

## Отзыв официального оппонента

на диссертационную работу Попадюк Ирины Игоревны

«Синтез новых биологически активных производных дезоксихолевой кислоты».

представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности  
02.00.03 – органическая химия

Исследование природных метаболитов растительного и животного происхождения является одной из основных эффективно развивающихся областей органической и медицинской химии. Природные ресурсы являются неиссякаемым источником разнообразных и уникальных по структуре соединений, обладающих широким спектром фармакологической активности и представляющих практическую ценность.

Желчные кислоты (ЖК) – животные метаболиты стероидного ряда – являются объектами пристального внимания исследователей различных областей химической науки. Уникальные биологические и физико-химические свойства, доступность, дешевизна и высокая энантиомерная чистота делают этот класс соединений перспективным материалом для дальнейших превращений. В настоящее время интерес к желчным кислотам больше всего акцентируется на использовании их физико-химических свойств при создании селективных доставщиков биологически активных соединений к органам и тканям (создание конъюгатов или супрамолекулярных комплексов с лекарственными агентами). Тем не менее, известно, что биологическую активность проявляют нативные ЖК: например, урсодезоксихолевая и хенодезоксихолевая кислоты входят в состав некоторых лекарственных препаратов для лечения заболеваний печени и желчевыводящих путей. По этой причине интерес также представляет модификация остова ЖК различными функциональными группами, что может привести к усилению или изменению биологической активности стартовых соединений. Учитывая полифункциональность и особенности структуры данных метаболитов, для направленной модификации ЖК требуется тщательный подбор условий реакций, позволяющих проводить превращения селективно.

Учитывая вышесказанное, синтез новых биологически активных производных желчных кислот путем различных химических трансформаций представляет важную и актуальную задачу медицинской химии.

Целью представленной работы является синтез новых производных дезоксихолевой кислоты с разнообразным набором функциональных групп как в стероидном остове, так и в боковой цепи молекулы и последующее исследование биологической активности, а также установление взаимосвязи «структура – свойство». Дезоксихолевая кислота является одной

из основных ЖК млекопитающих – ее доля в общей массе ЖК составляет около 20%, что делает ее привлекательным объектом для дальнейших химических трансформаций.

Работа представлена в классическом стиле и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения полученных результатов, выводов и списка литературы, включающего 256 наименований. Текст диссертации изложен на 176 страницах, содержит 7 таблиц, 26 рисунков и 53 схемы.

Детально структурированный и хорошо изложенный **литературный обзор** посвящен структурным модификациям желчных кислот, приводящим к биологически активным соединениям. и охватывает литературные данные, опубликованные в период с 2000 по 2015 гг. В обзоре литературы кратко отражены сведения об особенностях строения, основных источниках и физиологических функциях ЖК, а также о превращениях боковой цепи. Основная часть литературного обзора посвящена модификации стероидного остова. В обзоре автором проводится рассмотрение, анализ и систематизация имеющихся данных по таким типам превращений как модификация нативных гидроксильных групп (этерификация, окисление и др). Показаны перспективы использования оксопроизводных для глубокой модификации остова, обусловленные как кето-енольной таутомерией карбонильных групп, так и их взаимодействием с различными нуклеофильными агентами, приводящим к формированию перспективных, с точки зрения дальнейших превращений, эпоксидных, оксимных, алкилиденовых и т.д. групп. На основании имеющихся данных были выбраны направления для проведения собственных исследований.

**Вторая глава** диссертационной работы содержит описание и анализ основных результатов, полученных автором, и состоит из 4-х разделов.

**В первом разделе** был осуществлен синтез соединений, содержащих фармакофорный 2-циано-3-оксо-1(2)-еновый фрагмент в цикле А остова дезоксихолевой кислоты; подобраны условия, позволяющие селективно получать различные  $\alpha,\beta$ -ненасыщенные карбонильные фрагменты в кольцах А и С стероидного остова. Проведено исследование реакции окисления метилового эфира 3-ацетокси-12-оксо-5 $\beta$ -холан-24-овой кислоты диоксидом селена в уксусной кислоте (формирование 9(11)-двойной связи) с использованием микроволнового излучения, и было найдено, что данные условия позволяют сократить время проведения реакции и количество используемого окислителя. Проведенный анализ «структура – биологическая активность» позволил выявить соединения, перспективные для дальнейших трансформаций – 2-гидроксиметиленовые производные, а также основные направления развития работы – модификация остова различными гетероатомсодержащими группами.

