

ЗАПИТ
на проведення наукової (науково-технічної) роботи

1. Назва роботи

Доклінічні дослідження нових похідних тіазолу та триазолу як потенційних препаратів для лікування раку молочної залози

2. Вид тематики

II. Програмно-цільова та конкурсна тематика НАН України

3. Назва цільової програми або цільового проєкту

Гранти НАН України дослідницьким лабораторіям/групам молодих вчених НАН України для проведення досліджень за пріоритетними напрямками розвитку науки і техніки 2024-2025 рр.

4. Назва розділу програми або напрямку цільового проєкту

н е м а є

5. Строки виконання роботи

01 січня 2024 р. - 31 грудня 2025 р.

6. Код програмної класифікації видатків

6541230 (фундаментальні дослідження)

7. Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки

8. Пріоритетний тематичний напрям наукових досліджень і науково-технічних розробок

9. Код та назва наукового напрямку (проблеми) з Основних наукових напрямів та найважливіших проблем фундаментальних досліджень у галузі природничих, технічних і гуманітарних наук

2.2.4.1. Вивчення механізмів регуляції функціональних систем організму за умов норми і патології

2.2.4.3. Вивчення молекулярно-генетичних основ регуляції метаболічних процесів при пухлинній хворобі

2.2.4.5. Дослідження протеїнів крові з метою профілактики, діагностики та лікування патологій зв'язаних з тромбоутворенням та (або) із загрозами кровотеч

10. Науковий керівник роботи

Козак Юлія Сергіївна, к.б.н., молодший науковий співробітник, Інститут біології клітини НАН України
телефон: (032)2612287; факс: +38 032 261 2148; e-mail: juliana.kozzak@gmail.com

11. Відповідальні виконавці

Прізвище, ім'я та по батькові	Науковий ступінь, посада, місце роботи, телефон, електронна адреса	Підпис
Івасечко Ірина Ігорівна	д.філос., молодший науковий співробітник, ІБК НАН України, тел.: 0322612287, e-mail: irynagrytsyna@gmail.com	
Фінюк Наталія Степанівна	к.б.н., науковий співробітник, ІБК НАН України, тел.: (032)-261-22-87, e-mail: nataliyafiniuk@gmail.com	
Манько Назар Олегович	д.філос., молодший науковий співробітник, ІБК НАН України, тел.: (032) 2612287, e-mail: mankonazar@nas.gov.ua	

12. Установи - співвиконавці

н е м а є

13. Ключові слова

Карцинома молочної залози, тричі негативний рак молочної залози, рецептор людського епідермального фактору росту 2 (HER2), рецептор до естрогену (ER), рецептор до прогестерону (PR), похідні тіазолу, похідні 4-тіазолідинону, похідні триазолу

14. Резюме

За останні роки рак молочної залози займає провідне місце за частотою захворюваності та смертності серед інших злоякісних новоутворень у світі. Згідно даних проекту GLOBOCAN, пухлини молочної залози є найпоширенішим онкозахворюванням серед жінок, на яке припадає близько 25% від загальної кількості злоякісних патологій [doi: 10.3322/caac.21660].

10–20% випадків раку молочної залози припадає на тричі негативний імуногістохімічний підтип пухлини. Це агресивна форма раку, що характеризується високою проліферативною активністю та швидким ростом, не реагує на гормональну терапію та ліки, спрямовані на рецептори росту. Тому лікування тричі негативного раку молочної залози залишається однією з найбільш актуальних проблем сучасної онкології [doi: 10.25122/jml-2021-0108]. Крім того, пацієнти з цим підтипом новоутворення мають високу ймовірність раннього рецидиву (середній час до рецидиву 19-40 місяців), а рівень смертності онкохворих з тричі негативним раком молочної залози протягом 3 місяців після рецидиву досягає 75% [doi: 10.1186/s13058-020-01296-5].

20–30% випадків раку молочної залози мають позитивний HER2-статус. Карцинома молочної залози цього імуногістохімічного підтипу є агресивним інтенсивно метастазуючим раком з високим рівнем рецидивів, який уражає переважно жінок молодого віку [doi:10.1038/s41523-021-00265-1]. Застосування моноклональних антитіл (трастузумаб, пертузумаб) і низькомолекулярних інгібіторів тирозинкінази (лапатиніб, нератиніб) є актуальними методами лікування HER2-позитивного раку молочної залози. На жаль, до моноклональних антитіл швидко розвивається резистентність, тоді як низькомолекулярні інгібітори тирозинкінази та їх метаболіти індукують гепатотоксичність через неселективний вплив на організм пацієнтів [doi: 10.20517/cdr.2019.92].

Отже, хіміотерапія залишається одним із основних системних методів лікування раку молочної залози, але її ефективність у багатьох випадках є низькою [doi: 10.1245/s10434-015-4921-5].

Сучасні протипухлинні препарати часто поєднують у своїй молекулі структурно різні гетероциклічні фрагменти та інші фармакофорні групи. Серед них широкий спектр біологічної

дії мають похідні тіазолу, піразолу, триазолу, пірану, піримідину та інші. Зокрема, тіазоловий, піримідиновий та амідний (сульфамідний) скафолди поєднані в молекулах новітніх препаратів, схвалених Управлінням з продовольства і медикаментів США, наприклад, у молекулі дабрафенібу та дазатенібу. Речовини із 1,2,3-триазоловим ядром володіють антибактеріальною (цефатризин), протигрибковою, гербіцидною, протипухлинною (н-д, карбоксиамідотриазол) та протитуберкульозною дією [[doi: 10.3389/fmolb.2022.864286](https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.864286)].

Поєднання різних гетероциклічних фрагментів та фармакофорних груп у молекулах новосинтезованих сполук може дозволити досягти більш вираженої біологічної активності та селективності. Враховуючи генетичні та молекулярні аспекти раку молочної залози, можна визначити специфічні молекулярні мішені та синтезувати сполуки, які будуть високоефективними для пацієнтів із відповідним імуногістохімічним підтипом цієї пухлини.

Основна ідея проєкту полягає у пошуку та вивченні ефективних похідних триазолу, тіазолу і 4-тіазолідинону, які характеризуватимуться високою токсичною активністю щодо імуногістохімічно різних клітин раку молочної залози *in vitro* та *in vivo*, залишатимуться низькотоксичними для нормальних та імунокомпетентних клітин, а також не викликать важких побічних ефектів у організмі піддослідних мишей.

Метою проєкту є вивчення механізмів дії нових похідних тіазолу/4-тіазолідинону і триазолу щодо різних імуногістохімічних підтипів раку молочної залози, а саме: тричі негативних, гормон-рецептор і HER2 позитивних клітинних ліній. А також встановити терапевтичну ефективність найбільш активних досліджуваних сполук щодо раку молочної залози (ортотопічної моделі 4T1) у мишей.

Досліджувані сполуки будуть синтезовані командою докт. фарм. наук, професора Р. Б. Лесика (кафедра фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького) та докт. хім. наук Н. Т. Походило (кафедра органічної хімії Львівського національного університету імені Івана Франка) та люб'язно надані для досліджень.

У ході **першого етапу (2024 р.)** буде проведено тестування впливу гетероциклічних похідних тіазолу, 4-тіазолідинону, триазолу на **2D клітинні культури** тричі негативного, гормон-рецептор позитивного і/або HER2 позитивного раку молочної залози. Дослідження проводитимемо з використанням клітин тричі негативного раку молочної залози, які характеризуються відсутністю ER, PR і HER2 (клітинні лінії MDA-MB-231, 4T1), клітин з експресією ER, PR, але не HER2 (ліній MCF-7 та T47D), та клітин з експресією HER2, але не ER, PR (ліній HCC1954), а також нормальних клітин молочної залози людини (ліній MCF-10A). Оскільки лінії MDA-MB-231, MCF-7, HCC1954 та MCF-10A за своїм типом є епітеліальними клітинами, то у дослідження будуть включені нормальні епідермальні кератиноцити людини ліній HaCaT. Додатково буде проведено аналіз токсичності досліджуваних сполук щодо лімфоцитів/нейтрофілів, ізольованих з крові клінічно здорових донорів. Буде порівняно цитотоксичну дію вищезгаданих гетероциклів щодо злоякісних, нормальних та імунокомпетентних клітин ссавців.

Молекулярні механізми впливу нових гетероциклічних сполук на різні підтипи клітин раку молочної залози будуть досліджені за такими критеріями: транслокація фосфатидилсерину на зовнішній бік плазматичної мембрани, конденсація/фрагментація ДНК, зниження трансмембранного мітохондріального потенціалу, зміна рівня про- і антиапоптичних білків, білків-регуляторів клітинного циклу. Крім того, буде вивчено зміни кількості цитокінів та білків, пов'язаних з трансдукцією сигналів та рівень активних форм кисню у клітинах-мішенях під дією новосинтезованих сполук. Буде з'ясовано вплив нових похідних на морфологічні (зміни в цитоскелеті та поява на зовнішньо-клітинній мембрані специфічних маркерів, морфо-структурні зміни цитоплазми та ядра) і функціональні (статус мітохондрій і лізосом) зміни в досліджуваних клітинах після забарвлення останніх флуоресцентними барвниками. Крім того, буде встановлено взаємозв'язок зазначених вище процесів з індукцією клітинної загибелі.

Імунозабарвлення клітин ліній MCF-7, T47D, HCC1954 буде використано для оцінки впливу досліджуваних сполук на експресію відповідних рецепторів ER, PR і HER2. На потрійно негативних клітинних моделях буде проаналізовано вплив нових похідних на рівень експресії рецептора епідермального фактора росту (EGFR).

Вплив новосинтезованих сполук на здатність клітин раку молочної залози до міграції та інвазії будуть досліджені з використанням методу "шкребка" та "transwell" тесту. Крім того, антиангіогенезний потенціал похідних триазолу, тіазолу і 4-тіазолідинону буде вивчено,

базуючись на здатності ендотеліальних клітин утворювати тривимірні трубчасті структури (метод “tube formation assay”).

На **другому етапі (2025 р.)** роботи протипухлинна активність найбільш перспективних похідних буде досліджена на **3D клітинних моделях** карциноми молочної залози та **ортотопічній експериментальній моделі раку молочної залози 4T1 *in vivo***.

