу Драпак Ірини Володимирівни
«Цілеспрямований пошук біологічно активних речовин на основі
п'ятичленних гетероциклів та споріднених гетероциклічних
систем для лікування серцево-судинних захворювань»,
поданої до спеціалізованої вченої ради Д 35.600.02 при
Запорізькому державному медичному університеті
на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук
за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія
(226- фармація, промислова фармація, 22- охорона здоров'я)**

1. Актуальність теми дисертаційної роботи та її зв'язок з державними і галузевими програмами, пріоритетними напрямками розвитку науки та техніки. Дисертаційна робота Драпак Ірини Володимирівни присвячена цілеспрямованому пошуку нових біологічно активних субстанцій. На сучасному етапі розвитку пошук та розробка нових лікарських засобів є високотехнологічним та мультидисциплінарним процесом, який вимагає залучення широкого комплексу дослідницьких методів, фахівців та значних матеріальних коштів. Визначальною та ключовою задачею при раціональному дизайні ліків є ідентифікація активних “сполук-хітів”, які в майбутньому можуть стати прототипом нового лікарського засобу. Можливості органічного синтезу, в тому числі комбінаторної хімії, забезпечили широкий вибір органічних молекул, якими можна оперувати. Проте проблема вибору оптимальних об'єктів серед бібліотек органічних сполук для дослідження біологічних властивостей в зв'язку з цим постала ще гостріше і логічним є те, що зазначена проблема потребує нових підходів до її розв'язання та вирішення. В дисертаційній роботі Драпак Ірини Володимирівни представлено комплексне вирішення питання ідентифікації сполук-хітів, раціональної оптимізації їх хімічних та біологічних властивостей до вимог параметрів лікоподібності, адаптації до промислових потреб. З огляду на реалії проблематики серцево-судинних захворювань серед населення України та світу, а також потреб вітчизняного фармацевтичного ринку в препаратах для терапії даних захворювань, представлена дисертаційна робота є надзвичайно актуальною, а наукова проблема піднята в роботі, є такою, що потребує вирішення. Для оптимізації дослідження аргументовано використано комп'ютерні методології пошуку потенційних молекулярних механізмів активності та опрацювання даних з отриманням кількісних залежностей «структура-активність».

2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом комплексної науково-дослідної роботи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (номери державної реєстрації 0111U010499; 0116U004500, шифри тем ІН.10.06.0001.11; ІН.10.06.0001.16).

3. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, які викладені у дисертаційній роботі. Принциповим підходом до реалізації наукових досліджень, який використаний в даній роботі, є раціональний дизайн біологічно активних молекул на основі поєднання традиційного органічного синтезу та інноваційних технологій, таких як молекулярний докінг, SAR та QSAR-аналіз. Дослідження є добре спланованим, особливо привертає увагу вдалий вибір вихідних сполук, що значно сприяло успішному виконанню роботи та оптимальному проведенню синтетичної частини експерименту. Мета роботи і постановка завдання для вирішення цієї мети чітко сформульовані та аргументовані. Основні наукові положення, які сформульовані і наведені в дисертації є обґрунтованими та достовірними. Вони базуються на глибокому аналізі проблеми та результатах власних експериментальних досліджень. Для досягнення цього результату, автором грамотно сплановано дизайн експерименту, який є гарним прикладом сучасного дослідження в теоретично-експериментальній медичній хімії. Для виконання *in silico* досліджень дисертант вдало і послідовно використовувала сучасні програмні пакети Pharmaexpert / Prediction of Activity Spectra for Substances, SuperPred, SwissTargetPrediction, PROTOX, GUSAR, AutoDock 4.2, Scigress Explorer, Molecular Operating Environment, ISIS Base, ChemBioOffice, Accelrys 2.1, HyperChem 7.5, Dragon, ACDLabs, Pallas, BuildQSAR, які дозволили досягти максимально коректних результатів. Дисертантом чітко та детально описані всі синтетичні перетворення, що наведені в роботі. На підставі того факту, що дисертант досліджує всі синтезовані сполуки, використовуючи найбільш інформативні та достовірні сучасні фізико-хімічні методи дослідження (методи одно- та двовимірної ЯМР-спектроскопії, мас- та хромато-мас-спектрометрії, сучасні хроматографічні методи), структури всіх одержаних сполук не викликають сумнівів. Достовірність одержаних у роботі результатів біологічних досліджень також є безсумнівною, оскільки всі експериментальні дослідження виконані з використанням методик, рекомендованих фармакологічним комітетом, а отримані результати оброблені з використанням достовірних статистичних методів.

