

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу **Полякова Владислава Сергеевича** на тему «Производные диспироиндолинонов — потенциальные молекулы выборочного протеолиза белка (PROTAC)», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. Органическая химия.

Онкологические заболевания являются серьезной социальной проблемой. Они занимают второе место среди причин смерти после сердечно-сосудистых заболеваний, а некоторые виды рака трудно поддаются лечению. Применение химиотерапии осложняется возникновением резистентности к имеющимся лекарственным препаратам и низкой селективностью действия на делящиеся раковые и здоровые клетки, что приводит к развитию побочных эффектов. Поэтому поиск новых селективных и малотоксичных противоопухолевых средств является приоритетной задачей органической и медицинской химии.

В 2001 г. с целью лечения рака была предложена концепция химерных молекул для направленной деградации белков (PROTAC, PROteolysis TArgeting Chimeras) — одна из самых перспективных разработок в рациональном дизайне лекарственных препаратов, основанная на направленной деградации избранных белков-мишеней. Преимуществами молекул PROTAC по сравнению с традиционными низкомолекулярными ингибиторами являются селективное разрушение целевого белка; способность одной химерной молекулы привести к протеолизу множества молекул целевого белка, позволяющая снизить дозу препарата, что приводит к уменьшению побочных эффектов у пациентов; возможность использования для связывания химеры не только активного сайта белка-мишени, но и любого его фрагмента.

Диссертационная работа Полякова Владислава Сергеевича посвящена разработке методов синтеза двух типов потенциальных молекул PROTAC: бис-(диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов), в которых спироциклические фрагменты соединены между собой линкерами различной длины и природы, а также несимметричных производных, в которых диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолиноновый фрагмент соединён с лигандом убиквитинлигазы цереблон (CRBN) — производным глутаримида. Такое сочетание фрагментов в синтезированных соединениях позволяет им связываться одновременно с целевым онкобелком MDM2 и E3-убиквитинлигазой, что должно приводить к протеасомной деградации MDM2 (эндогенного ингибитора опухолевого супрессора белка p53) и проявлению цитотоксического эффекта разработанных химерных молекул. Таким образом, диссертационное исследование «Производные диспироиндолинонов — потенциальные молекулы выборочного протеолиза белка (PROTAC)» несомненно является **актуальным и практически значимым**.

Работа, изложенная на 232 страницах машинописного текста, построена традиционно и состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка цитируемой литературы, включающего 242 наименования, и списка сокращений.

В **литературном обзоре** представлены общие сведения о методологии PROTAC, кратко описаны молекулы PROTAC, прошедшие доклинические исследования, а также рассмотрены методы синтеза спиро- и диспиропроизводных индолинона – потенциальных противоопухолевых агентов. Содержание обзора литературы соответствует теме диссертации и показывает перспективы использования химерных молекул в терапии рака. В обзоре сделаны обоснованные выводы об актуальности использования

фрагментов диспироиндолинона, направленных на MDM2, для конструирования молекул PROTAC, которые к настоящему моменту изучены недостаточно. В связи с этим **цель работы** заключалась в разработке методов синтеза двух структурных типов диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов для использования в качестве молекул PROTAC. Первый тип — это молекулы гомо-PROTAC, в которых два диспироиндолиноновых фрагмента связаны между собой линкерами различной длины и природы. Второй тип представляет собой соединения типа гетеро-PROTAC, в которых фрагмент диспироиндолинона, способный связываться с целевым онкобелком MDM2, соединён линкером с ингибиторами E3-убиквитинлигазы — производными глутаримида.

Владислав Сергеевич проделал большую работу. Результаты исследования представлены в трёх разделах. В первом разделе описан синтез симметричных молекул гомо-PROTAC структурных типов, в которых два фрагмента диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинона соединены между собой полиметиленовыми линкерами различной длины. Во втором разделе описаны конъюгаты диспироиндолинонов и производных глутаримида с амидными или триазольными линкерами между функциональными фрагментами. На третьем этапе синтетические подходы, разработанные для синтеза конъюгатов диспироиндолинонов и производных глутаримида, использованы для синтеза несимметричных бис-диспироиндолиноновых конъюгатов.

В результате исследования нескольких подходов к синтезу целевых химерных молекул были предложены методы синтеза симметричных и несимметричных молекул гомо-PROTAC, в которых два фрагмента диспироиндолинона соединены полиметиленовыми или триазол-содержащим линкерами при участии одних и тех же или разных функциональных групп. Кроме того, получены химерные молекулы

гетеро-PROTAC, в которых фрагменты диспироиндолинона соединены амид- или триазол-содержащим линкерами с фрагментами помалидомида или глутаримида.

Представители синтезированных типов конъюгатов протестированы на цитотоксическую активность в сравнении с неконъюгированными диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонами и выявлены два соединения лидера (конъюгаты диспироиндолинона с аналогичным фрагментом и с глутаримидом), проявившие наибольшую цитотоксичность.

Большое внимание в работе автор уделяет доказательству строения синтезированных соединений с использованием одно- и двумерной спектроскопии ЯМР, строение двух промежуточных соединений однозначно доказано методом РСА.

В Экспериментальной части работы приведены методики получения соединений, их спектральные и физико-химические характеристики, методики проведения РСА и определения цитотоксичности. Все синтезированные вещества охарактеризованы комплексом физико-химических методов анализа.