Щоб переконатися, що ефективність і механізм дії досліджуваних сполук мають “клінічну трансляцію”, ми використаємо тривимірні культури клітин, які дозволять вивчати ракові клітини в умовах, наближених до їх природного мікрооточення. Буде досліджено виживаність клітин карциноми молочної залози в 3D культурі, а також цитоморфологічні та молекулярні зміни в клітинах-мішенях під дією новосинтезованих гетероциклічних сполук. Дослідження проводитимемо з використанням клітин тричі негативного раку молочної залози лінії MDA-MB-231, клітин ліній MCF-7 та T47D з експресією ER, PR, але не HER2, та клітин лінії HCC1954 з експресією HER2, але не ER, PR, а також нормальних клітин людини лінії MCF-10A.

Терапевтична активність похідних, які виявилися найперспективнішими *in vitro*, буде досліджена на ортотопічній експериментальній моделі раку молочної залози 4T1 *in vivo*. Буде вивчено вплив досліджуваних сполук на тривалість життя, зміну маси тіла та гематологічні показники мишей-пухлиноносіїв. Здатність нових похідних тiazолу/4-тіазолідинону і тiazолу індукувати розвиток важких побічних ефектів буде оцінено з використанням інтактних лабораторних мишей. Дослідження стане основою для більш цілеспрямованого доклінічного тестування похідних тiazолу, тiazолу та 4-тіазолідинону як протипухлинних засобів. Запропонований проєкт має як фундаментальне, так і практичне значення для пошуку високоефективних, селективних протипухлинних препаратів та пошуку альтернативних підходів хіміотерапії.

Результати проєкту матимуть важливе значення для підтримки досліджень в галузі онкології та молекулярної біології в Україні у воєнний та повоєнний періоди, оскільки нададуть стимул для збереження і розвитку наукового потенціалу в Україні, що має важливе значення для відновлення держави. Продовження досліджень у цій галузі може надати можливість залучити нові інвестиції, сприяти розвитку дослідницької інфраструктури та підвищенню рівня науковців в Україні.

15. Обґрунтування доцільності виконання роботи

15.1. Цілі та завдання роботи, її актуальність, соціальна та економічна значимість.

Актуальність проєкту. Станом на 2023 рік рак молочної залози залишається найбільш діагностованим раком в ЄС, це 380 000 випадків, що становить приблизно 13,8% усіх онкологічних захворювань. Крім того, рак молочної залози разом із раком легень та колоректальним раком входить у трійку лідерів за смертністю в ЄС [https://joint-research-centre.ec.europa.eu/jrc-news-and-updates/cancer-cases-and-deaths-rise-eu-2023-10-02_en].

Відповідно до даних опублікованими на сайті European Breast Cancer Coalition рак молочної залози забирає життя більшої кількості європейських жінок, ніж будь-який інший вид онкозахворювання. Зокрема, одна із шести смертей від раку припадає саме на нього. В Україні серед жінок кількість нових випадків раку молочної залози становила 18 263 на 100 000 осіб, а смертність від цього захворювання була рівна 7 032 на 100 000 населення у 2020 році [<https://www.europadonna.org/breast-cancer/>].

Взаємозв'язок між хронічним стресом і ризиком виникнення та розвитку раку викликає дедалі більший інтерес і занепокоєння в науково-медичній спільноті. Особливо це питання є актуальним сьогодні в часи пандемій і війн. Кагортне дослідження, проведене з участю 10 808 фінських жінок віком ≥ 24 років, підтверджує, що стрес через несприятливі життєві події (наприклад, смерть близької людини) за 5 років до діагностики новоутворення був достовірно пов'язаним із підвищеним ризиком раку молочної залози [doi: [10.1093/aje/kwg002](https://doi.org/10.1093/aje/kwg002)]. Дані проспективного дослідження за участю 1 462 шведських жінок (середнього віку), вказують на те, що захворюваність на рак молочної залози у жінок які повідомляли про будь-який тип стресу зросла вдвічі порівняно з жінками, які не повідомляли про стрес [doi: [10.1097/00008469-200310000-00006](https://doi.org/10.1097/00008469-200310000-00006)]. Ще одне дослідження типу «випадок-контроль» за участю 858 пацієнтів з інвазивним раком молочної залози та відповідних контрольних груп у Польщі виявило, що хворі на рак жінки мали більше стресових життєвих подій порівняно із жінками контрольної групи [doi: [10.3109/10253890.2011.606340](https://doi.org/10.3109/10253890.2011.606340)].

Враховуючи нинішні реалії (пандемії, війни, стрес, соціальна ізоляція, втрата роботи та інше) і те, що кількість онкохворих невинно зростає, розробка та вивчення нових ефективних протипухлинних сполук для моно- чи комботерапії є особливо актуальною темою. В подальшому це дозволить створити нові чи вдосконалити вже існуючі протоколи лікування злоякісних новоутворень [[doi:10.3109/10253890.2011.606340](https://doi.org/10.3109/10253890.2011.606340)].

Запропонований проєкт спрямований на пошук та вивчення ефективних похідних тiazолу, 4-тiazолідинону і тiazолу, які матимуть високу цитотоксичну активність щодо різних імуногістохімічних підтипів клітин раку молочної залози (потрійно негативного / гормон-рецептор і/або HER2 позитивного) *in vitro* та вираженою терапевтичною дією щодо мишей-носіїв ортотопічної моделі 4T1 *in vivo*.

У ході **першого етапу** (2024 р.) буде проведено тестування впливу гетероциклічних похідних тiazолу, 4-тiazолідинону, тiazолу на 2D клітинних культурах тричі негативного, гормон-рецептор позитивного і HER2 позитивного раку молочної залози.

На **другому етапі** (2025 р.) роботи протипухлинна активність найбільш активних (згідно попередніх результатів) сполук буде досліджена на 3D клітинних моделях карциноми молочної залози та ортотопічній експериментальній моделі раку молочної залози 4T1 *in vivo*.

Завдання проєкту:

1. Вивчити антинеопластичну дію новосинтезованих похідних тiazолу, тiazолу і 4-тiazолідинону на клітини тричі негативного (ліній MDA-MB-231, 4T1), гормон-рецептор позитивного (ліній MCF-7, T47D) та HER2 позитивного (лінії HCC1954) раку молочної залози.
2. Визначити цитотоксичну дію досліджуваних сполук щодо нормальних епідермальних клітин молочної залози людини (лінії MCF-10A) та кератиноцитів людини (лінії HaCaT).
3. Дослідити вплив нових гетероциклічних похідних на життєздатність імунокомпетентних клітин таких як лімфоцити і/або нейтрофіли, виділених з периферичної крові клінічно-здорових донорів. Визначити вплив цих речовин на мітогенну активацію та фагоцитарну активність цих клітин.
4. Вивчити проліферативну активність досліджуваних клітин за дії похідних тiazолу, тiazолу і 4-тiazолідинону, а також проаналізувати їх вплив на здатність клітин раку молочної залози до міграції, інвазії та здатність ендотеліальних клітин до ангиогенезу.
5. Визначити молекулярні механізми дії нових гетероциклічних сполук на імуногістохімічно різні клітин раку молочної залози (тричі негативні, PR+ ER+ і/або HER2+) та нормальні епідермальні клітини людини.

- Проаналізувати зміни рівня активних форм кисню, про- та антиапоптичних білків, а також білків-регуляторів клітинного циклу, аутофагії, стресу ендоплазматичного ретикулуму в клітинах-мішенях під дією новосинтезованих похідних.
- Вивчити здатність досліджуваних речовин взаємодіяти із ДНК і впливати на її нативність.
- З'ясувати вплив гетероциклічних похідних на морфологічні зміни в клітинах за допомогою специфічних флуоресцентних барвників.
- Визначити вплив сполук на експресію рецептора естрогену, прогестерону і/або людського епідермального фактору росту 2 у клітинах ліній MCF-7, T47D та HCC1954, а також на експресію епідермального фактору росту в клітинах тричі негативного раку молочної залози людини лінії MDA-MB-231.

1. Дослідити виживаність 3D культури пухлинних та нормальних клітин молочної залози людини, а також цитоморфологічні та молекулярні зміни в клітинах-мішенях за дії нових гетероциклічних сполук.
2. Оцінити потенційний токсичний вплив досліджуваних речовин щодо інтактних лабораторних мишей *in vivo*, з метою виявити можливі побічні ефекти цих сполук на організм тварин.
3. Вивчити терапевтичну ефективність новосинтезованих похідних, які виявилися найдієвішими *in vitro*, щодо мишей-носіїв ортотопічної експериментальної моделі раку молочної залози 4T1 *in vivo*.

Новизна проєкту полягає у пошуку та ґрунтовному вивченні новосинтезованих похідних тiazолу, тiazолу і/або 4-тiazолідинону, які високоефективно та селективно діятимуть на

злюкисні клітини *in vitro* та *in vivo*. Отримані результати дозволять визначити залежність протипухлинної дії досліджуваних речовин на злюкисно змінені клітини від їхнього клітинного мікрооточення.

Соціальна та економічна значимість проєкту. Важливо зауважити, що збройні конфлікти, викликаючи хронічний стрес у населення, сприяють пухлиноутворенню та швидкому прогресуванню раку. Війна негативно впливає не лише на діагностування та лікування раку, але й на наукові дослідження у цій сфері. Прикладом можуть бути Ліван, Ірак, Сирія, В'єтнам, у яких у воєнний та післявоєнний періоди було відмічено зростання кількості нових випадків та смертей від раку шийки матки, країни колишньої Югославії - раку грудей, яєчок та шлунка [doi: [10.1200/GO.22.00123](https://doi.org/10.1200/GO.22.00123), doi: [10.3332/ecancer.2020.1153](https://doi.org/10.3332/ecancer.2020.1153)]. Мінімальні відтермінування в діагностиці та лікуванні раку значно підвищують рівень смертності, наприклад, 12-тижнева затримка операції раку молочної залози пов'язана зі збільшенням смертності на 26% [doi: [10.1136/bmj.m4087](https://doi.org/10.1136/bmj.m4087)]. За прогнозами авторів Caglevic, Rolfo, Gil-Vazo та ін., незначна затримка в лікуванні онкозахворювань лише на 4 місяці може призвести до понад 3600 смертей від раку в наступні роки [doi: [10.1136/bmj.m4087](https://doi.org/10.1136/bmj.m4087)].