Усі наукові положення і висновки, що були сформульовані дисертантом, ґрунтуються на результатах теоретичних та експериментальних досліджень, сформульовані чітко, коректно і лаконічно, є науково обґрунтованими та відповідають змісту наведеного матеріалу. Поставлені в роботі завдання реалізовані повною мірою і на високому науковому рівні.

4. Наукова новизна. Представлений в дисертаційній роботі матеріал характеризується високим рівнем наукової та практичної новизни. Серед наведених досліджень варто виділити, що автором вперше проведено

комплексне фундаментальне дослідження присвячене цілеспрямованому пошуку БАР на основі функціоналізованих та конденсованих похідних п'ятичленних гетероциклів (тіазолу, тіазолідину, тіадіазолу, піразолу, тіофену, тріазолу) для лікування серцево-судинних захворювань. Вперше на основі реалізації дослідження розроблено та впроваджено загальну методологію та дизайн цілеспрямованого пошуку потенційних лікарських засобів для лікування серцево-судинних хвороб на основі *in silico* та традиційних методів. Вперше на основі проведеного прогнозування біологічної активності, токсичності, лікоподібних параметрів, оцінки афінності до потенційних біологічних мішеней вибрано перспективні об'єкти для спрямованого синтезу та модифікації як потенційні серцево-судинні агенти.

У результаті виконання синтетичної частини роботи одержано 315 нових речовин, розроблено їх методи синтезу, встановлено будову, вивчено фізико-хімічні та фармакологічні властивості. Розроблено препаративні методики синтезу та одержано нові групи БАР. Значно розширено синтетичні можливості та комбінаторні бібліотеки цілої низки гетероциклічних сполук.

Ідентифіковано “сполуки-хіти” з гіпотензивною, діуретичною, кардіопротекторною, протизапальною, протираковою та антиоксидантною активностями. Встановлено закономірності залежності досліджених видів активності від будови синтезованих речовин, виявлено ймовірні фармакофори та визначено перспективи подальшого цілеспрямованого синтезу кандидатів у лікарські засоби для лікування серцево-судинних хвороб. На основі SAR, QSAR аналізу скринінгових результатів сформульовано ряд положень для раціонального дизайну нових БАР. Отримано потенційні кандидати в лікарські засоби [3-аліл-4-(41-метоксифеніл)-3-1-тіазол-2-іліден]-(3-2-трифлуорометилфеніл)аміну гідробромід та N-(5-метил-1,3,4-тіадіазол-2-іл)-пропіонамід (під умовними назвами Кардіазол та Урокарб). Крім того, наукова новизна проведених досліджень підтверджена 14 патентами України на корисну модель та 3 патентами на винахід.

5. Теоретичне значення результатів дослідження. Дисертант провів комплексні дослідження, що включали аналіз попередніх досягнень в області хімії та фармакології базових структурних блоків і вже на цій базі здійснив цілеспрямований синтез нових біологічно активних сполук. Одержані автором результати синтетичних досліджень (автором опрацьовано методики синтезу багатьох класів сполук) мають теоретичне значення в галузях медичної, органічної та фармацевтичної хімії. Представлений у дисертаційній роботі матеріал є цінним фундаментальним доробком для сучасної органічного синтезу і аналізу будови нітроген-, сірко- та оксигенвмісних споріднених гетероциклічних систем. Отримані результати *in silico* досліджень, залежності “структура – біологічна активність”, фармакофорне моделювання та QSAR є цінним теоретичним підґрунтям для медичної хімії серцево-судинних препаратів та ряду інших груп лікарських засобів. Прогностичні значення параметрів досліджуваних груп сполук

можуть бути теоретичною платформою для *de novo* синтезу потенційних лікарських препаратів і мають важливе значення для фахівців в галузі фармацевтичної, медичної хімії та фармакології. Одержані в ході роботи результати використовуються в науковому та навчальному процесі кафедр фармацевтичного профілю в навчальних закладах України, а також Польщі та Болгарії.

