

ОТЗЫВ

официального оппонента, члена-корреспондента РАН, доктора химических наук, профессора, заведующего лабораторией органического синтеза и химии природных соединений Института химии Коми НЦ УрО РАН Кучина Александра Васильевича на диссертационную работу Кудрявцева Константина Викторовича на тему «Новая привилегированная структура 5-арилпирролидин-2-карбоновой кислоты в мишень-ориентированном дизайне и синтезе биологически активных соединений», представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по специальностям 02.00.16 – Медицинская химия и 02.00.03 – Органическая химия

В рассматриваемом диссертационном исследовании К.В. Кудрявцевым поставлена цель создать теоретически обоснованную стратегию направленного получения новых органических соединений, обладающих приемлемым профилем физико-химических характеристик и биологической активности, и провести последующую экспериментальную разработку на основе указанной стратегии мишень-ориентированных потенциальных кандидатов в лекарства для терапии социально значимых заболеваний. Представленная диссертационная работа обладает безусловной **актуальностью** для социально-экономического развития страны, а именно для разработки отечественных активных фармацевтических субстанций для новых лекарственных средств с установленным механизмом действия, способствуя тем самым инновационному развитию отечественной фармацевтической промышленности.

Научная новизна проведенного К.В. Кудрявцевым диссертационного исследования и полученных в ходе его выполнения результатов заключается в дизайне новых гетероциклических органических соединений, содержащих привилегированную структуру 5-арилпирролидин-2-карбоновой кислоты. Соискатель разработал новые и эффективные методы синтеза β -пролиновых пептидов упорядоченного строения, в том числе энантиомерно чистых; полициклических насыщенных азагетероциклов из производных 5-арилпирролидин-2,4-дикарбоновых кислот; новых пирролидиновых циклоаддуктов. Впервые в качестве диполярфилов в 1,3-диполярном циклоприсоединении азометиновых илидов были изучены α -бромвинилфенилсульфон, рацемические и энантиомерно чистые диэфиры *N*-акрилоил-5-арилпирролидин-2,4-дикарбоновых кислот. Впервые в индивидуальном научном исследовании проведено теоретическое и экспериментальное изучение влияния представительного набора органических соединений, содержащих привилегированную структуру 5-арилпирролидин-2-карбоновой кислоты, на ферменты, клетки, органы и организмы. Определены биологические мишени и сигнальные пути в патогенезе сердечно-сосудистых, онкологических, пищеварительных, бактериальных заболеваний, подвергающиеся воздействию новых низкомолекулярных агентов.

Практическая значимость диссертационного исследования К.В. Кудрявцева определяется разработкой экспериментальных методов синтетических модификаций молекулярного каркаса 5-арилпирролидин-2-карбоновой кислоты, которые привели к получению новых рацемических и энантиомерно чистых гетероциклических соединений: 3,5,6,7-замещённых 3,6-диазабицикло[3.2.1]октанов, 2,5,6а-замещённых октагидропирроло[3,4-*b*]пиррол-3-карбоновых кислот, функционализированных β-пролиновых олигопептидов. Среди синтезированных К.В. Кудрявцевым новых органических соединений идентифицированы ингибиторы ферментативной активности сортазы *A. S. aureus*, что может быть использовано для снижения вирулентности этого высокопатогенного микроорганизма; новые низкомолекулярные ингибиторы прокоагулянтной активности тромбоцитов и сериновых протеаз коагуляционного каскада, тромбина и фактора Ха, для потенциального использования в терапии тромботических явлений; новые низкомолекулярные агенты, обладающие доказанным профилактическим и терапевтическим действием *in vivo* по отношению к язвенным поражениям слизистой оболочки желудка различной этиологии; новые органические соединения, замедляющие пролиферацию и вызывающие апоптоз клеток гормонорезистентного рака простаты различного происхождения путём воздействия на важные ферменты и сигнальные пути злокачественных клеток. Оформленные по теме диссертационного исследования 5 патентов РФ на изобретение подтверждают возможность практического применения полученных К.В. Кудрявцевым результатов.