Ситуація, в якій зараз знаходяться українські науковці, обмежує можливості розвитку протиракових досліджень. На жаль, багато досліджень раку в Україні паралізовані. Але потрібно розуміти, що такі перерви у роботі сприяють втраті клітинних і тваринних моделей, порушують безперервність експериментів і аналізів, посилюють відтік кваліфікованих кадрів до інших країн. Згідно із минулорічною заявою (4 березня 2022 року) Американської асоціації дослідження раку щодо війни в Україні, прогрес у боротьбі з раком залежить від наукового та клінічного внеску експертів з усього світу. Ця війна ізолює та перериває рятівну роботу науковців і клініцистів в Україні, а обмеження обміну інноваційними ідеями, даними та науковою практикою між державами значно сповільнить дослідження раку та матиме негативний вплив на громадське здоров'я (AACR Statement on the Russian Invasion of Ukraine and the Threat to Cancer Patients and Research, <https://www.aacr.org/about-the-aacr/newsroom/news-releases/aacr-statement-on-the-russian-invasion-of-ukraine-and-the-threat-to-cancer-patients-and-research/>).

Тому належне фінансування галузей, присвячених боротьбі з онкозахворюваннями в Україні, зокрема досліджень, спрямованих на пошук нових протипухлинних агентів, методів та стратегій лікування раку в Україні, має велике соціальне та економічне значення. Виконання проєкту буде сприяти збереженню інфраструктури, клітинних ліній та зразків, що є критичним для проведення експериментів, діагностики та розробки нових методів лікування раку.

Результати, отримані під час виконання цього проєкту, дозволять з'ясувати механізми дії похідних тіазолу, триазолу і 4-тіазолідинону, а також розробити нові методологічні підходи до лікування злюкисних новоутворень. Найбільш перспективні похідні тіазолу, триазолу і 4-тіазолідинону мають потенціал стати хіміотерапевтичними засобами, з вираженою селективною та протипухлинною дією на злюкисні клітини. Виконання широкого кола доклінічних випробувань у рамках цього проєкту є першим кроком до можливого введення нових ефективних сполук у клінічну практику. Звісно, це потребуватиме подальших доклінічних випробувань, які, наприклад, включатимуть вивчення фармакокінетики і фармакодинаміки аналізованих сполук. Тому автори проєкту планують встановити контакти з зацікавленими партнерами, які можуть сприяти подальшому поглибленому проведенню міжлабораторних досліджень протипухлинної дії похідних тіазолу, триазолу і 4-тіазолідинону.

15.2. Стан розроблення проблеми.

Довгий час для лікування раку молочної залози використовували гормональну терапію, хірургію, хіміотерапію, променевою терапію. Однак ці підходи поступово стають неефективними через розвиток резистентності до багатьох лікарських засобів і серйозні побічні ефекти. Існує потреба в розробці більш ефективних і безпечних ліків, які можуть боротися з раком молочної залози та пригнічувати проліферацію ракових клітин, інвазію та метастазування.

Гетероциклічні сполуки – група молекул із широким спектром біологічних активностей, зокрема антинеопластичною. Більше 70% ліків (або) препаратів, що використовуються сьогодні, є гетероциклічними сполуками [doi: [10.1007/s41061-020-0298-4](https://doi.org/10.1007/s41061-020-0298-4)]. Все більше уваги дослідники зосереджують на розробленні гібридних молекул, наприклад гібридизації каркасу тіазолу, 1,2,3-триазолу з іншими протипухлинними фармакофорами.

Для лікування потрійно негативного раку молочної залози основним терапевтичним підходом все ще залишається традиційна хіміотерапія без використання біомаркерів. Однак, порівняно з іншими підтипами раку молочної залози, у жінок із потрійно негативним раком

молочної залози є більш висока (приблизно 11–31%) поширеність мутацій у одному із ключових генів репарації ДНК *BRCA*. У 2014 році FDA було затверджено перший PARP1 інгібітор (інгібітор полі (АДФ-рибозо) полімерази) Олапаріб для лікування потрійно негативного та HER2-негативного метастатичного раку молочної залози з мутаціями у гені *BRCA*. Але результати клінічних випробувань показують, що інгібітори PARP не завжди збільшують загальну виживаність пацієнтів (клінічні дослідження III фази OlympiAD, EMBRACA та BROCADE 3). Більшість із них мають дуже подібний мотив зв'язування із мішенню, а саме, вони імітують структуру нікотинаміду і конкурентно з ним зв'язують NAD^+ у нікотинамід-рибозозв'язуючому домені PARP1, що робить їх малоефективними при наявності мутацій в гені полімерази. Дослідження нових інгібіторів, які мають кращу специфічність та нові механізми взаємодії з мутованим ензимом можуть покращити їх ефективність. Наприклад, нові препарати можуть бути розроблені для специфічного інгібування окремих мутантних форм полімерази PARP1 [doi: [10.3390/ijms21134579](https://doi.org/10.3390/ijms21134579); doi: [10.3389/fonc.2015.00222](https://doi.org/10.3389/fonc.2015.00222); doi: [10.5582/ddt.2021.01100](https://doi.org/10.5582/ddt.2021.01100)]. Крім того, прототипи інгібіторів PARP для розробки протипухлинних терапевтичних засобів для лікування раку молочної залози на триазол-тіоновому та алкілсульфанілтриазоловому каркасі були запропоновані Boraei та ін. [doi: [10.1016/j.ejmech.2019.111621](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111621)].

Багато досліджень виявили схильність до раку молочної залози у пацієнтів із мутаціями у інших генах, пов'язаних із репарацією ДНК, зокрема ATM, ATR, DNA-PKcs, BRIP1, CHK1 та RAD51. Таким чином, системи репарації пошкоджень ДНК стала новою мішенню для лікування раку. Повідомляється, що такі мутовані клітини є особливо чутливими до ДНК пошкоджуючих препаратів [doi: [10.3390/ijms24054741](https://doi.org/10.3390/ijms24054741); doi: [10.1007/s12282-019-01038-2](https://doi.org/10.1007/s12282-019-01038-2)]. Новими агентами що зв'язують ДНК є гібриди тiazолу та конденсованих 1,2,4-тріазинів [doi: [10.1016/j.bioorg.2019.103089](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103089)]. 6-гідроксиметил-1H,3H-піроло[1,2-с]тіазолі описані як моно алкілюючі агенти [doi: [10.1016/J.EJMECH.2010.07.029](https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2010.07.029)].

У роботі Aladdin M. Srouf [doi: [10.1016/j.bmc.2020.115657](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115657)] нові тiazол-бензімідазоли представлені як інгібітори рецептора епідермального фактора росту (EGFR). Надекспресія цього ензиму асоціюється із підвищеним ризиком метастазування та зниженням виживаності у деяких пацієнтів з раком молочної залози, тому EGFR може бути потенційною раціональною мішенню для лікування конкретних випадків раку молочної залози.

Похідні тiazоло[5,4-d]піримідину, аміно-заміщені похідні тiazоло-піримідину показали антипроліферативну активність щодо клітин лінії HGC-27 раку шлунку. Показник IC_{50} досліджуваних речовин щодо клітин HGC-27 раку шлунку людини становив 1,2-20 μM [doi: [10.1016/j.ejmech.2017.07.039](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.07.039)]. Похідні піридин-тіазолідинону [doi: [10.1016/j.ejmech.2017.12.049](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.12.049)], тіазолідин-2,4-діону (4-((2,4-діоксотіазолідин-5-ілден)метил)бензогідразиду) [doi: [10.1016/j.molstruc.2017.10.077](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.10.077)], 4-гідрокси-тіазолідин-2-тіону [doi: [10.1016/j.ejmech.2017.11.023](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.11.023)], гібриди тіазолідиндіону, пов'язані з ядром бензімідазолу [doi: [10.1016/j.ejmech.2016.08.029](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.08.029)], [4-(імідазол/бензімідазол-1-іл)тіазол-2-іл]феніламінів, 2-арил/гетероарил-4-аміно-5-(3,4,5-триметоксибензоіл)тіазолі [doi: [10.1021/jm300388h](https://doi.org/10.1021/jm300388h)], 2-(3-індоліл)-

N-арилтіазол-4-карбоксаміди [doi: [10.1016/j.bmc.2015.07.105](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.07.105)], (E)-1-(4-аміно-2-(піролідин-1-іл)тіазол-5-іл)-3-(2,4-дихлорфеніл)проп-2-ен-1-он [doi: [10.1016/j.ejmech.2018.01.015](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.01.015)] та інші похідні тiazолу, тіазолідинону [doi: [10.2174/1871520620666200728133017](https://doi.org/10.2174/1871520620666200728133017); doi: [10.4155/fmc-2018-0416](https://doi.org/10.4155/fmc-2018-0416)] проявили антипроліферативні властивості щодо пухлинних клітин *in vitro*.

Протипухлинну дію виявляють також похідні триазолу. Так, відомий лікарський засіб Летрозол (Фемара) 4,4'-(1H-1,2,4-тріазол-1-іл-метилден)добензонітрил використовують як протипухлинний гормональний засіб та антагоніст гормонів за злоякісних новоутворювань молочної залози. Ряд похідних халкон-кумарину з 1,2,3-тріазоловим кільцем було показали цитотоксичну дію проти клітин HuCCA-1 раку жовчних проток печінки людини, HepG2 гепатокарциноми людини, A549 аденокарциноми людини легені, MOLT-3 Т-лімфобластного раку людини [doi: [10.1016/j.ejmech.2014.07.087](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.07.087)]. Narsimha et al. синтезував різні гібридні молекули з використанням 3-фтор-4-морфолінофеніл-1,2,3-тріазолільного фрагмента. Серед них гібрид, що містить 7-гідрокси-4-метилкумарин у четвертій позиції 1,2,3-тріазолу, виявляв високу токсичність для клітин ліній MCF-7 і HeLa [doi: [10.1002/jhet.3890](https://doi.org/10.1002/jhet.3890)]. Похідні 1,2,3-тріазолу, долеанолова кислота/дитіокарбамат/піридо[2,3-d]піримідину, гібриди піримідину/1,4-нафтохінону, пов'язані 1,2,3-тріазолом, похідні 1,2,4-тріазолу на основі акридину, 1,2,4-тіадіазол у поєднанні з 1,2,4-тріазолом і 5-ен-тіазоло[3,2-b][1,2,4] похідні триазол-6(5H)-ону володіють протипухлинною активністю [doi: [10.1002/ardp.202100158](https://doi.org/10.1002/ardp.202100158); doi: [10.3389/fphar.2021.661173](https://doi.org/10.3389/fphar.2021.661173)].