6. Практичне значення одержаних результатів. Автором розроблено препаративні методики, що можуть бути покладені в основу синтезу великої групи нових біологічно активних речовин. Серед виконаних досліджень значна частина має вагомим практичне застосування для потреб раціонального конструювання лікарських засобів на основі гетероциклічних молекул з впливом на конкретні біомішені задля досягнення бажаного фармакологічного ефекту. До найбільш вагомим практично значимих результатів можна віднести розширення бібліотек похідних структурно модифікованих 2-ариліміно(аміно)тіазолів, 1,3,4-тіадіазолів, 1,2,4-тріазолів, N-заміщених морфолінів, 5-R-бензил-2-(ариліденгідразоно)тіазолідин-4-онів, бензопіридо[1,2-a]індол-6,11-діонів, тіа-1,3-діазабензо[b]флуорен-2,4,5,10-тетраонів, тіа-1,3-діазабензо[b]флуорен-4,5,10-тріонів, 2-[4-гідрокси-3,5-(ди-трет-бутил)феніл]-1,4-нафтохінонів тощо. На основі застосування методології *in silico* з наступною оптимізацією потенційних молекул-хітів ідентифіковано і запропоновано для поглиблених досліджень як потенційні лікарські засоби для лікування серцево-судинних хвороб дві сполуки-лідери: Кардіазол та Урокарб. Розроблено і апробовано в промислових умовах ПАТ «Фармак» (акти апробації від 12.03.2019, 20.04.2019) методики промислового синтезу та методики контролю якості Кардіазолу та Урокарбу, здійснено синтез субстанцій для поглиблених досліджень та фармацевтичної розробки лікарських форм. Запропоновано методики контролю якості, визначення супутніх домішок, продуктів деградації, дослідження стабільності перспективних сполук, які можуть бути використані для подальшої фармацевтичної розробки. Розроблено біоаналітичні методики визначення Кардіазолу та Урокарбу, які можуть бути застосовані для вивчення фармакокінетики та біоеквівалентності потенційних лікарських засобів. Кардіазол та Урокарб включено до плану наукових розробок ПАТ «Фармак» на 2019-2021 роки (довідка від 24.06.2019).

7. Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях. Наукові праці, що висвітлюють теоретичні та експериментальні дослідження дисертаційної роботи, опубліковано у міжнародних та провідних фахових виданнях України. За матеріалами дисертації опубліковано 94 наукові праці (12 написано без співавторів), серед яких 39 статей у наукових фахових виданнях України та інших країн (32 входять до міжнародних наукометричних баз, в тому числі 15 – Scopus), 17 патентів України, з них 3 – на винахід, 38 тез доповідей.

Опубліковані роботи повністю відповідають результатам досліджень, достатньо повно та на достойному рівні представлені у фахових виданнях та добре характеризують наукові здобутки Драпак І.В.

8. Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації та автореферату, завершеності дисертації в цілому. Дисертація викладена на 700 сторінках машинописного тексту, оформлена відповідно до вимог наказу МОН № 40 від 12.01.2017 і містить такі складові частини – анотації українською та англійською мовами, список публікацій здобувача, вступ, 7 розділів, висновки, список використаних джерел та додатки окремою частиною.

У вступі до дисертації обґрунтована актуальність проблеми, встановлена мета роботи, згідно з якою сформульовані необхідні для вирішення завдання.

Розділ 1 присвячено критичному аналізу даних сучасної релевантної наукової літератури щодо проблеми сучасного стану процесу пошуку та створення біологічно активних сполук для потреб терапії ССЗ. Глибоко проаналізовано тенденції та тренди, біологічні мішені та стратегії, які застосовуються для дизайну потенційних лікоподібних молекул з впливом на серцево-судинну систему.

У другому розділі наведена загальна характеристика матеріалів та методів дослідження використаних в дисертаційній роботі.

