

СТЕНОГРАММА

заседания диссертационного совета 24.1.192.02

на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова
Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН)

г. Новосибирск

6 декабря 2024 г.

ЗАЩИТА ДИССЕРТАЦИИ

младшим научным сотрудником Лаборатории направленных трансформаций природных соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук Филимоновым Александром Сергеевичем на тему: «Дизайн и синтез производных усниновой кислоты в качестве ингибиторов тирозил-ДНК-фосфодиэстераз 1 и 2, ферментов репарации ДНК человека», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.3 – органическая химия, 1.4.16 – медицинская химия.

Научный руководитель: д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Официальные оппоненты:

Катаев Владимир Евгеньевич, доктор химических наук, главный научный сотрудник лаборатории фосфорсодержащих аналогов природных соединений Института органической и физической химии им. А. Е. Арбузова – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», г. Казань;

Платонова Яна Борисовна, кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории катализа и газовой электрохимии, Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова, г. Москва;

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, г. Уфа.

На заседании присутствовали 21 членов диссертационного совета из 27, в том числе:

1	Волчо Константин Петрович	д.х.н., проф. РАН, председатель	1.4.16
2	Тихонов Алексей Яковлевич	д.х.н., доцент РАН, зам. председателя	1.4.3.
3	Патрушев Сергей Сергеевич	к.х.н., учёный секретарь	1.4.16
4	Багрянская Елена Григорьевна	д.ф.-м.н., член совета	1.4.3.
5	Багрянская Ирина Юрьевна	д.х.н., член совета	1.4.4.
6	Бардин Вадим Викторович	д.х.н., член совета	1.4.3.
7	Басова Тамара Валерьевна	д.х.н., член совета	1.4.4.
8	Бородкин Геннадий Иванович	д.х.н., член совета	1.4.3.
9	Гатилов Юрий Васильевич	д.х.н., член совета	1.4.4.
10	Зибарев Андрей Викторович	д.х.н., член совета	1.4.3.
11	Карпов Виктор Михайлович	д.х.н., член совета	1.4.3.
12	Колтунов Константин Юрьевич	д.х.н., член совета	1.4.3.
13	Лузина Ольга Анатольевна	д.х.н., член совета	1.4.16
14	Макаров Александр Юрьевич	д.х.н., член совета	1.4.3.
15	Платонов Вячеслав Евдокимович	д.х.н., член совета	1.4.3.

16	Салахутдинов Нариман Фаридович	д.х.н., член совета	1.4.16
17	Ткачев Алексей Васильевич	д.х.н., член совета	1.4.3.
18	Шелковников Владимир Владимирович	д.х.н., член совета	1.4.4.
19	Шульц Эльвира Эдуардовна	д.х.н., член совета	1.4.16
20	Шундрин Леонид Анатольевич	д.х.н., член совета	1.4.4.
21	Яровая Ольга Ивановна	д.х.н., член совета	1.4.16

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Коллеги, начинаем нашу вторую сессию по защитам на сегодняшний день. Речь идёт о защите диссертации Филимонова Александра Сергеевича, представленной по двум специальностям: органическая химия, химические науки и медицинская химия. В зале присутствует 21 член диссертационного совета из них 10 специалистов по органической химии, 6 – по медицинской химии. Кворум есть, и мы можем приступить к работе. Слово предоставляется Сергею Сергеевичу. Оба оппонента присутствуют дистанционно.

Ученый секретарь диссертационного совета – к.х.н. Патрушев Сергей Сергеевич

В диссертационном деле Филимонова Александра Сергеевича имеется: заявление, поданное 24 сентября 2024 года; копия диплома об окончании аспирантуры, химические науки; список научных трудов; отзыв научного руководителя; заключение организации, в которой выполнялась диссертация; отзыв ведущей организации, Уфимский федеральный исследовательский центр РАН; два отзыва оппонентов; пять отзывов на автореферат; проект заключения диссовета. Все необходимые документы имеются, диссертант может начинать защиту.

Филимонов Александр Сергеевич:

Добрый день, уважаемые коллеги! Хочу представить вашему вниманию свой доклад на тему: Дизайн и синтез производных усниновой кислоты в качестве ингибиторов тирозил-ДНК-фосфодиэстераз 1 и 2, ферментов репарации ДНК человека.

Поиск ингибиторов ферментов системы репарации ДНК, относится к перспективным направлениям современной медицинской химии и является одним из путей увеличения эффективности терапии онкологических заболеваний.

Одним из подходов химиотерапии является использование ингибиторов топоизомеразы 1, которые стабилизируют ковалентный комплекс топоизомеразы с ДНК, что приводит к гибели опухолевых клеток. Однако тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1 способна разрушать данный комплекс, что в свою очередь приводит к освобождению ДНК и выживаемости клеток. Известно, что TDP2 способна брать на себя функцию TDP1 и разрушать комплекс ДНК с топоизомеразой 1, что делает перспективным разработку дуальных ингибиторов TDP1 и 2.

Спектр описанных в литературе ингибиторов TDP1 широк, включает синтетические, природные и полусинтетические соединения. Однако эффективность большинства из них невысока, как правило, полуингибирующая TDP1 концентрация варьируется в микромолярном диапазоне. Хотя зачастую изученные соединения подавляют активность TDP1 при низких микромолярных или субмикромолярных концентрациях, некоторые

классы соединений были исключены из дальнейших исследований и разработок из-за отсутствия синергического или сенсibiliзирующего эффекта или из-за высокой цитотоксичности.

Крайне немногочисленные известные ингибиторы TDP2 обладают или весьма умеренной активностью, или неудовлетворительными фармакологическими характеристиками, что делает необходимым поиск ингибиторов новых структурных типов.

Недавние исследования демонстрируют принципиальную возможность синтеза соединений, ингибирующих одновременно и TDP1, и TDP2

Усниновая кислота является широко распространённым вторичным метаболитом лишайников, обладающим широким спектром биологической активности: противовирусной, антибиотической, анальгетической, противогрибковой и инсектицидной.

Ранее в Лаборатории физиологически активных веществ НИОХ СО РАН были получены различные производные усниновой кислоты, которые проявили ингибирующую активность по отношению к одному из ферментов репарации - TDP1. Наиболее выдающимися ингибиторами являются соединения 2a и 3. Несмотря на то, что синергический эффект данных ингибиторов с противоопухолевым препаратом был подтвержден как *in vitro*, так и *in vivo*, производные 2a и 3 обладают недостатками. В частности, соединение 2a проявляется относительно высокую цитотоксичность, а енамин 3 невысокую ингибирующую активность в отношении TDP1. Стоит отметить и малое разнообразие данных типов соединений, что не позволяет сделать выводы о зависимости «структура-активность». Это делает перспективной разработку новых ингибиторов TDP на основе усниновой кислоты актуальной задачей.

Целью настоящей работы является синтез новых производных усниновой кислоты в качестве потенциальных ингибиторов ферментов репарации ДНК человека TDP1 и TDP2 и изучение влияния структурных модификаций на ингибирующую активность и цитотоксичность получаемых производных.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

- 1) Разработать дизайн и синтезировать потенциальных ингибиторы TDP1 и TDP2 на основе усниновой кислоты.
- 2) Осуществить анализ полученных данных по ингибирующей активности, а также цитотоксичности получаемых производных.

Как уже было отмечено ранее, производное усниновой кислоты 2a, содержащее в своем составе гидразонотиазольный фрагмент, проявляет высокую активность в отношении TDP1. Однако тиазол 2a содержит в своей структуре фрагмент, относящийся к категории PAINS – гидразоновую связь. Литературные данные свидетельствуют о том, что в ряду

фенилзамещённых тиазолов с гидразоновым, аминным линкерами и без линкера ингибирующая TDP1 активность снижается, что говорит о влиянии структуры линкера на ингибирующую активность.

В качестве альтернативы гидразоновому линкеру может выступать амидный. Такая функциональная группа является мало реакционноспособной и устойчивой к гидролизу, что может положительно сказаться на фармакологических свойствах получаемых производных.

Удобным исходным веществом для синтеза производных усниновой кислоты с тиазольным циклом с амидным линкером 140 является аминотиазол 116, который вводили в реакцию ацилирования бензоилхлоридом в присутствии триэтиламина. Однако, в данных условиях реакция не протекала.

Так как такой подход не привёл к желаемому результату, было решено синтезировать целевое соединение 140 исходя из (+)-бромусниновой кислоты и производных тиомочевины.

Для этого были синтезированы необходимые ацилтиомочевины 142 из соответствующих ароматических и гетероароматических кислот.

Затем путем реакции полученных тиомочевин с бромусниновой кислотой были синтезированы целевые тиазолы 140а-е с высокими выходами.

В качестве ещё одной альтернативы гидразоновому линкеру мы решили ввести карбамидный линкер. Для этого на первой стадии путем реакции фенилизоцианата с тиомочевинной была синтезирована тиодимочевина 143, которую затем вводили в реакцию с бромусниновой кислотой, в результате чего был выделен тиазол 141 с выходом 90%.

Анализ данных ингибирующей активности в ряду фенилзамещённых тиазолов свидетельствует о том, что замена гидразонового линкера на амидный или карбамидный приводит к значительному уменьшению ингибирующей TDP1 активности.

Все полученные на данном этапе тиазолы на основе усниновой кислоты как с амидным, так и с карбамидным заместителем обладают ингибирующей активностью в микромолярном и субмикромолярном диапазоне концентраций. Стоит отметить, что соединения, содержащие атом брома в заместителе, имеют несколько большую активность, по сравнению с остальными соединениями.

Снижение цитотоксичности соединения при переходе от гидразонового линкера к амидному оказалось незначительным, хотя эффект усиления действия топотекана сохраняется.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в ряду тиазолов на основе усниновой кислоты производные с гидразоновым линкером являются наиболее

перспективным классом производных. Поэтому следующая часть работы была направлена на расширение библиотеки данного типа производных, в которой будет варьироваться структура заместителя в гидразоновом фрагменте молекулы.

Всего было выбрано три типа таких заместителей: первый - гетероароматические содержащие один или два гетероатома фрагменты, второй включает в себя ароматические фрагменты, содержащие протяженный заместитель, связанный с бензольным кольцом через метиленовую группу. Третий тип – монотерпеновые заместители.

Для выявления влияния конфигурации стереоцентра в структуре усниновой кислоты на активность, целевые гидразонотиазолы были синтезированы исходя как из (+)-усниновой кислоты, так и из её (-)-энантиомера.

Методика синтеза описанных ранее гидразонотиазолов с ароматическим заместителем заключается во введении в реакцию бромусниновой кислоты с тиосемикарбазонами выбранных типов альдегидов или кетонов в этаноле. Однако, при синтезе первых представителей гидразонотиазолов с гетероароматическим заместителем мы заметили, что чистота получаемых продуктов оказалась ниже, чем при синтезе аналогичных производных с ароматическим заместителем, в следствии чего получаемые производные было необходимо очищать методами колоночной хроматографии. В результате, выход продуктов реакции оказывался достаточно низким. Подбор условий проведения реакции выявил, что использование метанола в качестве растворителя позволяет получать целевые соединения методом высаживания, что положительно сказывается на выходе продуктов реакции.

Так как такая методика оказалась более эффективной, в дальнейшем она была применена для синтеза всего ряда гидразонотиазолов с гетероароматическими заместителями. Всего было получено 17 пар новых тиазолов.

Такая же методика синтеза была применена и для синтеза остальных целевых гидразонотиазолов. Производные 149-150 были выделены с выходами от 44 до 91%. Производные с терпеновым заместителем были синтезированы только на основе (+)-усниновой кислоты, так как не было отмечено существенной зависимости ингибирующей TDP1 активности тиазолов 148 и 149 от конфигурации стереоцентра.

Гидразонотиазолы с гетероароматическим заместителем оказались преимущественно менее активными в отношении TDP1, по сравнению с производным 2a, но при этом в ряде случаев наблюдалось снижение цитотоксичности производных.

