

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Дарвиш Футун «Синтетические подходы к мишень-специфичным модификациям дорсоморфина», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по научной специальности 1.4.3. *Органическая химия*

Реакции фосфорилирования аминокислот играют важную роль в регуляции клеточного цикла и адаптации к изменениям окружающей среды, позволяя оперативно реагировать на сигнальные молекулы, такие как гормоны и факторы роста. Поэтому нарушения в протекании этих биохимических процессов часто связаны с развитием таких заболеваний как рак, диабет и нейродегенеративные расстройства. Открытие группы ферментов – киназ, регулирующих процессы фосфорилирования в ходе жизнедеятельности клетки, обусловило существенный прогресс в разработке новых классов лекарственных препаратов.

Среди известных киназ, важным биорегулятором на пересечении метаболических путей нормального функционирования организма стоит АМФ-активируемая протеинкиназа (АМФК), нарушения в работе которой приводят к негативным последствиям на системном уровне. Терапевтическая значимость данной фармакологической мишени остается высокой не только для лечения диабета, ожирения и метаболического синдрома, но и для ряда других социально значимых заболеваний, таких как нейродегенеративные и сердечно-сосудистые заболевания. Ранее, работы по разработке фармакологических средств были преимущественно сосредоточены на поиске активаторов АМФК. Вопрос о необходимости исследования процесса ингибирования этого фермента и разработки его селективных ингибиторов практически не поднимался.

На сегодняшний день дизайн препаратов, селективно действующих на киназные ферменты является сложной научной задачей, что во многом связано с ограниченным объёмом структурных данных, необходимым для рациональной разработки таких фармакологических средств. Особенно остро встает вопрос о селективности взаимодействия киназ и их ингибиторов, так как высокая степень сходства между каталитическими доменами киназ зачастую приводит к нецелевому ингибированию, что существенно затрудняет корректную интерпретацию эффекта воздействия препарата на сигнальный каскад, а также вызывает нежелательные побочные эффекты при терапевтическом применении.

Поэтому в настоящий момент, на фоне большого количества активаторов АМФК, лишь три соединения признаны в качестве её ингибиторов. Первым из таких соединений был открыт дорсоморфин, идентифицированный в результате скрининговых исследований. Позже в результате масштабных работ и высокопроизводительного скрининга больших библиотек были определены соединения SBI-0206965 и BAY-3827, при этом сходства среди структур идентифицированных ингибиторов АМФК не выявлено.

Дорсоморфин, в основе которого лежит пиразоло[1,5-*a*]пиримидиновое ядро, обладающее структурным сходством с молекулой АТФ, позиционируется в качестве «селективного» ингибитора АМФ-активируемой протеинкиназы. При этом методы химического синтеза дорсоморфина и его производных практически не изучены, как и не изучена взаимосвязь «структура–активность» его структурных аналогов по отношению к АМФК. Представленная работа решает обе задачи, что обуславливает **актуальность диссертационной работы.**

Целью диссертационного исследования Дарвиш Футун является разработка подходов к синтезу структурных аналогов дорсоморфина для рационального дизайна ингибиторов киназ, в том числе АМФ-активируемой протеинкиназы.

Научная новизна работы заключается во впервые предложенной синтетической схеме на основе конвергентной стратегии, позволившей получать как дорсоморфин, так и его структурные аналоги. Полученные данные о взаимосвязи «структура–активность» для производных дорсоморфина на основе корреляции между их киназной активностью *in vitro* и расчетными данными докинга, впервые показали возможность применения методов компьютерного моделирования при поиске новых ингибиторов АМФК.

Теоретическая и практическая значимость работы заключена в получении образцов дорсоморфина и серии его производных, а также виртуальной библиотеки пиразоло[1,5-*a*]пиримидиновых структур, обладающих потенциальным ингибирующим действием по отношению к АМФК, которые могут быть использованы для изучения эффектов ингибирования АМФК на клеточных и животных моделях. Предложенный в работе рациональный дизайн киназных ингибиторов может быть применен к разработке новых высокоселективных лигандов АМФК, нацеленных на АТФ-связывающую область.