Научная новизна и практическая значимость исследования не вызывают сомнений и заключается в (1) получении ранее неизвестных структурных типов молекул гомо-PROTAC и гетеро-PROTAC на основе диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов; (2) впервые предложенной методике синтеза бис-диспироиндолинонов на основе 5-арилиден-2-тиогидантоинов, соединённых между собой полиметиленовыми линкерами; (3) разработке методик получения несимметричных конъюгатов диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов и глутаримида с амид- и триазол-содержащими линкерами

между функциональными фрагментами; (4) выявлении оптимальной для проявления цитотоксической активности длины полиметиленового линкера между спироциклическими фрагментами в бис-диспироиндолинон-пирролидин-имидазолонах; (5) выявлении соединений-лидеров среди химерных молекул, проявивших наибольшую цитотоксичность.

Достоверность полученных в работе результатов определяется использованием для идентификации новых соединений комплекса физико-химических методов анализа: одномерной и двумерной ЯМР спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения и рентгеноструктурного анализа. Работа прошла апробацию на российских и международных конференциях. По материалам диссертационной работы опубликованы 4 статьи в российских и международных научных изданиях, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus) и рекомендованных диссертационным советом МГУ для публикации результатов диссертационных работ.

Таким образом, на основании анализа текста работы и публикаций автора можно заявить, что цель работы, сформулированная в постановочной части, автором достигнута, а сопутствующие ей задачи выполнены. **Представленные в работе научные положения, выносимые на защиту, выводы и заключения являются обоснованными и в полной мере следуют из текста обсуждения результатов.** Автореферат и публикации отражают основное содержание диссертации.

Содержание диссертации **соответствует специальности 1.4.3 – Органическая химия по направлениям** (1) Выделение и очистка новых соединений, (3) Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул, (7) Выявление закономерностей типа «структура - свойство» (10) Исследование стереохимических закономерностей химических реакций и органических соединений.

По работе имеется ряд вопросов и замечаний, в основном дискуссионного характера, которые не снижают общее положительное впечатление от исследования:

1) На некоторых рисунках в оксиндольном или пергидроиндольном фрагментах потерян атом азота N (рис. 2.28 на стр. 39, 2.47 на стр. 50).

2) На рис. 2.57 на стр. 56 *анти-70a* и *син-70b* диастереомеры имеют абсолютно одинаковые формулы, соответствующие *анти*-диастереомеру.

3) На рис. 3.6 (стр. 64) приведены выходы соединений **7** и **8**, полученных по методу Б, тогда как в Экспериментальной части соединения **7** и **8** с этими же выходами получали по методу А.

4) На рис. 3.7 (стр. 65) приведен механизм образования соединений **5-10** из изотиоцианата, аминокислоты и альдегида под действием этоксид-аниона, тогда как на предыдущем рисунке 3.6 показано, что в этом случае реакция проводится в уксусной кислоте.

5) Рис. 3.11, стр. 69. Не пробовали ли для повышения селективности алкилирования проводить реакцию в ДМФА? Можно ли для повышения селективности алкилирования заменить атом серы в тиогидантоиновом фрагменте на атом кислорода? Как это отразится на возможности связывания с белком?

6) На стр. 68 подчеркивается важность наличия атома галогена в 4-м положении арильного заместителя пирролидинового цикла диспироиндолинонов для повышения их цитотоксичности. Почему для синтеза бис-диспироиндолинонов структурного типа **III** (рис. 3.12, стр. 70) использовали только 4-метоксибензальдегид? Идет ли реакция с другими, в том числе 4-галогензамещенными альдегидами?

7) На рис. 3.28 на стр. 88 не указано, в каком растворителе регистрировали спектр ^1H ЯМР соединения **111**.

8) К разделу 3.2.1. (рис. 3.2.7., стр. 87). Почему синтезированы конъюгаты типа **V** только на основе глицина? Пробовали ли получить конъюгаты с более длинной цепью, например на основе гамма-аминомасляной кислоты или из полученных в работе предшественников на основе 6-аминогексановой кислоты?

9) На рис. 3.17, 3.18 и 3.20 (стр. 78,79,81) имеется несоответствие в выходах соединений **64-67** (12-64% на рис. 3.17 против 9-58% на рис. 3.18) и **78-91** (50-80% на рис. 3.17 против 48-86% на рис. 3.20).

10) В Экспериментальной части не для всех новых соединений приведены спектры ЯМР ^{13}C .

11) В работе встречаются опечатки, ошибки в нумерации соединений, (например, на рис. 2.38, стр. 45 два разных соединения имеют номер **27**), в литературном источнике 134 отсутствуют авторы.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования.

По актуальности поставленных задач, научной новизне, теоретической и практической значимости, степени обоснованности выводов, объему выполненных исследований диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.4.3 – Органическая химия (по химическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а

также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, **соискатель Поляков Владислав Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 Органическая химия.**

Официальный оппонент:

доктор химических наук,

ведущий научный сотрудник

лаборатории азотсодержащих соединений №19

ФГБУН Институт органической химии

им. Н.Д. Зелинского РАН (ИОХ РАН)

Газиева Галина Анатольевна

«10» июня 2026 г.

Специальность, по которой официальным

оппонентом защищена диссертация 02.00.03 – «Органическая химия»

Тел. 8 499 1358817

E-mail: gaz@ioc.ac.ru

Адрес официального места работы:

119991, г. Москва, Ленинский проспект, 47

Подпись д.х.н. Газиевой Г.А. удостоверяю

Ученый секретарь ИОХ РАН,

кандидат химических наук

Коршевец Ирина Константиновна