

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Российский химико-технологический университет
имени Д.И. Менделеева»**

На правах рукописи



Минин Дмитрий Вячеславович

**Синтез и биологическая активность агонистов PPAR
и их метаболитов**

1.4.3 Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Москва – 2023

Работа выполнена на кафедре химии и технологии органического синтеза федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»

Научный руководитель:

Попков Сергей Владимирович

Кандидат химических наук, доцент,
заведующий кафедрой химии и технологии
органического синтеза РХТУ им. Д.И. Менделеева

Официальные оппоненты:

Куткин Александр Валерьевич

Доктор химических наук,
Заместитель генерального директора
по инновационному развитию ГосНИИОХТ

Тихомиров Александр Сергеевич

Кандидат химических наук,
Заведующий лабораторией синтеза антибиотиков,
преодолевающих резистентность
НИИНА им. Г.Ф. Гаузе

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Российский национальный исследовательский
медицинский университет имени Н.И. Пирогова»

Защита диссертации состоится «06» октября 2023 г. в 11:00 на заседании диссертационного совета РХТУ.1.4.01 федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» (125047, г. Москва, Миусская пл., д. 9).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-библиотечном центре и на официальном сайте <https://muctr.ru> федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева».

Автореферат диссертации разослан «___» _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета РХТУ.1.4.01,
кандидат химических наук



Чепцов Д.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Синтез, изучение химических, физических, биологических свойств, поиск метаболитов агонистов рецепторов активаторов пролиферации пероксисом (PPAR) относится к перспективным областям химии гетероциклических соединений. Представители PPAR агонистов в настоящее время применяются в качестве гиполипидемических (*фенофибрат, ципрофибрат*), гипогликемических (*росиглитазон*) и противовоспалительных (*индометацин*) лекарственных средств. Следует особо выделить группу PPAR δ/β агонистов, играющих важную роль в процессах окисления жирных кислот в адипоцитах и скелетных мышцах. Синтетические селективные и мощные агонисты PPAR δ/β , такие как GW501516 (*эндуробол*), открыты относительно недавно и показали хорошую эффективность в снижении уровня триглицеридов, повышении уровня холестерина липопротеинов высокой плотности, улучшении чувствительности к инсулину. Также было установлено, что *эндуробол* обладает гепатотоксичной активностью.

Агонисты PPAR δ/β как лекарственные средства представлены только *транс-ретиноевой кислотой*, принимающей участие в широком спектре физиологических процессов. Тем не менее агонисты PPAR δ/β считаются перспективными для лечения дислипидемии, ожирения и нарушений механизмов восстановления и регенерации тканей. Эти препараты проходят клинические испытания как средства для лечения ожирения и нормализации уровня холестерина и пока не имеют патентованных названий.

Следовательно, дизайн, синтез и изучение свойств новых соединений являются необходимыми этапами поиска перспективных лекарственных препаратов - PPAR δ/β агонистов для лечения ожирения с диабетом 2 типа.

В связи с вышеизложенным можно утверждать, что разработка методов синтеза, изучение химических, физических, биологических свойств, а также синтез метаболитов PPAR δ/β агонистов является **актуальной** задачей, имеющей важное значение.

Степень разработанности темы. Ранее были получены 4-(1-арил-1,2,3-триазол-4-илметилтио)-2-метилфеноксисукусные кислоты и 4-(3-арил-1,2,4-

тиадиазол-5-илметилтио)-2-метилфеноксиуксусные кислоты. Установлено влияние на экспрессию всех трех изоформ PPAR этих синтетических агонистов.

Цель работы. Синтез, изучение химических, физических и биологических свойств новых PPAR δ/β агонистов, содержащих в качестве линкера различные, альтернативные тиазолу, азолы. Для достижения поставленной цели в работе решены следующие задачи:

1. Рассчитаны *in silico* фрагменты молекулы GW501516 и планируемые к синтезу соединения на генотоксичность с помощью программного продукта ACD/Percepta с использованием краткосрочных тестов и SAR-анализа.

Осуществлено предсказательное молекулярное моделирование в сайт связывания белка PPAR δ/β и потенциально биологически активных соединений с использованием программно-аппаратного комплекса «Алгокомб». На основании полученных расчетных данных отобраны перспективные соединения – аналоги *эндуробола*.

2. Разработаны методы синтеза и получены новые агонисты PPAR δ/β и их метаболиты, содержащие в своем составе метил-1,2,4-триазольные и 1,2,4-оксадиазольные фрагменты.

3. Исследована антиагрегационная активность синтезированных соединений. Получены константы диссоциации и ассоциации комплекса PPAR δ/β и агонистов методом плазмонного резонанса.

Научная новизна диссертационной работы заключается в следующем:

1) Выполнен молекулярный докинг и осуществлен расчет генотоксичности планируемых к синтезу перспективных новых агонистов PPAR δ/β .

2) Разработана девятистадийная схема синтеза 4-(5-арил-4-метил-1,2,4-триазол-3-илметилтио)-2-метилфеноксиуксусных кислот на основе замещенных бензойных кислот. Предложен эффективный способ получения 3-арил-4-метил-1,2,4-триазолилметанола.

3) Разработана схема синтеза нового ряда 4-(5-арил-4-метил-1,2,4-триазол-3-илтиометил)-2-метилфеноксиуксусных кислот через промежуточные 5-арил-4-метил-2,4-дигидро-3H-1,2,4-триазол-3-тионы и этил 2-(4-хлорметил-2-метилфенокси)ацетат.

4) Разработана пятистадийная схема синтеза (4-[3-арил-1,2,4-оксадиазол-5-ил метилтио]-2-метилфенокси)уксусных кислот на основе замещенных бензонитрилов.

5) Разработаны эффективные методы синтеза стабильных продуктов возможной метаболической трансформации вышеперечисленных тиосодержащих агонистов PPAR δ/β в такие производные как сульфоксид- и сульфосодержащие аналоги.

Теоретическая и практическая значимость. Разработаны методики синтеза новых агонистов PPAR δ/β . Получены ряды соединений, содержащих в качестве линкера 4-метил-1,2,4-триазольные и 1,2,4-оксадиазольные гетероциклы. Подобраны оптимальные условия окисления для получения метаболитов целевых соединений в виде сульфоксидов и сульфонов. Синтезировано 34 соединения, не описанных ранее. Структуры всех соединений подтверждены с помощью современных физико-химических методов анализа.