Производные с протяженным ароматическим заместителем 149 проявили активность сопоставимую с прототипным соединением, однако цитотоксичность данного ряда производных оказалась значительно ниже, чем у соединения 2a.

Тиазолы с монотерпеновым заместителем оказались в ряде случаев более активными по сравнению с производным 2а, при этом проявляя заметно меньшую цитотоксичность.

Основываясь на том факте, что введение терпенового фрагмента привело к повышению ингибирующей активности в ряду гидразонотиазолов 148-150 мы использовали данный подход к дизайну ингибиторов TDP1 для синтеза аналогов второго соединения-лидера на основе усниновой кислоты, взятого в качестве прототипа - енамина 3а.

Единственный способ введения енаминового фрагмента в структуру усниновой кислоты является реакция с различными аминами в этаноле. Реакция проходит региоселективно по С-11 карбонильной группе. При проведении реакции усниновой кислоты с рядом терпеновых аминов была получена серия енаминов 152а-е с выходами 33-75%.

Для изучения зависимости структура-активность нами были синтезированы енамины, терпеновый заместитель в которых отдалён от остова усниновой кислоты через линкер. В качестве линкера был выбран мостик на основе γ -аминомасляной кислоты. Для синтеза целевых соединений 154а-е был выбран следующий порядок проведения реакций: на первом этапе была проведена реакция (+)-усниновой кислоты с γ -аминомасляной кислотой в этаноле при нагревании, затем полученное производное 153 вводили в реакцию с рядом терпеновых спиртов в присутствии EDC. Целевые енамины 154а-е были выделены с выходами 50-70% после колоночной хроматографии.

Большая часть енаминов 152 с терпеновым заместителем проявило активность сопоставимую с производным 3. Интересно отметить, что при введении линкера на основе гамма-аминомасляной кислоты происходит значительное уменьшение ингибирующей TDP1 активности.

Как показывает анализ цитотоксической активности енаминов на основе усниновой кислоты, в том числе полученных в ходе данной работы, введение енаминового фрагмента приводит к соединениям с низкой цитотоксичностью.

Как уже было озвучено, известно, что аминирование усниновой кислоты протекает исключительно по С-11 карбонильной группе. В литературе описано более 800 соединений такого типа. Так как в кольце С присутствует ещё две карбонильные группы, которые могли бы реагировать с N-нуклеофилами, мы провели поиск других возможностей введения енаминового фрагмента в структуру усниновой кислоты на примере реакции с аммиаком.

При проведении реакции усниновой кислоты с водным аммиаком мы варьировали растворитель. При проведении реакции в ряде органических растворителей реакция протекала с образованием соединения 155. Оказалось, что при проведении такой реакции в

воде наряду с соединением 155 наблюдалось образование ещё одного продукта реакции – енамина 156, результат реакции аммиака по карбонильной группе С-1.

Оказалось, что соотношение продуктов реакции зависит как от количества аммиака, так и от температуры проведения реакции. Так, например, количество енамина 156 повышается при повышении количества аммиака и при снижении температуры реакции.

Таким образом, при проведении реакции усниновой кислоты с 125 эквивалентами водного аммиака при +9°C приводило к образованию енамина 156 в качестве единственного продукта реакции. Структура нового енамина была доказана методом РСА.

Разработанные условия аминирования было предложено применить к производным усниновой кислоты, с том числе являющимися ингибиторами TDP1.

Реакция аминирования гидразонотиазола 2а неожиданно протекала исключительно по С-11 карбонильной группе независимо от использованных условий.

Тогда было предложено ввести в данную реакцию более простое производное модифицированное по кольцу А – фуранон 99. В этом случае, при проведении реакции в воде наблюдалось образование С-1 енамина. Введение дополнительного сопряженного заместителя, как в соединении 100а, не изменило региоселективности процесса аминирования.

Таким образом можно сделать вывод о том, что строение производного усниновой кислоты оказывает влияние на направление реакции аминирования аммиаком.

Для соединения 157 был проведен скрининг ингибирующей TDP1 активности. Оказалось, что введение простого енаминового фрагмента без заместителей привело к снижению на порядок ингибирующей активности производного 157 по сравнению с его аналогом 2а. Возможно введение более объемного заместителя в енаминовую часть соединения 157 приведет к увеличению ингибирующей TDP1 активности.

Поэтому следующим этапом работы стал синтез производных усниновой кислоты, сочетающих в себе как гидразонотиазольный заместитель, так и енаминовый фрагмент с объемным заместителем.

В качестве аминной компоненты были выбраны те амины, модификация которыми усниновой кислоты приводила к усилению её ингибирующих в отношении TDP1 свойств и снижению токсичности. Выбранные амины вводили в реакцию с тиазолами 2а и 148f, в результате чего были получены целевые производные 162 с выходами 70-78%.

Полученные производные показали свою ингибирующую TDP1 активность на уровне соответствующих енаминов. Стоит отметить, что при этом цитотоксичность полученных соединений оказалось низкой. Наиболее перспективными соединениями

являются производные, содержащие ионольный фрагмент в структуре енаминового заместителя.

В результате поиска новых ингибиторов TDP1 на основе усниновой кислоты были получены новые ингибиторы нескольких структурных типов, в том числе производные с высокой активностью в отношении к TDP1 (в частности тиазолы), а также гибридные соединения, проявляющие низкую цитотоксичность. Для одного из гибридных производных было показано усиление противоопухолевого и антиметастатического действия топотекана *in vivo*.

Поскольку данные о синтезе ингибиторов TDP2 на основе усниновой кислоты в литературе отсутствуют, дизайн соответствующих ингибиторов мы разрабатывали, основываясь на предположении, сделанном на основе литературных данных, о том, что повышению ингибирующей TDP2 активности способствует введение в структуру ингибитора насыщенных атомами азота гетероциклов.

Согласно литературе по синтетическим модификациям усниновой кислоты одним из удобных способов введения гетероциклических фрагментов в структуру усниновой кислоты являются замещение атома брома в бромусниновой кислоте тиолами с образованием соответствующих сульфидов. Окисление последних до соответствующих сульфоксидов или сульфонов может способствовать снижению цитотоксичности согласно литературным данным.

Для синтеза целевых соединений на первом этапе был синтезирован ряд тиозэфиров путем реакции бромусниновой кислоты с соответствующими гетероароматическими и ароматическими тиолятами. Сульфиды 163а-о были выделены с выходами 50-95%.

Все полученные тиозэфиры вводились в реакцию окисления водной перекисью водорода в присутствии ацетилацетоната ванадила и хирального лиганда соединения 166 или же окисления *мета*-хлорнадбензойной кислотой. В ряде случаев, при использовании хирального лиганда, наблюдалось изменение соотношения содержания диастереомерных сульфоксидов.

Для синтеза ряда сульфонов была проведена реакция сульфидов 14 с избытком *мета*-хлорнадбензойной кислоты. Сульфоны были выделены с выходами 25-81% после колоночной хроматографии.

Все полученные сульфиды проявили ингибирующую TDP1 активность в микромолярном диапазоне концентраций. Но при переходе к сульфоксидам и сульфонам наблюдается тенденция к снижению активности.

Предложенный подход в действительности позволил получить первые ингибиторы TDP2 на основе усниновой кислоты. В ряде случаев полученные производные проявляли

активность в диапазоне концентраций 138-380 микромоль. Однако, явной зависимости ингибирующей TDP2 активности производных от степени окисления атома серы не было обнаружено.

В случае ряда производных с *para*-хлорфенильным заместителем наблюдалась ранее описанная зависимость, заключающаяся в снижении цитотоксичности при переходе от сульфидов к сульфоксидам и сульфонам. Однако на примере остальных производных было показано, что цитотоксичность в большей степени зависит от структуры заместителя, нежели от степени окисления атома серы.

Ещё одним подходом к синтезу ингибиторов TDP2 на основе усниновой кислоты является синтез производных, сочетающих в своем составе наличие гидразонотиазольного заместителя при кольце А и конденсированного с циклом С пиразольного фрагмента.

Для синтеза целевых соединений тиазолы 2a и 148f вводили в реакцию с выбранными ароматическими гидразинами. Производные 168a,b и 169a,b были выделены с выходами 35-45%.

Полученные производные проявили активность в отношении к TDP1 в субмикромольном диапазоне концентраций. С точки зрения ингибирования TDP2 наиболее активными оказались производные, содержащие *para*-бромфенильный заместитель в пиразольном фрагменте молекулы.

Также нами была изучена активность в отношении к TDP2 ряда полученных в этой работе гидразонотиазолов, т.к. они сами по себе содержат в своем составе насыщенные атомами азота фрагменты. Оказалось, что производные именно (-)-усниновой кислоты проявляют активность в отношении к TDP2 в микромолярном диапазоне концентраций. Наиболее перспективным дуальным ингибитором оказалось соединение (-)-148m, с полуингибирующими концентрациями в отношении TDP1 18нМ, в отношении TDP2 8 микромоль.

В результате данной части работы было показано, что подход, заключающийся в введении в структуру усниновой кислоты насыщенных атомами азота фрагментов привёл к обнаружению новых классов производных, являющихся дуальными ингибиторами TDP1 и 2.

В результате проделанной работы:

- 1) Синтезирован ряд новых тиазолов на основе усниновой кислоты. Обнаружено, что замена гидразонотиазольного фрагмента на амидный или карбамидный приводит к снижению ингибирующей активности, а замена заместителя в гидразоновом фрагменте позволила получить более эффективные ингибиторы TDP1.

2) Синтезирован ряд новых енаминов на основе усниновой кислоты с терпеновым заместителем, проявляющих активность в отношении TDP1 в субмикромольном диапазоне концентраций. Показано, что ингибирующая активность данного типа производных несущественно зависит от структуры терпенового заместителя.

3) Впервые разработан подход к синтезу производных усниновой кислоты, содержащих енаминовую группу при C-1 атоме углерода. Показано, что региоселективность аминирования зависит как от условий проведения реакции, так и от строения периферии молекулы производного усниновой кислоты.

4) Предложен дизайн и осуществлён синтез гибридных производных. Показано, что введение объёмного заместителя в кольцо C гидразонотиазолов способствует снижению ингибирующего действия в отношении TDP1, а также значительному снижению цитотоксичности получаемых соединений.

5) Предложен дизайн и осуществлён синтез дуальных ингибиторов TDP1 и TDP2. Выявлено, что активность в отношении TDP2 зависит как от структуры заместителей, так и от конфигурации стереоцентра дибензофуранового остова усниновой кислоты.

На этом у меня всё, спасибо за внимание!

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Спасибо! Вопросы, пожалуйста. Ольга Ивановна.

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна:

Спасибо. Подскажите, пожалуйста, ваша цель – найти дуальные ингибиторы, которые бы работали и на TDP-1, и на TDP-2, правильно?

Филимонов Александр Сергеевич:

В том числе, да.

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна:

В том числе, да. Активные сайты связывания TDP-1 фермента и фермента TDP-2, насколько они отличаются?

Филимонов Александр Сергеевич:

Они отличаются достаточно сильно. Можно начать с того, что в активных сайтах связывания для TDP-2 присутствует катион магния, что значительно определяет разницу в активности с TDP-1.

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна:

А какие-то есть данные о сравнении именно их строения? То есть, мы знаем, что у нас ингибиторов TDP-1 всевозможных классов за последние 10 лет было обнаружено очень

много. Можно ли сравнить размеры этих сайтов? Кроме того, что вы про магний сказали. Такие работы проводились?

Филимонов Александр Сергеевич:

Я таких работ не наблюдал, однако в целом можно заключить, так как наши коллеги все-таки проводили расчеты в отношении TDP1 и TDP2, можно заключить, что размер сайта связывания в TDP2 он несколько меньше по сравнению с TDP1, так как в TDP1 можно, например, определить активный сайт связываний и находящийся рядом с ним, например, аллостерический сайт, и там можно в принципе вложить даже две молекулы подряд. А вот в случае TDP-2...

