

## ОТЗЫВ

### официального оппонента на диссертационную работу

Минина Дмитрия Вячеславовича «Синтез и биологическая активность агонистов PPAR и их метаболитов», представленную в Диссертационный совет РХТУ.1.4.01

ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. Органическая химия

**Актуальность работы.** Поиск биологически активных соединений для разработки новых фармакологических средств лечения социально значимых заболеваний является приоритетной задачей органической и медицинской химии. К настоящему времени исследование роли рецепторов активаторов пролиферации пероксисом (PPAR) и идентификация модуляторов их биологического действия привело к созданию ряда гипополипидемических, гипогликемических и противовоспалительных лекарственных препаратов, действующих на различные изоформы PPAR. Изоформа PPAR $\delta/\beta$  изучена в меньшей степени, а ее агонисты представлены незначительным числом низкомолекулярных соединений. Тем не менее, доказано, что PPAR $\delta/\beta$  участвует во многих сигнальных каскадах клеточной регуляции, а наиболее эффективные агонисты PPAR $\delta/\beta$  рассматриваются в качестве перспективных лекарственных кандидатов для лечения дислипидемии, ожирения и нарушений механизмов восстановления и регенерации тканей. При этом отдельные препараты достигли различных стадий клинических испытаний. В виду высокой фундаментальной (исследование биологической роли PPAR $\delta/\beta$ ) и прикладной (создания новых лекарственных средств) значимости разработка методов получения и изучение связи структура-активность в ряду низкомолекулярных агонистов PPAR $\delta/\beta$  является **актуальной** задачей.

**Структура и содержание диссертации.** Представленная к защите диссертационная работа построена по традиционному плану и состоит из таких глав, как введение, литературный обзор, обсуждение результатов, экспериментальная часть, заключение, выводы, и список литературы, включающий 123 источника. Работа изложена на 200 страницах и содержит 75 рисунков и 87 таблиц. Материал каждой главы диссертационной работы последовательно и логично выстроен, хорошо воспринимается, а приведенные иллюстрации органично дополняют текст.

**Во введении** автором была обоснована актуальность темы исследования; исходя из ее научной новизны, практической и теоретической значимости сформулирована цель, задачи исследования и основные положения, выносимые на защиту.

**Литературный обзор**, главным образом, посвящен рассмотрению особенностей PPAR, а также методам синтеза и биологического изучения PPAR $\delta/\beta$  агонистов. В первой

части этой главы описаны строение, функции и общие механизмы молекулярной регуляции PPAR; подробно рассмотрена лиганд-связывающая область рецептора, представлены сведения об эндогенных и экзогенных агонистах PPAR. Во второй части литературного обзора приведены методы синтеза одного из наиболее эффективных агонистов PPAR $\delta/\beta$  – эндуробола и его аналогов, содержащих в линкере вместо метил-1,3-тиазольного фрагмента различные пятичленные азолы. В третьей части обзора изложены методы изучения биологической активности PPAR $\delta/\beta$  агонистов, а также оценки генотоксичности соединений, в частности, производных эндуробола и его аналогов.

Глава **обсуждение результатов** построена из трех блоков, объединенных идеей оптимизации структуры агониста PPAR $\delta/\beta$  эндуробола за счет рационального дизайна его аналогов. Первоначально, с использованием программного пакета ACD/Percepta автором была проведена оценка вклада отдельных фрагментов соединения-лидера эндуробола в общий генотоксический эффект целой молекулы. Затем были предложены и просчитаны варианты для последующей замены т.н. линкерной части молекулы, а именно тиазольного ядра на более приемлемые азол-содержащие гетероциклы, которые призваны сохранять высокое связывание с рецептором PPAR $\delta/\beta$  и снизить потенциальный генотоксический эффект. Определив ключевые направления для химической модификации, автор реализовал синтез эндуробола и серии его производных и аналогов, в которых: а) тиазольный фрагмент был заменен на 1,2,3-триазол, 1,2,4-триазол; 1,2,4-оксадиазол и др.; б) проведено окисление сульфидной части до сульфона и сульфоксида для получения основных метаболитов новых соединений и оценки их биологического действия; в) проведена вариация заместителей в гидрофобной части молекулы. Структуры всех новых соединений охарактеризованы комплексом современных методов физико-химического анализа, включая масс-спектрометрию и ЯМР-спектроскопию. Изучение аффинности новых соединений к рецептору PPAR $\delta/\beta$ , а также оценка их антитромбического действия позволили установить некоторые закономерности между структурой и активностью, а также обнаружить соединения, превосходящие по действию исходный эндуробол. В этой части исследования автор продемонстрировал прекрасное владение навыками органического синтеза, компьютерного моделирования, работы с физико-химическими и биологическими тест-системами, методами обработки и интерпретации результатов экспериментов.