В результате исследования антитромботической активности синтезированных соединений, содержащих метилтиазольный и 1,2,3-триазольный фрагменты было установлено, что 4-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)-1,3-тиазол-5-илметилсульфонил]-2-метилфеноксиуксусная кислота превосходит по активности *эндуробол*, используемый в качестве эталона.

Разработана методика определения констант диссоциации и ассоциации белок-лигандного комплекса рецептора PPAR δ/β с синтезированными агонистами методом поверхностного плазмонного резонанса. Исследованы соединения из четырех разных рядов. Установлено, что наибольшую аффинность к белку проявляет 4-[4-метил-5-(3,4-дихлорфенил)-4Н-1,2,4-триазол-3-илметилсульфонил]-2-метилфеноксиуксусная кислота.

Методология и методы исследования. При выполнении данной работы использовали как известные методы органического синтеза, так и разработанные впервые для не описанных ранее соединений. В диссертации приведены основные физикохимические и спектральные характеристики всех синтезированных соединений. Строение всех полученных соединений доказано с помощью ЯМР-спектроскопии на ядрах ^1H и ^{13}C . Чистоту конечных продуктов определяли

методами ВЭЖХ-МС, а состав подтверждали данными элементного СНН-анализа или масс-спектрометрии высокого разрешения.

Положения, выносимые на защиту:

1) Общий способ получения ряда 4-(5-арил-4-метил-1,2,4-триазол-3-илметилтио)-2-метилфеноксиуксусных кислот – потенциальных агонистов PPAR δ / β .

2) Общий способ получения ряда 4-(5-арил-4-метил-1,2,4-триазол-3-илтиометил)-2-метилфеноксиуксусных кислот – потенциальных агонистов PPAR δ / β .

3) Общий способ получения ряда 4-[3-арил-1,2,4-оксадиазол-5-илметилтио]-2-метилфеноксиуксусных кислот - потенциальных агонистов PPAR δ / β .

4) Общий способ получения сульфоксидов и сульфонов серосодержащих метаболитов - новых агонистов PPAR δ / β .

5) Предложен подход поиска новых агонистов PPAR δ / β по схеме: расчет *in silico* аналогов эндуробола на генотоксичность с помощью программного продукта ACD/Percepta, молекулярный докинг в сайт связывания рецептора PPAR δ / β с использованием программно-аппаратного комплекса «Алгокомб», разработка методик синтеза, получение перспективных соединений и экспериментальная проверка их взаимодействия с белком-мишенью методом поверхностного плазмонного резонанса.

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность и обоснованность результатов исследований, выводов и рекомендаций подтверждаются применением современных методов молекулярного моделирования, методов анализа, статистической обработки экспериментальных данных, использованием в ходе исследований метрологически поверенной и аттестованной аппаратуры.

Основные положения и практические результаты диссертации апробировались и получили положительную оценку на следующих конференциях: VII, VIII Молодежной конференции ИОХ РАН (г. Москва, 2017, 2019); VI Междисциплинарной конференции Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии (г. Нижний Новгород, 2020); Всероссийской школеконференции молодых ученых «ДНИ НАУКИ В ИГХТУ» (г. Иваново, 2022); XIV Международном конгрессе молодых ученых по химии и химической технологии «МКХТ-2022» (г. Москва, 2022).

Публикация результатов диссертации. Результаты исследований по теме диссертационной работы опубликованы в соавторстве в 10 работах, 4 публикациях в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК из которых 2 индексируются в международных базах данных. Также опубликовано 6 тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях.

Вклад автора. Непосредственное участие на всех этапах работы: анализ литературы, поиск соединений, синтез намеченных структур, аналитическое сопровождение каждой стадии, оценка активности, обобщение полученных результатов, а также подготовка материалов публикаций и представлении результатов исследования на конференциях.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 200 страницах машинописного текста и состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка литературы, включающего 123 наименований, содержит 87 таблиц, 75 рисунков.

Благодарности. Автор выражает искреннюю признательность и благодарность заведующему кафедрой химии и технологии органического синтеза РХТУ им. Д.И. Менделеева С. В. Попкову за помощь в подготовке диссертации. За его своевременные и профессиональные консультации на всех этапах. Отдельные слова огромной благодарности своей семье, а также коллегам за помощь и поддержку в минуты написания работы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность работы, сформулированы цели исследования, изложена научная новизна и практическая значимость.

В первой главе описывается строение, функции, общие механизмы молекулярной регуляции PPAR. Обобщены методы определения биологической и генотоксичной активности, способы синтеза PPAR δ/β агонистов, аналогов *эндуробола*.

Во второй главе приведены расчеты генотоксичной активности фрагментов молекулы *эндуробола*. Приведены расчеты молекулярного докинга при поиске перспективных PPAR δ/β агонистов. Приведены методики синтеза и результаты биологической активности отобранных соединений.

В третьей главе приведены экспериментальные методики синтеза, физико-химические и спектральные характеристики полученных веществ.

Обсуждение результатов

В ходе анализа литературных источников было выявлено, что наиболее перспективными агонистами PPAR δ/β являются молекулы аналогичные по структуре с эталоном - *эндуроболом*. Данная структура при молекулярном докинге идеально располагается в области лиганд-связывающего домена, образуя полярные и неполярные связи в полости рецептора. В структуре *эндуробола* условно выделяют четыре области: «голова», «ядро», «линкер» и «хвост» (рисунок 1). Область полярной «голова» образована карбоксильной группой, соединенной простой эфирной связью с метилбензольным «ядром». Далее отмечают длинную гидрофобную часть молекулы «хвост». Области «хвост» и «ядро» соединяются через подвижный «линкер» - гетероциклическое кольцо с метилтиогруппой.

