

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу Івасечко Ірини Ігорівни на тему:
**«АНТИНЕОПЛАСТИЧНА ДІЯ НОВИХ ПОХІДНИХ ТІАЗОЛУ І
ТІАЗОЛІДИНОНУ ТА ЇХ ВОДОРОЗЧИННИХ ФОРМ»**, яка виноситься на
захист для здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за
спеціальністю **091 - Біологія**.

Ознайомившись із дисертаційною роботою Івасечко Ірини Ігорівни вважаю, що відповідна праця є сучасним науковим дослідженням в галузі клітинної біології, що ставить за мету всебічний аналіз механізмів протипухлинної дії нових низькомолекулярних гетероциклічних сполук, похідних тіазолу та тіазолідинону, з метою пошуку агентів, ефективних для створення нових підходів синтетичної летальності та подолання лікарської резистентності різних типів пухлин.

Актуальність теми дослідження: Незважаючи на стрімкий прогрес медицини, рак залишається однією із основних причин смертності у всьому світі. Низька ефективність лікування онкозахворювань часто пов'язана, поряд з їх генетичною гетерогенністю, із розвитком резистентності пухлинних клітин до хемотерапевтичних агентів, надмірною поліорганною токсичністю останніх і недостатньою селективністю щодо нормальних та злякано трансформованих клітин. Тому розробка і тестування нових сполук із протипухлинною активністю залишається актуальним напрямом сучасних досліджень у галузі медичної хімії та біології. Таким чином, завдання дисертаційної роботи Івасечко Ірини Ігорівни є без сумніву актуальними.

Структура та обсяг дисертації Дисертація містить наступні розділи: «Анотація», «Вступ», «Огляд літератури», «Матеріали і методи досліджень», «Результати досліджень та їх обговорення», «Аналіз та узагальнення результатів досліджень», «Висновки», «Список використаних джерел» та «Додаток 1». Дисертацію викладено на 159 сторінках. Робота містить 37 рисунків, 13 таблиць та 141 джерело літератури.

Наукова новизна отриманих результатів.

Не викликають сумніву **наукова новизна** роботи та її важливе **теоретичне та практичне значення**.

Метою дослідження було встановити механізми протипухлинної дії *in vitro* та *in vivo* похідних піридин-тіазолів та тіопірано-тіазолів із нафтохіноновим фрагментом. Мета й завдання роботи сформульовані чітко і зрозуміло.

Загалом у роботі досліджено протипухлинну активність 28-ми нових сполук похідних тіазолу, синтезованих групою професора Романа Богдановича Лесика з Національного медичного університету ім. Данила Галицького. Серед них були виявлені як потенційні селективні молекули, наприклад Les-6485, так і цитотоксичні неселективні сполуки.

Вперше виявлено, що сполука Les-6485 є потенційним інгібітором білка PARP1 (Poly(ADP-ribose) polymerase 1), який бере участь у механізмах регуляції транскрипції та репарації ДНК та є важливою мішенню протипухлинних препаратів. На основі даних аналізу молекулярного докінгу запропоновано, що Les-6485 може взаємодіяти із мішенню за новим, відмінним від відомих раніше інгібіторів PARP механізмом. Показано, що преінкубація клітин із інгібітором MGMT (O6-methylguanine-DNA methyltransferase), що індукується у відповідь на пошкодження ДНК та бере участь в одному із шляхів її репарації, викликає синтетичне чи синергічне підсилення дії похідного Les-6485. У даній роботі також вперше показано, що сполуки, похідні тіопірано-тіазолів з нафтохіноновим фрагментом, проявляють схожу із доксорубіцином цитотоксичну дію, але є менш токсичними для нормальних та псевдо-нормальних клітин. Встановлено, що механізм дії «сполуки-лідера» є р53-залежним,

оскільки клітини лінії НСТ-116 wt є у 2-5 разів чутливішими до дії сполуки 10 у порівнянні із р53-дефіцитними клітинами цієї лінії. Показано, що сполуки цього ряду електростатично та/або за типом інтеркаляції взаємодіють із ДНК. В межах виконаної роботи окрім дослідження механізмів дії похідних тіазолів, також вперше обґрунтовано можливість подальшого використання найбільш активних похідних у комбінації із ДНК пошкоджуючими агентами або для сенсibilізації ракових клітин до відомих терапевтичних агентів.

Слід відзначити **високий методичний рівень роботи**. У роботі були використані різноманітні та адекватні відносно завдань сучасні та класичні методи клітинної та молекулярної біології, біохімічні методи, експериментальні підходи *in vivo*, та підходи комп'ютерного аналізу.

Практичне значення наукових результатів роботи полягає в експериментальному обґрунтуванні механізмів протипухлинної дії похідних тіазолів, що дає можливість для вдосконалення вже існуючих та синтезу нових, більш ефективних структурно-споріднених молекул.

Використання результатів роботи. Результати роботи можуть бути використані для створення моделей та синтезу нових ефективних сполук-кандидатів у лікарські протипухлинні засоби.

Особиста участь автора в отриманні та обґрунтуванні наукових та практичних результатів, що викладені в дисертаційній роботі, не викликає сумніву. Дисертантка брала безпосередню участь у плануванні, підготовці, та виконанні поставлених експериментальних задач, а також у підготовці публікацій за темою дисертації. У роботі наводяться необхідні посилання на вклад інших співавторів публікацій

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи опубліковано у вигляді наукових статей у профільних журналах та представлено у формі тез усних або стендових доповідей наукових конференцій. Загалом за темою дисертації опубліковано 12 наукових робіт, що охоплюють усі розділи дисертації, з яких 4 статті у виданнях переліку Scopus, та 8 тез доповідей конференцій. Слід відзначити, що дисертантка є першим автором у двох публікаціях, опублікованих у журналах із квантилем Q1 та Q2.