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна:

У вас картинок нет?

Филимонов Александр Сергеевич:

Сейчас. Некоторые картинки есть, да. На примере этой картинки можно. Это сайт связываний с TDP1. Конкретно в этом месте находится именно активный сайт связываний, а вот этот сайт связываний считается аллостерическим. А для TDP-2. Здесь не самая удачная картинка в этом плане для сравнения. Тут просто молекула укладывается достаточно плотно – она как будто бы зажата как колбаса в сэндвиче, грубо говоря.

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна:

Ну а ваши данные? Вот вы получили вещество, условно, более плоское, поэтому оно туда влезло?

Филимонов Александр Сергеевич:

Эти производные, гидразонотиазол в частности, являются в целом достаточно плоскими молекулами, потому что там присутствует практически единая сопряженная система. Один из факторов, который нарушает плоскость, это как раз наличие вот этого метильного атома, который может быть повернут либо вниз, либо вверх, и в случае ингибиторов TDP-2 это оказывает значительное влияние.

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна:

В смысле, либо на плюс, либо на минус усниновой кислоте?

Филимонов Александр Сергеевич:

Да, на плюс усниновой кислоте они не работают, на минус усниновой они работают.

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна:

Хорошо, а можно еще один вопрос? Известно, что уже давно достаточно применяются в терапии ингибиторы PARP-1, PARP-2. Причем это уже есть даже данные в Кокрейновской базе данных, можно смотреть обзоры, то есть доказательная медицина. В

чем может быть преимущество разработки ингибиторов TDP1, или дуальных ингибиторов TDP 1 и 2, по сравнению с ингибиторами PARP-1, PARP-2?

Филимонов Александр Сергеевич:

Тут скорее стоит сравнивать использование ингибиторов PARP-1 в сравнении с коктейлем из ингибиторов TDP1 и топоизомеразы 1. Потому как сами по себе ингибиторы TDP1, они не проявляют противоопухолевой активности.

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна:

Я понимаю, но PARP же тоже... PARP сам по себе, да?

Филимонов Александр Сергеевич:

Да, ингибиторы PARP сами по себе проявляют активность. Ну и в том числе он, насколько я знаю, участвует и в сигнальных путях, которые призывают даже TDP1 на место репарации ДНК, и это можно использовать в принципе в таком даже тройном коктейле.

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна:

Так преимущество в чём?

Филимонов Александр Сергеевич:

Я не уверен, что этот вопрос стоит рассматривать с точки зрения именно преимуществ, потому что терапия всегда индивидуальна, для разных видов опухоли применяются разные лекарства, в зависимости от того, какие лекарства лучше действуют согласно исследованиям.

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна:

Хорошо, спасибо!

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Вячеслав Евдокимович.

Член диссертационного совета – д.х.н., Платонов Вячеслав Евдокимович:

У меня небольшой вопрос химического плана. Вы бы не могли показать слайд номер 8? Там реакции с роданидом натрия хлорангидрида кислоты.

Филимонов Александр Сергеевич:

Да, сейчас. Здесь? Вот эта реакция, хлорангидрида с роданидом натрия.

Член диссертационного совета – д.х.н., Платонов Вячеслав Евдокимович:

А, вот вверху, да. У вас идёт реакция хлорангидрида кислоты с роданидом натрия, при этом получается тиоизоцианатное производное. Потом вы его обрабатываете аммиаком, и у вас получается ацилтиомочевина.

Филимонов Александр Сергеевич:

Да.

Член диссертационного совета – д.х.н., Платонов Вячеслав Евдокимович:

Причём, когда я посмотрел страницу 8 в вашем автореферате, там вместо серы находится кислород.

Филимонов Александр Сергеевич:

Да, там опечатка, которую мы не заметили, достаточно грубая.

Член диссертационного совета – д.х.н., Платонов Вячеслав Евдокимович:

Эта опечатка – это ерунда. А вот у меня в этой связи такой вопрос. Почему бы вам вместо того, чтобы использовать роданид натрия, ещё аммиак, то есть фактически две стадии, не проводить реакцию хлорангирида с тиомочевинной?

Филимонов Александр Сергеевич:

На самом деле, в последующем, когда мы нарабатывали эти соединения уже для несколько других целей, я использовал именно этот подход. Да, я ацилировал тиомочевину, это оказалось действительно несколько проще. Соединение получается с лучшим выходом.

Член диссертационного совета – д.х.н., Платонов Вячеслав Евдокимович:

Нагреть надо, чтобы сера не участвовала в реакции. И должно получиться вот это соединение, то есть должно быть проще. То есть вы это сделали?

Филимонов Александр Сергеевич:

Да, просто в работу это не вошло.

Член диссертационного совета – д.х.н., Платонов Вячеслав Евдокимович:

Спасибо!

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Елена Григорьевна.

Член диссертационного совета – д.ф.-м.н., профессор Багрянская Елена

Григорьевна:

Скажите, пожалуйста, а вот мишени, для них известны, например, какой-нибудь комплекс, который рентгеноструктурным анализом наблюдался? Насколько я знаю, по TDP1 существуют работы, в которых разные мишени совсем предполагаются, товарищами из Австралии, и так далее. Если посмотреть литературу, всё-таки есть какое-то у вас представление о том, какая там на самом деле мишень? И можно ли как-то это подтвердить какими-либо экспериментами, помимо расчётов?

Филимонов Александр Сергеевич:

Это очень интересный и достаточно ёмкий вопрос. В целом, согласно тем данным, которые у нас получилось собрать, исключая всё-таки молекулярное моделирование, мы знаем для ряда производных...

Начну, с того, что, в принципе, процесс репарации TDP1 довольно сложный. То есть TDP1 соединяется с, по крайней мере, комплексом из топоизомеразы с ДНК, ингибитора топоизомеразы 1 и ещё, возможно, некоторых сигнальных белков, которые там навешаны. Поэтому встаёт действительно вопрос о понимании того, на каком этапе действуют эти соединения. И, в частности, для ряда сульфидов, сульфоксидов и сульфонов на основе усниновой кислоты было показано, что они являются бесконкурентными ингибиторами. То есть они связываются не с самим ферментом TDP1, а уже с фермент-субстратным комплексом. И вот с этим разбираться уже становится намного сложнее. Придётся либо выращивать очень сложный комплексный кристалл, чтобы понять, где же вещество связывается, либо искать какие-то другие альтернативы.

Член диссертационного совета – д.ф.-м.н., профессор Багрянская Елена Григорьевна:

В основном расчеты, да?

Филимонов Александр Сергеевич:

Сейчас расчёты, но я не уверен в их целесообразности, по крайней мере, для предсказания ингибирующей активности.

Член диссертационного совета – д.ф.-м.н., профессор Багрянская Елена Григорьевна:

Спасибо!

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Слайд шестой, можно? Вы рассказывали про те производные, которые были до вас, и чем они плохи. Во-первых, вы сказали, что они подпадают под категорию PAINS. Расшифруйте, что это такое.

И во-вторых, что они не демонстрируют синергию. Соответственно, ваши новые соединения не содержат ли группы, которые попадают под категорию PAINS, являются ли старые соединения и новые действительно этими PAINS, и демонстрируют ли ваши соединения синергию *in vitro*? Тоже объёмный вопрос.

Филимонов Александр Сергеевич:

Да, достаточно объёмный вопрос.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Начните с PAINS.

Филимонов Александр Сергеевич:

PAINS это довольно свежая недавно определённая группа фрагментов, наличие которых в молекуле, как правило, дают высокую вероятность того, что соединение будет проявлять ложноположительные результаты в биологических тестах, к которым относится в том числе и гидрозонный фрагмент. В этом плане я имел в виду именно только гидрозонный фрагмент, так как остальные соединения под категорию PAINS не попадают, и конкретно для этого соединения синергия, насколько я знаю, не изучалась, а для соединения 2a, которое является аналогом с бромом в этом месте, синергия изучалась. Она известна, она есть. Он повышает эффективность топотекана по крайней мере в три-четыре раза. Для наших соединений, которые были получены, такие же аналоги, либо соединения, например, с амидным заместителем: последнее проявило сопоставимый уровень синергии, по крайней мере, по сравнению с этим соединением 2a. И тогда были синтезированы соединения, аналоги гидрозонотиазола с различными заместителями, и в их структуре этот фрагмент все еще присутствует в действительности. Однако тому насколько это соединение в целом подходит под эту категорию, стоит уделить отдельное внимание отдельным биологическим исследованиям – проверить на то, не дает ли оно ложно положительных результатов.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Это небольшой фрагмент, большой молекулы. Ладно, хорошо. Еще вопросы, пожалуйста. Да.

Член диссертационного совета – д.х.н. Шелковников Владимир Владимирович:

У меня вопрос такой образовательный. Вот усниновая кислота, в которой отсутствует карбоксильная группа, все равно является кислотой, вероятно из-за гидроксила. Так вот, какой протон является кислым или они все в равной степени кислые?

Филимонов Александр Сергеевич:

Вот, усниновая кислота. Да, она кислотой называется, потому что у нее есть достаточно кислый фрагмент в кольце С. Это трикетонная система, которая находится в енолизированном состоянии. Согласно литературным данным, рКа вот этой гидроксильной группы равен примерно 4,6, почти как у уксусной кислоты. Но эти фрагменты, эти гидроксильные группы, они тоже являются кислыми.

Член диссертационного совета – д.х.н. Шелковников Владимир Владимирович:

Спасибо. Второй вопрос по бромированию. На слайде 36 вы бромлируете усниновую кислоту, и тоже бромруется одно положение, хотя можно выделить 3 метильных группы, которые близки к карбонильным группам. Почему такая высокая селективность бромирования?

Филимонов Александр Сергеевич:

Да, это тоже очень интересный вопрос, мы над ним довольно давно задумывались. На самом деле, в этом плане стоит сравнивать вот эту ацетильную группу с трикетонным фрагментом самим по себе. Так как трикетонные фрагменты в принципе являются уже и анилизированными, как и на этой структуре, это один из таутомеров, и на этой, то стоило ожидать бромирования именно по этому положению. Но мы предполагаем то, что это бромирование протекает обратимо в следствие того, что молекула старается находиться в таком сопряженном протяженном состоянии. Косвенным доказательстве этого служит известное в литературе проведение реакции Манниха, которая протекает по схожему механизму – это также электрофильная атака по анилизированной карбонильной группе, и при этом у них наблюдается в ходе реакции деацилирование. То есть молекула все еще возвращается в такое сопряженное состояние, но при этом ацильный фрагмент у них заменяется на вот такой вот фрагмент продукта реакции Манниха. Возможно, в случае бромирования можно подобные условия подобрать, но у нас пока что не получилось, хотя это было бы интересно.

Член диссертационного совета – д.х.н. Шелковников Владимир Владимирович:

Спасибо за ответ! На счет енольной формы. Давайте перейдем к аммиаку. Вы более подробно это рассматриваете на слайде 23-24. У вас тоже реакция идёт по двум положениям. Причем сразу замечу, на слайде у вас правильно нарисовано отношение карбонильной группы и енамина, а в автореферате нет, в обратную сторону.

Филимонов Александр Сергеевич:

А, ну это возможная печатка, да.

Член диссертационного совета – д.х.н. Шелковников Владимир Владимирович:

Вопрос следующий. У вас есть два варианта, 155 и 156 структуры. Их содержание зависит от концентрации аммиака и от температуры. Раз были температурные данные, что-то вы можете сказать о термодинамике реакции или устойчивости основного продукта?