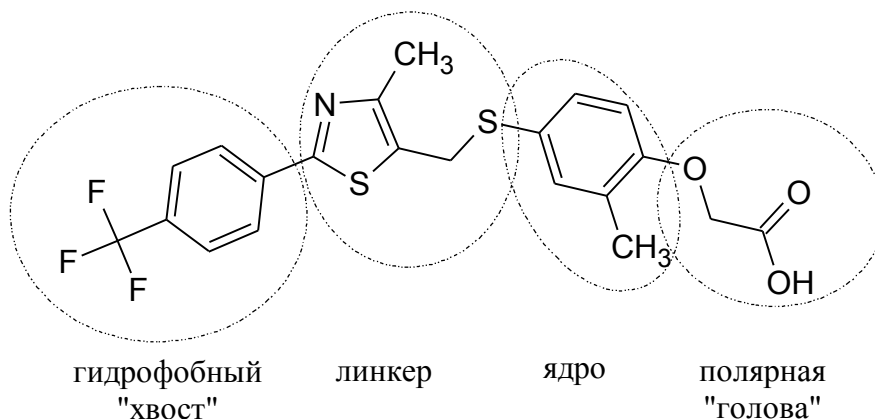


Рисунок 1 - Структурная формула *эндуробола* с выделенными фрагментами

С учетом вышесказанного нами был разработан план выполнения исследования. Первоначально необходимо определить, какой фрагмент *эндуробола* вносит наибольший вклад в генотоксичность целой молекулы. Затем заменить данный фрагмент на близкие аналоги. С помощью молекулярного докинга рассчитать энергию образования комплекса рецептора PPAR δ/β с новыми структурами. Рассчитать *in silico* генотоксичность, липофильность, гидрофобность и пути биотрансформации соединений. Выбрать наиболее перспективные соединения, которые соответствуют всем вышеперечисленным критериям. Разработать методику синтеза и осуществить синтез отобранных структур. Исследовать антиагрегационную активность и

константу диссоциации и асоциации рецептора PPAR δ/β с синтезированными соединениями методом плазмонного резонанса. На основании полученных данных выбрать наиболее перспективные агонисты PPAR δ/β для дальнейшего изучения на животных.

Расчет генотоксичности эндуробола

Расчет генотоксичности эндуробола проводили с помощью ACD/Percepta (ACD/Labs 2017. Build 2977. 30 Sep 2017) с использованием краткосрочных тестов и SAR-анализа (Structure-Activity Relationships). В заложенном алгоритме программы используется методология моделирования GALAS, основанная на поиске сходных структур, содержащихся в базе данных.

На основании полученных расчетов было установлено, что наибольший вклад в генотоксичность молекулы *эндуробола* вносит область линкера: метилтиазольный фрагмент.

Молекулярный докинг для поиска перспективных агонистов PPAR δ/β

Молекулярное моделирование проводили с целью отбора потенциальных агонистов PPAR δ/β , аналогов *эндуробола* методом варьирования различных азольных гетероциклов вместо метилтиазольного фрагмента. Для нескольких сотен соединений был проведен расчет докинга в сайт связывания белка PPAR δ/β . Расчет проводили с помощью программно-аппаратного комплекса «Алгокомб».

Соединение GW501516 за счет водородных и гидрофобных взаимодействий образует комплекс PPAR δ/β с высокой энергией связывания, которая в сумме равна 13.08 кДж/моль. Далее отбирали соединения, у которых значения энергии связывания комплекса с белком не отличались более чем на $\pm 15\%$ по сравнению с GW501516. Было установлено, что при замене метилтиазольного фрагмента на 1,2,3-триазольный, метил-1,2,4-триазольный и 1,2,4-оксадиазольный энергия связывания с рецептором уменьшается незначительно на 1.25, 0.85 и 1.42 (кДж/моль), что делает данные структуры наиболее привлекательными в качестве агонистов PPAR δ/β .

Синтез эндуробола и его метаболитов

По известным методикам был синтезирован *эндуробол* **13**. При этом *эндуробол* с доказанной биологической активностью был использован в качестве образца сравнения. На последнем этапе окислением *эндуробола* **13** впервые были синтезированы его метаболиты. Окисление проводили *m*-хлорпербензойной кислотой в соотношениях 1:1 и 1:3. Получены соответственно сульфоксид **14** и сульфон **15** – производные *эндуробола* (рисунок 2).

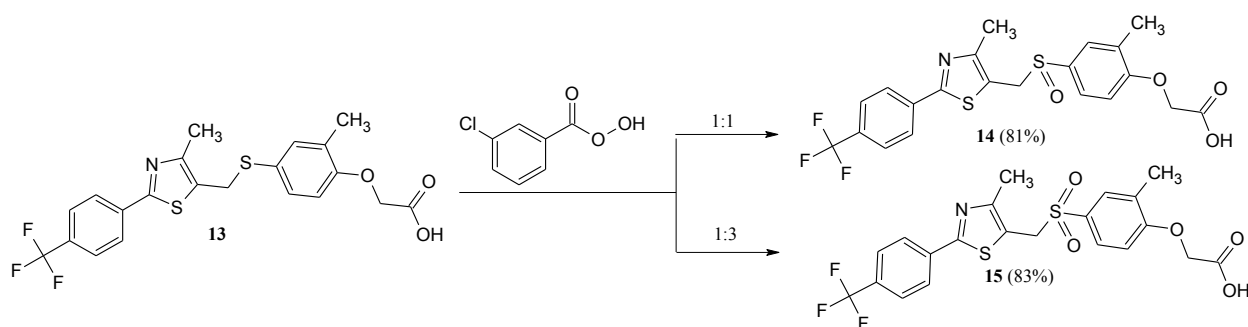


Рисунок 2 - Синтез метаболитов *эндуробола*

Синтез этил (4-хлорметил-2-метилфенокси)ацетата

Из *o*-крезола в три стадии получали гидроксиметильное производное **47** (рисунок 3).