Научные положения и выводы диссертационной работы К.В. Кудрявцева характеризуются **высокой степенью достоверности и обоснованы** применением современных теоретических и экспериментальных методов исследования. Достоверность синтетических результатов исследований обеспечена применением корреляционных методов спектроскопии ЯМР на различных ядрах, отдельные представители всех полученных в работе классов органических соединений охарактеризованы при помощи рентгеноструктурного анализа (РСА). Надёжность данных по биологической активности соединений, синтезированных в диссертационной работе К.В. Кудрявцева, обеспечена выбором релевантных *in vitro* и *in vivo* моделей изученных патологических состояний, проведением контрольных экспериментов без введения изучаемых агентов в тестовые системы, статистической обработкой полученных данных с использованием общепринятых критериев достоверности. Для изучения взаимодействия активных соединений и белковых мишеней автор широко применяет методы молекулярного моделирования, которые позволили ранжировать известные ингибиторы, антагонисты и агонисты по экспериментальной биологической активности, а также предсказывающие способы взаимодействия новых соединений с тромбином, трипсином, фактором Ха, сортазой *A. S. aureus*, простагландиновыми рецепторами, киназой Аврора А.

Диссертация К.В. Кудрявцева состоит из введения, 11-ти глав, заключения, списка цитированной литературы, состоящего из 360-ти литературных источников. Содержание работы иллюстрировано при помощи 79 таблиц, 37 схем и 114 рисунков. В конце каждой главы литературного обзора и обсуждения результатов автор приводит краткое и ёмкое смысловое обобщение изложенного литературного или экспериментального материала, что облегчает целостное восприятие 480-ти страничной рукописи и является расширенным дополнением к общим выводам диссертационной работы.

Глава 1 диссертационного исследования представляет собой обзор литературы, в котором рассмотрены концепция привилегированных структур и имеющиеся данные по биологической активности низкомолекулярных органических соединений, содержащих структурный фрагмент 5-арилпирролидин-2-карбоновой кислоты. На основе впервые проведённого обобщения данных по биологической активности соединений, содержащих фрагмент 5-арилпирролидин-2-карбоновой кислоты, и макромолекулярных биологических мишеней, на которые эти соединения воздействуют, автор формулирует гипотезу о привилегированности 5-арилпирролидин-2-карбоновой кислоты и обосновывает направленный дизайн новых биологически активных соединений на её основе.

В Главе 2 на основе литературных данных и экспериментальных исследований самого диссертанта определены основные структурные и механистические аспекты 1,3-диполярного циклоприсоединения (1,3-ДЦ) азометиновых илидов (АИ) и электронодефицитных алкенов, приводящих к производным 5-арилпирролидин-2-карбоновой кислоты (5-Ar-2-ПКК). Взаимодействием АИ и диполярофилов различной природы в данном разделе работы автором получены 79 новых индивидуальных рацемических органических соединений, содержащих структурный фрагмент 5-Ar-2-ПКК, и 22 новых индивидуальных полициклических производных β -гомопролина и γ -пирролидинилпропионовой кислоты. Установлено, что наиболее результативными подходами для получения энантиомерно чистых производных 5-Ar-2-ПКК, содержащих карбоксильную функциональную группу в 4-ом положении пирролидинового цикла, оказывается асимметрический синтез при помощи 1,3-ДЦ L- и D-ментил-акрилатов и АИ и асимметрическое 1,3-ДЦ АИ и *трет*-бутилакрилата в присутствии каталитической системы $Zn(OTf)_2$ /хиральные ферроценилазиридилилкарбинолы. Автором получены в индивидуальном виде новые оптически активные 4-ментил-5-арилпирролидин-2,4-дикарбоксилаты и продемонстрирована возможность масштабирования препаративного получения энантиомерно чистых производных 5-Ar-2-ПКК с $ee \geq 99\%$.

Глава 3 диссертационного исследования посвящена разработке метода синтеза рацемических и энантиомерно чистых β -пролиновых олигомеров упорядоченного строения. Автором установлен и обоснован теоретически и экспериментально эффект конформационной

фиксации CF₃-группы, позволяющий получать функционализированные β-пролиновые димеры гомохирального строения. В результате проведённых исследований впервые привилегированная структура 5-арилпирролидин-2-карбоновой кислоты встроена в олигомерные соединения.

В Главе 4 обсуждены экспериментальные результаты по синтетическим модификациям молекулярного каркаса 5-Ar-2-ПКК, связанным с реакциями алкилирования/ацилирования вторичной аминогруппы, восстановления и последующей модификации сложноэфирной группы при 2-ом углеродном атоме и трансформации электроноакцепторной группы при 4-ом стереогенном центре, в результате проведения которых получены разнообразные органические соединения, содержащие молекулярный каркас 5-Ar-2-ПКК. Проведённые трансформации функциональных групп продемонстрировали стереохимическую устойчивость *cis*-4-замещённого молекулярного каркаса 5-Ar-2-ПКК к воздействию химических реагентов различной природы.