**Второй раздел** посвящен синтезу 2-аминометиленовых производных на базе выбранного соединения лидера – метилового эфира 2-гидроксиметилен-3,12-диоксо-5 $\beta$ -

холан-24-овой кислоты – взаимодействием 2-гидроксиметиленовой группы с ациклическими диаминами и аминспиртами. Для исходного 2-гидроксиметиленового производного подобраны условия, позволяющие синтезировать его селективно с высоким выходом без примеси второго структурного изомера – метилового эфира 4-гидроксиметилен-3,12-диоксо-5 $\beta$ -холан-24-овой кислоты.

**В третьем разделе** представлен синтез соединений, содержащих в положении С3 стероидного остова новые функциональные группы. Ключевой стадией стало раскрытие эпоксидного цикла 3-оксаспиропроизводного дезоксихолевой кислоты. В ходе работы изучено взаимодействие метилового эфира 3,12-диоксо-5 $\beta$ -холан-24-овой кислоты с метидами диметилсульфония и диметилсульфоксония. Показано, что реакция с метилидом диметилсульфония приводит к образованию преимущественно одного стереоизомера эпоксипроизводного (метилового эфира 3 $\alpha$ -эпокси-12-оксо-5 $\beta$ -холан-24-овой кислоты), а взаимодействие с метилидом диметилсульфоксония проходит стереоселективно и дает единственный продукт – метиловый эфир 3 $\beta$ -эпокси-12-оксо-5 $\beta$ -холан-24-овой кислоты, который был выбран в качестве ключевого для дальнейших превращений. Раскрытием эпоксидного цикла азот- и серацентрированными нуклеофилами синтезирована серия новых производных дезоксихолевой кислоты, содержащих в положении С3 различные алифатические и циклические полифункциональные амины или арил- и гетарилсульфанильные фрагменты.

**Четвертый раздел** посвящен синтезу ряда биоизостеров дезоксихолевой кислоты трансформацией нативной карбоксильной группы в 3'-замещенные 1',2',4'-оксадиазольные циклы, содержащие алкильные или ароматические заместители.

Данные по биологической активности получены сотрудниками лаборатории биохимии нуклеиновых кислот ИХБФМ СО РАН и лаборатории фармакологических исследований НИОХ СО РАН. Результаты исследований и анализ «структура – активность» приведены в конце каждого раздела. Установлено, что некоторые соединения обладают антипролиферативной активностью в отношении опухолевых клеток, причем проявляют выраженную селективность в отношении клеток кишечечно-печеночной природы. Выявлено, что с точки зрения увеличения антипролиферативной активности введение азотсодержащих функциональных групп в положение С3 стероидного остова является более предпочтительным, чем в положение С2, а также более предпочтительным, чем введение в положение С3 арил- или гетарилсульфанильных фрагментов. Исследована противовоспалительная активность ряда синтезированных производных *in vitro* (на примере ингибирования продукции оксида азота (II) – одного из основных медиаторов воспаления) и *in vivo* (на моделях гистаминового и формалинового отеков). Найдены соединения.

оказывающие противовоспалительный эффект, сопоставимый с эффектом известного препарата – диклофенака. Следует отметить, что проведенные химические трансформации привели к усилению антипролиферативной и противовоспалительной активности полученных соединений по сравнению с исходной дезоксихолевой кислотой. Таким образом, полученные результаты демонстрируют практическую ценность данной работы с точки зрения возможного выхода на лекарственные агенты.

В ходе совместной работы с научными коллективами ИНХ СО РАН на базе синтезированного метилового эфира 3 $\beta$ -гидрокси-3 $\alpha$ -((3-(диметиламино)пропиламино)метил)-12-оксо-5 $\beta$ -холан-24-овой кислоты получен комплекс с хлоридом цинка, что демонстрирует перспективность использования производных ДХК, содержащих в структуре алифатический диаминовый фрагмент, в качестве лигандов.

**Экспериментальная часть** диссертации содержит подробное описание всех экспериментов и детальные характеристики полученных соединений, с использованием всех современных физико-химических методов (ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  спектроскопия, в том числе с привлечением методик двумерной корреляции ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, C-H COSY, COLOC; масс-спектрометрии высокого разрежения, поляриметрии).