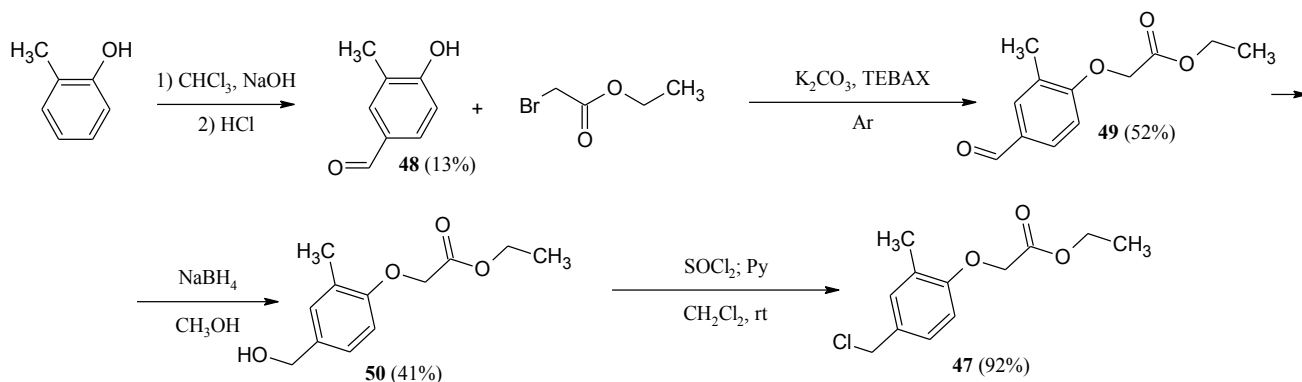


Рисунок 3 - Синтез этил (4-хлорметил-2-метилфенокси)ацетата

При взаимодействии *o*-крезола с хлороформом в условиях реакции Раймера-Тимана, получили минорный 4-гидрокси-3-метилбензальдегид **48**. Далее в результате взаимодействия бензальдегида **48** с этилбромацетатом в атмосфере азота получали формилкрезоксиацетат **49**. Затем проводили реакцию восстановления формильной группы боргидридом натрия в этаноле до гидроксильной группы **50**. Гидроксильную

группу гидроксиметилкрезоксиацетата **50** замещали на атом хлора тионилхлоридом в присутствии пиридина с получением этил 2-(4-хлорметил-2-метилфенокси) ацетата **47**. Хлорметиларен **47** использовали на ключевых стадиях алкилирования с 5-арил-4-метил-2,4-дигидро-3*H*-1,2,4-триазол-3-тионами **29** (рисунок 7).

Синтез 4-(5-арил-4-метил-1,2,4-триазол-3-илметилтио)-2-метилфеноксиуксусных кислот

По разработанной девятистадийной схеме получали ряд 4-(5-арил-4-метил-1,2,4-триазол-3-илметилтио)-2-метилфеноксиуксусных кислот, содержащих в своей структуре в качестве линкера 4-метил-1,2,4-триазолилметилтио-фрагмент (рисунок 4).

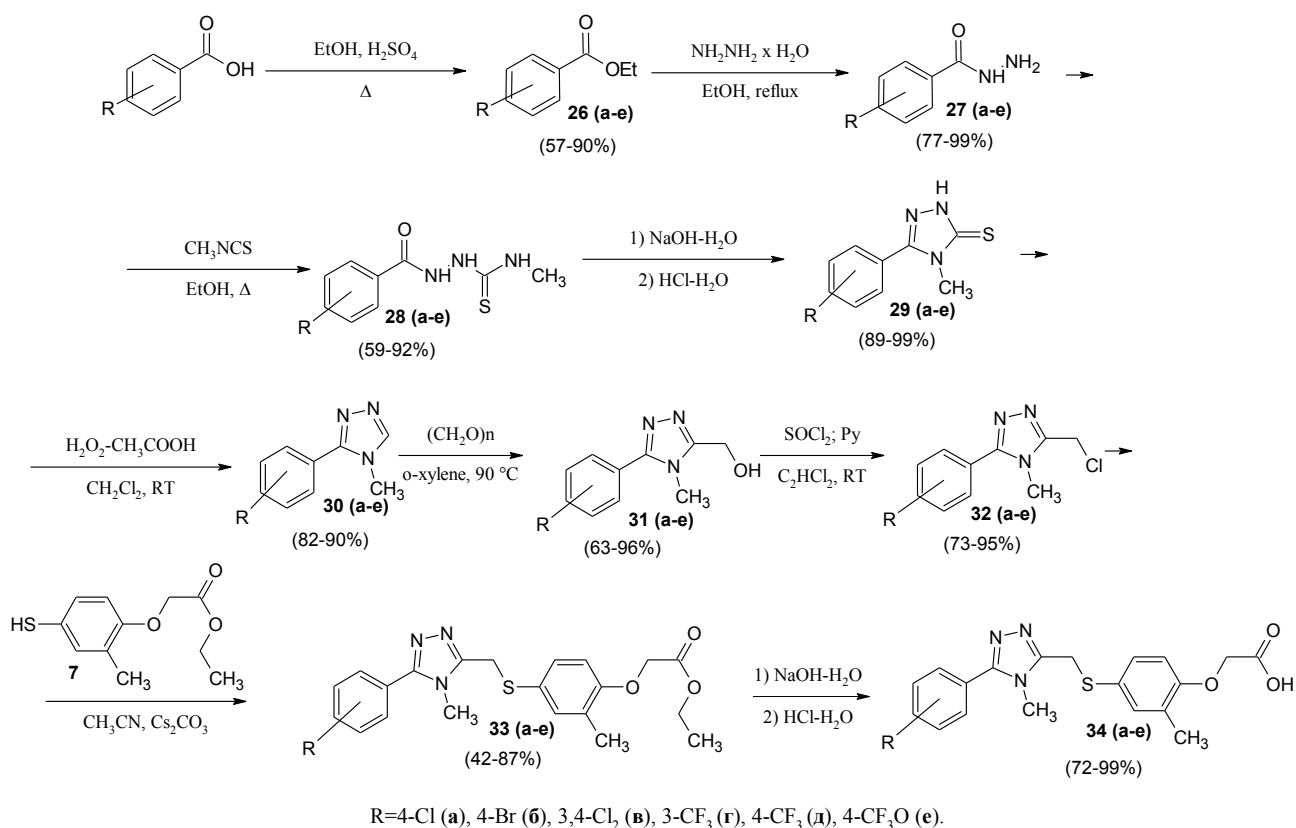
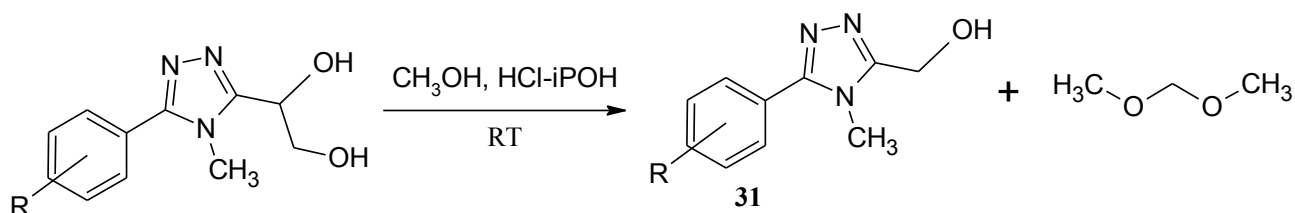