Глава 5 завершает изложение синтетических экспериментальных разработок К.В. Кудрявцева и рассматривает методы усложнения молекулярного каркаса 5-Ar-2-ПКК, основанные на реакциях внутримолекулярного сочетания входящих в его состав функциональных групп, что приводит к образованию новых классов мостиковых и аннелированных гетероциклических соединений. Автором были разработаны новые методы синтеза двух классов насыщенных диазгетероциклических соединений – 3,6-диазабицикло[3.2.1]октанов и октагидропирроло[3,4-*b*]пирролов из 5-Ar-2-ПКК-предшественников. При помощи рассмотренных в этой главе сочетаний функциональных групп в молекулярном каркасе 5-Ar-2-ПКК происходит встраивание фрагмента изучаемой привилегированной структуры в более сложные полициклические системы.

Главы 6-10 диссертационного исследования К.В. Кудрявцева посвящены результатам биологических исследований полученных в Главах 2-5 органических соединений, структурированных по выбранным патологиям/биологическим мишеням. В начале каждой из Глав 6-10 автором приведены необходимые данные по функциональности/строению биомолекулярной мишени и роли исследованных ферментов/рецепторов/сигнальных путей в рассматриваемой патологии.

В Главе 6 автор представил результаты по идентификации нового структурного класса ингибиторов *S. aureus* SrtA, включающего структурный фрагмент 5-Ar-2-ПКК, и полученные расчётными методами характеристики взаимодействия этих ингибиторов с активным сайтом цистеиновой транспептидазы. Для наиболее активных ингибиторов масс-спектрометрическим методом была установлена ковалентная модификация сульфгидрильной группы аминокислотного остатка Cys184 в активном сайте *S. aureus* SrtA и определены кинетические параметры ингибирования.

В Главе 7 К.В. Кудрявцевым представлены результаты идентификации двух новых классов химических зондов – пирролидинилвинилсульфонов и стирилтиазолинов, вызывающих

функциональный отклик тромбоцитов по сокращению экспонирования фосфатидилсерина. Для обоих классов соединений установлены соотношения «структура–активность», что может помочь при разработке новых антитромбоцитарных средств.

Комбинированное применение молекулярного докинга, анализа лиганд-белковых взаимодействий и биохимических исследований продемонстрировало применимость молекулярного каркаса 5-Ar-2-ПКК для конструирования ингибиторов сериновых протеаз коагуляционного каскада, обладающих физико-химическими характеристиками для перорального введения, и изложено в Главе 8. Для 40 новых соединений, полученных в диссертационной работе, было исследовано ингибирование сериновых протеаз. В результате выполненного цикла работ был идентифицирован новый класс потенциальных антикоагулянтных агентов, представляющий собой 2-ариллоктагидропирроло[3,4-*b*]пиррол-3-карбоновые кислоты, модифицированные 2-(4-хлорбензамидо)тиазольным фрагментом, которые ингибируют ферментативную активность тромбина как в буферном растворе, так и в плазме крови.

В Главе 9 сопоставлены взаимосвязи окислительно-восстановительных процессов, протекающих в клетках, с патологиями организма, в частности с язвенной болезнью желудка. Продемонстрирована значительная антиоксидантная активность бициклических пирролидинов. Для восьми новых соединений, полученных в диссертации и относящихся к классам 5-Ar-2-ПКК и N-((2-гидроксифенил)тио)ацетильных производных α -аминокислот, было проведено изучение противоязвенной активности *in vivo*. N-((2-гидроксифенил)тио)ацетильные производные α -аминокислот продемонстрировали высокую эффективность в профилактике и терапии язвенной болезни желудка различной этиологии на животных моделях.

В Главе 10 были исследованы на антипролиферативную активность по отношению к РС-3 клеткам гормонорезистентного рака простаты олигомерные соединения, молекулярный каркас которых состоит из чередующихся звеньев 5-Ar-2-ПКК противоположной хиральности. Установлено, что на митоз гормонорезистентной клеточной линии РС-3 влияет длина олигомерной цепи, абсолютная конфигурация стереогенных центров, заместители на N- и C-концах β -пептида, а также заместители периферических арильных и карбоксильных фрагментов β -пептидов.

Экспериментальная часть (Глава 11) демонстрирует методы, предпринятые для выполнения поставленной цели и спектральные данные синтезированных соединений.

Диссертационная работа К.В. Кудрявцева представляет собой законченное научное исследование, выполненное на высоком теоретическом уровне, на базе большого экспериментального материала, качественно оформлена.