Филимонов Александр Сергеевич:

Да, мы над этим задумывались. Когда мы получили эти данные, мы подумали о том, что в целом все выглядит так, как будто бы продукт 155 является продуктом термодинамического контроля, а продукт 156 – это продукт кинетического контроля. И, возможно, разница именно в кинетике этих реакций проведения способствовала именно такой разнице направления аминирования. Но при этом, при выдерживании любого продукта в условиях реакции – это вода-аммиак, либо в этаноле с аммиаком, либо просто в этаноле, в воде при разных температурных режимах – перехода одного в другой не наблюдалось. Позже мы подумали о том, что такая реакция, я имею в виду C1-

аминирование, может быть возможной именно из-за основности среды, так как такое количество аммиака создает высокую основность, само собой. И провели модельную реакцию, вводили усниновую кислоту в реакцию с всего тремя эквивалентами аммиака в присутствии гидроксида калия в количестве, от одного до трех эквивалентов, и в воде, и в этаноле. В этом случае происходило тоже образование в основном соединения C-1-енамина, причем при двух эквивалентах гидроксида калия оно являлось единственным продуктом реакции. Поэтому мы пришли к выводу о том, что здесь решающую роль играет именно основность смеси.

Вероятно, здесь играет большую роль кислотность вот этой гидроксильной группы. Потому как, если мы погрузим усниновую кислоту в основную среду, если предположить, что происходит момент монодепротонирования... Самая кислая группа, конечно, вот эта, но в принципе в растворе могут существовать формы, в которых депротонирована трикетонная система, либо депротонирована дифенольная система по одному из атомов кислорода. И в таком случае, если депротонируется трикетонная система, то она должна вступать в реакцию с аммиаком хуже. При депротонировании вот этой гидроксильной группы пропадает водородная связь между этой гидроксильной группой и вот этой карбонильной группой, что активирует ее для реакции. Возможно, в этом случае она является более активной по сравнению с вот этой ацетильной группой. Заметно более активной, из-за чего мы наблюдаем такой продукт. Эта же теория косвенно подтверждается тем, что для гидрозонотиазола, в котором введен к вот этому циклу А объемный сопряженный фрагмент, аминирование протекает исключительно по C-11 атому. Стоит отметить, что этот процесс протекает медленно в обоих случаях, что может говорить о том, что вот эта гидроксильная группа депротонируется хуже, и преимущественно в растворе присутствует только анион по трикетонному положению, который плохо вступает в эту реакцию.

Но это все еще предстоит проверять. У вас есть идея для последующих опытов на этот счет.

Член диссертационного совета – д.х.н. Шелковников Владимир Владимирович:

Я примерно понял, хотя все работает и в альтернативную сторону. То есть этот тоже может депротонироваться, протон, который наиболее кислый, и, соответственно, та карбонильная группа тоже выйдет из водородной связи. То есть все это и в обратную сторону работает. Поэтому такое объяснение, оно немножко лукавое. Если вы понижаете температуру, и у вас продукт в большей степени, там, 100%, у него отрицательная энтальпия выше, то есть он термодинамически более должен быть устойчив. Но все равно спасибо за объяснение, подробно.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Еще вопрос, пожалуйста. Да.

Член диссертационного совета – д.х.н. Тихонов Алексей Яковлевич

По-моему, на этом слайде вы говорили про региоселективность, да?

Филимонов Александр Сергеевич:

Да.

Член диссертационного совета – д.х.н. Тихонов Алексей Яковлевич

Региоселективность, а выходы у вас 33%. А что же все остальное?

Филимонов Александр Сергеевич:

Это связано скорее с процессом очистки получаемых соединений, так как терпеновый амин в случае такой реакции обычно берется в избытке. Как правило, это три эквивалента. То есть если продукт не получается, например, высадить из смеси в виде единственного соединения, приходится применять методы колоночной хроматографии для очистки. И снижение выходов в этом случае связано исключительно с проведением колоночной хроматографии.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Скажите, были ли препараты сравнения, когда измеряли активность на TDP-1, TDP-2? Там, где дуальные ингибиторы, у вас заметно отличалась ингибирующая активность. Их можно между собой сравнивать вообще, нет? Два вопроса. Начнем с препарата сравнения.

Филимонов Александр Сергеевич:

Препараты сравнения для TDP-2?

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Да, обоих.

Филимонов Александр Сергеевич:

Для TDP-1 у нас препаратом в сравнении по большому счету выступали наши исходные стартовые соединения, гидразонтиозол и енамин.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

В статьях, обычно используют препараты сравнения, которые доступны не только вам.

Филимонов Александр Сергеевич:

Да, есть. В случае TDP-1 используется в качестве препарата сравнения фурамин.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Какой у него IC₅₀?

Филимонов Александр Сергеевич:

У него IC₅₀ довольно высокий. Он, по-моему, выше даже ста микромоль... или пятьдесят микромоль... или десятки микромоль. Но это в любом случае отличается на три порядка от производного усниновой кислоты, в этом случае, на два-три порядка.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Это стоило привести. А по TDP-2?

Филимонов Александр Сергеевич:

А по TDP-2, насколько я знаю, препарата сравнения, который всем был бы доступен, нет. Это довольно свежее направление в этом плане работы.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

И сравнение активности в отношении двух ферментов?

Филимонов Александр Сергеевич:

В смысле между собой?

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Да. У вас активность против TDP-1 в микромолярном диапазоне, а против TDP-2 я вижу сотни микромоль.

Филимонов Александр Сергеевич:

Да.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

То есть три порядка разницы? Их можно между собой сопоставлять или нет?

Филимонов Александр Сергеевич:

Ну, я не уверен, что это правильное их сопоставление. Это соединение, и само является дуальным ингибитором. Если мы проводим опыты *in vitro* на опухолевых клетках, убиваем их топотеканом, например, или этопозидом, и вводим наши дуальные ингибиторы, то в этом случае мы должны учитывать то, что в клетке есть как TDP-1, так и TDP-2. То есть, в этом случае возникает конкуренция в связывании между двумя ферментами. И, например, для этого соединения было показано, что при воздействии на опухолевые клетки этопозидом, который является ингибитором токоземерызы 2 – то есть работает в паре с TDP-

2, так же, как TDP-1, с топоизомеразой 1 – сам по себе этопозид, например, давил лучше клетки, которые были нокаутные по TDP-2, в которых он не воспроизводился. При этом при добавлении наших дуальных ингибиторов, которые в том числе являются ингибиторами TDP-2, мы ожидали, что, возможно, поднимется уровень цитотоксичности этапозида. Однако на здоровых клетках мы этого не наблюдали, а на клетках, в которых отсутствует TDP-2, мы это наблюдали, что может быть связано именно с ингибированием TDP-1 в этом случае, которое берет на себя роль TDP-2.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

А какие тест-системы используются для определения активности этих ферментов?

Филимонов Александр Сергеевич:

Для TDP-1 используется одноцепочечная ДНК в качестве субстрата, на которой на 5 штрих-конце, находится флюорофор, на 3 штрих-конце тушител. И в этом случае при снятии тушителя наблюдается повышение флюоросценции, таким образом можно это определить.

Для TDP-2 примерно аналогичный способ, только в этом случае берется одноцепочечная, кажется, ДНК, на 5 штрих-конце, который находится флюорофор, и он в этом случае либо снимается, либо не снимается. Потом проводится гель-электрофорез и прибором измеряется уровень флюоресценции пятен.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Еще вопрос. Вы показали мельком результаты *in vivo*. Так как это важно, не могли бы вы подробнее рассказать, что там получилось, что с чем сравнивать?

Филимонов Александр Сергеевич:

На левом графике изображен вес опухоли мышей. Первый – это интактный контроль, второй – это DMSO-Tween, третий – это топотекан, то, с чем нам стоит сравнивать, потому как мы хотим увеличить эффективность именно топотекана в этом плане. Вот эта планка, топотекан с нашим соединением, кодовое название которого AF-185, при внутрижелудочном введении; вот это планка – при внутрибрюшинном введении. При внутрибрюшинном введении наблюдается значительное и достоверное усиление действия топотекана, при этом само по себе соединение, как внутрибрюшинно, так и внутрижелудочно значительного противоопухолевого эффекта не проявляет.

В правой таблице показан антиметастатический эффект – уменьшение числа метастаз. Соответственно, колонки те же самые. На третьем месте находится топотекан. На четвертом топотекан с 185-м введенным внутрижелудочно, при этом эффекта не

наблюдается. При введении его внутривенно наблюдается заметный эффект. Поэтому мы делаем заключение о том, что AF-185 влияет на противоопухолевую антиметастатическую активность топотекана.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

А дозы какие были?

Филимонов Александр Сергеевич:

Насколько я помню, дозы были 15 мг на килограмм.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Исходя из этих данных и разницы внутрижелудочной и внутривенной, можно ли сказать, что ваше соединение менее биодоступно при внутривенном введении?

Филимонов Александр Сергеевич:

Такой вывод можно сделать. Это, возможно, связано с протонированием соединения на стадии попадания в желудочные соки. В частности, вот этот атом азота способен вполне неплохо протонироваться, и мы даже наблюдали протонированные соединения в ходе синтеза когда-то ранее. И, возможно, именно с протонированием связана его меньшая, например, проницаемость через кишечные стенки.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Ещё вопросы. Да, Ольга Ивановна

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна:

Подскажите, пожалуйста, я правильно поняла или не расслышала, первая строчка это у нас ничего, контроль, да? И там, и там, и метастазы, и опухоли?

Филимонов Александр Сергеевич:

Да.

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна:

Вторая строчка, это ДМСО-Tween?

Филимонов Александр Сергеевич:

Да, это ДМСО-Tween.

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна:

И что он работает и там, и там? И вот этого всего остального вообще ничего не надо? Никаких ни ингибиторов, ни топотекана?

Филимонов Александр Сергеевич:

По крайней мере, в плане веса опухоли топатекан подавляет сильнее, чем ДМСО-Tween.

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна:

А метастазы-то вообще практически на уровне вашего препарата?

Филимонов Александр Сергеевич:

Да.

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна:

Достоверно, да?

Филимонов Александр Сергеевич:

Это хороший вопрос.

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна:

Ладно.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Так, еще вопросы, пожалуйста. Так, наверное, достаточно, да? Все, спасибо тогда! Следующий у нас вопрос – это выступление научного руководителя. Ольга Анатольевна, вам слово.

Научный руководитель – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Добрый день! Научному руководителю следует сказать не о том, какой вообще, в принципе, хороший человек, а о том, чего он достиг за время обучения в нашем институте и во время выполнения этой работы.

Я хочу сказать, что в дополнение ко всем тем качествам положительным, которые нам достались просто в подарок от Сашиных родителей, то есть и ум, любознательность, ответственность и многое другое, мы тоже смогли добавить все хорошее. Он освоил множество методов органической химии, он отлично анализирует литературу, делает выводы, выполняет задачи очень самостоятельно, совершенно. За это время обучения, в том числе, Саша приобрел опыт преподавания в нашем университете. Фактически случилось так, что он приобрел опыт руководства. То есть в силу обстоятельств, он, по сути, руководил дипломной работой Анастасии Дивейкиной, блестяще защищенной. И, в общем-то, я считаю, что приобрел практически все навыки, которые нужны для присуждения степени кандидата химических наук. И считаю, что вот на этой стадии он уже способен не только решать задачи самостоятельно, которые ему ставят, но и вполне способен ставить себе уже сам цели. Это достаточно высоко выросший молодой человек.

Также по требованиям ВАК следует научному руководителю говорить о работе, которая выполнялась. Я считаю, что работа выполнялась у нас достаточно давно, со

времени прихода Александра в наш институт еще в качестве бакалавра. Работа гораздо шире, чем представлено в этом исследовании, но она сконцентрирована именно как законченное и определенное цельное исследование. При этом, на самом деле, очень много интересного было сделано. Он пришел уже после того, как я защитила свою докторскую диссертацию и сказала, что все, с усниновой кислотой заниматься больше не будем, делать там больше нечего. Саша открыл новые горизонты и оказалось, что там столько всего интересного, чего не вошло в эту диссертацию. Об этом еще когда-нибудь мы вам обязательно все это расскажем. Александр полностью, на мой взгляд, соответствует требованиям к соискателям кандидата химических наук. И я полностью поддерживаю его в этом.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Спасибо, Ольга Анатольевна! Слово предоставляется Сергею Сергеевичу для оглашения документов, поступивших в адрес совета.