Рисунок 4 - Синтез 4-(5-арил-4-метил-1,2,4-триазол-3-илметилтио)-2-метилфеноксиуксусных кислот

В качестве исходных соединений были использованы замещенные бензойные кислоты. По известным методикам последовательно получали этиловые эфиры **26**, гидразиды **27**, тиосемикарбазиды **28**, 5-арил-4-метил-2,4-дигидро-3*H*-1,2,4-триазол-3-тионы **29**. Далее последовательно проводили стадии десульфирования, гидроксиметилирования и замещения гидроксигруппы на хлор. Десульфирование 4-метил-1,2,4-триазол-3-тионов **29** осуществляли действием надуксусной кислоты,

получаемой *in situ* при комнатной температуре. Гидроксиметилирование 3-арил-4-метил-1,2,4-триазолов **30** конденсацией с параформом при 125 °С в *o*-ксилоле в колбе с обратным холодильником затруднено, так как происходит постоянная возгонка параформа и его оседание на стенках холодильника, что препятствует взаимодействию исходного триазола с параформом и приводит к снижению выхода до 45 %. В связи с этим данная методика была модифицирована. Гидроксиметилирование проводили в стальной ампуле в присутствии триэтиламина в качестве катализатора. При снижении температуры нагрева с 125 °С до 90 °С удалось уменьшить образование побочного соединения – продукта конденсации триазола с двумя молекулами формальдегида до 40 %. Продукт по данным ГЖХ-МС представляет собой смесь продуктов присоединения к исходным 3-арил-4-метил-1,2,4-триазолам **31** одной и двух молекул формальдегида соответственно. Полученный технический продукт подвергали метанолизу: добавлением метанола при катализе 30 %-ным раствором HCl в изопропиловом спирте (рисунок 5). В результате были получены 3-арил-4-метил-1,2,4-триазолилметанола **31**, не требующие дополнительной очистки, а образовавшийся побочный продукт – диметоксиметан легко отгонялся на роторно-пленочном испарителе (РПИ) в вакууме водоструйного насоса.



R=4-Cl (**a**), 4-Br (**б**), 3,4-Cl₂ (**в**), 3-CF₃ (**г**), 4-CF₃ (**д**), 4-CF₃O (**е**).

Рисунок 5 – Метанолиз триазолилэтан-1,2-диола

Такая модификация первоначальной методики позволила увеличить выход 3-арил-4-метил-1,2,4-триазолилметанолов, например, **31д** до 96 % и отказаться от очистки методом колоночной хроматографии.

При взаимодействии триазолилметанолов **31** с тионилхлоридом в присутствии пиридина были получены хлорметилтриазолы **32**. Алкилирование 4-меркапто-*o*-крезоксиацетата **7** хлорметилтриазолами **32** в присутствии карбоната цезия в

ацетонитриле в среде аргона приводит к образованию эфиров **33**. Щелочной гидролиз этиловых эфиров **33** в водно-спиртовом растворе позволяет получить гетерилметилтиоарилоксиуксусные кислоты **34**. При нейтрализации избытка щелочи эквимолярным количеством соляной кислоты арилоксиуксусные кислоты **34**, как правило, выпадают в виде осадка.

Синтез метаболитов 4-(5-арил-4-метил-1,2,4-триазол-3-илметилтио)-2-метилфеноксиуксусных кислот

Целевые сульфоксиды **35** и сульфоны **36** получали двумя альтернативными способами (рисунок 6). Окисление проводили надуксусной кислотой, получаемой *in situ*. По первому способу этиловые эфиры **33** гидролизовали до арилоксиуксусных кислот **34** с последующим окислением сульфидного фрагмента до сульфоксидов **35** сульфонов **36** (способ А). По второму способу этиловые эфиры **33** окисляли до сульфоксид или сульфосодержащих эфиров **37**, **38**, которые затем гидролизовали до арилоксиуксусных кислот **35**, **36** (способ В). Суммарный выход окисленных аналогов *эндуробола*, полученных по второму способу, выше на 15 %, чем по первому.

