



Утверждаю
И.о. директора Института химии
Кои НЦ УрО РАН,
д.х.н. Ю.И. Рябков

«06» сентября 2017 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

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.

Актуальность темы и цель диссертационной работы.

Желчные кислоты (ЖК) – монокарбоновые оксикислоты из класса стероидов – являются производными холановой кислоты и представляют собой основной конечный продукт метаболизма холестерина, обладающих широким спектром нативной фармакологической активности. Первичные ЖК – холевая кислота и хенодезоксихолевая кислота – синтезируются в печени из холестерина, конъюгируются с глицином или таурином и секретируются в составе желчи. Вторичные ЖК, включая дезоксихолевую кислоту (ДХК) и литохолевую кислоту, образуются из первичных ЖК в толстой кишке под действием бактерий. Объектом исследований диссертационной работы Попадюк Ирины Игоревны является вторичная ЖК – ДХК, доля которой в пуле желчных кислот составляет около 20%. ДХК выполняет множество физиологических функций и используется в различных фармацевтических композициях в качестве природного поверхностно-активного вещества, способствующего растворению или увеличению абсорбции других соединений.

Химическая модификация природных соединений – современный подход для улучшения их биодоступности и фармакологической активности, а также перспективное направление для получения новых биологически активных веществ медицинского назначения. В связи с этим расширение круга биологически активных производных ДХК путем синтеза новых соединений модификацией как стероидного остова, так и боковой цепи молекулы новыми функциональными группами является актуальной задачей, и диссертационная работа Попадюк И.И. представляется актуальной и востребованной.

Оценка содержания диссертации.

Рецензируемая работа состоит из введения, литературного обзора (глава I), обсуждения полученных результатов (глава II), экспериментальной части (глава III), выводов, перечня принятых сокращений, списка литературы. Диссертация изложена на 176 страницах, содержит 7 таблиц, 26 рисунков и 53 схемы. Список библиографических источников включает 256 ссылок (три из них – работы соискателя по теме диссертации), основная часть которых датируется 2000–2015 гг.

Во введении автор описывает современное состояние проблемы, формулирует цель и ставит задачи диссертационной работы.

Глава I – литературный обзор включает в первом разделе (1.1) общие сведения с характеристикой желчных кислот, их классификации и генезис в организме, роль в жизнедеятельности млекопитающих; далее перечислены биологические и фармакологические свойства желчных кислот. В следующих разделах (1.2-1.4) автор анализирует особенности химической модификации желчных кислот. Раздел 1.3 «Превращения желчных кислот с участием боковой цепи» представлен кратко и не сопровождается схемами и уравнениями химических реакций. Раздел обзора (1.4) посвящен химическим трансформациям ЖК с использованием реакций гидроксильных групп стероидного остова (образованию простых и сложных эфиров, реакциям замещения, элиминирования и окисления гидроксильных групп), реакциям восстановления карбонильных групп, синтезу α -замещенных и α,β -ненасыщенных карбонильных производных ЖК, реакциям нуклеофильного присоединения по карбонильной группе и окисления с раскрытием стероидных карбоциклов. Также в литературный обзор уместно включены данные по биологической активности синтезируемых соединений.

Положительным моментом является то, что автор представляет небольшие критические введения и выводы по каждому из пунктов литературного обзора, в заключении, основываясь на данных из приведенных источников делает выводы о целесообразности дальнейшей работы по химической модификации ЖК для получения потенциальных биологически активных веществ. Представленный обзор включает цитирование 203 литературных источников, основная часть которых датируется 2000–2015 гг.

В главе II (обсуждение результатов) приведены результаты собственных исследований автора: синтез и биологические испытания α -замещенных α,β -ненасыщенных производных ДХК, 2-аминометиленовых производных метилового эфира 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты, 3-замещенных *S*- и *N*-производных метилового

эфира 3-гидрокси-12-оксо-5 β -холан-24-овой кислоты и гетероциклических производных ДХК по боковой цепи. Структуры и состав изученных в работе продуктов установлены с использованием данных ЯМР спектроскопии (в том числе результатов 2D экспериментов) на ядрах ^1H , ^{13}C , масс-спектрометрии элементного анализа. В этой же главе приводятся результаты биологической активности (антипролиферативной и противовоспалительной) всех групп синтезированных производных ДХК с анализом данных «структура-свойство».