Ученый секретарь диссертационного совета – к.х.н. Патрушев Сергей Сергеевич

Согласно заключению организации, в которой выполнялась диссертационная работа. Диссертация Филимонова Александра Сергеевича «Дизайн и синтез производных усниновой кислоты в качестве ингибиторов тирозил-ДНК-фосфодиэстераз 1 и 2, ферментов репарации ДНК человека» выполнена в Лаборатории направленных трансформаций природных соединений НИОХ СО РАН. Александр Сергеевич работал в НИОХ СО РАН с июня 2016 года в должности лаборанта Лаборатории физиологически активных веществ. С декабря 2018 по настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника Лаборатории направленных трансформаций природных соединений.

В июне 2018 года Александр Сергеевич окончил Новосибирский Государственный Университет, «Бакалавриат» по специальности химия. В июне 2020 года им была успешно окончена магистратура Новосибирского Государственного Университета также по специальности химия. С августа 2020 года по июнь 2024 года Александр Сергеевич обучался в аспирантуре Новосибирского института органической химии по направлению химические науки, специальность 1.4.3 – органическая химия. В 2024 году был получен удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов.

Тема диссертационной работы утверждена на заседании ученого совета НИОХ СО РАН протокол № 11 от 29 сентября 2020 года. Отзыв рецензента, кандидата химических наук, научного сотрудника лаборатории медицинской химии Финке Анастасия Олеговна на диссертационную работу положительный.

Диссертационная работа Александра Сергеевича посвящена разработке селективных методов модификации урсниновой кислоты и изучению свойств новых соединений в качестве ингибиторов, ферментов репарации ДНК. В ряду синтезированных производных выявлены перспективные в качестве ингибиторов ферментов репарации ДНК соединения, в том числе высокоэффективные низкотоксичные ингибиторы TDP1 и дуальные ингибиторы TDP1 и 2. Актуальность, тема, научная новизна, теоретическая и практическая значимость вопросов не вызывают. В ходе выполнения работы применялись современные методы органического синтеза. Разделение реакционных смесей, выделение и очистка осуществлялись методами колоночной хроматографии и кристаллизации. В работе использовались физико-химические методы установления структуры и чистоты химических соединений, такие как ЯМР-спектроскопия, РСА, масс-спектрометрия высокого разрешения. Был осуществлен поиск, структурный дизайн и синтез ингибиторов TDP1 и TDP2 на основе: а) анализа и модификации структур известных активных соединений; б) знания структурных параметров мишени; в) анализ данных биологических тестирований широкой группы производных по циклам А и С. Достоверность полученных результатов обеспечена тщательностью выполнения экспериментов и использованием современных физико-химических методов исследования структур получаемых соединений. Достоверность результатов подтверждается независимой экспертизой опубликованных материалов в рецензируемых научных изданиях и апробации на российских и международных конференциях.

Представленная диссертационная работа соответствует паспорту специальности органическая химия в областях исследования: выделение и очистка новых соединений; развитие рациональных путей синтеза сложных молекул, а также по паспорту медицинской химии в областях исследования: поиск, структурный дизайн и синтез соединений лидеров, потенциальных физиологически активных веществ на основе знания структурных параметров биологической мишени; анализ и модификация структуры известных активных соединений и синтез, биологическое тестирование широкого разнообразия химических соединений; предусмотрены номенклатурой научных специальностей, по которым присутствуют ученые степени, подтвержденные министерством науки и высшего образования Российской Федерации.

По теме диссертации опубликовано 8 статей в рецензируемых научных изданиях и 17 тезисов докладов на российских международных конференциях. Во всех публикациях вклад, внесенный соискателем в химическую аналитическую часть исследования, является основным. Представленные в работе результаты получены автором или при его непосредственном участии. Соискателем осуществлен поиск, анализ, обобщение научной

литературы по теме диссертации, планирование проведения всех химических экспериментов, выделение новых индивидуальных соединений, а также структурная идентификация веществ с использованием спектральных методов. Автором внесён в существенный вклад в формирование общего направления работы и подготовку научных публикаций по теме исследования. Опубликованные работы достаточно полно отражают содержание диссертационной работы. Также отмечается, что Александр Сергеевич является исполнителем бюджетных проектов фондов РФФИ и РНФ.

И в заключении, диссертационная работа Филимонова Александра Сергеевича рекомендуется в защите на соискание учёной степени по специальностям органическая химия и медицинская химия.

Заключение принято на заседание семинара отдела медицинской химии. Присутствовало на заседании 44 человека, в том числе 25 кандидатов наук, 8 докторов наук. Результаты голосования: «за» 44 человека, «против» ноль, «воздержались» ноль.

Протокол номер 4 от 4 сентября 2024 года. Заключение подписано председателем семинара, д.х.н., профессором Шульц Эльвирой Эдуардовной и секретарем семинара, к.х.н. Волковой Анной Николаевной и утверждён директором НИОХ СО РАН д.ф.-м.н., профессором Багрянской Еленой Григорьевной.

Далее отзыв ведущей организации. Уфимский Федеральный Исследовательский Центр Российской Академии Наук. Организация отмечает актуальность, научную и практическую значимость. Отмечается, что выполненная диссертационная работа соответствует паспорту специальности органическая химия и специальности медицинская химия.

Я это уже зачитывал в предыдущем заключении.

Диссертационная работа написана в классическом стиле, состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка цитированной литературы и приложения. Текст работы изложен на 158 страницах, содержит 86 схем, 14 рисунков, 31 таблицу. Список цитированной литературы содержит ссылки на 139 источников, приложение содержит данные исследования биологической активности синтезированных соединений.

В литературном обзоре на тему препаративные методы модификации усниновой кислоты проведён анализ современного состояния исследования по химической модификации усниновой кислоты, позволяющий выделить её основные реакционноспособные структурные фрагменты. Обсуждается направление синтетической трансформации для цели синтеза новой биологически активных соединений. Обзор

изложен чётко, грамотно и ясно, имеет аргументированное заключение. Приведены результаты 83 научных статей, из которых 32 опубликованы за последние 10 лет.

Основное содержание диссертации изложено в главе обсуждения результатов, состоящей из введения и двух взаимосвязанных разделов. Первый раздел посвящён разработке практически важных подходов к синтезу ингибиторов TDP1 на основе усниновой кислоты. Во втором разделе автор последовательно переходит к разработке подходов к синтезу ингибиторов двойного действия в отношении TDP1 и TDP2 на основе усниновой кислоты. Среди синтезированных соединений выявлены дуальные ингибиторы TDP1 и TDP2, выявлены структурные модификации усниновой кислоты, ведущие к повышению ингибирующей активности по отношению к тирозил-ДНК-фосфодиэстеразам 1 и 2 и снижению собственной цитотоксичности соединений.

Следует отметить квалифицированное применение диссертантом современных инструментальных физических методов для установления строения синтезированных соединений, что обеспечивает достоверность полученных результатов и сделанных на их основе выводов.

Содержание автореферата в полной мере соответствует содержанию диссертации работы. Научная новизна, практическая значимость, достоверность результатов исследований подтверждены публикациями восьми статей в рецензируемых научных журналах рекомендованных ВАК. Все из них включены в базы данных, Web of Science и Scopus. Результаты работы представлены в виде семнадцати устных и стендовых докладов на российских и международных профильных конференциях. Опубликованные статьи и представленные результаты на конференциях в полной мере раскрывают и передают содержание диссертационной работы.

Ведущая организация заключает, что несмотря на общую высокую оценку работы, есть некоторые замечания.

- 1) В разделах 3.3.1 – 3.3.3 практически отсутствует обсуждение влияния введенных фрагментов в структуру производных усниновой кислоты.
- 2) В экспериментальной части работы не для всех соединений приведены данные температур плавления, а также отсутствуют данные удельного вращения для оптически активных соединений. Отсутствует единообразие в оформлении спектр ЯМР, что затрудняет их понимание.
- 3) Диссертационная работа не лишена опечаток, но ведущая организация отмечает, что их не так много.
- 4) Имеются неудачные стилистические обороты, повторяющиеся выражения.

- 5) Не для всех сокращений и аббревиатур приведены расшифровки. Например, страница 53 PAINS, таблица 9. Отсутствует единообразие в написании приставок, обозначающих изомеры. Ниже приведен ряд страниц. В экспериментальной части аббревиатуру, означающую масс-спектр высокого разрешения, следует писать, как HRMS.
- 6) На схемах 73 и 80 некорректно указаны заместители, обозначающие RNH_2 и R_2NH_2 . На страницах 65 неправильная нумерация соединений 151a-e в тексте и таблице 4.
- 7) В автореферате диссертации также есть несколько опечаток, а в тексте отсутствует нумерация соединений, приведенных на рисунке 2.

Указанные вопросы и замечания не затрагивают сути исследования, не вступают в противоречие с основными положениями диссертации и не снижают общую высокую оценку представленного научного исследования.

В заключении, диссертационная работа Филимонова Александра Сергеевича полностью соответствует паспорту специальности органической химии и медицинской химии и является актуальной научной работой, выполненной на высоком профессиональном уровне. Диссертация соответствует требованиям, предъявляемым кандидатским диссертациям и соответствует положению присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением правительства РФ № 842 в действующей редакции, а ее автор, Филимонов Александр Сергеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальностям органической химии и медицинской химии.

Отзыв подготовлен кандидатом химических наук, старшим научным сотрудником научно-исследовательской группы медицинской химии Уфимского института химии УФИЦ РАН, Третьяковой Еленой Валерьевной.

Настоящий отзыв рассмотрен и утвержден на общеинститутском семинаре Уфимского института химии. Протокол № 4 от 11 ноября 2024 года. Присутствовало 30 человек категории научный персонал.

Отзыв подписан Третьяковой Еленой Валерьевной, заверен главным ученым секретарем УФИЦ РАН и утвержден руководителем Уфимского федерального исследовательского центра РАН, доктором биологических наук Мартыненко Василием Борисовичем.

Далее отзывы на автореферат.

Первый отзыв подготовлен старшим научным сотрудником научно-образовательного центра фармацевтики Казанского федерального университета кандидатом химических наук Штырлиным Никитой Валерьевичем. Отзыв положительный

в качестве замечаний: в автореферате отсутствует последовательная нумерация соединений, первое из полученных на схеме 1 соединение имеет номер 142. Второе замечание – в тексте автореферата отсутствуют сведения об опубликованных тезисах докладов.

Следующий отзыв подготовлен доктором химических наук, доцентом заведующим кафедры органической химии Волгоградского государственного технического университета Бурмистровым Владимиром Владимировичем. Отзыв положительный. Также два замечания. В схеме 1 допущена опечатка, вместо тиомочевин 142а-е приведена структура ацилмочевин. Нумерация соединений в автореферате, первое синтезированное автором соединение, имеет номер 142, что немного затрудняет восприятие материала.

Третий отзыв подготовлен доктором химических наук, профессором кафедры биологии, химии и методики обучения Красноярского государственного педагогического университета Горнастаевым Леонидом Михайловичем и кандидатом химических наук, доцентом кафедры биологии, химии и методики этого же университета Фоминых Ольгой Игоревной. Отзыв положительный. В качестве замечания отмечают, что метод колоночной хроматографии соединений 142а-е приводил к выходам от 25 до 45%. Более эффективным методом является метод флеш-хроматографии.

Следующий отзыв подготовлен генеральным директором научно-производственного центра фитохимии, лауреатом Государственной премии Республики Казахстан в области науки и техники, заслуженным деятелем Республики Казахстан, академиком, доктором химических наук, профессором Адекеновым Сергазы Мынжасаровичем. Отзыв положительный без замечаний.