Представленные в диссертационной работе К.В. Кудрявцева результаты опубликованы в ведущих профильных периодических изданиях из списка ВАК – 28 статей, 5 статей опубликованы

в сборниках научных работ и научных журналах. Результаты диссертационного исследования многократно докладывались на международных и российских конференциях, симпозиумах и съездах.

Автореферат, как по своей структуре, так и по сути изложения материала полностью соответствует обсуждению основных результатов, описанных в диссертации.

По работе имеется **ряд замечаний и вопросов:**

1. По оформлению следует отметить большой объем диссертационной работы и автореферата, 480 и 51 страницы соответственно. Рекомендуемый объем для докторских диссертаций – до 300 страниц, автореферата докторской диссертации – 2 печатных листа.

2. В п. 2.3 неудачно используется разная нумерация энантиомеров одного вещества, что затрудняет восприятие работы.

3. Вряд ли стоит говорить о синтезе соединений, «...относящихся к неизвестным ранее классам 3,5,6,7-замещённых 3,6-диазабицикло[3.2.1]октанов, 2,5,6а-замещённых октагидропирроло[3,4-*b*]пиррол-3-карбоновых кислот, функционализированных поли-β-пролинов» (стр. 8). Принадлежность соединения к соответствующему классу определяет наличие тех или иных функциональных групп либо атомов элементов.

4. Почему использование иодида меди(I) и трифлата меди(II) в качестве катализаторов циклизации приводит к практически к полной конверсии бензиламида **302**, но выход 3,6-диазабицикло[3.2.1]октана **311** составляет менее 30% (стр. 162)?

5. Каков максимальный размер фрагмента, который можно присоединить к молекулярному каркасу 5-арилпирролидин-2-карбоновой кислоты, чтобы ее «привилегированность» сохранилась.

6. Обосновывая актуальность диссертационного исследования, автор позиционирует рациональное направление – фрагментационный подход, который позволяет идентифицировать подходящий молекулярный каркас потенциального кандидата и тем самым заложить более высокую вероятность получения целевой биологической активности. В результате на самых начальных стадиях разработки соединений-лидеров снижаются риски и материальные затраты на последующих этапах внедрения кандидата в лекарственное средство. Однако, соглашаясь с автором в рациональности выбранного подхода, следует обратить внимание на изучение токсичности синтезируемых фармацевтических субстанций. Наличие эффективности действия при высокой токсичности сведет на нет проведенные исследования. В представленной работе К.В. Кудрявцев никак не комментирует токсичность полученных им соединений: была ли проведена оценка токсичности, на каких моделях и каковы результаты.

Проведённый анализ диссертационной работы К.В. Кудрявцева позволяет сделать вывод о том, что соискателем разработаны положения, совокупность которых можно квалифицировать как **научное достижение в медицинской и органической химии по проблеме разработки мишень-**

ориентированных потенциальных кандидатов в лекарства. Диссертационная работа К.В. Кудрявцева была доложена и обсуждена на научном семинаре отдела Органической химии Института химии Коми НЦ УрО РАН (протокол № 1 от 14 февраля 2017 г.).

Таким образом, диссертация Кудрявцева Константина Викторовича на тему: «Новая привилегированная структура 5-арилпирролидин-2-карбоновой кислоты в мишень-ориентированном дизайне и синтезе биологически активных соединений», представленная на соискание ученой степени доктора химических наук по специальностям 02.00.16 – «Медицинская химия» и 02.00.03 – «Органическая химия» по своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости полученных результатов, полностью соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в ред. Постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748), предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор, Кудрявцев Константин Викторович, заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальностям 02.00.16 – «Медицинская химия» и 02.00.03 – «Органическая химия».

Официальный оппонент:

Член-корреспондент РАН, доктор химических наук (специальность 02.00.03 – Органическая химия), профессор, заведующий лабораторией органического синтеза и химии природных соединений Института химии Коми НЦ УрО РАН

Кучин Александр Васильевич

Адрес: 167000, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 48.