Диссертация Дарвиш Футун представлена на 124 страницах, содержит 2 таблицы, 28 рисунков, 20 схем и состоит из введения, трёх глав (литературный обзор, обсуждение результатов, экспериментальная часть), заключения. Список использованной литературы содержит 203 ссылки. Диссертация производит хорошее впечатление, написана грамотным и понятным русским научным языком. Необходимо отметить, что опечаток в тексте работы почти не встречается.

Выполненный литературный обзор подтверждает **актуальность** выбранной тематики. Глава 1 представляет собой литературный обзор, изложенный в трех частях. В первой части дается общая информация о каскадах фосфорилирования и ферментах, участвующих в этих каскадах. Во второй части рассматривается подробная характеристика АМФК и её связь с социально значимыми заболеваниями, перечисляются известные структуры, оказывающие как активирующее, так и ингибирующее действие. В заключительной части ядро пиразоло[1,5-*a*]пиримидина рассмотрено как основа для создания перспективных киназных ингибиторов.

Обсуждение результатов представляет собой цельное повествование, все элементы которого логически взаимосвязаны. В главе 2 обоснован выбор объекта исследования – дорсоморфина, структура которого наилучшим образом подходит в качестве отправной точки для рационального дизайна АТФ-конкурентных ингибиторов АМФК. Отмечается, что для данного соединения не разрабатывались схемы синтеза и не проводились исследования «структура–активность». Далее детально описан выбор конвергентной синтетической стратегии, обеспечившей как получение самого дорсоморфина, так и серии его модифицированных вариантов. При этом использованные синтетические подходы и методы органической химии, направленные на получение целевых продуктов и полупродуктов, тщательным образом обсуждаются.

Заключительная часть работы посвящена исследованию синтезированных веществ в эксперименте *in vitro* и *in silico* с сопоставлением результатов тестирования и докинга. Такой направленный подход позволил выявить зависимость «структура–активность» и оценить вклад каждого структурного элемента дорсоморфина в ингибирующую активность по отношению к АМФК.

В главе 3 приведены экспериментальные детали работы. Подробно описаны химические методики, использованные в работе, приведены характеристики синтезированных промежуточных продуктов и целевых соединений, включая их описание методами ЯМР и масс-спектрометрии.

Диссертанту удалось подобрать подходы обеспечившие приемлемые выходы получаемых продуктов, несмотря на значительное число стадий химического синтеза. Также в главе представлены результаты расчетного эксперимента и биологических испытаний *in vitro*. Достоверность полученных автором результатов не вызывает сомнений, так как для установления строения получаемых соединений в работе были использованы адекватные физико-химические методы анализа. Выводы, сделанные автором в заключении, обоснованы и соответствуют экспериментальным данным.

Основные положения диссертационной работы изложены в двух статьях в изданиях, рекомендуемых ВАК и индексируемых Scopus и Web of Science, а также представлены в семи докладах на конференциях в период 2022–2024 годов.

Таким образом, работа Дарвиш Футун является законченным исследованием, обладающим комплексным характером с основным упором на синтетические аспекты органической химии. В ходе выполнения исследования автором была достигнута заявленная цель и решены все поставленные задачи. Полученные результаты имеют теоретическую значимость в части совершенствования подходов к рациональному дизайну киназных ингибиторов, а также практическую значимость в области разработки методов синтеза новых соединений на основе пиразоло[1,5-*a*]пиримидина и дорсоморфина в частности. Достоверность полученных результатов обусловлена использованием современных методов органической и медицинской химии. Экспериментальные результаты и выводы, сделанные на их основе, подтверждены согласующимися между собой данными. Выводы, сформулированные в результате выполнения работы, являются научно обоснованными и соответствуют современным научным представлениям.

