

**МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное
бюджетное учреждение науки
Новосибирский институт органической
химии им. Н.Н. Ворожцова
Сибирского отделения
Российской академии наук
(НИОХ СО РАН)**

просп. Академика Лаврентьева, д. 9, г. Новосибирск,
630090, Российская Федерация
Тел.: (383) 330-88-50, факс: (383) 330-97-52
E-mail: benzol@nioch.nsc.ru <http://www.nioch.nsc.ru>
ОКПО 03533903, ОГРН 1025403651921
ИНН/КПП 5408100191/540801001

18.09.2024 № 15326-45-08/751
На № _____ от _____

Утверждаю

Директор Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки
Новосибирский институт
органической химии
им. Н.Н. Ворожцова
Сибирского отделения
Российской академии наук
д.ф.-м.н., профессор



Е.Г. Багрянская

18 » сентября 2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (ФГБУН НИОХ СО РАН).

Диссертация Филимонова Александра Сергеевича «Дизайн и синтез производных усниновой кислоты и её аналогов в качестве ингибиторов ферментов репарации ДНК человека» выполнена в Лаборатории направленных трансформаций природных соединений (ЛНТПС) НИОХ СО РАН.

Соискатель Филимонов А.С. работал в НИОХ СО РАН с июня 2016 года в должности лаборанта Лаборатории физиологически активных веществ (ЛФАВ), с декабря 2018 года по настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника в ЛНТПС НИОХ СО РАН.

В июне 2018 года Филимонов А.С. окончил Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук по специальности 04.03.01 «Химия» (Кафедра органической химии, бакалавриат). В июне 2020 года соискатель окончил Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук по специальности 04.04.01 «Химия» (Кафедра органической химии, магистратура).

С августа 2020 года по июнь 2024 года Филимонов А.С. обучался в аспирантуре ФГБУН Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук по направлению 04.06.01 Химические науки (специальность 1.4.3 органическая химия, приказ о зачислении в аспирантуру № 22-асп от «21» августа 2020 года).

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано в 2024 г. ФГБУН НИОХ СО РАН.

Тема диссертационной работы утверждена на заседании Ученого Совета НИОХ СО РАН (протокол № 11 от 29.09.2020).

Научный руководитель – д.х.н., Лузина Ольга Анатольевна, занимает должность ведущего научного сотрудника Лаборатории физиологически активных веществ НИОХ СО РАН.

Отзыв рецензента к.х.н. Финке Анастасии Олеговны, научного сотрудника лаборатории медицинской химии НИОХ СО РАН на диссертационную работу – положительный.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертационная работа Филимонова А.С. посвящена разработке селективных методов модификации усниновой кислоты и изучению свойств новых соединений в качестве ингибиторов ферментов репарации ДНК человека. Синтезирован обширный ряд енаминов на основе реакции (+)-усниновой кислоты с аминами различной природы. Предложены методы модификации 14-бромусниновой кислоты с формированием тиазольного кольца, содержащего ароматический, гетероароматический или монотерпеновый заместитель, присоединённый к тиазольному циклу через гидразиновый, амидный или карбамидный линкер. Реакцией (+)-бромусниновой кислоты с обширным рядом полученных *in situ* тиолятов натрия из арилмеркаптанов и гетарилмеркаптанов, синтезированы сульфиды, из которых получены соответствующие сульфоксиды и сульфоны. Синтезирована оригинальная группа производных усниновой кислоты, содержащих гидразонотиазольный заместитель в кольце А и енаминовый или 2,3-аннелированный пиразольный фрагмент в кольце С. Разработан оригинальный метод региоселективного аминирования усниновой кислоты и её производных по положению С-1. Проведён анализ данных о биологической активности полученных соединений, позволивший выявить некоторые закономерности взаимосвязи «структура соединения – биологическая активность». В ряду синтезированных производных усниновой кислоты выявлены перспективные в качестве ингибиторов ферментов репарации ДНК человека соединения, в том числе высокоэффективные низкотоксичные ингибиторы тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1 и эффективные дуальные ингибиторы тирозил-ДНК-фосфодиэстераз 1 и 2..