Відзначаючи серйозний науковий та методологічний рівень роботи, а також її загалом належне, згідно діючих вимог, оформлення, **до роботи виник ряд зауваг та запитань:**

Анотація. *«рак є четвертою основною причиною смерті у віці до 70 років у 23 країнах світу, і, ймовірно, стане першою у цілому світі до 2060 році. (~19 млн смертей очікується) [1].»* - Відомо, що рак є другою причиною смерті, після серцево-судинних захворювань, потрібно перефразувати.

«Інгібітори PARP є також важливими у розвитку концепції синтетичної летальності, як підходу до лікування раку.» Потрібно пояснити, чому інгібітори PARP діють селективно на пухлинні клітини, і в чому суть так званого підходу «синтетичної летальності». Суть власне підходу СЛ та PARP як мішені пояснено лише на стор. 41 Огляду літератури.

Після Анотації необхідно додати перелік умовних позначень, використаних у роботі. Варто також для зручності подати прип. першому згадуванні англійські назви спротипухлинних сполук із відповідними англійськими аббревіатурами, поряд з українськими.

Вступ. «препаратів, таких як тіазофури (інгібітор дегідрогенази IMP), дазатиніб (інгібітор тирозинкінази Vcg-Abl),...» - Подати також англійські назви сполук.

Огляд літератури. Зауваги запропоновано у тексті розділу.

Результати. Опис піридин-тіазолові гібридів як протипухлинних сполук та взаємовідношення «структура-функція» можливо варто перенести до Огляду літератури.

Рисунки 4,5,6, 8 - збільшити масштаб.

Рис. 11 Незрозуміло, що є контролем у даному випадку. – пояснити. Те ж стосується **Рис. 29**.

Таблиця 5 стор 79 – дані моделювання докінгу *in silico* ще не свідчать про безпосередню взаємодію досліджуваних сполук із білком PARP, потрібно вживати слово «вірогідно», чи «імовірно».

Рис. 16. *Вестерн блот* аналіз білків, пов'язаних із відповіддю клітини на пошкодження ДНК та індукцію апоптозу протягом 48 та 72 годин інкубації із сполукою **Les-6485** у концентрації 2.5 та 5 мкМ.

Запитання: Чи не є спостережена відповідь (лише на 72 год) занадто пізною? Варто було б мати контроль з УФ-обробленими клітинами.

Рис. 17. де подівся третій графік? Потрібно модифікувати у чорно-білому варіанті чи додати пояснення щодо співпадіння із контролем.

Аналіз та узагальнення результатів. Варто спробувати проаналізувати, виходячи із відповідних структур, чому саме сполуки 10 та 19 є потенційно активнішими протипухлинними агентами, ніж подібні перевірені аналоги.

Висновки. Потрібно відредагувати, та на мій погляд скоротити ряд розлогих висновків, таких як №2.

Назва роботи: дискусійне запитання: Чи варто залишати у назві «**ТА ЇХ ВОДОРОЗЧИННИХ ФОРМ**», оскільки власне питання водорозчинності мало чи недостатньо обговорюється у результатах та їх аналізі. І чи не варто додати до назви слово «Механізми дії», бо власне їх встановлення і є основним вислідом роботи. Тобто пропонується така назва: «**Механізми антинеопластичної дії нових похідних тіазолу і тіазолідинону**» .

Загальне зауваження: У текст роботи потрібно додати цілий ряд так званих crossreference себто покликів на рисунки та розділи дисертації, де обговорювані дані представлені. Це стосується Обговорення результатів, Огляду літератури та інш. розділів.

Запитання: У роботі наводиться висновок, що «*сполуки ряду похідних тіопірано-тіазолів з нафтохіноновим фрагментом електростатично та/або за типом інтеркаляції взаємодіють із ДНК, проте рівень їхньої взаємодії не корелює із цитотоксичною активністю*». Чи тут немає певної суперечності, і як можна таке спостереження пояснити?

Споріднене запитання: деякі із досліджуваних сполук виявились більш селективними щодо пухлин, деякі цитотоксичними для усіх клітин. Чи спостерігалась певна закономірність щодо їх структурних особливостей.

Підсумовуючи, висловлені зауваження не зменшують загальну актуальність, новизну результатів та науково-практичну цінність роботи, та її **відповідність вимогам до кандидатських дисертацій за спеціальністю 091 - біологія**. Обсяг виконаних досліджень та їх якість є цілком достатніми для формулювання та обґрунтування наведених висновків.

Вважаю, що дисертаційна робота Івасечко Ірини Ігорівни на тему: «**Антинеопластична дія нових похідних тіазолу і тіазолідинону та їх водорозчинних форм**» відповідає «**Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах)**», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 23 березня 2016 р. № 261, наказу МОН України № 40 від 12.01.2017р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», пп. 6, 7, 8 «**Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії**», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44 та відповідає напрямку наукового дослідження освітньо-наукової

програми Інституту біології клітини НАН України з галузі знань 09 – Біологія зі спеціальності 091 – Біологія і може бути рекомендованою до захисту.

Завідувач відділу Сигнальних механізмів клітини
Інституту біології клітини НАН України,
доктор біологічних наук

Стасик О. В.

17 липня 2023 р.