Тел./факс: (8212) 21-84-77; e-mail: kutchin-av@chemi.komisc.ru

Подпись Кучина Александра Васильевича удостоверяю,

Ученый секретарь Института химии

Коми НЦ УрО РАН, ~~ж.х.н.~~



Ключкова Ирина Владимировна

Химический факультет ФГБОУ ВО
«Московский государственный университет
имени М.В. Ломоносова»
Ленинские горы д. 1, стр. 3, г. Москва, 119991
Ученому секретарю диссертационного совета
Д 501.001.69 проф., д.х.н. Магдесиевой Т.В.
от член-корр. РАН, д.х.н.
Кучина Александра Васильевича

Настоящим даю согласие выступить официальным оппонентом на защите диссертации Кудрявцева Константина Викторовича на тему «Новая привилегированная структура 5-арилпирролидин-2-карбоновой кислоты в мишень-ориентированном дизайне и синтезе биологически активных соединений», представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.16 – Медицинская химия и 02.00.03 – Органическая химия. О себе сообщаю следующие сведения:

1) Кучин Александр Васильевич, чл.-корр. РАН, доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией органического синтеза и химии природных соединений.

2) Место работы: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук (Институт химии Коми НЦ УрО РАН).

3) Адрес места работы: 167982, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 48, тел: + 7(8212) 21-84-77.

4) e-mail: kutchin-av@chemi.komisc.ru.

5) Основные работы по профилю оппонируемой диссертации:

1. И.Ю. Чукичева, О.В. Сукрушева, Л.И. Мазалецкая, А.В. Кучин. Синтез и свойства новых функциональных производных на основе 2-изоборнил-6-метилфенола // Журнал органической химии. 2016. Т. 52, № 6. С. 827-831.
2. Судариков Д.В., Крымская Ю.В., Слепухин П.А., Рубцова С.А., Кучин А.В. Синтез хиральных 1-(имидазол-2-ил)алканаминов с использованием неоментантиола как хирального индуктора // Изв. АН, Сер. Хим. 2016. № 6. С. 1566-1573.
3. E.V. Buravlev, O.G. Shevchenko, A.V. Kutchin. Synthesis and membrane-protective activity of novel derivatives of α -mangostin at the C-4 position // Bioogr. Med. Chem. Lett. 2015. Vol. 25. P. 826–829.
4. E.S. Izmest'ev, D.V. Sudarikov, O.G. Shevchenko, S.A. Rubtsova, and A.V. Kutchin. The Synthesis and Membrane Protective Properties of Sulfanyl Imines Derived from

- Neomenthane and Isobornane Thiols // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 2015. Vol. 41. No. 1. P. 77–82.
5. L.L. Frolova, L.V. Bezuglaya, I.N. Alekseev, P.A. Slepukhin, A.V. Kuchin. Several Monoterpenoid Bromination Products // Chemistry of Natural Compounds. 2014. Vol. 50. Issue 3. P. 449-454.
 6. Плотникова Т.М., Чернышева Г.А., Смольякова В.И., Щетинин П.П., Кучин А.В., Чукичева И.Ю., Плотников М.Б. Гемореологические эффекты диборнола в условиях модели ишемии/реперфузии миокарда // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2014. Т. 157. № 2. С. 173-176.
 7. Е.В. Буравлев, Д.В. Белых, И.Ю. Чукичева, И.С. Тарабукина, О.Г. Шевченко, А.В. Кучин. Мембранопротекторные свойства диастереомеров 13(2)-*n*-*n*-октил-*n*-(2-гидрокси-3-изоборнил-5-метилбензил)амида метилфеофорбида *a* // Биоорганическая химия. 2013. Т. 39, № 4. С. 486–490.
 8. M.Y. Demakova, D.V. Sudarikov, S.A. Rubtsova, L.L. Frolova, A.V. Popov, P.A. Slepukhin, A.V. Kuchin. Synthesis and Asymmetric Oxidation of (Caranylsulfanyl)-1H-imidazoles // Helvetica Chimica Acta. 2012. Vol. 95. P. 940-950.
 9. S.V. Logvinov, M.B. Plotnikov, A.A. Zhdankina, G.A. Chernysheva, V.I. Smol'yakova, I.S. Ivanov, A.V. Kuchin, I.Yu. Chukicheva and E.Yu. Varakuta. Structural Changes in the Choroidretinal Complex of the Eye in Total Transient Cerebral Ischemia and Their Correction // Neuroscience and Behavioral Physiology. 2012. Vol. 42. No. 9. P. 1019-1023.

Чл.-корр. РАН, д.х.н., профессор,
заведующий лабораторией органического синтеза
и химии природных соединений
Института химии Коми НЦ УрО РАН



Кучин Александр Васильевич

Подпись Кучина Александра Васильевича удостоверяю,
Ученый секретарь Института химии
Коми НЦ УрО РАН, к.х.н.



Клочкова Ирина Владимировна