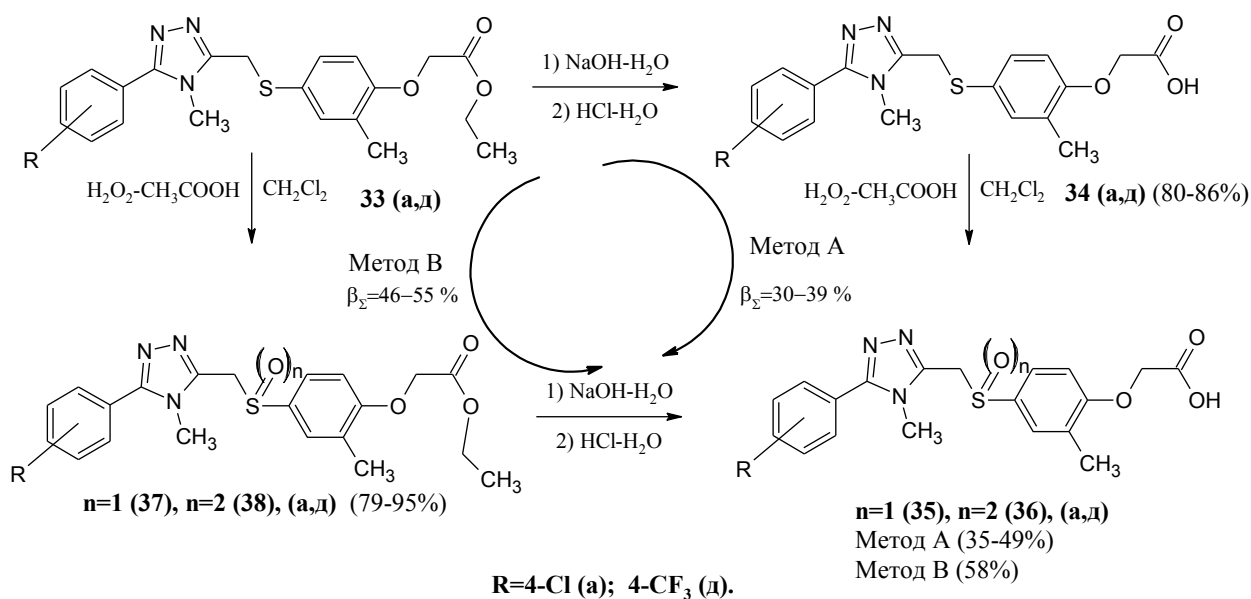


Рисунок 6 – Схема альтернативных методов получения метаболитов 4-(5-арил-4-метил-1,2,4-триазол-3-илметилтио)-2-метилфеноксиуксусных кислот **36** (а, д)

Синтез 4-(5-арил-4-метил-1,2,4-триазол-3-илтиометил)-2-метилфеноксиуксусных кислот

При получении ряда 4-(5-арил-4-метил-1,2,4-триазол-3-илтиометил)-2-метилфеноксиуксусных кислот **51**, изомерных ранее полученным кислотам **34**, использовали промежуточные тионы **29** и этил 2-(2-метил-4-хлорметилфенокси)ацетат **49** (рисунок 7).

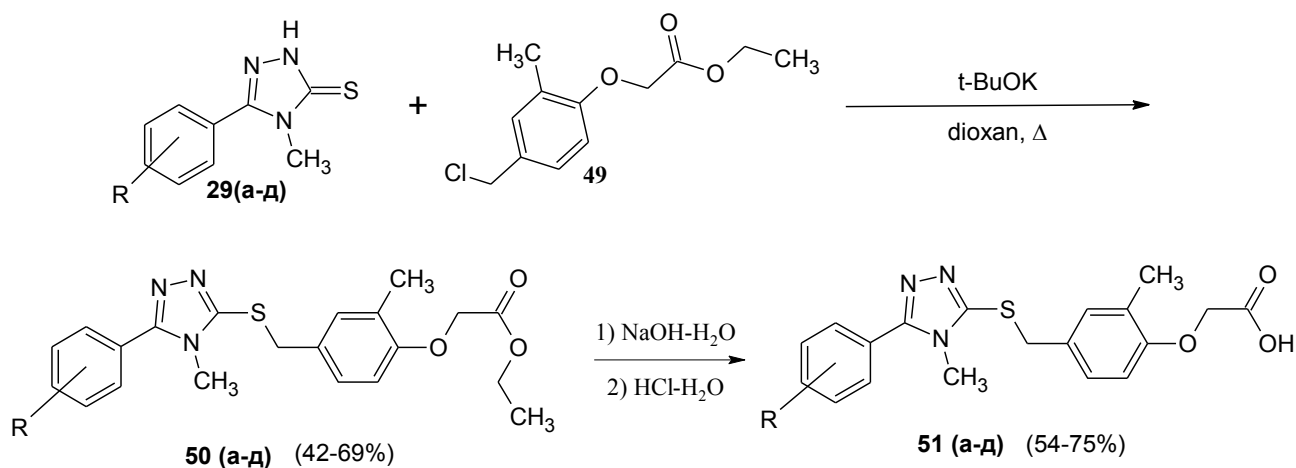


Рисунок 7 – Синтез 4-(5-арил-4-метил-1,2,4-триазол-3-илтиометил)-2-метилфеноксиуксусных кислот

В результате алкилирования тиона **29** с хлорметилареном **49** были получены эфиры **50**. Щелочной гидролиз этиловых эфиров **50** в водно-спиртовом растворе позволил получить арилоксиуксусные кислоты **51**.

Синтез 4-[3-арил-1,2,4-оксадиазол-5-илметилтио]-2-метилфеноксиуксусных кислот

Для следующего ряда соединений 4-[3-арил-1,2,4-оксадиазол-5-ил метилтио]-2-метилфеноксиуксусных кислот, содержащих в своей структуре оксадиазолилметилтио-фрагмент, была разработана пятистадийная схема синтеза (рисунок 8).