Українські науковці також проводять дослідження гетероциклічних сполук як протипухлинних речовин. Команда професора Лесика Р.Б., а саме Субтельна І. та спіавтори (Львівський медичний національний університет ім. Д. Галицького) в рамках міжнародної наукової програми Національного Інституту Раку США (National Cancer Institute of Health (NCI)) дослідили протипухлинну активність 5-заміщені похідні 2-(4-алкоксифеніламіно)тіазол-4(5H)-онів [Subtelna I.Yu., et al., *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*, 2010:8(3),58-64.]. Середня напів інгібувальна концентрація $\log GI_{50}$ становила -5.1 найбільш активного похідного ариламід-5-карбоксиамід 2-(4-алкоксифеніламіно)тіазол-4(5H)-ону. Демченко та Бобкова (ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України») досліджували цитотоксичність 2,5,7-заміщених[1,3]тіазоло[4,5-d]піридазин-4(5H)-онів на пухлинні клітини, використовуючи барвник сульфородамін Б в рамках «Development Therapeutic Program» з Національним Інститутом раку. Сполуки в концентрації 10^{-5} моль/л виявили здатність пригнічувати ріст клітин раку різного тканинного походження (діапазон мітотичної активності клітин становив 16,59-85,63%) [Демченко, А. М. та Бобкова, Л. С. *Фармацевтичний журнал*, 2012:(1), 34-41]. Остап'юк Ю.В. та спіавтори (Львівський національний університет ім. І.Франка) досліджували протипухлинну активність 6-(Н/Ме)-N-(5-R-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотіофен-3-карбоксамідів в рамках міжнародної наукової програми Національного Інституту Раку США (NCI). Середній рівень інгибування росту клітин ($\log GI_{50}$) для досліджуваних речовин становив -4,4 -5,9 [doi: [10.11603/2312-0967.2017.2.7912](https://doi.org/10.11603/2312-0967.2017.2.7912)].

Серед 1,2,3-триазолу командою Обушака М.Д., Походило Н.Т. (Львівський національний університет ім. І.Франка) описано низку потенційних протипухлинних сполук, що діють у наномолярних концентраціях щодо різних пухлинних клітин. Похідне 1-арил-1H-1, 2, 3-триазол-4-карбоксамід пригнічує ріст клітин лейкозу (SR, MOLT-4; CCRF-CEM; HL-60 (TB); K-562; RPMI-8226, Jurkat), знижував потенціал мітохондріальної мембрани та індукував пошкодження ДНК у клітинах Jurkat [doi: [10.1016/j.ejmech.2022.114633](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114633)]. Похідні 1,2,3-триазол-4-карбоксаміду ((2,5-дихлорфеніл)-амід 5-аміно-1-п-толіл-1H-[1,2,3]триазол-4-карбонової кислоти) проявляли значну активність щодо клітин лейкемії, меланоми, недрібноклітинного раку легенів, ЦНС, яєчників, нирок і молочної залози [doi: [10.1007/s00044-013-0841-8](https://doi.org/10.1007/s00044-013-0841-8)]. Дослідники проводять синтез та дослідження протипухлинних властивостей нових 1H-1,2,3-триазолів з конденсованими 1,2,4-триазолоазиновими фрагментами [doi: [10.1080/00397911.2021.1966041](https://doi.org/10.1080/00397911.2021.1966041)].

Незважаючи на прогрес у розробці протипухлинних препаратів, більш ефективні, селективні та безпечніші протипухлинні препарати для лікування раку молочної залози все ще потребують розробки.

15.3. Досвід і доробок авторів.

Керівник проекту, м.н.с., к.б.н. Козак Ю.С. у 2019 році захистила дисертацію «Механізми дії антиоксидантів у модуляції терапевтичного ефекту протипухлинних препаратів на моделях експериментальних пухлин у миші» за спеціальністю 03.00.04 – біохімія та на підставі рішення Атестаційної колегії здобула науковий ступінь кандидата біологічних наук. Наукові інтереси Козак Ю. С. пов'язані з дослідженням нових перспективних схем лікування раку, застосування яких дозволить збільшити терапевтичну ефективність хіміотерапевтичних сполук та зменшити індукований ними розвиток важких побічних ефектів у організмі онкохворих.

За час своєї науково-дослідницької роботи Козак Ю.С. була відповідальним виконавцем державних, відомчих, договірних, програмно-цільових конкурсних тематик НАН України. У 2017 році вона виграла грант стипендіальної програми імені Леонарда Ейлера, у рамках якої пройшла стажування в лабораторії проф. Маттіаса Еппле (Університет Дуйсбург-Ессен, Німеччина). У 2019 році в рамках українсько-австрійського білатерального проекту № М/104-2019 вона проводила спільні наукові дослідження на базі Інституту ракових досліджень при Медичному університеті м. Відня (Австрія). З 02.03.2023 по 30.04.2023 та з 01.09.2023 по 31.10.2023 Козак Ю.С. проходила стажування в Медичному університеті у Білостоці на факультеті фармації та лабораторної медицини в лабораторії біотехнології (м. Білосток, Польща). Це чотиримісячне наукове стажування було частиною проекту «Моноклональні антитіла в комбінації з аналогами тіазолідинону як сучасна протиракова стратегія» в рамках програми Національного агентства академічних обмінів Польщі (NAWA) «Стратегічне партнерство».

Козак Юлія зайняла 1-ше місце у конкурсі на кращу стендову доповідь молодих вчених на XI-й Парнасівській конференції (Форум молодих учених) «Біохімія та молекулярна біологія для

інноваційної медицини» (Київ, 2018 рік) та 2-ге місце за кращу усну доповідь на конференції молодих вчених Інституту біології клітини НАН України (Львів, 2019 рік). З листопада 2020 по 2022 рік вона отримувала стипендію НАН України для молодих вчених. У цьому ж році (2020 рік) Козак Ю.С. стала лауреатом премії Львівської обласної держадміністрації для працівників наукових установ та закладів вищої освіти. За результатами науково-дослідної роботи Козак Ю.С. опубліковано 8 статей (6 у наукометричних базах даних Scopus та Web of Science Core Collection, 2 – у наукових виданнях, включених до Переліку наукових фахових видань України), а також 31 тез доповідей у матеріалах вітчизняних та міжнародних конференцій, в яких вона брала участь. Сумарний імпаکت-фактор опублікованих статей (IF) = 17.2. Індекс Гірша (Scopus) = 3. Індекс Гірша (Google Scholar) = 4.

Автори запиту мають досвід біотестування нових біологічно активних речовин, а також нанорозмірних систем доставки препаратів/речовин та нуклеїнових кислот у клітини тварин і людини. Дослідницька команда має досвід у з'ясуванні механізмів дії різних чинників, у тому числі протипухлинних препаратів, нових синтетичних речовин, наноматеріалів, на стан клітин тварин і людини, у першу чергу, на розвиток процесів запрограмованого відмирання клітин ссавців. Дослідники мають досвід роботи не лише із ізольованими клітинами ссавців за умов *in vitro*, але й з культурою клітин та тканин *ex vivo*, лабораторними тваринами, у тому числі роботи з тваринами, яким прищепили злоякісні пухлини, з тваринами після їх імунізації, з тваринами, яким проводять різні хірургічні операції.

Автори запиту мають співпрацю із вченими кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії (професор Р.Б.Лесик), кафедри біохімії (д.б.н. Кобилінська Л.І.) Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри органічної хімії (д.х.н. Обушак М.Д., д.х.н. Походило Н.Т.), кафедри біофізики та біоінформатики (проф. Бабський А.М.) Львівського національного університету імені Івана Франка, кафедри органічної хімії Національного університету «Львівська Політехніка» (д.х.н. Заїченко О.С.). Вона стосується створення і біо-випробування нових гетероциклічних похідних тіазолу, 4-тіазолідинону, триазолу як протипухлинних чинників та полімерних носіїв ліків, потенційних протипухлинних речовин і носіїв нуклеїнових кислот до клітин-мішеней ссавців.

Отримані авторами результати показали, що похідні 2-аміно-5-бензил-тіазолу, піразоло-тіазоло-піримідину), 4-тіазолідинону (5-ен-4-тіазолідинони, кон'югати піразолін-тіазолідинонізатину), триазолу (*N*-(4-тіоціанатофеніл)-1*H*-1,2,3-тріазол-4-карбоксаміди, (5-бензилтіазол-2-іл)аміди) володіють протипухлинною активністю. Виявлено тканинну специфічність дії похідних тіазолу і 4-тіазолідинону. Так, похідні тіазолу проявили антипроліферативну дію щодо лейкозних клітин, клітин гліоми і меланоми людини *in vitro* [Finiuk et al., 2017, Biopolymers and Cell, 33(2):135-146, doi: [10.7124/bc.00094B](https://doi.org/10.7124/bc.00094B); Finiuk et al., Ukr. Biochem. J. 2018; 90(2): 25-32, doi: [10.15407/ubj90.02.025](https://doi.org/10.15407/ubj90.02.025); Shyyka et al., Scientia Pharmaceutica. 2018; 86(3):E28, doi: [10.3390/scipharm86030028](https://doi.org/10.3390/scipharm86030028)]. Похідні 4-тіазолідинону проявили антипроліферативну дію щодо лейкозних клітин [Senkiv et al., European Journal of Medicinal Chemistry. 2016; 117(19): 33-46, doi: [10.1016/j.ejmech.2016.03.089](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.03.089)], клітин меланоми [Finiuk et al., Croat. Med. J. 2017; 58(2): 129-140, doi: [10.3325/cmj.2017.58.129](https://doi.org/10.3325/cmj.2017.58.129)] і гліоми [Kobylinska et al., Croat. Med. J. 2017; 58(2): 150-159, doi: [10.3325/cmj.2017.58.150](https://doi.org/10.3325/cmj.2017.58.150)]. Величина їхніх ефектів у деяких випадках не поступається, а інколи й переважає ефекти відомих ефективних протипухлинних препаратів доксорубіцину та темозоломіду, які широко використовують у практиці. Похідні 2-аміно-5-бензил-тіазолу показали високу токсичність щодо медикаментозно стійких ліній лейкозних клітин до адриаміцину (HL-60/adr, HL-60/vinc) у порівнянні з таким ефектом Доксорубіцину [Finiuk et al., Ukr. Biochem. J. 2018;90(2):25-32, doi: [10.15407/ubj90.02.025](https://doi.org/10.15407/ubj90.02.025)]. Дані речовини індукують апоптоз та пошкодження ДНК у клітинах гліобластоми людини (U251, T98G) [Finiuk et al., Anticancer Drugs 2019;30(1):27-37, doi: [10.1097/CAD.0000000000000686](https://doi.org/10.1097/CAD.0000000000000686)]. У той же час, похідні тіазолу володіють нижчою токсичністю щодо псевдо-нормальних клітин (кератиноцитів людини лінії HaCaT, фібробластів миші лінії NIH3T3) порівняно з такою активністю доксорубіцину [Finiuk et al., 2017, Biopolymers and Cell, 33(2):135–146, doi: [10.15407/ubj90.02.025](https://doi.org/10.15407/ubj90.02.025); Finiuk et al., Ukr. Biochem. J. 2018; 90(2): 25-32, doi: [10.15407/ubj90.02.025](https://doi.org/10.15407/ubj90.02.025)]. Авторами також показано, що заміна 1*H*-1,2,3-тріазолу на 1*H*-тетразольне кільце в (5-бензилтіазол-2-іл)амідному каркасі посилює протипухлинну дію похідних [Pokhodylo et al., European Journal of Medicinal Chemistry. 2023; 250: 115126, doi: [10.1016/j.ejmech.2023.115126](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115126)]. Похідне триазолу пригнічувало життєздатність клітин K-562 хронічного лейкозу людини та клітин UACC-62 меланоми людини з IC50 56,4 та 56,9 нМ, відповідно. Серед гібридних молекул піридин-тіазолу виявлено потенційні інгібітори ПАРП, а саме похідні 3-(2-фторфеніл)-1-[4-метил-2-(піридин-2-іламіно)-тіазол-5-іл]-пропенон і