**Выводы** диссертации основываются на полученных результатах и сомнений не вызывают.

В процессе прочтения диссертации и автореферата к работе появились следующие замечания.

- 1) Список сокращений для удобства прочтения лучше было бы разместить в начале диссертации, а не после выводов.
- 2) На стр. 29 диссертации в литературном обзоре говорится об образовании вещества (соединение **51**), содержащего в своем остове карбоксильные группы. На самом деле речь идет о введении в структуру молекулы трех заместителей с карбоксильными функциями, поэтому говорить о модификации остова в данном случае некорректно.
- 3) Литературный обзор диссертации очень большой по объему, т.к. содержит заметное количество избыточной информации. На мой взгляд, его возможно было сократить без потери качества, отразив при этом все многообразие химических превращений желчных кислот. Более того, поскольку темой диссертации является синтез новых производных дезоксихолевой кислоты, в обзоре следовало сделать акцент на превращениях именно этой кислоты, что подчеркнуло бы значимость и новизну работы. Данную информацию – степень «проработанности» дезоксихолевой кислоты – следовало привести хотя бы в заключении к литературному обзору.
- 4) На рисунке 23 (стр. 67) не приведены номера веществ.

- 5) На странице 78 (раздел «Обсуждение результатов») некорректно употребляется фраза «синтез фрагмента».
- 6) В разделе 2.3. описано получение библиотеки 3-замещенных производных дезоксихолево́й кислоты через соответствующее эпоксипроизводное. На схеме 48 (стр. 84) представлены условия реакции селективного синтеза эпоксида (соединение **237**), а также условия, в которых эпоксид метилового эфира дезоксихолево́й кислоты образуется в виде смеси двух диастереомеров (соединения **237** и **238**). Такая смесь, как было обнаружено, с трудом разделяется обычными методами, поэтому в качестве базы для реакций нуклеофильного присоединения с раскрытием цикла было выбрано только одно соединение **237**. На мой взгляд, в данном случае в реакцию с нуклеофилами следовало ввести также и смесь веществ (**237** и **238**) и пытаться разделять полученные продукты взаимодействия, поскольку наличие заместителей при атоме С3 кольца А может способствовать разделению диастереомеров за счет различия в адсорбционных свойствах. Синтез ряда производных на основе стереоизомера **238** позволил бы авторам существенно расширить библиотеку полученных веществ, а в биологических экспериментах получить ценную информацию о связи структура – активность в зависимости от конфигурации хирального центра.
- 7) В работе присутствует ряд опечаток, пунктуационных ошибок и стилистических неточностей.

Тем не менее, приведенные замечания и недостатки не являются принципиальными, не снижают общего положительного впечатления от работы и не вызывают сомнений в достоверности полученных результатов и обоснованности выводов.

По материалам диссертации опубликовано тезисы 15 докладов и 3 статьи в российских и международных научных журналах, входящих в список изданий, рекомендованных ВАК РФ, и рецензируемых и индексируемых в признанных международных системах цитирования. Выводы к работе соответствуют поставленной цели и решаемым задачам, подкреплены детальным описанием выполненных экспериментов.

Диссертационная работа Попадюк Ирины Игоревны на тему «**Синтез новых биологически активных производных дезоксихолево́й кислоты**» является законченной научно-исследовательской работой, выполненной автором на высоком научном уровне. Автореферат и публикации в полной мере отражают содержание диссертации, выводы обоснованы, подтверждены приведенными результатами исследования. Результаты работы представляют собой решение важной задачи в области химии природных соединений, а

именно расширение спектра применения доступного природного сырья для синтеза ценными биологически активных соединений. В целом, представленная работа по новизне, научной и практической значимости, объему и полученным результатам соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., а ее автор, Попадюк Ирина Игоревна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – органическая химия.

Официальный оппонент

Казакова Оксана Борисовна

450054 г. Уфа, проспект Октября, д. 71. тел./факс (347)2356066. E-mail: obf@anrb.ru

Уфимский институт химии Российской академии наук

доктор химических наук, профессор, ведущий научный сотрудник

Подпись О.Б. Казаковой “заверяю”

Ученый секретарь УФИХ РАН

д.х.н., проф.



4 сентября 2017 г.