Актуальность темы

Поиск ингибиторов ферментов системы репарации ДНК человека представляет важную задачу в терапии опухолевых заболеваний. Усниновая кислота – вторичный

метаболит различных лишайников привлекает внимание исследователей в связи с широким спектром биологической активности (противовирусной, антибиотической, анальгетической, противогрибковой и инсектицидной) и относительной доступностью. Ранее были в ЛФАН НИОХ СО РАН были синтезированы единичные производные (+)-усниновой кислоты и показана их эффективность в качестве ингибиторов TDP1. Этот результат свидетельствует о перспективности получения новых производных усниновой кислоты и необходимости изучения влияния структурных факторов как на ингибирующую активность, так и на цитотоксичность. К настоящему времени имеются данные о потенциальных мишенях ряда производных усниновой кислоты, показана перспективность химических модификаций по различным реакционным центрам (+)- и (-)-усниновых кислот.

В связи с этим, разработка рациональных методов модификации усниновой кислоты с введением разнообразных заместителей в циклы А и С, и изучение новых производных в качестве потенциальных ингибиторов ферментов системы репарации ДНК TDP1 и (или) TDP2 является актуальной и практически важной проблемой.

Научная новизна работы

Разработаны эффективные методики синтеза гидразонотиазолов на основе усниновой кислоты, в том числе соединений, содержащие терпеноидный заместитель в тиазольном фрагменте, проявивших свойства ингибиторов фермента TDP1 в наномолярном диапазоне концентраций. Показано, что ингибирующая активность в отношении TDP1 зависит от природы терпеноидного заместителя. Предложены условия синтеза оригинальной группы производных усниновой кислоты, содержащих гидразинотиазольный заместитель в кольце А и енаминовый или 2,3-аннелированный пиразольный фрагмент в кольце С. Выявлены производные, проявляющие свойства дуальных ингибиторов TDP1 и TDP2. Установлена региоселективность аминирования усниновой кислоты водным аммиаком. Синтезированы серосодержащие производные усниновой кислоты на основе реакции (+)-бромусниновой кислоты с тиолами. Изучены условия селективного окисления сульфидов до сульфоксидов перекисью водорода (30%) в присутствии ванадилацетилацетоната, в том числе в присутствии хирального лиганда. Соединения с сульфидным, сульфоксидным и сульфоновым мостиками охарактеризованы в качестве ингибиторов TDP1. Обнаружено, что активность производных усниновой кислоты в отношении TDP2 зависит как от природы введенных заместителей, так и от абсолютной конфигурации при атоме С-9b дибензофуранового остова усниновой кислоты.

Теоретическая значимость работы

Полученный комплекс экспериментальных данных вносит существенный вклад в теоретические представления о диапазоне реакционной способности усниновой кислоты, открывает новые возможности модификации с введением заместителей в положения С-1, С-11 и С-14 и дополняет теоретические представления о реакционной способности полизамещенных дибензофуранов.

Практическая значимость работы

Широкое варьирование реагентов и условий реакций привело к созданию химических библиотек ранее неизвестных биологически активных соединений – производных усниновой кислоты. По результатам проведенного исследования выявлены производные усниновой кислоты, являющиеся дуальными ингибиторами TDP1 и TDP2, обнаружены высокоактивные низкотоксичные ингибиторы TDP1. Получены данные по взаимосвязи “структура-ингибирующая активность” в отношении тирозил-ДНК фосфодиэстераз 1 и 2, позволяющие прогнозировать и направленно менять ингибирующую активность. Выявлены модификации, позволяющие снижать цитотоксичность производных усниновой кислоты.

Методология и методы исследования. В ходе выполнения работы применялись современные методы органического синтеза. Разделение реакционных смесей, выделение и очистка соединений осуществлялись методами колоночной хроматографии, и кристаллизации. В работе использовались физико-химические методы установления структуры и чистоты химических соединений: ЯМР-спектроскопия, РСА, масс-спектрометрия высокого разрешения, поляриметрия. 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 и в) анализа данных биологического тестирования широкой группы производных по циклам А и С.

Степень достоверности. Высокая 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 апробацией на российских и международных конференциях.

Представленная диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.4.3. Органическая химия в областях исследования: 1. Выделение и очистка новых соединений; и 3. Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул, а также паспорту специальности 1.4.16. Медицинская химия в области исследования: 1. Поиск,

структурный дизайн и синтез соединений-лидеров - потенциальных физиологически активных (лекарственных) веществ, на основе: а) знания структурных параметров биомишени или особенностей патогенеза; б) анализа и модификации структур известных активных соединений; в) синтеза и биологического тестирования широкого разнообразия химических соединений, предусмотренных номенклатурой научных специальностей, по которым присуждаются ученые степени, утвержденной Министерством науки и высшего образования Российской Федерации.