В главе III (экспериментальная часть) описаны общие методики синтеза и выделения целевых продуктов, представлены данные по идентификации продемонстрированных в предыдущей главе диссертации соединений.

Выводы о проделанной работе соответствуют излагаемому материалу и свидетельствуют о решении задач и достижении цели диссертационного исследования. В целом, достоверность основных результатов, полученных в ходе выполнения исследования и сделанных на их основе выводов, сомнений не вызывает. Экспериментальные результаты получены с использованием комплекса актуальных физико-химических методов анализа.

Научная новизна представленной работы заключается в том, что автором разработаны способы получения новых не описанных ранее производных ДХК проявляющих антипролиферативную и противовоспалительную активность *in vitro*.

Осуществлен синтез 3-оксопроизводных дезоксихолево́й кислоты, содержащих 12-оксо или 12-оксо-9(11)-еновый фрагмент в цикле С стероидного остова. На базе полученных остовов впервые синтезированы соединения, содержащие 2-циано-3-оксо-1(2)-еновый фрагмент (известную фармакофорную группу) в цикле А стероидного остова дезоксихолево́й кислоты. С высокой региоселективностью синтезирован ряд производных, содержащих различные α,β -ненасыщенные карбонильные фрагменты в цикле А стероидного остова. Изучение взаимосвязи «структура – биологическая активность» позволило выявить соединение-лидер – метиловый эфир 2-гидроксиметилен-3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты, – проявляющее высокую антипролиферативную активность *in vitro* в отношении исследованных опухолевых клеточных линий.

В ходе проделанной работы подобраны оптимальные условия синтеза метилового эфира 2-гидроксиметилен-3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (соединения-лидера) и на его основе был синтезирован ряд 2-аминометиленовых производных дезоксихолево́й кислоты, проявивших антипролиферативную активность в отношении опухолевых клеток различной природы.

Взаимодействием метилового эфира 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты с илидами серы были селективно синтезированы 3-эпоксипроизводные дезоксихолево́й кислоты.

Раскрытием эпоксидного цикла азот- и серацентрированными нуклеофилами синтезирован набор новых производных дезоксихолевой кислоты, модифицированных по положению 3. Показано, что введение в цикл А азотсодержащих функциональных групп приводит к увеличению антипролиферативной активности, а арил- или гетарилсульфанильные производные проявляют противовоспалительную активность в *in vitro* и *in vivo* моделях. С использованием в качестве стартового соединения 3,12-диацетоксипроизводного дезоксихолевой кислоты впервые осуществлен синтез библиотеки 1,2,4-оксадиазольных производных дезоксихолевой кислоты, содержащих алкильные или ароматические заместители в гетероциклическом фрагменте. Были выявлены закономерности «структура – биологическая активность» в зависимости от гидрофобности остова. В результате исследований антипролиферативной активности *in vitro* выявлены наиболее активные соединения, содержащие ароматические заместители в цикле 1,2,4-оксадиазола.

Перечисленные результаты составляют и **практическую значимость** работы, т.к. разработаны подходы к синтезу новых соединений – перспективных фармакологических агентов.

Применение полученных результатов.

Полученные в работе Попадюк И.И. результаты могут найти применение в лабораториях научных, научно-исследовательских учреждений и вузов, занимающихся химией природных соединений, в том числе и стероидов. Предложенные методики могут быть использованы в таких организациях как ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, Казанский институт биохимии и биофизики РАН, Уральский федеральный университет, МГУ, ИОХ им. Н.Д. Зелинского РАН, ИНХС РАН и других учреждениях.