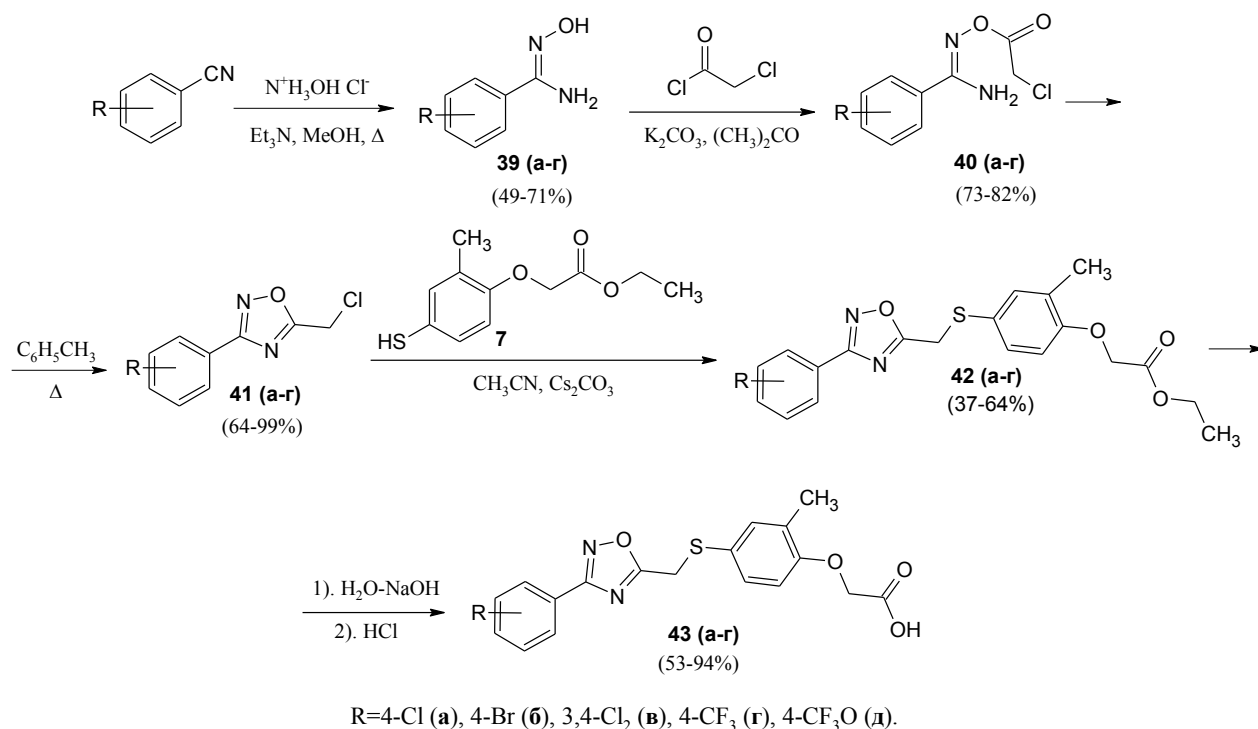


Рисунок 8 – Синтез 4-[3-арил-1,2,4-оксадиазол-5-илметилтио]-2-метилфеноксиуксусных кислот

В качестве исходных соединений были использованы замещенные бензонитрилы, которые конденсировали с гидросиламин гидрохлоридом в метаноле при использовании в качестве основания триэтиламина. В результате очистки технического продукта перекристаллизацией из смеси этилацетат-петролейный эфир были получены бензамидоксими **39** с выходом 49-71%. В результате реакции конденсации бензамидоксима **39** с хлорацетилхлоридом были получены хлорацетоксибензамидины **40**. При использовании хлорацетилхлорида, в отличие от монохлоруксусной кислоты, реакция протекает быстрее, селективнее, особенно при пониженной температуре, и выделения продукта колоночной хроматографией или перекристаллизации не требуется. Хлорацетоксибензамидины **40** были использованы на следующей стадии без дополнительной очистки. Анализ методом газовой хроматографии с масс-селективным детектированием показал, что хлорацетоксибензамидины **40** частично подвержены внутримолекулярной циклизации до арилоксадиазолов **41**.

Из хлорацетоксибензамидинов **40** в результате их внутримолекулярной циклоконденсации в среде толуола при кипячении в условиях азеотропной отгонки

воды были получены арилоксадиазолы **41**, также не требующие дополнительной очистки.

Алкилирование 4-меркапто-*o*-крезоксиацетата **7** арилоксадиазолами **41** в присутствии карбоната цезия в ацетонитриле в среде аргона приводит к образованию эфиров **42**, очищенных методом колоночной хроматографии с выходом 37 - 64 %. В результате щелочного гидролиза этиловых эфиров **42** были получены 4-(3-арил-1,2,4-оксадиазол-5-илметилтио)-2-метилфеноксиуксусные кислоты **43** с выходом 53 – 88 %.

Окисление этиловых эфиров **42** до сульфонов **44** проводили (по методу В, рисунок 6) надуксусной кислотой, получаемой *in situ* с выходом 58 - 80 %. На завершающей стадии проводили щелочной гидролиз этиловых эфиров сульфонов **44** в водно-спиртовом растворе и получали соответствующие арилоксиуксусные кислоты **45** с выходами 64 - 90 %.

Определение антитромботической активности синтезированных соединений

Исследована антитромботическая активность пяти синтезированных PPAR δ / β агонистов: *эндуробола* **13**, двух его метаболитов **14**, **15** и двух триазольных аналогов - 4-[1-[4-(трифторметилфенил)-1H-1,2,3-триазол-4-илметилтио]-2-метилфеноксиуксусной кислоты (**19a**), 4-[1-[4-(трифторметоксифенил)-1H-1,2,3-триазол-4-илметилтио]-2-метилфеноксиуксусной кислоты (**19b**) путем измерения агрегации тромбоцитов в обогащенной тромбоцитами плазме с использованием агрегометра «Биола» турбидиметрическим методом Борна по методике Ферхана.

Показано, что все исследуемые соединения обладают антитромботической активностью предположительно за счет способности активизировать или синергетически усиливать гуанилатциклазу в клетке. Наиболее высокую антитромботическую активность проявила 4-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)-1,3-тиазол-5-илметилсульфонил]-2-метилфеноксиуксусная кислота (**15**). Недостатком данного метода биологической активности является то, что полученная обогащенная тромбоцитами плазма должна быть использована в течение короткого промежутка времени (около 1 часа).

Определение аффинности агонистов к рецептору PPAR δ/β с помощью плазмонного резонанса

Для проверки связывания синтезированных соединений с рецептором использовали спектроскопию поверхностного плазмонного резонанса на базе прибора Biacore T200 (GE Healthcare). В качестве лиганда использовали коммерческий белок PPAR δ/β (каталожный номер LS-G14658/165153 фирмы «Biozol», Германия). Эксперименты по определению констант равновесной диссоциации проводили в автоматическом режиме с помощью программного обеспечения Biacore T100 Control Software. Для экспериментальных образцов были рассчитаны равновесные константы диссоциации (Kd) комплекса «белок-лиганд». Было установлено, что образец 4-[4-метил-5-(3,4-дихлорфенил)-4Н-1,2,4-триазол-3-илметилсульфо-нил]-2-метилфеноксисукусной кислоты (**36с**) является самым сильным агонистом PPAR δ/β , практически необратимо-связывающимся с рецептором.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана методология поиска новых PPAR δ/β агонистов, арилазолилметилтио-2-метилфеноксисукусных кислот, состоящая из этапов: докинг с использованием компьютерных программ «ACD/Percepta», «Алгокомб», синтез новых соединений, содержащих в качестве линкера различные азолы, испытания полученных соединений методом поверхностного плазмонного резонанса. Перспективные агонисты, показавшие наибольшую PPAR-активность необходимо изучить *in vivo* на генотоксичность и коррекцию метаболического синдрома. Полученные результаты позволят дополнить и расширить знания о свойствах PPAR δ/β агонистов, найти новые перспективные препараты для лечения ожирения с диабетом 2 типа.