Результаты работы могут быть использованы в научно-исследовательской практике ФГБУН НИОХ СО РАН, а также в лабораториях других научных организаций: ФГБУН Московском государственном университете им. М.В. Ломоносова (Москва), ФГБУН Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (г. Новосибирск), Институте физиологически-активных веществ РАН (Черноголовка), ФГБУН Институте органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КНИЦ РАН (г. Казань), ФГБОУ ВО "Волгоградский государственный технический университет" (г. Волгоград) и в других организациях науки и высшего образования.

Полнота опубликования результатов. По теме диссертационной работы опубликовано 8 статей в рецензируемых научных изданиях и тезисы 17 докладов на российских и международных конференциях.

Статьи в рецензируемых журналах:

1. A.S. Filimonov, A.A. Chepanova, O.A. Luzina, A.L. Zakharenko, O.D. Zakharova, E.S. Ilina, N.S. Dyrkheeva, M.S. Kuprushkin, A.V. Kolotaev, D.S. Khachatryan, J. Patel, I.K. H. Leung, R. Chand, D.M. Ayine-Tora, J. Reynisson, K.P. Volcho, N.F. Salakhutdinov, O.I. Lavrik. New hydrazinothiazole derivatives of usnic acid as potent TDP1 inhibitors // *Molecules* – 2019. V. 24. – N 20. – Article ID 3711.
2. O. Luzina, A. Filimonov, A. Zakharenko, A. Chepanova, O. Zakharova, E. Ilina, N. Dyrkheeva, G. Likhatskaya, N. Salakhutdinov, O. Lavrik. Usnic acid conjugates with monoterpenoids as potent Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibitors // *J. Nat. Prod.* – 2020. – V. 83. – N 8. – P. 2320–2329.
3. N.S. Dyrkheeva, A.S. Filimonov, O.A. Luzina, K.A. Orlova, I.A. Chernyshova, T.E. Kornienko, A.A. Malakhova, S.P. Medvedev, A.L. Zakharenko, E.S. Ilina, R.O. Anarbaev, K.N. Naumenko, K.V. Klabenkova, E.A. Burakova, D.A. Stetsenko, S.M. Zakian, N.F. Salakhutdinov, O.I. Lavrik. New hybrid compounds combining fragments of usnic acid and thioether are inhibitors of human enzymes TDP1, TDP2 and PARP1 // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – V. 22. – N 21. – Article ID 11336.

4. N.S. Dyrkheeva, A.S. Filimonov, O.A. Luzina, A.L. Zakharenko, E.S. Ilina, A.A. Malakhova, S.P. Medvedev, J. Reynisson, K.P. Volcho, S.M. Zakian, N.F. Salakhutdinov, O.I. Lavrik. New hybrid compounds combining fragments of usnic acid and monoterpenoids for effective Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibition // *Biomolecules*. – 2021. – V 11. – N 7. – Article ID 973.
5. А.С. Филимонов, А.А. Чепанова, М.А. Михайлова, О.А. Лузина, А.Л. Захаренко, Н.Ф. Салахутдинов, О.И. Лаврик. Синтез новых производных усниновой кислоты и изучение их ингибирующей активности в отношении тирозил-ДНК-фосфодиэстераз 1 и 2 // *Химия в интересах устойчивого развития*. – 2023. – N 6. – С. 718-727.
6. A.L. Zakharenko, N.S. Dyrkheeva, O.A. Luzina, A.S. Filimonov, E.S. Mozhaitsev, A.A. Malakhova, S.P. Medvedev, S.M. Zakian, N.F. Salakhutdinov, O.I. Lavrik. Usnic acid derivatives inhibit DNA repair enzymes tyrosyl-DNA phosphodiesterases 1 and 2 and act as potential anticancer agents // *Genes* – 2023. – V. 14. – N 10. – Article ID 1931.
7. A. Filimonov, O. Luzina, Yu. Gatilov, N. Salakhutdinov. Regioselectivity amination of usnic acid by ammonia in water // *Molbank* – 2023. – (2). – M1618.
8. Т.Е. Kornienko, А.А. Chepanova, А.Л. Zakharenko, А.С. Filimonov, О.А. Luzina, N.S. Dyrkheeva, V.P. Nikolin, N.A. Popova, N.F. Salakhutdinov, O.I. Lavrik. Enhancement of the antitumor and antimetastatic effect of topotecan and normalization of blood counts in mice with Lewis carcinoma by TDP1 Inhibitors - new usnic acid derivatives // *Int. J. Mol. Sci.* – 2024. – V. 25. – N 2. – Article ID 1210.