4-(2-(1-(2-етиловий ефір -фторфеніл)-3-[4-метил-2-(піридин-2-іламіно)тіазол-5-іл]-3-оксопропілсульфаніл)ацетиламіно)бензойної кислоти [Ivasechko et al., *Molecules*. 2022; 27(19):6219, doi: [10.3390/molecules27196219](https://doi.org/10.3390/molecules27196219)].

Публікації авторів за темою проєкту:

Розділи у монографіях:

1. Mitina N., Riabtseva A., Paiuk O., **Finiuk N.**, Slouf M., Pavlova E., Kobylinska L., Lesyk R., Hevus O., Garamus V.M., Stoika R., Zaichenko A. Molecular Design, Synthesis, and Properties of Surface-Active Comb-Like PEG-Containing Polymers and Derived Supramolecular Structures for Drug Delivery. *Biomedical Nanomaterials From design and synthesis to imaging, application and environmental impact* / Stoika R.S. (eds). NY, Springer, Cham, 2022. P. 17-57; https://doi.org/10.1007/978-3-030-76235-3_2 (URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-76235-3_2).

2. Фінюк Н. С., Панчук Р. Р., Стойка Р. С. Вплив сульфуровмісних сполук на клітинний цикл пухлинних клітин. *Противухлинні перспективи сульфуровмісних гетероциклів: монографія* / за ред. проф. А. М. Бабського. Л.: ЛНУ імені Івана Франка, серія «Біологічні Студії», 2022. С. 21-26. ISBN 978-617-10-0691-1.

3. Фінюк Н. С., Ключівська О. Ю., Стойка Р. С. Індукція апоптозу сульфуровмісними сполуками в пухлинних клітинах. *Противухлинні перспективи сульфуровмісних гетероциклів: монографія* / за ред. проф. А. М. Бабського. Л.: ЛНУ імені Івана Франка, серія «Біологічні Студії», 2022. С. 27-40. ISBN 978-617-10-0691-1

4. Шалай Я. Р., Фінюк Н. С., Попович М. В., Мандзинець С. М., Бабський А. М. Аналіз імовірних побічних ефектів похідних тіазолу. *Противухлинні перспективи сульфуровмісних гетероциклів: монографія* / за ред. проф. А. М. Бабського. Л.: ЛНУ імені Івана Франка, серія «Біологічні Студії», 2022. С. 49-56. ISBN 978-617-10-0691-1.

Статті:

1. **Ivasechko, I., Lozynskyi, A., Senkiv, J., Roszczenko, P., Kozak, Y., Finiuk, N., Klyuchivska, O., Kashchak, N., Manko, N., Maslyak, Z., Lesyk, D., Karkhut, A., Polovkovych, S., Czarnomysy, R., Szewczyk, O., Kozyskiy, A., Karpenko, O., Khylyuk, D., Gzella, A., Bielawski, K., ... Lesyk, R.** Molecular design, synthesis and anticancer activity of new thiopyrano[2,3-d]thiazoles based on 5-hydroxy-1,4-naphthoquinone (juglone). *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2023. Vol. 252, Art. No. 115304. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115304>; **IF= 7,088, Q1**
2. Paryzhak, S., Dumych, T., Zasońska, B., Svoboda, J., Klyuchivska, O., Skorokhyd, N., **Kozak, Y., Horák, D. & Stoika, R.** Improvement of hemocompatibility of γ -Fe₂O₃ nanoparticles via their covering with complex poly(N,N-dimethylacrylamide) and SiO₂ shell. *Applied Nanoscience*. 2023. <https://doi.org/10.1007/s13204-023-02905-3>; **IF = 3.869, Q2.**
3. **Finiuk, N., Kaleniuk, E., Holota, S., Stoika, R., Lesyk, R., & Szychowski, K. A.** Pyrrolidinedione-thiazolidinone hybrid molecules with potent cytotoxic effect in squamous cell carcinoma SCC-15 cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2023. Vol. 92, Art. No. 117442. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2023.117442>; **IF= 3,461, Q2.**
4. Pokhodylo, N., **Finiuk, N., Klyuchivska, O., Stoika, R., Matiychuk, V., Obushak, M.** Bioisosteric replacement of 1H-1,2,3-triazole with 1H-tetrazole ring enhances anti-leukemic activity of (5-benzylthiazol-2-yl)benzamides. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2023. Vol. 250. Art. No. 115126. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115126>; **IF=6,82, Q1.**
5. Kropyvko, S., Hubiernatorova, A., Mankovska, O., Lavrynenko, K., Syvak, L., Verovkina, N., **Ivasechko, I., Stoika, R., Rynditch, A.** Tristetraprolin expression levels and methylation status in breast cancer. *Gene Reports*. 2023. Vol. 30. art no. 101718. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2022.101718>; **Q4.**
6. **Lozynskyi A., Senkiv J., Ivasechko I., Finiuk N., Klyuchivska O., Kashchak N., Lesyk D., Karkhut A., Polovkovych S., Levytska O., Karpenko O., Boshkayeva A., Sayakova G., Gzella A., Stoika R., Lesyk R.** 1,4-Naphthoquinone Motif in the Synthesis of New Thiopyrano[2,3-d]thiazoles as Potential Biologically Active Compounds. *Molecules*. 2022. Vol. 27, N 21. Art. no. 7575. <https://doi.org/10.3390/molecules27217575>; **IF=4,927, Q1.**
7. **Finiuk, N., Zelisko, N., Klyuchivska, O., Yushyn, I., Lozynskyi, A., Cherniienko, A., Manko, N., Senkiv, J., Stoika, R., & Lesyk, R.** Thiopyrano[2,3-d]thiazole structures as promising scaffold with anticancer potential. *Chemico-Biological Interactions*. 2022. Vol. 368. Art. No. 110246. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2022.110246>; **IF= 5,192, Q1.**

8. **Ivasechko I.**, Yushyn I., Roszczenko P., Senkiv J., **Finiuk N.**, Lesyk D., Holota S., Czarnomysy R., Klyuchivska O., Khylyuk D., Kashchak N., Gzella A., Bielawski K., Bielawska A., Stoika R., Lesyk R. Development of Novel Pyridine-Thiazole Hybrid Molecules as Potential Anticancer Agents. *Molecules*. 2022. Vol. 27, N 19. Art. no. 6219. <https://doi.org/10.3390/molecules27196219>; **IF=4,927, Q1**.
9. Pokhodylo N., **Finiuk N.**, Klyuchivska O., Tupyshak M.A., Matyichuk V., Goreshnik E., Stoika R. Novel N-(4-thiocyanatophenyl)-1H-1,2,3-triazole-4-carboxamides exhibit selective cytotoxic activity at nanomolar doses towards human leukemic T-cells. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2022. Vol. 241. Art.no.114633. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114633>; **IF=6,82, Q1**.
10. **Finiuk N.**, Kryshchshyn-Dylevych A., Holota S., Klyuchivska O., Kozytskiy A., Karpenko O., **Manko N.**, **Ivasechko I.**, Stoika R., Lesyk R. Novel hybrid pyrrolidinedione-thiazolidinones as potential anticancer agents: Synthesis and biological evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2022. Vol. 238, No 5. Art.no. 114422. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114422>; **IF=6,82, Q1**.
11. **Finiuk N.**, Klyuchivska O., Mitina N., Kuznietsova H., Volianiuk K., Zaichenko A., Rybalchenko V., Stoika R. Antineoplastic Activity of Water-Soluble Form of Novel Kinase Inhibitor 1-(4-Chlorobenzyl)-3-chloro-4-(3- trifluoromethylphenylamino)-1H-pyrrole-2,5-dione immobilized on Polymeric Poly(PEGMA-co-DMM) Carrier. *Scientia Pharmaceutica*. 2022. Vol. 90, No 1. Art.no. 7. doi: <https://doi.org/10.3390/scipharm90010007>; **IF=3,429, Q2**.
12. Kuznietsova H., Byelinska I., Dziubenko N., Lynchak O., Milokhov D., Khilya O., **Finiuk N.**, Klyuchivska O., Stoika R., Rybalchenko V. Suppression of systemic inflammation and signs of acute and chronic cholangitis by multi-kinase inhibitor 1-(4-Cl-benzyl)-3-chloro-4-(CF3-phenylamino)-1H-pyrrole-2,5-dione. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2021. Vol. 476, No 8. P. 3021–3035. doi: <https://doi.org/10.1007/s11010-021-04144-y>; **IF = 2,057, Q2**.
13. **Kozak, Yu. S.**, Panchuk, R. R., Skorokhyd, N. R., Lehka, L. V., Stoika, R. S. Impact of N-acetylcysteine on antitumor activity of doxorubicin and landomycin A in NK/Ly lymphoma-bearing mice. *Ukrainian Biochemical Journal*. 2018. Vol. 90, Iss. 2. P. 46-54. doi: <https://doi.org/10.15407/ubj90.02.046>
14. Plichta, Z., **Kozak, Y.**, Panchuk, R., Sokolova, V., Epple, M., Kobylinska, L., Jendelová, P., and Horák, D. Cytotoxicity of doxorubicin-conjugated poly[N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide]-modified γ -Fe₂O₃ nanoparticles towards human tumor cells. *Beilstein Journal of Nanotechnology*. 2018. Vol. 9. P. 2533–2545. <https://doi.org/10.3762/bjnano.9.236>; **Q2**.
15. **Kozak, Yu. S.**, Panchuk, R. R., Skorokhyd, N. R., Semenovich, D. S., Moiseenok, A. G., Stoika R. S. Antioxidants selenomethionine and D-pantethine differentially affect doxorubicin's action on glutathione system in human leukemia cells varying in their resistance to chemotherapy *in vitro*. *Studia Biologica* (Biol. Stud.). 2018. Vol. 12, Iss. 2. 13–24. doi: [dx.doi.org/10.30970/sbi.1202.569](https://doi.org/10.30970/sbi.1202.569).