У третьому розділі описано *in silico* скринінгові дослідження потенційних серцево-судинних препаратів. Генерування віртуальної бібліотеки гетероциклічних сполук здійснено на основі програмного пакету ISIS/Vb-generation 3.1, поділ їх на сфокусовані суб-бібліотеки відповідно природи базового гетероциклу. Проведено віртуальний скринінг активності та параметрів токсичності досліджуваних сполук з використанням наступних програмних пакетів: Pharmaexpert / Prediction of Activity Spectra for Substances, SuperPred, SwissTargetPrediction, Prediction of toxicity of chemicals та GUSAR. Для сполук віртуальної бібліотеки проведено розрахунок ряду молекулярних дескрипторів та лікоподібних параметрів з використанням спеціалізованого софту Hyper-Chem, ACD-Labs, Pallas, Dragon, OpenEye. Синтезовано ряд сполук і встановлено їх фармакологічний профіль, побудовано кореляційні моделі залежності «структура-активність» для оптимізації пошуку потенційних сполук-хітів. Проведено докінгові дослідження до біомішеней, які асоційовані з розвитком серцево-судинних патологій та механізмом дії інгібіторів ангіотензинперетворюючого ферменту та ангіотензину, блокаторів кальцієвих каналів, діуретиків, кардіопротекторів. За результатами віртуального скринінгу оптимізовано структуру віртуальної бібліотеки та окреслено суб-бібліотеки сполук для наступних синтетичних та фармакологічних досліджень.

У четвертому розділі описано результати синтетичних досліджень, присвячених синтезу гетероциклічних сполук суб-бібліотек. Описано синтез нових 4- і 4,5-заміщених 2,3-дигідро-1,3-тіазол-2-імінів, 1,3-тіазолів з морфоліновим, алкілгідроксильним фрагментами; модифікованих похідних 4,5-дигідро-1H-імідазол-2-карбоксамідів; функціоналізованих 4-тіазолідонів, 1,3,4-тіадіазол-2-тіонів, 1,2,4-тріазоло-3-тіонів. Цікавим фрагментом роботи є синтез складних гетероциклічних ансамблів на основі п'ятичленних гете-

роциклів та споріднених гетероциклічних систем: бензопіридо[1,2-а]індол-6,11-діонів, 1H-11-тіа-1,3-діаза-бензо[b]флуорен-2,4,5,10-тетраонів та структурно споріднених 3H-11-тіа-1,3-діаза-бензо[b]флуорен-4,5,10-тріонів; 3-заміщених 2-[4-гідрокси-3,5-(ди-трет-бутил)феніл]-1,4-нафтохінонів. В цьому ж розділі наведено дослідження будови синтезованих сполук з застосуванням сучасних фізико-хімічних методів аналізу.

У п'ятому розділі детально описані скринінгові дослідження фармакологічної активності синтезованих речовин з акцентом на фармакологічний профіль, характерний лікарським препаратам, які застосовують для терапії серцево-судинних захворювань. Наведені результати вивчення кардіопротекторної, антигіпертензивної, антиоксидантої (антирадикальної), діуретичної, протизапальної (антиексудативної) активності. На основі отриманих результатів проведено QSAR-аналіз та одержано QSAR-моделі з найкращими статистичними показниками, які використано для прогнозування відповідного виду активності молекул. Автором також проведено фармакофорне моделювання, що дало змогу виділити відповідні фармакофори, які використано для *in silico* скринінгу структур-хітів із кардіопротекторною, антигіпертензивною та діуретичною активностями.

У шостому розділі здійснено спрямований синтез потенційних агентів з відповідним видом активності, структура синтезованих сполук підтверджена даними ПМР спектроскопії та елементним аналізом. Досліджено фармакологічний профіль синтезованих сполук, за результатами якого обрано сполуки-лідери: Кардіазол [3-аліл-4-(41-метоксифеніл)-3-1-тіазол-2-іліден]-(3-2-трифлуорометил-феніл)аміну гідробромід та Урокарб (N-(5-метил-1,3,4-тіадіазол-2-іл)-пропіонамід). Для сполук-лідерів проведено поглиблені фармакологічні дослідження.

У сьомому розділі для перспективних сполук-лідерів Кардіазолу та Урокарбу проведено дослідження щодо масштабування синтезу та розробки методик контролю якості, які апробовано в промислових умовах ПАТ «Фармак». Проведено прогнозування та експериментальне визначення ADME-параметрів, зокрема ліпофільності та зв'язування з білками плазми крові. Сформовано уніфіковану процедуру розробки та валідації біоаналітичних методик визначення Кардіазолу та Урокарбу у плазмі крові. Проведені дослідження мають практичну цінність для майбутньої фармацевтичної розробки.