**Экспериментальная часть** диссертационной работы выполнена и оформлена на высоком научном и методическом уровне и включает в себя общие сведения об использованных реагентах, растворителях и оборудовании, на котором были получены результаты исследований. В экспериментальной части содержатся все необходимые методики синтеза и физико-химические характеристики обсуждаемых соединений.



Диссертация завершается обобщающим **заключением** и **выводами** к проделанной работе, которые полностью отражают достижение поставленной цели и задач исследования.

**Научная и практическая значимость результатов.** Результаты выполнения диссертационной работы Минина Д.В. имеют высокое научное и практическое значение, поскольку демонстрируют перспективы использования рационального дизайна биологически активных веществ, подтвержденные экспериментальными исследованиями. Расчеты *in silico*, проведенные автором, показали, какой именно фрагмент ранее открытого агониста PPAR $\delta$ / $\beta$  эндуробол наиболее вероятно отвечает за возникновение генотоксичности. Моделирование позволило определить ключевые направления модификации структуры эндуробол, способные сохранить сродство к рецептору PPAR $\delta$ / $\beta$ . Разработанные препаративные методики синтеза новых гетероциклических соединений, содержащих фрагменты 1,2,3-триазола, 1,2,4-триазола и 1,2,4-оксадиазола, позволили получить серию аналогов препарата эндуробол, содержащих различные фрагменты между гидрофобной и полярной частями молекулы. Адаптирована методика определения прямого взаимодействия лиганд-рецептор PPAR $\delta$ / $\beta$ , позволяющая количественно оценить константы диссоциации и ассоциации комплекса рецептора с синтезированными агонистами методом поверхностного плазмонного резонанса. Тестирование связывания новых соединений с рецептором PPAR $\delta$ / $\beta$  позволило установить влияние структуры агонистов PPAR $\delta$ / $\beta$  на связывание и на проявляемую ими антитромботическую активность. Полученные результаты могут быть использованы для дальнейших исследований по совершенствованию структуры агонистов PPAR $\delta$ / $\beta$  и создания новых классов агонистов.

**Новизна проделанных исследований и полученных результатов.** Разработан комплекс методов т.н. рационального дизайна агонистов рецептора PPAR $\delta$ / $\beta$  на основе препарата эндуробол, включающий компьютерные расчеты, синтез выбранных структур и оценку их биологического действия. Определены структурные фрагменты молекулы эндуробол, связанные с возникновением генотоксических свойств, и подобраны варианты их модификации. Автором исследования предложено и реализовано несколько многостадийных схем получения аналогов препарата эндуробол, включая методы синтеза производных 2-метилфеноксисукусных кислот, содержащих в положении 4 (5-арил-4-метил-1,2,4-триазол-3-илметилтио)-, (5-арил-4-метил-1,2,4-триазол-3-илтиометил)- и (3-арил-1,2,4-оксадиазол-5-ил)метилтио)-заместители. Также разработан ряд эффективных схем синтеза ключевых полупродуктов, таких как, например, 3-арил-4-метил-1,2,4-триазолилметанол, 5-арил-4-метил-2,4-дигидро-3*H*-1,2,4-триазол-3-тион, этил 2-(2-метил-4-хлорметилфенокси)ацетат и др. Разработаны эффективные методы синтеза стабильных продуктов возможной метаболической трансформации вышеперечисленных

тиосодержащих агонистов PPAR $\delta/\beta$  в такие производные, как сульфоксид- и сульфонсодержащие аналоги. Накопленные данные о биологическом действии новых агонистов рецептора PPAR $\delta/\beta$  позволяют экспериментально оценить роль отдельных модификаций и скорректировать модель взаимодействия для последующей оптимизации низкомолекулярных агонистов PPAR $\delta/\beta$ .

**Обоснованность и достоверность результатов** диссертационной работы не вызывает сомнений и подтверждается тщательной проработкой и воспроизведением поставленных экспериментов, включая компьютерные расчеты, а также применением комплекса различных методов анализа полученных соединений с использованием современного сертифицированного оборудования и программного обеспечения. Диссертационная работа прошла апробацию на научных конференциях, а основные результаты опубликованы в рецензируемых журналах, имеющих независимую международную экспертизу, и доложены на конференциях в виде устных докладов.

**Публикации по теме работы.** Результаты исследований по теме диссертационной работы опубликованы в 10 работах, включая 4 публикаций в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней, две из которых индексируются международными базами Web of Science/Scopus, а также в 6 тезисах докладов конференций.

**Рекомендации по применению результатов диссертации.** Результаты диссертационной работы Минина Д.В. имеют фундаментальное и прикладное значение для органической и медицинской химии и могут быть использованы в учреждениях высшего образования, научно-исследовательских центрах химико-биологического направления, занимающихся исследованиями соответствующего профиля, таких как: Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Институт тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова, Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского и других.

