

## О Т З Ы В

на диссертационную работу Ани Тиграновны Макичян "Синтез, *in vitro* и *in silico* исследование антихолинэстеразных свойств производных хромофора зеленого флуоресцентного белка", представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.03 - "Органическая химия"

В последнее время серьезное внимание уделяется так называемому оксидативному стрессу — окислительному повреждению биологических молекул, который генерируется в основном свободными радикалами. Последние приводят к преждевременному старению клеток, образованию тромбов в крови, увеличивают риск развития сердечно-сосудистых и онкозаболеваний, а также болезни Альцгеймера. Число больных со старческим когнитивным расстройством неуклонно растет, особенно в развитых странах. Для усиления антиоксидантной защиты у пожилых людей становится необходимым применение таких препаратов, которые способны нейтрализовать вредные для здоровья радикалы кислорода. Фенольные соединения, как, например природные флавоноиды, обладают именно такой антирадикальной активностью. Помимо этого известно, что некоторые замещенные 4(*H*)-имидазолы проявляют антихолинэстеразные свойства. По этой причине наличие в молекуле комбинации отмеченных структурных фрагментов может привести к соединениям с сочетанием антихолинэстеразных и антирадикальных свойств. Одним из таких комбинированных препаратов могут служить аналоги хромофора зеленого флуоресцентного белка (ЗФБ).

На основании вышизложенного диссертант формулирует **цель работы** — разработку синтеза производных хромофора ЗФБ, установление их антихолинэстеразных и антирадикальных свойств методом *in vitro*, а также *in silico* исследование возможностей взаимодействия таких лигандов с ацетил- и бутирилхолинэстеразой.

Диссертационная работа Ани Макичян изложена на 138 страницах компьютерного набора и имеет традиционное строение. Она состоит из введения, обзора литературных данных, обсуждения результатов собственных исследований, экспериментальной части, выводов и списка цитированной литературы (205 ссылок).

Во введении автор кратко и четко обосновывает актуальность выбранной темы, границы, цели и задачи, а также научную новизну и практическую значимость исследования.

В двух отдельных разделах литературного обзора (Глава 1) обсуждаются методы синтеза аналогов хромофора ряда ЗФБ и реакции функционализации и превращения 4-имидазолонов. Обзор изложен системно, лаконично и охватывает как ранние работы (до 2000 г.), так и исследования последних двух десятилетий. На основании анализа литературных данных автор делает заключение о целесообразности и перспективности развития выбранного направления.

Во второй главе работы приводится обсуждение собственных результатов диссертанта, который состоит из 10 разделов. В первом описан синтез 5-(гидроксibenзилиден)-2-фенил-оксазолонов, во втором – способ применения бензоильной O-защитной группы при синтезе дегидротирозинсодержащих амидов и имидазолинов, которые далее применялись для синтеза целевых имидазолонов – производных хромофора ЗФБ. Четвертый раздел этой главы посвящен методу синтеза алкиловых эфиров аминокислот, а пятый – синтезу  $\alpha,\beta$ -дегидротирозинсодержащих дипептидов. Эти соединения далее в шестом разделе были использованы для синтеза 2,3,5-тризамещенных имидазолонов – аналогов ЗФБ. В седьмом разделе приведен синтез соединений с двумя остатками 4-имидазолона, которые являются бис-аналогами хромофора ЗФБ.

В некоторых отмеченных разделах диссертантом приведены таблицы с данными антихолинэстеразной и антирадикальной активности синтезированных соединений, что очень удобно для читателя.

Разделы 8-10 посвящены биологическим свойствам синтезированных соединений. Так, в восьмом разделе проведена оценка их ингибирования АХЭ и БуХЭ ( $IC_{50\%}$ ), из которой следует, что соединение **36** является самым активным блокатором АХЭ и БуХЭ и, одновременно, проявляет высокую антирадикальную активность.