Материалы диссертационной работы представлены на конференциях:

1. А.С. Филимонов. Синтез конъюгатов усниновой кислоты и терпеноидов Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2018». Москва. 9 - 13 апр. 2018.
2. А.С. Филимонов. Синтез производных усниновой кислоты с гетероциклическими заместителями как потенциальных ингибиторов TDP1. Международная научная студ. конф. Новосибирск, НГУ, 22 - 27 апр. 2018. Материалы секции химия. С. 129.
3. А.С. Филимонов, О.А. Лузина, А.Л. Захаренко, Н.Ф. Салахутдинов, О.И. Лаврик. Дизайн и синтез производных усниновой кислоты в качестве потенциальных ингибиторов TDP1. Сборник тезисов конф. МОБИ-ХимФарма2018, Новый свет, Крым, РФ, 23-26 сентября, стр.186.
4. О.А. Лузина, А.С. Филимонов, Н.Ф. Салахутдинов. Новые физиологически активные вещества на основе усниновой кислоты и терпеноидов Сборник тезисов конф. МОБИ-ХимФарма2018, Новый свет, Крым, РФ, 23-26 сентября, стр.49.

5. А. Филимонов, О. Лузина, А. Захаренко, Н. Салахутдинов, О. Лаврик Тиазольные производные усниновой кислоты как новые ингибиторы TDP1. Сборник тезисов докл. молодежной научной школы-конф. Актуальные проблемы органической химии, 09-16 марта 2018, Шерегеш, стр. 180.
6. О.А. Лузина, А.С. Филимонов, Н.Ф. Салахутдинов Усниновая кислота как платформа для синтеза биологически активных соединений, Научная конференция, посвященная 55-летию ТИБОХ ДВО РАН и 90-летию со дня рождения его основателя академика Г.Б. Елякова. Владивосток, 11 - 15 сентября 2019, стр. 18.
7. A.S. Filimonov, A.A. Chepanova, O.A. Luzina, A.L. Zakharenko, N.F. Salakhutdinov, O.I. Lavrik The design of new usnic acid derivatives as TDP1 inhibitors, 4-я Российская Сборник тезисов конф. по медицинской химии, «МедХим-Россия 2019». г. Екатеринбург, Россия, 9-14 июня 2019 г. С. 188.
8. А.С. Филимонов, О.А. Лузина, К.П. Волчо, Н.Ф. Салахутдинов. Разработка подходов к синтезу структурных аналогов ингибиторов TDP1 на основе усниновой кислоты. Сборник тезисов докладов Первой Всероссийской школы-конф. по медицинской химии. г. Новосибирск, 4-9 июля 2021 г., стр.133.
9. A. Filimonov, O. Luzina, N. Dyrkheeva, O. Lavrik, N. Salakhutdinov. The inhibitors of DNA repair enzymes based on usnic acid. 7th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry, sciforum-052600.
10. А.С. Филимонов, К.А. Орлова, О.А. Лузина, Н.С. Дырхеева, О.И. Лаврик, Н.Ф. Салахутдинов. Ингибиторы ферментов репарации ДНК на основе усниновой кислоты. Материалы 5-ой Российской конф. по медицинской химии «МедХим-Россия 2021», Волгоград, 16-19 мая 2022 г. С. 301.
11. О.А. Лузина, А.С. Филимонов, Н.Ф. Салахутдинов. Перспективы использования вторичных метаболитов лишайников в медицинской химии, MedChem-Russia 2021. Материалы 5-ой Российской конф. по медицинской химии «МедХим-Россия 2021»: материалы конференции, Волгоград, 16-19 мая 2022 г. С. 139.
12. А.С. Филимонов, О.А. Лузина, Н.Ф. Салахутдинов. Амидные и карбамидные аналоги ингибиторов TDP1 на основе усниновой кислоты. Сборник тезисов докл. СТОС-2022. Шерегеш, 20-26 марта 2022 г. С. 119
13. О.А. Лузина, А.С. Филимонов, Е.Д. Гладкова, Н.Ф. Салахутдинов, А.Л. Захаренко, Н.С. Дырхеева, О.И. Лаврик. Фенольные природные соединения как основа для создания ингибиторов ферментов репарации, Сборник тезисов докл. всероссийской конф. Синтетическая биология и биофармацевтика. Новосибирск, 2022. С. 499.