И последний отзыв подготовлен старшим научным сотрудником лаборатории дизайна и синтеза биологических активных соединений Института молекулярной биологии РАН кандидатом химических наук Дреничевым Михаилом Сергеевичем. В качестве замечаний необходимо отметить следующее. В работе отсутствуют указания на источник происхождения (+)- и (-)-усниновой кислоты, а также не приведены данные по ингибиторной активности некоторых соединений, например, для соединения 160 и его региоизомера 161. При обозначении структур соединений автору следовало бы выбрать сквозную нумерацию, так как используемая трехзначная нумерация усложняет восприятие материала. В основном отзыв положительный.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Спасибо! Александр Сергеевич.

Филимонов Александр Сергеевич:

Касательно замечаний ведущей организации.

Первое замечание в разделах 3.3.1 и 3.3.3 практически отсутствует обсуждение влияния введенных фрагментов в структуру производных усниновой кислоты. Данные разделы посвящены синтезу дуальных ингибиторов TDP1 и TDP2, которые содержат в себе три основные большие группы. Первая группа – это сульфиды, сульфоксиды и сульфоны. Она является достаточно большой, однако при этом у нас отсутствует возможность сделать именно обоснованный вывод в зависимости активности этих соединений от структуры заместителя. А вторая и третья группа состоят из слишком малого количества соединений, чтобы делать также какие-то обоснованные выводы.

Касательно второго замечания. В экспериментальной части не для всех соединений приведена температура плавления, а также отсутствие данных об удельном вращении для оптически активных соединений и единообразия в оформлении спектров ЯМР. Большая часть соединений, полученных в этой работе, являются аморфными порошками, для которых некорректно приводить данные температуры плавления в качестве характеристики. Данные удельного вращения действительно стоило добавить работу, а описание ряда спектров ЯМР в ряде случаев было удобнее приводить в виде таблицы из-за большого количества сходных по структуре соединений. С опечатками я согласен. Про неудачные стилистические обороты также согласен.

По поводу сокращений и аббревиатур, а также неправильного указания HRMC. Действительно, HRMC оказалась случайной опечаткой, вызванной автозаменой при переводе описания спектров ЯМР, взятых из статьи с английского обратно на русский, которой я не заметил.

По поводу опечаток на схеме 73 и 80 – я согласен, про отсутствующую нумерацию соединений на рисунке 2 я также согласен.

Замечания Никиты Валерьевича Штырлина. В автореферате отсутствует последовательная нумерация соединений. С этим я согласен, возможно сквозная нумерация была бы проще для восприятия тем, кто не знакомится с текстом диссертации. Отсутствие сведений об опубликованных тезисах докладов. Мы посчитали, что описание всех 17 тезисов докладов в автореферате занимает слишком много места и, учитывая ограничения, накладываемые на общий объем автореферата, было принято возможно неудачное решение не включать список тезисов в текст автореферата.

Замечание Владимира Владимировича Бурмистрова. С замечанием первым согласен, это уже обсужденная здесь опечатка в автореферате. Ацилмочевины, которые должны быть ацилтиомочевинами. И также про сквозную нумерацию я уже ответил.

Замечание Леонида Михайловича Горностаева и Ольги Игоревны Фоминых. Вероятно, да, действительно такой метод очистки был бы более эффективным. Возможно, учтем это в будущих синтезах. Хотя, возможно, этот выход связан все-таки не с методом хроматографии, а с самой реакцией.

Замечание Михаила Сергеевича Дреничева. По поводу происхождения (+)- и (-)-усниновых кислот согласен. Все же стоило привести в автореферате их происхождение. (+)-Усниновую кислоту мы покупали, а (-)-усниновую кислоту выделяли из лишайника *Cladonia Stellaris*. Не приведено данных по ингибиторной активности представленных соединений. К сожалению, на момент подачи диссертации мы не успели измерить их ингибирующую активность. Однако, стоит отметить, что эти соединения не являются аналогами стартовых для этой работы соединений 2а и 3. И снова про сквозную нумерацию уже ответ был озвучен.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Спасибо! Скажите, пожалуйста, почему вы решили, что для аморфных соединений некорректно приводить температуры плавления? Чем они плохи?

Филимонов Александр Сергеевич:

У аморфных соединений, насколько я знаю, температура плавления может плавать, как это ни странно звучит.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Но в любом случае это некий показатель. Она может плавать и у кристаллов, особенно если это смесь. Это и будет показатель. А вы проверяли вообще, она плавает у вас?

Филимонов Александр Сергеевич:

Плавает.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Насколько сильно?

Филимонов Александр Сергеевич:

Ну, по крайней мере, в рамках трех измерений когда-то, довольно давно это делал уже. Плюс-минус, по-моему, 10 или 15 градусов Цельсия. Зачем тогда нужен показатель температуры плавления, если он не точный? Нам нужна температура плавления для того, чтобы охарактеризовать вещество. Кто-то, когда его снова синтезирует, измерит температуры плавления, посмотрит, что она сходится.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Да.

Филимонов Александр Сергеевич:

И это является характеристикой. Но для аморфных веществ это может быть неверным. Температура может не сходиться, и тогда эта характеристика может являться в некотором роде бессмысленной.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Не знаю, тут я не большой специалист. Ладно, хорошо, пошли дальше.

Переходим к следующему этапу нашей процедуры. И дальше следует выступление официальных оппонентов. Напоминаю, что оба оппонента у нас участвуют в нашем заседании дистанционно. Большое спасибо, что они нашли возможность подключиться в столь раннее утро для них.

Первый выступающий – Катаев Владимир Евгеньевич, доктор химических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории фосфорсодержащих аналогов природных соединений Института органической и физической химии имени Арбузова, Казань.

Оппонент – д.х.н., профессор, Катаев Владимир Евгеньевич:

Я Александра Сергеевича поддержу не только аморфные порошки, у нас вообще пены получаются. И тот класс соединений, с которыми моя группа работает... В общем, я согласен с Александром Сергеевичем.

Итак, уважаемый Константин Петрович, уважаемые коллеги, дорогие мои друзья. Десять лет прошло, с момента когда я был последний раз в вашем замечательном Академгородке и вашем замечательном институте. И вот сейчас, к сожалению, только виртуально я снова с вами.

Я не буду пересказывать свой отзыв, тем более его зачитывать, я расскажу только моменты, которые меня впечатлили. А предварительно я похвастаюсь небольшим оппонентским исследованием, которое я провел.

Дело в том, что когда мне в руки попадает чужая диссертация, первое, что меня интересует, когда я ее открываю, это вопрос: а откуда у автора возникла идея заняться именно этой красотой, которой посвящена диссертация. Про данную конкретную диссертацию и данного диссертанта, Александра Сергеевича, мне все понятно. По всей вероятности, ему Ольга Анатольевна объявила, что он будет заниматься усниновой кислотой, он и стал ей заниматься. А когда сама Ольга Анатольевна решила заняться

усниновой кислотой? Я полистал в литературу и обнаружил, что впервые усниновая кислота была упомянута в публикациях института в 2006 году. Тогда Нариман Фаридович вместе с Мариной Павловной Половинкой подготовили патент на новый способ получения усниновой кислоты. И вот тогда, наверное, Нариман Фаридович и объявил Ольге Анатольевне. Значит, Оля, патент на получение усниновой кислоты мы взяли, так что надо теперь ее химию развивать. И вот Ольга Анатольевна стала ее развивать. А что делать? А вот Нариман Фаридович сам про усниновую кислоту придумывал, или это его Генрих Александрович сориентировал? Врать не буду, не знаю. Оба они огромного кругозора химики-природники, а усниновая кислота известна с начала 19 века. Так что, но что-то мне подсказывает, что это была идея Нариман Фаридовича.

Теперь, откуда взялась идея про ингибиторы тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы на основе производных усниновой кислоты? Я полистал литературу и обнаружил следующее. Что работы по TDP 1 и 2, они начались давно, где-то в начале 2000-х. И все они велись в подразделениях Национального института рака Соединенных Штатов Америки. А вот идея синтезировать ингибиторы тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы на основе усниновой кислоты принадлежит Ольге Ивановне Лаврик зав. лаборатории института химической биологии и фундаментальной медицины.

У меня очень мелкое изображение, поэтому я слышу только голос. Ольга Ивановна, это вы выступали? Наверное, да. Вообще меня слышно?

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Вас слышно, замечательно. Нет, это была другая Ольга Ивана, Яровая.

Оппонент – д.х.н., профессор, Катаев Владимир Евгеньевич:

Ах Яровая Ольга Ивановна.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Они обе Ольги Ивановны.

Оппонент – д.х.н., профессор, Катаев Владимир Евгеньевич:

Прошу прощения.

В 2015 году такого слова усниновой кислоты Ольга Ивановна Лаврик, еще не знала. Она просто попросила Наримана Фаридовича синтезировать что-нибудь природное, чтобы испытать на TDP 1 и 2. И лаборатория Наримана Фаридовича синтезировала огромную серию разнообразных соединений специально для Ольги Ивановны. Тут были кумарины, карены, желчные кислоты, смоляные кислоты, ну и, конечно же, производные усниновой кислоты. И именно среди них были обнаружены соединения лидеры с IC₅₀ 26 наномоль.

Этот результат превосходил мировой уровень в 10 раз. Это выдающийся результат. А продемонстрировало этот результат гидразонотиазольное производное (+)-усниновой кислоты с *para*-бромфенильным заместителем гидразонового углерода.

И вот тогда перед диссертантом, перед Александром Сергеевичем была поставлена задача. Синтезировать новые производные усниновой кислоты, которые превосходили бы гидразонотиазольные производные (+)-усниновой кислоты с *para*-бромфенильным заместителем у гидразонового углерода, которое, кстати, они определили как базовое соединение для будущей диссертации Филимонова. И чтобы они были менее токсичны. Поэтому выбранная тема диссертации весьма вполне актуальна.

Теперь перейду к самой диссертации. И начну с новизны. Что меня впечатлило в новизне? Меня впечатлило четыре вещи.

Во-первых, Александре Сергеевичем синтезировано 125 производных усниновой кислоты на основе ее (+)- и (-)- энантиомеров. Из них 118 ранее неизвестных. Количество ошеломляет. Методы синтеза меня не особо впечатлили, они все известны.

Во-вторых, меня впечатлил поиск региоселективного способа аминирования усниновой кислоты в положении С1. Поражаюсь настойчивости диссертанта, который планомерно менял количество вводимого в реакцию аммиака и температуру, пока не установил, что, внимание, при кипячении и использовании 12,5 эквивалентов аммиака, аминирование (+)-усниновой кислоты идет региоселективно по карбонильной группе С-11. А при температуре 8 градусов, использовании 125 эквивалентов аммиака, аминирование идет региоселективно уже по карбонильной группе С-1. Причем оказалось, что этот фокус не работает для базового соединения диссертации, а именно гидразонотиазольного производного (+)-усниновой кислоты с *para*-бромфенильным заместителем в гидразоновом фрагменте, аммиаком, которое при любых условиях аминируется аммиаком только по карбонильной группе С-11.

Удивительно, но подобные условия региоселективного аминирования снова стали работать, когда диссертант заменил гидразонотиазольное производное на производное с фураноновым циклом аннелированным кольцу А. В чем причина влияния фуранонового цикла на совершенно удаленную карбонильную группу С-1, для меня осталась загадкой, для диссертанта, по-моему, тоже. Кстати, о производных (+)-усниновой кислоты с фураноновым циклом аннелированным кольцу А. Я сначала удивился, как это диссертант сообразил, что подобранные им условия региоселективного аминирования будут работать именно для фураноновых производных. Оказалось, что дело тут не в сообразительности диссертанта. Просто у него уже было синтезировано, изучено и опубликовано в двух

статьях журналов Q1 огромная серия этих фураноновых производных. Почему-то эти прекрасные результаты с IC_{50} от 0,3 до 1 микромоль не были включены в диссертацию.