Девятый раздел посвящен выяснению взаимодействия синтезированных соединений с холинэстеразами. С этой целью осуществлен их докинг с АХЭ и БуХЭ. Результаты расчетов обобщены в таблицах, из которых следует, что комплексообразование лигандов происходит за счет гидрофобных и водородных связей. Отмечено, что образования комплексов с АХЭ и БуХЭ отличаются как по расположению лигандов, так и месту их связывания с аминокислотами.

В том же разделе этой главы приведены данные по фармакокинетике и токсичности изученных соединений. Показано, что исследуемые соединения показывают высокую степень всасываемости через желудочно-кишечный (ЖКТ) тракт, однако их проницаемость через гемато-энцефалический барьер (ГЭБ) довольно низок. Рассчитаны токсичность и возможная экотоксичность синтезированных соединений.

В последнем, десятом разделе главы 2 исследованы антиМАО свойства некоторых производных  $\alpha,\beta$ -дегидротирозина. Оказалось, что три соединения являются активными ингибиторами МАО.

В экспериментальной части диссертационной работы описаны общие методики синтеза отдельных рядов полученных соединений, здесь же приведены их физико-химические характеристики и данные ИК и ЯМР спектров и элементного анализа.

Таким образом диссертантом разработаны методы синтеза ди- и тризамещенных производных ЗФБ. Показано, что они проявляют одновременно антирадикальные, антихолинэстеразные и в некоторых случаях антимоноаминоксидазные, что представляет значительный практический интерес в плане поиска препаратов для профилактики или замедления течения болезни Альцгеймера. Вышесказанное определяет **научную новизну и практическую применимость результатов диссертационной работы.**

К работе имеются некоторые замечания и пожелания:

1. При синтезе метиловых эфиров тирозинсодержащих пептидов **92-103** (стр. 56, схема 73), удаление О-бензоильной защитной группы осуществлялось диметиламинопропиламином, который может реагировать также с эфирной группой пептида (-COOMe), однако, автор наблюдает разрыв связи только О-бензоильной защитной группы, что возможно при низких температурах. К сожалению, автор не дает объяснений об однозначном протекании процесса удаления защитной группы с применением диметиламинопропиламина.

2. В диссертационной работе, для защиты гидроксильной группы тирозинового остатка автором применялись бензоильная и БОК группы (стр. 47 и 50), однако, в основном при синтезе производных зеленого флуоресцентного белка применялась только О-бензоильная защитная группа. В работе отсутствует обоснование данного выбора.

3. В диссертации в ряде случаев применяется соотношение реагентов 1:0.5; 1:0.25. На наш взгляд лучше было бы общепринятое 2:1; 4:1 и т.д.

4. Есть недостатки редакционного характера и недочеты, связанные с невнимательностью.

Приведенные замечания не являются принципиальными и не влияют на общую высокую оценку работы. Диссертационная работа А.Макичян является большим по объему законченным научным исследованием, характеризуется высоким научным и экспериментальным уровнем, а полученные диссертантом результаты, могут иметь прикладное значение в области медицины и фармакологии. Выводы автора логично вытекают из полученных экспериментальных данных. Определение чистоты и структуры

синтезированных соединений проведено с помощью современных физико-химических методов на основании данных ИК, ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  спектров, что определяет чистоту эксперимента и достоверность полученных экспериментальных данных.

Представленное диссертационное исследование по качеству и объему выполненной работы, по своей научной новизне и практической значимости отвечает требованиям ВАК РА, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Ани Тиграновна Макичян, несомненно, заслуживает присуждения ей искомой ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.03 - "Органическая химия".

Автореферат и научные публикации (7 научных статей и 7 тезисов докладов) полностью отражают основное содержание диссертационной работы.

Официальный оппонент,

Зав. отделом синтеза и экспертизы пестицидов Национального аграрного университета Армении.

д.х.н., проф.

А.П.Енгоян

Подпись д.х.н., проф. А.П.Енгоян

Заверяю:

Ученый секретарь Национального аграрного университета Армении

к.с.-х.н., доцент



Г.В.Авагян

13 ноября 2023 г.