Выводы:

1. Разработана девятистадийная схема синтеза агонистов PPAR δ/β – 4-(5-арил-4-метил-1,2,4-триазол-3-илметилтио)-2-метилфеноксисукусных кислот. Оптимизирована методика гидроксиметилирования триазольного цикла.

2. Разработана пятистадийная схема синтеза агонистов PPAR δ/β – 4-[3-арил-1,2,4-оксадиазол-5-илметилтио]-2-метилфеноксиуксусных кислот. Оптимизирована методика конденсации бензамидоксима с хлорацетилхлоридом при получении хлорацетоксибензамидинов.

3. Разработан новый подход к синтезу потенциальных агонистов PPAR δ/β на примере 4-(5-арил-4-метил-1,2,4-триазол-3-илтиометил)-2-метилфеноксиуксусных кислот через получение промежуточного этил 2-(4-хлорметил-2-метилфенокси)ацетата, содержащего вместо сульфгидрильной хлорметильную группу.

4. Разработан оптимальный способ получения метаболитов агонистов PPAR δ/β окислением этиловых эфиров надуксусной кислотой. Впервые получены метаболиты эндуробола окислением *m*-хлорпербензойной кислотой.

5. Установлено, что алгоритм разработки новых PPAR δ/β агонистов с поэтапным подходом: расчет генотоксичности с помощью модуля «ACD/Percepta»; молекулярный докинг в сайт связывания с помощью программы «Алгокомб», отбор перспективных соединений с энергией образования комплекса PPAR δ/β отличающихся не более 15 % от энергии связывания рецептора с *эндуроболом*; синтез новых арилгетарилметилтиофеноксиуксусных кислот; проведение исследований по определению константы диссоциации и ассоциации комплекса белка с синтезированными соединениями показал свою эффективность. Обнаружены наиболее перспективные PPAR δ/β агонисты: 4-[4-метил-5-(3,4-дихлорфенил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-ил-метилсульфонил]-2-метилфеноксиуксусная кислота и сульфонсодержащий метаболит *эндуробола* - 4-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)-1,3-тиазол-5-илметилсульфонил]-2-метилфеноксиуксусная кислота.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ

1. **Минин Д.В.** Синтез и определение антитромботической активности производных (2-метил-4-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)-тиазол-5-илметилсульфанил]фенокси)уксусной кислоты / Д.В. Минин, С.В. Попков, М.Л. Бурдейный, В.М. Гончаров, С.В. Василевский // Тонкие химические технологии. – 2019. – № 3. – Т. 14. – С.60-69. DOI: 10.32362/2410-6593-2019-14-3-60-69. (*Scopus*)

2. **Минин Д.В.** Синтез 4-(N⁴-метил-5-арил-1,2,4-триазол-3-илметилтио)крезоксипропановых кислот и их сульфоновых аналогов – новых потенциальных агонистов PPAR δ/β / Д.В. Минин, С.В. Попков, Г.В. Цаплин // Журнал органической химии. – 2023. – Т.59. – №2. – С.145-164. DOI: 10.31857/S0514749223020015 (BAK)
Eng. Trans. Minin, D.V. Synthesis of 4-(5-Aryl-4-methyl-1,2,4-triazole-3-ylmethylthio)-cresoxyacetic Acids and Their Sulfone Analogs as New Potential PPAR δ/β Agonists /D.V. Minin, S.V. Popkov, G.V. Tsaplin // Russian Journal of Organic Chemistry. – 2023. – V. 59. – №2. –P.207–223. DOI: org/10.1134/S107042802302001X (Scopus, Web of Science)
3. **Минин Д.В.** Синтез [4-(3-(арил)-1,2,4-оксадиазол-5-ил)метилтио]-2-метилфенокси]уксусных кислот – новых потенциальных PPAR агонистов / Д.В. Минин, С.В. Попков, К.В. Песочинская, Д.Р. Алексанов // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2023. – Т.72. – №7. – С.1648-1653. (BAK)
4. **Минин Д.В.** Определение антитромботической активности метилтриазол- и триазолсодержащих PPAR дельта/бета агонистов / Д.В. Минин, С.В. Попков, М.Л. Бурдейный, С.Н. Мантров, В.М. Гончаров, С.В. Василевский // Medline.ru. Российский биомедицинский журнал. – 2018. – Т.19. – С.117-130. (BAK)
5. **Минин Д.В.** Методы получения эфиров галогенметиларилоксиуксусных кислот - промежуточных соединений при синтезе агонистов PPAR β/δ / Д.В. Минин, Н.А. Бабаянц, Ю.Е. Романова, С.В. Попков // Успехи в химии и химической технологии. – Москва, 2022. – Т.36. – №8. – С.139-141.
6. **Минин Д.В.** Применение молекулярного докинга для поиска перспективных агонистов PPAR β/δ / Д.В. Минин, С.В. Попков // Успехи в химии и химической технологии. – Москва, 2022. – Т.36. – №8. – С. 135–138.
7. **Минин Д.В.** Получение производных сульфоксида и сульфона (2-метил-4-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-ил-метилсульфанил] фенокси)уксусной кислоты / Д.В. Минин, М.Л. Бурдейный, С.В. Попков // VII Молодежная Конференция ИОХ РАН. – Москва, 2017. – С.139–141.
8. **Минин Д.В.** Получение 3-арил-4-метил-1,2,4-триазолтионов – ключевых исходных для синтеза агонистов рецепторов пролиферации пероксисом / Д.В. Минин, Г.В. Цаплин, С.В. Попков, А.К. Минаев // VIII Молодежная Конференция ИОХ РАН. – Москва, 2019. – С.44.

9. **Минин Д.В.** Получение оксадиазолсодержащих потенциальных агонистов рецепторов пролиферации пероксисом / Д.В. Минин, Д.А. Алексанов, С.В. Попков // VI Междисциплинарная конференция Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии. – Нижний Новгород, 2020. – С. 202.
10. **Минин Д.В.** Получение [2-метил-4-(5-арил-4-метил-4Н-1,2,4триазол-3-ил-метилсульфонил)фенокси]уксусных кислот - новых потенциальных агонистов PPAR β/δ / Д.В. Минин, С.В. Попков, Г.В. Цаплин // Всероссийская школа-конференция молодых ученых «ДНИ НАУКИ В ИГХТУ». – Иваново, 2022. – С.252.