15.4. Структура досліджень.

Даний проєкт спрямований на поглиблене дослідження впливу похідних триазолу, тiazолу і 4-тіазолідинону на клітини потрійно негативного раку молочної залози, які характеризуються відсутністю естрогенових рецепторів (ER), прогестеронових рецепторів (PR) і рецепторів людського епідермального фактору росту 2 (HER2) (ліній MDA-MB-231 і 4T1), клітини з експресією ER, PR, але не HER2 (ліній MCF-7 і T47D) та клітини з експресією HER2, але не ER, PR (лінії HCC1954), нормальні клітини людини ліній MCF-10A і HaCaT на моделі **2D і 3D культур in vitro**, ізольовані імунокомпетентні клітини крові клінічно-здорових донорів (лімфоцити, нейтрофіли), а також на клітини ортотопічної експериментальної моделі пухлин раку молочної залози **4T1 in vivo**.

Даний проєкт складатиметься з **2-х основних етапів:**

1. Оцінка впливу гетероциклічних похідних тiazолу, 4-тіазолідинону, триазолу на 2D культури клітин тричі негативного, гормон-рецептор позитивного і HER2 позитивного раку молочної залози, а також епідермальних нормальних клітин людини та імунокомпетентних клітин виділених з периферичної крові клінічно-здорових донорів.

2. Дослідження впливу новосинтезованих сполук на виживаність карциномних та нормальних 3D культур молочної залози людини, з подальшою оцінкою токсичної дії досліджуваних речовин *in vivo* та вивченням терапевтичної ефективності

найперспективніших гетероциклічних похідних щодо мишей-носіїв ортотопічної експериментальної моделі раку молочної залози 4T1.

У ході першого етапу (2024 р.) будуть оцінені метаболічна активність, проліферативний потенціал, здатність клітин раку молочної залози до формування колоній, міграції та інвазії, а також здатність ендотеліальних клітин до ангиогенезу за дії досліджуваних новосинтезованих сполук. На цьому етапі будуть використані наступні методи: МТТ-тест, Резазуриновий аналіз, метод напіврідкого агару (Semi-Solid Agar Test) і клоногенний тест (Clonogenic assay), а також методи “шкребка”, “transwell” і “tube formation assay”. Вплив досліджуваних похідних на активність проліферації імуногістохімічних підтипів раку молочної залози буде досліджено за рівнем експресії маркера проліферативної активності Ki-67. Буде визначено цитотоксичну дію досліджуваних сполук на нормальні епідермальні клітини молочної залози людини (лінії MCF-10A) та кератиноци людини (лінії HaCaT). Буде досліджено вплив похідних на життєздатність, фагоцитарну активність імунокомпетентних клітин, виділених з периферичної крові клінічно-здорових донорів.

Будуть досліджені механізми впливу нових гетероциклічних сполук на різні типи клітин раку молочної залози і нормальні клітини за такими критеріями, як транслокація фосфатидилсерину на зовнішній бік плазматичної мембрани, конденсація/фрагментація ДНК, зниження трансмембранного мітохондріального потенціалу, зміна рівня про- і антиапоптотичних білків, білків-регуляторів клітинного циклу та зміна рівня активних форм кисню. Для цього застосовуватимуться методи Вестерн-блот аналізу, флуорисцентної мікроскопії і/або проточної цитофлуориметрії. Зміни кількості цитокінів та білків, пов'язаних з трансдукцією сигналів, а також рівень активних форм кисню у клітинах-мішенях під дією досліджуваних речовин будуть досліджені тими ж методами.

Крім того, буде оцінено вплив новосинтезованих похідних на морфологічні (зміни в цитоскелеті та поява на зовнішньо-клітинній мембрані специфічних маркерів, морфо-структурні зміни цитоплазми та ядра) і функціональні (статус мітохондрій і лізосом) зміни в клітинах-мішенях після забарвлення останніх флуоресцентними барвниками. Імунозабарвлення буде використане для оцінки впливу гетероциклічних похідних на експресію відповідних рецепторів, а саме: ER, PR і HER2 у клітинах MCF-7, T47D, HCC1954 та EGFR у клітинах тричі негативної карциноми молочної залози лінії MDA-MB-231.

Виконання даного етапу роботи дасть можливість встановити структурно-функціональні закономірності, що визначають цитотоксичну активність нових похідних тiazолу, тiazолу і 4-тiazолідинону, а також вивчити молекулярні механізми дії досліджуваних сполук щодо імуногістохімічно різних клітин раку молочної залози людини.

На другому етапі (2025 р.) роботи буде досліджено вплив новосинтезованих сполук на виживаність карциномних та нормальних 3D культур молочної залози людини, з подальшою оцінкою токсичної дії досліджуваних речовин *in vivo* та вивченням терапевтичної ефективності найперспективніших гетероциклічних похідних щодо мишей-носіїв ортотопічної експериментальної моделі раку молочної залози 4T1.

Буде досліджено виживаність та цитоморфологічні зміни 3D культури клітин раку молочної залози ліній MDA-MB-231, MCF-7, T47D, HCC1954, а також нормальних клітин молочної залози лінії MCF-10A під впливом нових гетероциклічних похідних.

Крім того, буде вивчено молекулярні механізми дії досліджуваних сполук на зазначені вище 3D культури. Токсичність нових похідних тiazолу і тiazолу щодо інтактних мишей *in vivo* буде проаналізовано аби впевнитись, що ці сполуки не індукуватимуть розвитку важких побічних ефектів у піддослідних тварин. Буде досліджено протипухлинну активність найбільш перспективних похідних *in vivo*. Для цього лабораторним мишам буде інокульовано ортотопічну модель раку молочної залози 4T1. Щоденний моніторинг фізіологічного стану тварин-пухлиноносіїв дозволить проаналізувати тривалість їх життя та зміни масі тіла під час лікування досліджуваними сполуками. Також буде досліджено та порівняно між собою гематологічні показники нелікованих мишей з пухлиною 4T1 та тварин, яким вводили новосинтезовані сполуки.

15.5. Наявність матеріально-технічної бази для виконання роботи.

Відділ регуляції проліферації клітин і апоптозу Інституту біології клітини НАН України, де працює керівник даного проєкту, к.б.н. Козак Ю.С., та виконавці проєкту володіє достатнім досвідом, науковим потенціалом, методичною та технічною базою для успішного виконання проєкту. Виконавцями даного проєкту протягом тривалого часу проводяться дослідження в

галузі клітинної та молекулярної біології з метою вивчення механізмів дії новосинтезованих сполук щодо злякисних клітин з різними механізмами стійкості до ліків, а також нормальних та імунокомпетентних клітин. Крім того, автори проєкту мають досвід з вивчення терапевтичної ефективності протипухлинних агентів щодо мишей-носіїв лімфоми NK/Ly, лейкозу L1210, меланоми B16 та раку молочної залози 4T1 *in vivo*.

У відділі є необхідне обладнання для реалізації даного проєкту, а саме: CO2-інкубатор (Binder) для культивування клітин; термостат (Jouan, Електроніка), ламінарні бокси для роботи з клітинними лініями, апаратура (камера і блок живлення) для електрофоретичного аналізу білків та ДНК та імуноблотингу (BioRad), флуоресцентний мікроскоп (Carl Zeiss) із камерою AxioImager A1, інвертований мікроскоп (БіоЛам, Delta Optical), цитофлуориметр (Becton Dickinson), мікропланшетний зчитувач (BioTek ELx800), спектрофотометр (ULAB 102UV), мікроспектрофотометр (NanoDrop NP-1000), прилад для вискоефективної рідинної хроматографії (HPLC, BioRad), центрифуги з охолодженням для різного типу пробірок (Jouan, MRP), апаратура для перемішування (вортекс-мішалка струшувач, магнітні мішалки Biosan), соніфікатор (Sonicatoris Misonix Qsonica, LCC), водяна баня із соніфікатором та інше.

У відділі регуляції проліферації клітин і апоптозу Інституту біології НАН України зберігається колекція клітинних ліній, необхідних для виконання запропонованих досліджень, а також підтримуються лабораторні лінії мишей, необхідні для підтримки лімфоми NK/Ly, лейкозу L1210, меланоми B16 та раку молочної залози 4T1 *in vivo*.