Автореферат дисертації та наукові публікації Драпак І.В. достатньо повно відображають зміст роботи.

Вважаю, що завдання, поставлені у дисертаційній роботі Драпак І.В., реалізовані повною мірою та на належному рівні. Загальна оцінка роботи є **позитивною**. Проте, незважаючи на високий рівень дисертаційної роботи Драпак І.В., вважаю за необхідне висловити **ряд зауважень та побажань**:

1. З врахуванням факту, що автор робить великий акцент у своїй роботі на застосування і використання *in silico* методології під час досліджень, логічно було би присвятити принаймі один підрозділ в Розділі 1 (огляд літе-

ратури), який детально характеризував би застосування (або їх відсутність) *in silico* підходу до експериментальних досліджень в межах дизайну потенційних кардіотропних агентів іншими науковими колективами як в межах України, так і закордонних колег.

2. Схеми синтезу містять дрібні технічні помилки (схема 4.5, с. 193, і схема 4.27, с. 282), які стосуються позначень замісників в бічних ланцюгах ключових молекул.

3. В роботі гарно висвітлена біологічна активність сполук, виникло питання чи проводилось *in silico* моделювання до потенційних мішеней, які асоційовані з протизапальною активністю, так як в роботі є наведені дослідження на тваринах для цього виду активності? І з якою метою для потенційних серцево-судинних агентів проводились дослідження протизапальної активності?

4. З огляду на те, що автором синтезований значний ряд неописаних в літературі конденсованих систем на основі п'яти- та шестичленних сульфурта азагетероциклів варто було б використати додатково рентгеноструктурний аналіз для з'ясування будови отриманих сполук.

5. Оскільки для похідних 2-тіазол-2-імінотіазолідин-4-онів можлива іміно-амінна таутомерія, автором не приведено аналізу такої можливості, а цільові продукти представлені в одній – іміно-формі.

6. В авторефераті при описі результатів молекулярного докінгу, та в розділі 6 п. 6.3.1 для з'ясування можливих механізмів дії не вказано назви біологічних мішеней, а лише цифрові коди *pdb*, що ускладнює сприйняття.

Однак, ці недоліки не впливають на загальну високу, позитивну оцінку дисертаційної роботи Драпак Ірини Володимирівни.

9. Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження на практиці. Одержані автором результати доцільно використовувати у навчальному процесі та науковій роботі при підготовці фахівців в навчальних закладах з фармацевтичним, хімічним та біологічним профілем; в роботі підприємств названих галузей, служб контролю якості лікарських засобів, заводських лабораторіях, біоаналітичних лабораторіях. Для ряду сполук-хітів із високою протираковою, антигіпертензивною, діуретичною, антиоксидантною активностями провести поглиблені дослідження. Для сполук-лідерів продовжити дослідження з метою впровадження на фармацевтичний ринок.

10. Висновок про відповідність дисертації вимогам положення «Порядку присудження наукових ступенів.

На основі вищенаведеного можна зробити висновок, що дисертаційна робота Драпак Ірини Володимирівни «Цілеспрямований пошук біологічно активних речовин на основі п'ятичленних гетероциклів та споріднених гетероциклічних систем для лікування серцево-судинних захворювань» є закінченою науковою працею; за обсягом проведених досліджень, актуальністю, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням, ступенем обґрунтованості наукових положень та висновків, повнотою викладу 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 доктора фармацевтичних наук), за паспортом спеціальності 15.00.02, а її автор **Драпак Ірина Володимирівна** заслуговує на присудження наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

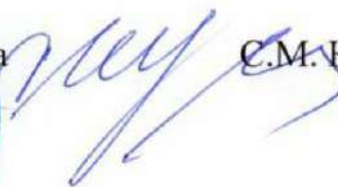
Офіційний опонент

Професор кафедри органічної хімії
Харківського національного університету
імені В. Н. Каразіна,
доктор хімічних наук, професор



С.М. Коваленко

Підпис проф. Коваленка С. М. засвідчую:
Начальник відділу кадрів Харківського
національного університету імені В. Н. Каразіна



С.М. Куліш