**Замечания.** Работа выполнена на высоком теоретическом и экспериментальном уровнях, однако при ознакомлении с ней возник ряд вопросов и замечаний, перечисленных ниже:

1. В обзоре литературы подробно рассмотрены особенности PPAR рецепторов, а также методы синтеза производных эндурабола. При этом имеется очень краткое описание (таблицы 1.7 и 1.8) биологических свойств разработанных ранее производных. Очевидно, что анализ литературных данных о влиянии структуры на биологические свойства должен быть одним из первых этапов планирования работы. Объясните причины отсутствия подобного аналитического материала в более полном объеме в тексте диссертации.



2. На странице 47 приводятся критерии предсказанной генотоксичности RI, однако из текста неясно, что представляет этот параметр и насколько он является признанным для оценки этого свойства.

3. Раздел 2.3 «Основные пути биотрансформации аналогов эндуробола» было бы целесообразно завершить какими-то выводами по проведенным расчетам.

4. Обсуждение ЯМР спектров, на мой взгляд, в ряде случаев не слишком корректно отражает суть проведенных химических превращений, а перечисляемые сигналы и их характер не позволяют строго говорить о структурных изменениях. Например, на стр. 63-64 автору при обсуждении восстановления этоксикарбонильной группы до гидроксиметильной, рациональнее было бы констатировать возникновение синглетного сигнала  $\text{CH}_2$ -фрагмента и отсутствие квадруплетного и триплетных сигналов (OEt), а не обсуждать только лишь химический сдвиг соседней по гетероциклическому ядру метильной группы.

5. Автором проведено исследование аффинности новых соединений к рецептору PPAR $\delta/\beta$ , а также оценено антитромбическое действие этих соединений, которое ассоциировано с активностью PPAR $\delta/\beta$ . Тем не менее, сопоставление этих свойств новых соединений в зависимости от структуры не обсуждается.

6. Наибольшее количество замечаний связано с оформлением работы:

- список сокращений целесообразнее приводить вначале такой объемной работы, как диссертация, нежели в ее конце;

- в работе встречаются опечатки, попуски части названий соединений, жаргонные выражения и неудачные обороты и названия реагентов;

- большинство формул имеет разный размер, а также наименование и размер шрифтов;

- в ряде схем отсутствуют выходы полупродуктов и продуктов, однако, это крайне важная информация об эффективности реакций;

- в ряде схем у соединений необоснованно искажены валентные углы и длины связей;

- на рисунке 1.32 целесообразно указать количество реагента, т.к. в одном случае это приводит к сульфону, а в другом – к сульфоксиду;

- в описании методик эксперимента целесообразно приводить ссылку на оригинальную работу, из которой взята методика. Это упростит понимание того, было ли получено вещество ранее, и, например, почему для него представлен только  $^1\text{H}$  ЯМР спектр.

Несмотря на перечисленные замечания и вопросы, которые в основном носят редакторский и/или дискуссионный характер, их наличие не снижает положительное впечатление о представленной диссертации и ее научной ценности.

**Заключение по диссертационной работе.** Диссертационная работа Минина Дмитрия Вячеславовича «Синтез и биологическая активность агонистов PPAR и их метаболитов», характеризуется высокой актуальностью и имеет необходимый уровень научной новизны, а полученные результаты имеют теоретическую и практическую значимость. Объем диссертации, ее содержание, экспериментальный и теоретический уровень, содержащиеся в ней обобщения и выводы, соответствуют пунктам 3. Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул, 7. Выявление закономерностей типа «структура – свойство» и 9. Моделирование структур и свойств биологически активных веществ паспорта специальности 1.4.3. Органическая химия.

Таким образом, диссертационная работа «Синтез и биологическая активность агонистов PPAR и их метаболитов» является завершенной научно-квалификационной работой и соответствует всем требованиям п. 2. «Положения о порядке присуждения ученых степеней в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», утвержденного приказом ректора РХТУ им. Д.И. Менделеева № 1523ст от 17.09.2021 г., а ее автор, Минин Дмитрий Вячеславович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. Органическая химия.

Я согласен на включение в аттестационное дело и дальнейшую обработку моих персональных данных, в соответствии с требованиями процедуры защиты диссертации Минина Дмитрия Вячеславовича, исходя из нормативных документов Правительства РФ, Минобрнауки РФ и ВАК, в том числе на размещение их в сети Интернет на сайте РХТУ им. Д.И. Менделеева, на сайте ВАК, в единой информационной системе.

Официальный оппонент:

Заведующий лабораторией синтеза антибиотиков,  
преодолевающих резистентность ФГБНУ «НИИНА»,  
кандидат химических наук

Тихомиров А.С.

119021, Москва, ул. Большая Пироговская, дом 11, строение 1,

Тел.: +7(499)246-9980, E-mail: tikhomirov.chem@gmail.com

Подпись Тихомирова А.С. заверяю,

Ученый секретарь ФГБНУ «НИИН.

кандидат химических наук



246

Кисиль О.В.

13 сентября 2023 г.