При чтении рукописи появились следующие **вопросы и замечания**:

1. В обсуждении результатов (стр. 70, табл. 1, №№ 10,11) показано, что при соотношении реагентов **215:SeO₂** равном 1:3 при всех прочих равных условиях за 0.5 часа соотношение **215:216** составило 1:10, а за час – 1:8. Как можно объяснить полученные данные? В остальных случаях наблюдается увеличение выхода продукта **216**.
2. В обсуждении результатов на стр. 84-85 говорится о том, что структуры **237** и **238** подтверждены данными 1D и 2D ЯМР спектроскопии, но описываются только спектры 1D. По каким взаимодействиям в 2D спектрах установлена стереохимия **237** и **238**?
3. Диссертация защищается по специальности 02.00.03 – органическая химия, однако в ущерб химической части в обсуждении результатов много внимания уделяется

обсуждению биологических испытаний и взаимосвязи «структура-биологическая активность».

4. К сожалению, автору не удалось подобрать условия селективного синтеза или эффективного выделения второго диастереомера **238** эпоксипроизводного ДХК, что, в свою очередь, не позволило сравнить биологическую активность диастереомеров **237** и **238** и их производных.
5. ИК-спектроскопия – классический метод установления функционального состава вещества, внутри- и межмолекулярных взаимодействий. Почему в диссертационной работе не привлекался данный метод анализа?
6. В экспериментальной части перечислены 4 спектрометра с частотой 300-600 МГц (¹H) для регистрации ЯМР спектров. Однако не показано, на каком приборе, с какой рабочей частотой снят каждый конкретный спектр.

Диссертация Попадюк И.И. написана в строгом научном стиле, грамотно хорошим языком, аккуратно оформлена. Автореферат, как по своей структуре, так и по сути изложения материала соответствует обсуждению основных результатов, описанных в диссертации. Однако имеется несколько замечаний по оформлению диссертации, в частности:

- присутствуют опечатки и технические погрешности на стр.58, 75, 82, 96;
- неудачно расположены таблицы 2, 5, 6;
- в перечне сокращений и обозначений не содержится расшифровка обозначений IC₅₀ NuTu80, HepG2, KB-3-1, MN-22, J774;
- «Список литературы» оформлен не в соответствии с ГОСТ.

Приведенные выше замечания не снижают ценности большой экспериментальной работы, выполненной диссертантом Попадюк Ириной Игоревной. Диссертационная работа Попадюк Ирины Игоревны «Синтез новых биологически активных производных дезоксихолевой кислоты» представляет собой законченное исследование, которое по актуальности, новизне экспериментального материала, содержанию, сделанным выводам и наличию публикаций отвечает требованиям ВАК РФ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук, согласно пункту 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842), как научная квалификационная работа.

Основные результаты диссертации изложены в трех статьях в рецензируемых и рекомендованных ВАК РФ научных журналах – Bioorganic & Medicinal Chemistry, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, Успехи химии, апробированы на многочисленных научных конференциях.

Результаты представленной диссертации соответствуют паспорту специальности 02.00.03 – органическая химия (химические науки), область исследования п. 3 «Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул».

Таким образом, автор работы – Попадюк Ирина Игоревна – несомненно заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – органическая химия.

Настоящий отзыв рассмотрен и утвержден на заседании объединенного семинара по органической химии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института химии Коми научного центра Уральского отделения РАН 06 сентября 2017 года (Протокол № 12 от 06.09.2017 г).

Главный научный сотрудник
Института химии Коми НЦ УрО РАН,
д.х.н., доцент
Адрес: Россия, 167000, г. Сыктывкар,
ул. Первомайская, 48.
тел.: +7(8212)21-99-16
email: chukichevaiy@mail.ru

Чукичева Ирина Юрьевна

Старший научный сотрудник
Института химии Коми НЦ УрО РАН,
к.х.н.
Адрес: Россия, 167000, г. Сыктывкар,
ул. Первомайская, 48.
тел.: +7(8212)24-10-45
email: sudarikov-dv@chemi.komisc.ru

Судариков Денис Владимирович

Подписи
И.Ю. Чукичевой и Д.В. Сударикова заверяю:
Учёный секретарь
Института химии Коми НЦ УрО РАН,
к.х.н.



Клюшкова Ирина Владимировна