Вместе с тем, несмотря на общую положительную оценку, при прочтении работы имеется ряд **замечаний**:

1. Литературный обзор содержит нерасшифрованные сокращения в области биохимии, не все из которых отражены в списке сокращений и условных обозначений (стр. 12 и др.);
2. Название обсуждаемой в работе гетероциклической системы автором указывается как «пиразоло[1,5-*a*]пиримидин», тогда как по правилам ИЮПАК в случае конденсированных гетероциклов, атомам углерода, принадлежащий двум циклам, присваиваются номера с индексом «*c*», выделенным курсивом;
3. Опечатки на схеме 1.4 стр. 49 (сдвиги на схеме);

4. В литературном обзоре не раскрыты общие подходы к рациональному дизайну биологически-активных веществ и методам оценки активности киназных ингибиторов *in vitro* и *in silico*.

5. В главе 3.1.1 не указан использованный способ определения температуры плавления. Температуры плавления приведены не для всех веществ, в том числе целевых.

Также, после ознакомления с диссертацией возник ряд **вопросов**:

1. При восстановлении метилового эфира 4-пиридинкарбоновой (изоникотиновой) кислоты боргидридом натрия автором применён способ восстановления с катализом метилатом натрия (схема 2.2, стадия II, стр. 79-80). Какова роль катализатора, может ли он гидролизовать метиловый эфир и возможно ли восстановление не этерифицированной изоникотиновой кислоты.

2. В литературном обзоре указано, что взаимодействие 5-аминопиразолов с β -дикарбонильными соединениями в синтезе производных пиразоло[1,5-*a*]пиримидина проводят в уксусной кислоте или этаноле, при этом в качестве катализаторов выступают этилат натрия и аминовые основания (стр. 46-47). Какова роль катализатора и почему в реакциях, реализованных автором, получение замещенных пиразоло[1,5-*a*]пиримидинов проходило без добавления катализатора (стр. 85).

3. Проводился ли докинг известных ингибиторов АМФК (SBI-0206965 и ВАУ-3827) и виртуальной библиотеки 852 структур потенциальных ингибиторов полученной автором.

Перечисленные замечания и вопросы не носят принципиального характера и никоим образом не умаляют достоинства, а скорее отражают интерес к работе Дарвиш Футун «Синтетические подходы к мишень-специфичным модификациям дорсоморфина», которая по актуальности избранной темы, степени обоснованности научных положений и выводов сформулированных в диссертации, их достоверности и новизне, научной и практической значимости, полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 года (в редакции Постановления Правительства РФ от 11.09.2021 г. № 1539), является законченной научно-квалификационной работой. В том числе, выполнено требование п. 9 «Диссертация на соискание ученой степени кандидата наук должна быть научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, имеющей значение для развития

соответствующей отрасли знаний, либо изложены новые научно обоснованные технические, технологические или иные решения и разработки, имеющие существенное значение для развития страны». Автор представленной к защите диссертации, Дарвиш Футун, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. - Органическая химия.

Официальный оппонент:

заведующий лаборатории

«Химического

моделирования»

ФГУП "НИИ ГПЭЧ"

ФМБА России,

кандидат

химических наук

(1.4.3. (02.00.03)

Органическая химия)



(подпись)

Криворотов Денис Викторович

Наименование организации: Федеральное государственное унитарное предприятие "Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека" Федерального медико-биологического агентства

(ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России)

Должность: заведующий лаборатории

Почтовый адрес организации: 188663, Ленинградская область, Всеволожский м.р-н, Кузьмолдовское г.п., г.п. Кузьмолдовский, ул. Заводская, зд. 6/2, корп. 93

Телефон: 8-951-647-93-74

Адрес электронной почты: krivorotov.dv@gpech.ru

Я, Криворотов Денис Викторович, даю свое согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета 24.2.383.01 и их дальнейшую обработку в соответствии с требованиями Минобрнауки РФ.



Согласовано
оппонентом
Дарвиш Ф.
30.04.2025