Третье, что меня впечатлило. Среди синтезированных производных усниновой кислоты были выявлены низкотоксичные соединения лидеры, ингибирующие с высокой эффективностью: IC_{50} в наномолярном и микромолярном диапазонах. Они ингибировали фермент репарации ДНК человека, тирозил-ДНК-фосфодиэстеразу 1, насколько я помню. То есть поставленная перед диссертантом задача была с блеском выполнена.

И четвертое, что меня впечатлило в новизне, рассматривая диссертацию, это то, что впервые была обнаружена зависимость ингибирующей активности гидразонотиазольных производных усниновой кислоты от конфигурации атома C9b. У нескольких соединений замена R конфигурация углерода 9b (+)-усниновой кислоты на S конфигурацию этого атома (-)-усниновой кислоты привела к появлению заметной, $IC_{50} = 6-9$ микромоль, активности в отношении тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 2. Причина для меня осталась загадкой. Не знаю, как для диссертанта.

Теперь, что я должен отметить? Диссертация соответствует заявленным специальностям органическая химия и медицинская химия. В отзыве я перечисляю пункты паспортов специальностей органической химии и медицинской химии, которым соответствует диссертация и почему она им соответствует.

Достоверность полученных научных результатов, обоснованность сделанных на их основе выводов у меня не вызывает сомнений. Строение и структура всех синтезированных соединений установлены методами спектроскопии ЯМР, а в ряде принципиальных случаев был использован метод монокристалльного РСА. Чистота всех впервые синтезированных соединений подтверждена данными масс-спектрометрией высокого разрешения.

Вот здесь я тоже был потрясен. У нас в институте, чтобы получить данные HRMS, нужно стоять в очереди, как мы в конце 80-х стояли за колбасой в очереди. И поэтому я в своих публикациях привожу HRMS данные только для соединений лидеров. А тут для всех полутора сотни соединений данные HRMS. Уважение вашему институту!

Теперь замечания. Константин Петрович, если вы видели мой отзыв, у меня замечания на двух страницах мелким шрифтом. Все эти замечания не носят принципиального характера, они все из области: здесь ошибка, там опечатка; здесь плюс, а там минус, а должно быть наоборот; номер тот, номер этот. Давайте я замечания зачитывать не буду. На мой взгляд, Александр Сергеевич должен просто сказать, со всем этим я согласен. По молодости ошибся, больше ошибок таких повторять не буду.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Они выложены на сайте, поэтому ваш отзыв, любой может увидеть. Если есть принципиальные замечания, их озвучьте. Конечно, все опечатки зачитывать бессмысленно.

Оппонент – д.х.н., профессор, Катаев Владимир Евгеньевич:

Нет, принципиальных замечаний у меня Константин Петрович точно нет.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Замечательно.

Оппонент – д.х.н., профессор, Катаев Владимир Евгеньевич:

Теперь смотрю в отзыв. Достоверность я сказал, апробации говорить не буду. Про публикации говорить не буду. Заключение. Должен ли я его зачитывать? Оно сегодня звучало уже несколько раз.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Надо.

Оппонент – д.х.н., профессор, Катаев Владимир Евгеньевич:

Хорошо.

В целом диссертационная работа Александра Сергеевича Филимонова является актуальной, цельной, законченной научно-квалификационной работой, направленной на решение важнейшей задачи органической и медицинской химии, а именно синтез новых биологически активных веществ. Работа выполнена на высоком профессиональном уровне. Цель работы достигнута, соответствующие задачи полностью выполнены. Полученные в диссертации фундаментальные и практически ориентированные результаты представляют важность для развития органической медицинской химии. Они изложены четко и ясно. Сделанные заключения обоснованы и подтверждены полученными экспериментальными данными. Диссертация написана хорошим научным языком и красиво оформлена. Очень, очень красиво, культурно оформлена экспериментальная часть. Досконально приведены данные ядерно-магнитного резонанса.

По актуальности, новизне и научной значимости полученных результатов и по другим критериям диссертационная работа удовлетворяет требованиям пунктов 9-11, 13 и 14, положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года в действующей реакции. Представляемая работа соответствует специальностям 1.4.3 органической химии и 1.4.16 медицинской химии, а ее автор Александр Сергеевич Филимонов заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.3 органической химии и 1.4.16 медицинской химии.

Добавлю к этому. Я сегодня впервые увидел Александра Сергеевича живьем, я был потрясен. Это грамотный молодой человек, грамотный во всех отношениях, и в области органической химии, в области медицинской химии и в области микробиологии. Из него слова вылетают, особенно по биологии... Замечательный молодой человек.

Мои поздравления! Спасибо!

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Спасибо большое, Владимир Евгеньевич! Александр Сергеевич, ответьте, пожалуйста, на вопросы. Заодно вы нам их покажете.

Филимонов Александр Сергеевич:

В первую очередь, я хочу поблагодарить вас за тщательное прочтение работы и такой интересный отзыв, который любопытно было почитать. Но все-таки я должен как-то ответить на представленные замечания.

Первое замечание довольно длинное. Первое замечание связано с тем, что в новизне диссертации было написано: «разработана новая эффективная методика синтеза гидразонотиазолов с высокими выходами» и так далее. Сравняются выходы, полученных в этой работе соединений, с выходами, полученных ранее соединений. Они оказываются в целом ниже, что не позволяет говорить о том, что это, возможно, новая эффективная методика. А также указывает на ошибку в написании HRMS.

Конкретно к этому замечанию о новой эффективной методике. Возможно, в действительности не удалось достаточно полно донести свою мысль при написании диссертации, так как здесь скорее стоит их сравнивать сами с собой. Когда мы пытались синтезировать гидразонотиазолы с гетероароматическим заместителем в условиях получения таких же соединений с ароматическим циклом, выходы были очень низкие. Но при переходе к использованию метанола вместо этанола, выходы сразу у нас заметно подскочили. И мы хотели как-то подчеркнуть именно этот факт. Но, возможно, в действительности формулировка получилась не очень удачной.

Второй пункт. По поводу значения IC₅₀ для всех соединений, которые в основном были убраны в приложения, и что следовало бы их перевести все-таки в основном тексте. В целом, да, я соглашусь, мы их убрали только потому, что таблицы были достаточно объемными. Возможно, было бы удобнее обращаться непосредственно в тексте диссертации к этой таблице, чем долистывать ее до конца.

Здесь указывается про углы оптического вращения, которые отсутствуют при описании соединений. По крайней мере, для соединений 148 и 149, которые были получены на обоих энантиомерах, а также о путанице в терминологии между конфигурацией и

ориентацией в тексте. Да, такую путаницу действительно мы упустили. Стоило как-то это лучше проверять. А по поводу удельного вращения действительно стоило их все-таки привести. Но вот для соединений 148 и 149, когда мы отдавали данные образцы в центр коллективного пользования, оказалось, что в тех концентрациях, которые рекомендуют для записи таких спектров, они не просвечиваются, мы не могли получить результаты оптического вращения.

С замечаниями 4, 5, 6, которые связаны в основном с различного рода опечатками, я согласен. По поводу замечания 7, назвать эффективными соединениями, ингибирующими фермент TDP2 в интервале значений от 140 до 380 микромоль, по меньшей мере, нелепо. Да, в действительности, тут тоже формулировка оказалась неудачной. Мы хотели все-таки подчеркнуть то, что по крайней мере, среди дуальных ингибиторов, которые ингибируют TDP1 и TDP2, в качестве ингибиторов TDP2 это очень даже хороший результат. Хотя в целом, конечно, активность в микромолярных концентрациях – это недостаточно высокая активность.

И восьмое замечание про также многочисленные ошибки в нумерациях соединений. С этим я согласен. Уже обсужденная опечатка про мочевины и тиомочевину. По поводу того, откуда был взят лиганд 166 для хирального окисления, он находился в нашей библиотеке соединений и когда-то он был синтезирован человеком, который здесь уже на данный момент не работает, кандидатом химических наук Дмитрием Николаевичем Соколовым. Ну а я, в свою очередь, взял его просто с полки.

Вряд ли можно назвать препаративным синтез, приводящий к целевым продуктам с выходами 35-45%. Вероятно, имеется в виду фраза в начале соответствующей главы про вот эти производные, представленные на слайде. Предложение звучало следующим образом «еще одним препаративным способом введения дополнительных гетероциклических фрагментов является введение конденсированного кольца С пиразольного цикла». Возможно, такая формулировка также оказалась не самой удачной, не так полно мы донесли свою мысль. Здесь имелось в виду именно то, что она является препаративной именно для синтеза пиразолов на основе самой усниновой кислоты. Конечно, в нашем случае выходы оказались не такими блестящими, как это обычно бывает для синтеза пиразолов на основе самой усниновой кислоты.

Ошибка в нумерации глав, с этим я согласен, и также про тезисы докладов, на этот вопрос я тоже отвечал уже, в замечаниях. 17 тезисов занимают достаточно много места, поэтому мы решили их опустить.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Спасибо! Владимир Евгеньевич, удовлетворены?

Оппонент – д.х.н., профессор, Катаев Владимир Евгеньевич:

Вполне.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Спасибо большое! Переходим к нашему второму оппоненту, Платонова Яна Борисовна, кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории катализа и газовой электрохимии Московского государственного университета.

Оппонент – к.х.н., Платонова Яна Борисовна:

Здравствуйте, коллеги.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Здравствуйте! Мы вас слышим.

Оппонент – к.х.н., Платонова Яна Борисовна:

Меня слышно?

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

И слышно, и видно.

Оппонент – к.х.н., Платонова Яна Борисовна:

Отлично.

Как и предыдущий оппонент, я не буду зачитывать отзыв, а скажу, наверное, пару слов о том, что... Во-первых, это первая работа, которую я оппонирую. Я сама защищалась в 20-м году по тем же самым специальностям, и я прекрасно понимаю ощущения. Это такое ощущение, будто это было буквально вчера. Эти ощущения защиты: у меня вот этот мандраж – очень страшно находиться не только с той стороны, но и с этой, на самом деле, потому что боюсь не оправдать ожидания диссертанта. Но надеюсь, этого не случится.

Во-первых, что интересно для меня. Любые работы, которые мне попадают – я дипломы рецензирую, еще что-то – это возможность узнать что-то новое, в первую очередь, для себя. Эта диссертация для меня открыла какие-то интересные возможности для моей дальнейшей работы, в первую очередь. Я не занималась конкретно такими сайтами, я не занималась конкретно этой медицинской химией, но я для себя нашла какие-то тонкости в органической химии, которые мне впоследствии могут очень сильно пригодиться. Это очень приятно, когда мы читаем, и образовываем не только того, чью работу мы читаем, но еще и себя в первую очередь.

Из интересного, мы могли столкнуться с Александром Сергеевичем еще в 2018 году на конференции Ломоносов, когда я была еще аспирантом, вот, самым-самым таким вот, сырым. Александр Сергеевич, соответственно, был студентом. Но помню я его с конференции «Идеи и наследие Фаворского» в Санкт-Петербурге. Он меня, возможно, не помнит, а я его помню хорошо, во всяком случае внешне. И я уже тогда, в принципе, отметила эту серьезность. Меня, в принципе, поражает, как долго Александр Сергеевич занимался этой работой. То есть не вызывает сомнения, что работа изучена досконально, что тема изучена вот настолько глубоко, что, не то, что дальше некуда, но очень глубоко изучена тема. Поэтому то, как были представлены результаты... Потому что работа написана прекрасно, замечательно, очень интересно ее читать, очень много нового и необычного. Цельная работа – это неоспоримый факт. Но всегда прекрасную работу можно испортить плохим докладом, вот здесь этого не случилось. То есть, помимо того, что это был прекрасный доклад, сразу видно, что человек ориентируется в теме своей в работе. Замечательные ответы на вопросы. То, с каким видом держится диссертант, очень здорово – это вот внушает доверие и уважение.

По работе, из того, что хотелось бы сказать отрывно от отзыва, наверное, больше сказать и нечего. То есть, то, что работа прекрасная и точно заслуживает признания кандидатской степени – это неоспоримый факт.