14. О.А. Лузина, А.С. Филимонов, Н.Ф. Салахутдинов Направленная функционализация вторичных метаболитов лишайников. Сборник тезисов докл., VII Всероссийской конф. посвященная 50-летию академической науки на Урале. Техническая химия. От теории к практике, Пермь, 5 - 9 сентября 2022 г. С. 130.
15. А.С. Филимонов, О.А. Лузина, Н.Ф. Салахутдинов. Региоселективность аминирования усниновой кислоты водным аммиаком. Сборник тезисов докл. Всероссийской конференции «Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней», Россия, пос. Домбай, 1 - 6 июня 2023 г. С. 99.
16. А.С. Филимонов, О.А. Лузина, А.Л. Захаренко, Н.Ф. Салахутдинов, О.И. Лаврик. Дизайн новых производных усниновой кислоты в качестве потенциальных ингибиторов TDP1. Сборник тезисов докл. Всероссийской конференции с международным участием «Идеи и наследие А.Е. Фаворского в органической химии», Санкт-Петербург, 3-6 июля 2023 г. Школа по медицинской химии стр. 147
17. О.А. Лузина, А.С. Филимонов, Н.Ф. Салахутдинов. Усниновая кислота: в поисках «волшебной пули», Сборник тезисов Молодежной научной школы-конф. Актуальные проблемы органической химии (АПОХ-2024), 15-21 марта 2024 г., п. Шерегеш, , стр. 40.

Вклад соискателя в публикациях.

Во всех публикациях вклад, внесенный соискателем в химическую и аналитическую часть исследования (выполнение экспериментальной работы, обсуждение результатов химического эксперимента, анализ данных биологических испытаний, выявление взаимосвязи «структура-активность» для новых соединений и подготовку материала к публикации), является основным.

Представленные в работе результаты получены автором или при его непосредственном участии. Соискателем осуществлены поиск, анализ и обобщение научной литературы по теме диссертации, планирование и проведение всех химических экспериментов, хроматографическое разделение реакционных смесей, выделение новых индивидуальных соединений, а также структурная идентификация веществ с использованием спектральных данных. Автором внесен существенный вклад в формирование общего направления работы и подготовку научных публикаций по теме исследования. Соискатель осуществлял подготовку всех публикаций к печати и представлял доклады по теме работы на научных конференциях. Опубликованные работы достаточно полно отражают содержание диссертационной работы.

Во время выполнения диссертационной работы Филимонов А.С. проявил себя самостоятельным и квалифицированным исследователем.

Филимонов А.С. являлся исполнителем бюджетного проекта по программе фундаментальных научных исследований государственных академий наук (проекты НИР НИОХ СО РАН «Направленный поиск, структурный дизайн и разработка методов синтеза потенциальных биологически активных веществ, конструирование лекарственных средств» 122040800261-2, руководитель НИР к.х.н. Суслов Е.В.), проекта РФФИ 16-03-00374, проекта РФФИ 20-44-543014, проекта РНФ 16-13-10074, проекта РНФ 19-13-00040, проекта РНФ 21-14-00105, проекта РНФ 22-23-00618 и проекта РНФ 24-13-00134.

Диссертационная работа «Дизайн и синтез производных усниновой кислоты и её аналогов в качестве ингибиторов ферментов репарации ДНК человека» Филимонова Александра Сергеевича рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.3. Органическая химия и 1.4.16. Медицинская химия.

Заключение принято на заседании семинара отдела медицинской химии ФГБУН Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН.

Присутствовало на заседании 44 человека, в том числе 25 кандидатов наук и 8 докторов наук. Результаты голосования: «за» – 44 человека, «против» – 0, «воздержалось» – 0, протокол № 4 от 04.09.2024 года.

Председатель семинара,
Зав. лаборатории медицинской химии
НИОХ СО РАН
д.х.н., профессор



Шульц Э.Э.

Секретарь семинара,
к.х.н.



Волкова А.Н.

04.09.2024 г.