16. Техніко-економічне обґрунтування

н е м а є

17. Власна оцінка науково-технічного рівня розробки, що пропонується, яка очікується за результатами наукової, науково-технічної роботи

- немає аналогів у світі або краща за існуючі у світі аналоги
 немає аналогів в Україні
 краща за існуючі в Україні аналоги за всіма основними показниками
 перевищує існуючі в Україні аналогічні розробки за окремими показниками

18. Використання результатів роботи

18.1. Очікувані наукові та науково-практичні результати, об'єкти права інтелектуальної власності (ОІВ), які плануються до впровадження після завершення роботи

Найменування результатів, ОІВ	Назва підприємства, організації, де передбачається використовувати результати, ОІВ	Заплановані обсяги впровадження
Гетероциклічні похідні триазолу, тіазолу і 4-тіазолідинону, що володіють селективною протипухлинною дією на клітини раку молочної залози	Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (кафедра фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії, кафедра біохімії); Львівський національний університет імені Івана Франка (кафедра органічної хімії)	Проведення спільних наукових досліджень, написання спільного НД проєкту

18.2. Шляхи та способи подальшого використання в суспільній практиці результатів виконання роботи

Зважаючи на невтішну тенденцію розвитку ракових захворювань у всіх країнах, зокрема в Україні, синтез та вивчення новітніх сполук з вираженою протипухлинною та селективною дією є ключовим завданням науковців всього світу. Крім того, умови життя, в яких зараз проживають українці (пандемія, війни, стрес та інше), сприяють суттєвому погіршенню статистики онкологічних захворювань та смертності від них. Рак, викликаний стресовими подіями, є ще

одним способом за допомогою якого війна забирає життя наших співвітчизників, оскільки збільшується ризик розвитку і прогресування раку, виникають затримки у діагностиці та перешкоди в ефективному лікуванні, руйнуються клініки. Також зменшується фінансування, призначене на лікування, дослідження і вивчення онкозахворювань. Важливо зазначити, що навіть мінімальні затримки в діагностиці та лікуванні раку підвищують рівень смертності.

Проаналізувавши наявність лікарських засобів у Львівському онкологічному регіональному лікувально-діагностичному центрі за допомогою сайту “Є Ліки” можна сказати, що всі протипухлинні засоби є імпортовані з-за кордону. Що й не дивно, адже основним недоліком вітчизняної медицини та фармацевтичної промисловості є практична відсутність власних розробок у терапії раку. Фармацевтичні компанії не зацікавлені випускати протипухлинні препарати оскільки наукові розробки в даній галузі є надзвичайно дорогими, а вітчизняний ринок лікарських препаратів недостатньо великий для того, щоб доволі швидко повернути собі витрачені кошти. Тим не менш, результати нашого розгорнутого доклінічного дослідження можуть зацікавити вітчизняних виробників фармпродукції.

Крім цього, виконання цієї роботи дозволить краще зрозуміти, як наявність різнотипних фрагментів у структурі досліджуваних гетероциклічних молекул вибірково посилює/знижує їхній протипухлинний потенціал, що буде особливо корисним для направленої дизайну ліків.

Виконання проєкту дозволить встановити залежність протипухлинної активності досліджуваних похідних тіазолу, триазолу і 4-тіазолідину на злоякісно-трансформовані клітини від їх клітинного мікрооточення, молекулярних і генетичних особливостей, що посприятиме підготовці необхідних протоколів їх доклінічних досліджень та пошуку потенційного інвестора для більш цільового тестування.

Очікувані результати також будуть мати практичну цінність у галузі синтезу органічних сполук з протипухлинною дією, оскільки будуть запропоновані нові структурні ансамблі речовин для таких цілей.

18.3. Потенційні споживачі наукових та науково-технічних результатів, об'єктів права інтелектуальної власності (ОІВ)

Країна	Назва підприємства, організації	Найменування результатів, ОІВ	Можливі обсяги споживання
Україна	Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (кафедра фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії, кафедра біохімії)	Гетероциклічні похідні триазолу, тіазолу і 4-тіазолідину, що володіють селективною протипухлинною дією на клітини раку молочної залози; Клітинні та молекулярні мішені дії похідних тіазолу, 4 -тіазолідину, триазолу у пухлинних клітинах; Наукові публікації.	Проведення спільних наукових досліджень, написання спільного НДП
Україна	Національний університет «Львівська Політехніка» (кафедра органічної хімії)	Гетероциклічні похідні триазолу, тіазолу і 4-тіазолідину, що володіють селективною протипухлинною дією на клітини раку молочної залози; Клітинні та молекулярні мішені дії похідних тіазолу, 4 -тіазолідину, триазолу у пухлинних клітинах; Наукові публікації.	Проведення спільних наукових досліджень, написання спільної НДР
Україна	Львівський національний університет імені Івана Франка (кафедра біофізики та біоінформатики, кафедра органічної хімії)	Гетероциклічні похідні триазолу, тіазолу і 4-тіазолідину, що володіють селективною протипухлинною дією на клітини раку молочної залози; Клітинні та молекулярні мішені дії похідних тіазолу, 4 -тіазолідину, триазолу у пухлинних клітинах; Наукові публікації.	Проведення спільних наукових досліджень, написання спільного НД проєкту
Україна	Інститут молекулярної біології та генетики НАН України	Адаптована методика отримання і ведення 3Д культури карциноми молочної залози людини	Проведення спільних наукових досліджень, написання спільного НД проєкту

19. Об'єкти права інтелектуальної власності (ОІВ), використання яких передбачається під час проведення досліджень (для прикладних досліджень та фундаментальних, де використовуються ОІВ)

Реєстраційний номер патенту, свідоцтва, країна (для ОІВ, набуття прав на які засвідчується охоронним документом)	Назва необхідного патенту, ноу-хау, об'єкта авторського права та інших ОІВ	Творець ОІВ	Вид наявних прав (виключні майнові права, виключна, невиключна, проста ліцензія) чи є потреба в одержанні прав на використання
Номер патенту: 109177. Україна	5-[2-хлоро-3-(4-нітрофеніл)-аліліден]-4-(3,5-діарил-4,5-дигідропіразол-1-іл)-5н-тіазол-2-они, що виявляють протипухлинну активність in vitro та in vivo, та спосіб їх солубілізації. Опубліковано: 27.07.2015.	Лесик Р. Б., Гаврилук Д. Я., Панчук Р. Р., Стойка Р. С., Зіменковський Б. С., Чумак В. В., Луцик М. Д.	Нема потреби в одержанні прав на використання

20. Фінансові аспекти роботи

20.1. Загальна вартість роботи 1400,000 тис. грн.

словами: один мільйон чотириста тисяч грн.

20.2. Вартість роботи:

Роки виконання роботи	2024 р.	2025 р.
Вартість виконання робіт (тис. грн.)	700,000	700,000

21. Наукові ради (комітети, комісії) НАН України, ради регіональних наукових центрів НАН і МОН України, яких доцільно залучити до експертної оцінки запиту

н е м а є

22. Кандидатури можливих експертів у галузі, до якої відноситься робота, що пропонується

Прізвище, ім'я, по батькові	Науковий ступінь, посада	Місце роботи
Костерін Сергій Олексійович	академік НАН України, д.б.н., проф., заступник директора з наукової роботи	Ін-т біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України
Риндич Алла Володимирівна	член-кореспондент НАН України, д.б.н., проф., завідувач відділу	Ін-т молекулярної біології і генетики НАН України
Жирнов Віктор Валентинович	д.м.н., провідний науковий співробітник	Ін-т біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України

23. Додатки, що є невід'ємною частиною запиту:

1. Технічне завдання на виконання роботи (Додаток А).
2. Планова калькуляція кошторисної вартості роботи (Додаток Б).

26.10.2023

дата

Директор
Інституту біології клітини НАН України
академік НАН України



Андрій СИБІРНИЙ

(підпис)

М.П.

Науковий керівник роботи

Молодший науковий співробітник
Інституту біології клітини НАН України
к.б.н.

Юлія КОЗАК

(підпис)

ПОГОДЖЕНО

Директор
Інституту біології клітини НАН України
академік НАН України



Андрій СИБІРНИЙ

(підпис)

« 26 » жовтня 2023 р.
М.П.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Віцепрезидент НАН України
академік НАН України

Вячеслав КОШЕЧКО
(підпис)

« _____ » _____ 20__ р.
М.П.

ТЕХНІЧНЕ ЗАВДАННЯ
на виконання наукової (науково-технічної) роботи

«Доклінічні дослідження нових похідних тіазолу та триазолу як потенційних препаратів для лікування раку молочної залози»
Гранти НАН України дослідницьким лабораторіям/групам молодих вчених НАН України для проведення досліджень за пріоритетними напрямками розвитку науки і техніки 2024-2025 рр.

Інститут біології клітини НАН України

1. Рішення про затвердження роботи

2. Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки

н е м а є

3. Пріоритетний тематичний напрям наукових досліджень і науково-технічних розробок

н е м а є

4. Код та назва наукового напрямку або проблеми з Основних наукових напрямів та найважливіших проблем фундаментальних досліджень у галузі природничих, технічних і гуманітарних наук (для фундаментальних досліджень)

2.2.4.1. Вивчення механізмів регуляції функціональних систем організму за умов норми і патології

2.2.4.3. Вивчення молекулярно-генетичних основ регуляції метаболічних процесів при пухлинній хворобі

2.2.4.5. Дослідження протеїнів крові з метою профілактики, діагностики та лікування патологій зв'язаних з тромбоутворенням та (або) із загрозами кровотеч

5. Основний напрям наукової діяльності установи, за яким проводяться роботи

Дослідження молекулярних механізмів регуляції проліферації, диференціації та апоптозу у нормальних та пухлинних клітинах тварин і людини.

6. Мета роботи

Мета проєкту: вивчити механізми дії нових похідних тіазолу/4-тіазолідинону і триазолу щодо різних імуногістохімічних підтипів раку молочної залози, а саме: тричі негативних, гормон-рецептор і HER2 позитивних клітин. А також встановити терапевтичну ефективність найбільш активних досліджуваних сполук щодо раку молочної залози (ортотопічної моделі 4T1) у мишей.

Дослідження проводитимуться з використанням 2D та 3D клітинних моделей потрібного негативного раку молочної залози, які характеризуються відсутністю рецепторів естрогену (ER), рецепторів прогестерону (PR) і рецепторів людського епідермального фактора росту 2 (HER2) (клітинні лінії MDA-MB-231, 4T1), клітинах з експресією ER, PR, але не HER2 (ліній MCF-7 та T47D), та клітинах з експресією HER2, але не ER, PR (лінії HCC1954), а також нормальних клітинах людини (лінії MCF-10A). У дослідження будуть також включені нормальні епідермальні кератиноцити людини лінії HaCaT. Додатково буде проведено аналіз токсичності досліджуваних сполук щодо лімфоцитів/нейтрофілів, ізольованих з крові клінічно здорових донорів.