Дальше вопрос по формальным признакам. Я так понимаю, мне просто нужно зачитать полностью заключение и сказать какие-то общие фразы. Правильно понимаю?

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Ну, надо будет зачитать и еще замечания не забыть.

Оппонент – к.х.н., Платонова Яна Борисовна:

Из двенадцати замечаний там много не то, что принципиальных. Те, на которые надо отвечать, буквально два, а в остальном это опечатки. Куда без них? Если бы не было опечаток, вызывало бы вопросы, а кто вообще написал эту работу? Потому что я недавно свою диссертацию открыла и первое, что я заметила, это опечатку, которую я не замечала все это время. То есть, если это написано живым человеком, то опечатки должны быть вне зависимости от того, сколько живых людей ее читало. Хотя мне всегда моя научная руководительница говорила, что на самом деле диссертацию читает всего три, может быть, человека. Потому что оппонент может читать, может не читать ее полностью внимательно, но ее читает диссертант и научный руководитель прям внимательно, от корки до корки. Ну, вот она придерживалась такого мнения. Может быть, это было шуточное мнение, но я несую

это в массы, это забавно. Всегда надеюсь, что все-таки, как минимум, пять человек должно читать диссертацию. Это ведущая организация. Либо два оппонента, либо три оппонента.

По формальным признакам. Общая структура и апробация, актуальность не вызывает никаких сомнений. Это, безусловно, нужно, важно. И медицинская химия – это в принципе то ответвление органической химии, которое сейчас, на мой взгляд, претерпевает огромный рост. Я считаю, что это очень важное направление. Может быть, из-за того, что я сама занимаюсь медицинской химией. Но я считаю, что это та область химии, которая получит максимально прикладное значение в плане развития дальнейшего. Если мы про органическую химию говорим. И отрывно от чего-то промышленного, если мы говорим про что-то такое человеко-ориентированное.

Общая структура и апробация работы. Диссертация состоит из введения литературного обзора, обсуждения результатов и экспериментальной части, а также приложения. Это стандартный набор диссертации. В литературном обзоре описаны методы модификации усниновой кислоты, что в принципе обосновывает выбор дальнейшей работы и обсуждение результатов. Научная новизна работы не вызывает никаких вопросов.

По замечаниям. Опечатки, опечатки, опечатки. Вот два замечания, на которые бы хотелось получить ответ. Первое: в разделе изучения реакции усниновой кислоты с аммиаком нет предположения о том, почему проведение реакции именно в воде способствует образованию нового енамина 156. И про цитотоксичность. Проблема в том, что тяжело сравнивать разные соединения на разных клетках. Одни на одних культурах изучались, другие на других культурах. Вот такое замечание. Замечания не являются принципиальными и суть работы не затрагивают.

И заключение. Диссертационная работа Филимонова Александра Сергеевича на тему «Дизайн и синтез производных усниновой кислоты в качестве ингибиторов тирозил-ДНК-фосфодиэстераз 1 и 2, ферментов репарации ДНК человека» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой содержится решение научной задачи, имеющей большое значение для органической и медицинской химии, а именно – разработка подходов к синтезу новых производных усниновой кислоты, оценка их способности к ингибированию ферментов Tdp1 и Tdp2 человека, а также выявление низкотоксичного соединения-лидера. Автором проведено актуальное исследование, выполненное на высоком экспериментальном и теоретическом уровне. Автореферат и публикации соответствуют основному содержанию диссертации. Полученные автором результаты и сделанные на их основе выводы достоверны и не вызывают сомнений. Диссертация соответствует специальностям 1.4.3. Органическая химия, 1.4.16. Медицинская химия.

Учитывая актуальность, научную и практическую значимость представленной работы, достоверность полученных результатов и обоснованность выводов, считаю, что диссертационная работа «Дизайн и синтез производных усниновой кислоты в качестве ингибиторов тирозил-ДНК-фосфодиэстераз 1 и 2, ферментов репарации ДНК человека» полностью соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Постановление Правительства РФ №842 в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор – Филимонов Александр Сергеевич – заслуживает присуждения степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.3 Органическая химия, 1.4.16 Медицинская химия.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Спасибо большое, Яна Борисовна! Александр Сергеевич, ответьте, пожалуйста, на вопросы.

Филимонов Александр Сергеевич:

Спасибо большое за такой приятный отзыв и за уделенное диссертация время.

По поводу замечаний: так как в основном это все про опечатки, скажу коротко. С первыми двумя согласен, с третьим согласен, с четвертым также согласен. Снова про HRMS, также уже в четвертый раз встречается вот это замечание про ацилтиомочевины, которые должен быть тио-, а не просто мочевины. С замечаниями 7 и 8 также согласен.

И касательно реакции аминирования усниновой кислоты. В целом, в ответах на вопросы после доклада я немного касался этой темы. Есть некоторые предположения о том, что это связано именно с основностью реакционной смеси при проведении этой реакции, что позже было показано уже за рамками диссертации. Однако дальнейшее исследование этого вопроса еще предстоит провести, чтобы либо найти какие-то новые закономерности, или доказать какие-то наши теории, которые в том числе здесь были озвучены, касательно важности кислотности именно этой гидроксильной группы.

По поводу разных клеточных линий. Так как первичный скрининг цитотоксичности производных усниновой кислоты проводился на тех клеточных линиях, которые были в разные моменты времени у наших коллег биологов в доступе, соответственно, и получалось так, что разные соединения проверялись на разные типы клеток, а наиболее перспективные соединения проверялись на широкой линии клеток в этом случае.

Да, кажется, у меня по замечаниям все.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Яна Борисовна, Вы удовлетворены ответами?

Оппонент – к.х.н., Платонова Яна Борисовна:

Да

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин

Петрович:

Спасибо большое! Итак, теперь мы переходим к общей дискуссии. Нариман Фаридович.

Член диссертационного совета – д.х.н., чл.-корр. РАН, проф. Салахутдинов

Нариман Фаридович

Уважаемые коллеги, я хотел бы остановиться на двух аспектах обсуждаемой нами работы: химический аспект и методологический аспект. С точки зрения химии, что я хочу сказать. Ольга Анатольевна уже говорила, что мы давно занимаемся химией усниновой кислоты, и даже с ней вместе у нас монография есть по химии усниновой кислоты. И каждый год мы думаем, ну все, вот уже мы все сделали, надо уже все закруглять и все. Но как только появляется молодой изощренный ум, он придумывает что-то другое. В данном случае так и получилось. Александр Сергеевич внес новую струю и сделал более ста новых соединений, которые весьма и весьма активны в целевой биологической активности. Поэтому здесь надо отметить вот эту вот химическую изощренность, химическую фантазию, которую проявил наш диссертант и она в таком положительном смысле.

Методологическая вещь. Очень важно вот что. Ингибиторы ферментов репарации, сейчас это такая новая, относительно новая тема, которая помогает бороться с онкологией. Этих ингибиторов ферментов репарации надо много и активных. Нельзя сделать так, что у нас есть один ингибитор и все замечательно, или у нас какой-то другой ингибитор активный и все. Дело в том, что наш опыт говорит о том, что для каждого цитостатика, для каждой опухоли нужен свой ингибитор. И есть еще третья составляющая, это пациент. То есть, если все вот эти три составляющие мы начинаем менять, то для каждой вот комбинации из этих всех составляющих нужен, вообще-то говоря, свой ингибитор ферментов репарации. Я уже не говорю про дуальные, я говорю даже про индивидуальные ингибиторы ферментов репарации. А дуальные – это вообще экстракласс, допустим. Поэтому чрезвычайно важная стоит задача создания целого сета, целой библиотеки очень активных ингибиторов ферментов репарации, которые могут использоваться в разных случаях, в разных видах опухоли и с разными пациентами. И вот это вот методологическое направление этой работы к расширению, я подчеркну, активных ингибиторов ферментов репарации, которые работают в наношкале. И диссертант это дело показал. Поэтому это тоже очень важно и хорошо.

Ну и заканчивая свое выступление, я хотел бы, конечно, отметить выступление нашего диссертанта. Оно, на мой взгляд, очень хорошее, если не сказать блестящее. Он показал очень хорошее владение материалом, значит, отвечал на любые вопросы, даже, значит, на вопросы нашего уважаемого Владимира Евгеньевича Катаева, на которые ответить иногда очень и очень непросто. Так что, да, у меня все.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Спасибо. Кто-нибудь еще хочет?

Мне кажется, тут все понятно, вся процедура свидетельствует о том, что Александр Сергеевич соответствует степени кандидата химических наук, достоин присуждения, причем по обеим специальностям. Я думаю, на этом мы тогда идем к завершению. Вам финальное слово.

Филимонов Александр Сергеевич:

Конечно, я хотел бы поблагодарить Диссертационный Совет за уделенное этой работе время, за дискуссии, за полезные вопросы. Также, безусловно, я благодарю Ольгу Анатольевну Лузину, моего научного руководителя, за чуткое руководство, за поддержку в течение стольких лет работы. Я ей очень сильно в этом плане благодарен.

Хочу поблагодарить:

Коллектив наших лабораторий, лаборатории физиологически активных веществ и свежей лаборатории направленных трансформаций природных соединений за приятную дружественную атмосферу и также помощь в некоторых вопросах, в том числе касательно химии.

Центр спектральных исследований НИОХ СО РАН за проведение физико-химических анализов. Гатилова Юрия Васильевича, за проведение рентгеноструктурного анализа. Коллективы под руководством Лаврик Ольги Ивановны, а также Поповой Нелли Александровны за проведение биологических исследований. Хачатряна Дареника Саркисовича за предоставление ароматических протяженных альдегидов, и Можайцева Евгения Сергеевича за предоставление монотерпенов.

Также, безусловно, я благодарю своих оппонентов Катаева Владимира Евгеньевича и Платонову Яну Борисовну за уделенное время, предоставленные отзывы и ценные замечания касательно диссертации. Благодарю Третьякову Елену Валерьевну за подготовку отзыва ведущей организации и также за ценные замечания. Благодарю Адекенова Сергазы Мынжасаровича, Горностаева Леонида Михайловича, Бурмистрова Владимира Владимировича, Штырлина Никиту Валерьевича, Фоминых Ольгу Игоревну и Дреничева Михаила Сергеевича за уделенное время и ценные замечания по автореферату.

Также хочу в завершение поблагодарить наши научные фонды за финансовую поддержку проведенных исследований.

Спасибо!

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Спасибо! Итак, переходим к голосованию. Сергей Сергеевич озвучит предложение по комиссии.

Ученый секретарь диссертационного совета – к.х.н. Патрушев Сергей Сергеевич

У нас произошли небольшие изменения в составе комиссии для голосования. Нужно заново проголосовать. Предлагаются следующие члены комиссии: Колтунов Константин Юрьевич, Шелковников Владимир Владимирович и Карпов Виктор Михайлович. Кто за? Кто против? Воздержавшиеся? Единогласно. Комиссия может приступить к работе.

Член диссертационного совета – д.х.н. Шелковников Владимир Владимирович:

Оглашаем результаты заседания счетной комиссии. На заседании присутствовало 21 человек. Членов совета по профилю рассматриваемой диссертации – по органической химии 10 человек, по медицинской химии 5 человек. Роздана 21 бюллетень, нерозданных осталось 6. В урне 21 бюллетень: «за» – 21, «против» – 0, «недействительных» – 0.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович:

Мы должны утвердить. Кто за то, чтобы утвердить протокол счетной комиссии? Против? Воздержались? Единогласно. Теперь поздравляем!

Был разослан проект заключения. Есть какие-нибудь вопросы и замечания?

Хорошо, тогда принимаем как есть. Кто за то, чтобы принять заключение диссертации? Против? Воздержались? Единогласно. Всем большое спасибо за работу!

Председатель диссертационного совета
д.х.н., профессор РАН

Учёный секретарь диссертационного совета
к.х.н.



Волчо К.П.

Патрушев С.С.