Будуть досліджені молекулярні механізми впливу нових гетероциклічних сполук на різні типи клітин раку молочної залози 2D та 3D культури. З цією метою буде оцінено кількість про- і антиапоптичних білків, і білків-регуляторів клітинного циклу, вміст активних форм кисню і наявність ДНК. Будуть з'ясовані морфологічні (зміни в цитоскелеті та поява на зовнішньо-клітинній мембрані специфічних маркерів, морфо-структурні зміни цитоплазми та ядра) і функціональні (статус мітохондрій і лізосом) зміни в клітинах-мішенях за дії досліджуваних сполук з використанням специфічних флуоресцентних барвників.

Крім того, буде вивчено вплив аналізованих сполук на експресію рецепторів естрогену, прогестерону та людського епідермального фактора росту 2 у клітинах відповідних ліній карциноми молочної залози (MCF-7, T47D та HCC1954). На клітинах тричі негативного раку

молочної залози (MDA-MB-231) буде оцінено вплив сполук на рівень експресії рецептора епідермального фактора росту (EGFR).

Здатність клітин раку молочної залози до міграції та інвазії під впливом новосинтезованих сполук будуть оцінені за допомогою методів “шкребка” та “transwell”. У свою чергу, “Tube formation assay” буде використано для виявлення антиагіогенезної активності досліджуваних сполук. Вплив досліджуваних похідних на активність проліферації різних підтипів раку молочної залози буде досліджено за рівнем експресії маркера проліферативної активності Ki-67. Здатність клітин формувати колонії за дії досліджуваних гетероциклічних агентів буде оцінено використовуючи метод напіврідкого агару (Semi-Solid Agar Test) і клоногенний тест (Clonogenic assay).

Протипухлинна активність найбільш перспективних похідних буде досліджена на ортотопічній експериментальній моделі пухлин раку молочної залози 4T1 *in vivo*. Після прищеплення пухлини проводитимемо щоденні спостереження за піддослідними тваринами, які включатимуть в себе перевірку їх фізіологічного стану, виживаності та маси тіла. Також буде проаналізовано та порівняно між собою гематологічні показники нелікованих мишей з пухлиною 4T1 та тварин, яким вводили досліджувані сполуки. До того ж, буде вивчено токсичність нових похідних тіазолу і триазолу щодо інтактних мишей *in vivo* аби впевнитись, що ці сполуки не індукуватимуть розвитку важких побічних ефектів у піддослідних тварин.

7. Термін проведення роботи:

початок — 01 січня 2024 р. ; закінчення — 31 грудня 2025 р.

Орієнтовний обсяг коштів на виконання роботи в цілому **1400,000** тис. грн.

та по роках

2024 р. — 700,000 тис. грн.

2025 р. — 700,000 тис. грн.

8. Календарний план роботи

№ з/п	Найменування основного етапу роботи	Термін виконання	Відповідальний виконавець
1	Оцінка впливу гетероциклічних похідних тіазолу, 4-тіазолідинону, триазолу на 2D культури клітин тричі негативного, гормон-рецептор позитивного і HER2 позитивного раку молочної залози, а також епідермальних нормальних клітин людини та імунокомпетентних клітин виділених з периферичної крові клінічно-здорових донорів	01 січня 2024 р. - 31 грудня 2024 р.	к.б.н., Ю.С. Козак; д.філос., І.І. Івасечко; к.б.н., Н.С. Фінюк; д.філос., Н.О. Манько.
2	Дослідження впливу новосинтезованих сполук на виживаність карциномних та нормальних 3D культур молочної залози людини, з подальшою оцінкою токсичної дії досліджуваних речовин <i>in vivo</i> та вивченням терапевтичної ефективності найперспективніших гетероциклічних похідних щодо мишей-носіїв ортотопічної експериментальної моделі раку молочної залози 4T1	01 січня 2025 р. - 31 грудня 2025 р.	к.б.н., Ю.С. Козак; к.б.н., Н.С. Фінюк; д.філос., І.І. Івасечко; д.філос., Н.О. Манько.

9. Зміст, основні вимоги до виконання роботи, рівня і способів її виконання

Різноманітні за структурою гетероциклічні фрагменти та інші групи фармакофорів часто поєднують у одній молекулі для створення новітніх високоефективних селективних лікарських засобів. Тіазол, піразол, триазол, піран, піримідин та інші похідні володіють широким спектром біологічної активності, що робить їх привабливими гетероциклічними сполуками для розробки та синтезу нових протипухлинних агентів. Зокрема, молекули селективних протипухлинних препаратів дабрафенібу і дазатенібу, схвалених FDA, містять у своїй структурі тіазол, піримідин і амідні (сульфамідні) фрагменти.

Різноманітні за структурою гетероциклічні фрагменти та інші групи фармакофорів часто поєднують у одній молекулі для створення новітніх високоефективних селективних лікарських засобів. Тіазол, піразол, триазол, піран, піримідин та інші похідні володіють широким спектром біологічної активності, що робить їх привабливими гетероциклічними сполуками для розробки та синтезу нових протипухлинних агентів. Зокрема, молекули селективних протипухлинних препаратів дабрафенібу і дазатенібу, схвалених FDA, містять у своїй структурі тіазол, піримідин і амідні (сульфамідні) фрагменти.

Основна ідея проєкту полягає у пошуку та вивченні ефективних похідних триазолу, тіазолу і 4-тіазолідинону, які характеризуватимуться високою цитотоксичною активністю щодо імуногістохімічно різних клітин раку молочної залози та водночас залишатимуться низькотоксичними для нормальних та імунокомпетентних клітин *in vitro*. Крім того, дані сполуки не викликатимуть важких побічних ефектів у організмі піддослідних мишей та володітимуть вираженою терапевтичною дією щодо мишей-носіїв ортотопічної моделі 4T1 *in vivo*.

Аби втілити зазначену вище ідею ми плануємо розділити роботу на два великих етапи, які включатимуть в себе 8 завдань, що детально описані в розділах “Цілі, завдання, актуальність, соціальна та економічна значимість” та “Структура досліджень”). Для досягнення поставленої мети виконавці проєкту планують використати широкій спектр методів клітинної та молекулярної біології, а також провести *in vivo* дослідження.

Завдання, яке наша команда ставить перед собою - це ґрунтовне доклінічне вивчення новосинтезованих гетероциклічних сполук, що буде основою для подальших доклінічних випробувань, наприклад, фармакокінетики та фармакодинаміки речовин і може стати першим кроком до можливого введення нових ефективних сполук у клінічну практику.

Виконавцями проєкту погоджено календарний план і завдання НДР, визначено послідовності дій, проведено первинний розподіл відповідальностей між учасниками проєкту, а також оцінку ризиків. Виконавцями проєкту будуть проведені щомісячні збори для аналізу отриманих результатів, аналізу і закупівлі наявних ресурсів, формування висновків про потенціал нових сполук для лікування пухлин і можливість подальшого розвитку досліджень у цьому напрямку, планування подальших досліджень та наукових співпраць.

При виконанні запланованої науково-дослідної роботи дослідники зобов'язуються дотримуватись техніки безпеки у лабораторії та віварії. Дослідження дії створених матеріалів в організмі експериментальних тварин буде проведене із дотриманням норм біоетики. Кров здорових донорів для подальшого дослідження буде одержана за їх письмової згоди і з урахуванням норм біоетики, біоетичних норм «Конвенції про права людини та біомедицину», «Конвенції про захист прав і достоїнства людини у зв'язку із застосуванням досягнень біології і медицини: Конвенція про права людини і біомедицину». При аналізі отриманих результатів дослідники зобов'язуються проводити статистичну оцінку достовірності різниці або кореляції отриманих числових даних.

10. Наукові (науково-технічні) результати, що очікуються за основними етапами та роботою в цілому

Первинний скринінг цитотоксичної активності досліджуваних сполук щодо імуногістохімічно різних клітин раку молочної залози та нормальних клітин людини дасть можливість виявити найбільш ефективні гетероциклічні похідні, що володіють селективною протипухлинною дією (широке диференційне вікно між злоякісними та нормальними клітинами на рівні IC100). Подальші дослідження відібраних на основі скринінгу тiazолів та триазолів дозволять встановити молекулярні механізми їх дії, а також оцінити їх вплив на основні ознаки злоякісності пухлинних клітин, а саме міграцію, інвазію та ангіогенез. Терапевтичну активність та потенційні побічні ефекти новосинтезованих сполук, які виявилися найактивнішими *in vitro*, буде також вивчено на ортотопічній моделі раку молочної залози 4T1 у лабораторних мишей.

Такий комплексний доклінічний аналіз нових похідних тiazолу та триазолу дасть змогу виділити перспективні кандидати для подальших досліджень, які можуть включати аналіз фармакокінетики та фармакодинаміки цих сполук.

За результатами роботи будуть опубліковані наукові статті у провідних фахових вітчизняних і міжнародних журналах.

11. Перелік науково-технічної та іншої документації, що надається по завершенню роботи

Документи, які надаються по завершенню проекту: звіт про виконання наукового проекту; кошторис фактичних витрат із розрахунками за статтями; перелік статей накладних витрат. Основні наукові результати будуть опубліковані у статтях в журналах, що входять до наукометричної бази даних Scopus і/або WoS, до переліку фахових видань України і мають ISSN. Отримані результати будуть представлені та обговорені на міжнародних та вітчизняних наукових конференціях/конгресах/воркшопах.

Науковий керівник роботи

Молодший науковий співробітник
Інституту біології клітини НАН України
к.б.н.


(підпис)

Юлія КОЗАК

Планова калькуляція кошторисної вартості наукової (науково-технічної) роботи

**«Доклінічні дослідження нових похідних тіазолу та триазолу як потенційних препаратів для лікування раку молочної залози»
на 2024 рік**

Термін виконання роботи: початок — 01.01.2024 р., закінчення — 31.12.2025 р.

№ з/п	Найменування статей витрат	КЕКВ	Сума, тис. грн.
1	Заробітна плата	2111	366,360
2	Нарахування на оплату праці	2120	80,599
3	Предмети, матеріали, обладнання та інвентар	2210	176,205
4	Видатки на відрядження	2250	60,000
5	Оплата електроенергії	2273	16,836
Разом:			700,000
в т.ч. накладні витрати			35,136
% їх до основної заробітної плати			10,0%

УСТАНОВА-ВИКОНАВЕЦЬ:

Директор
Інституту біології клітини НАН України
академік НАН України

_____ Андрій СИБІРНИЙ
(підпис)



М.П.

Науковий керівник роботи
Молодший науковий співробітник
Інституту біології клітини НАН України
к.б.н.

_____ Юлія КОЗАК
(підпис)