

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Мусияк Веры Васильевны «Синтез и биологическая активность конъюгатов пурина с аминокислотами и гетероциклическими аминами», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – Органическая химия

Диссертационная работа Мусияк В.В. посвящена синтезу конъюгатов пурина с аминокислотами и гетероциклическими аминами, а также исследованию их биологической активности. В связи с тем, что пуриновое ядро входит в состав важнейших биомолекул, данный структурный фрагмент является удобной платформой для создания новых эффективных лекарственных средств, обладающих противовирусной и антибактериальной активностью. К ряду таких соединений относятся вещества, нашедшие применение в клинической практике, например, ацикловир, тенофовир, валганцикловир и многие другие. Распространенной стратегией для достижения оптимальной биологической активности является комбинирование нескольких фармакофорных фрагментов, поэтому конъюгаты пурина с аминокислотами, аминами или разнообразными гетероциклами особенно интересны для медицинской химии. В литературе основное внимание уделяется производным пурина, несущим фармакофорную группу в положении N-9, тогда как исследование C-6 замещенных пуринов представляет собой менее изученное направление, поэтому тема и сформулированная цель диссертационной работы Веры Васильевны являются актуальными. Следует отметить, что получение биоактивных конъюгатов аминокислот в оптически чистом виде с помощью стереоспецифичных превращений представляет собой особенно важную задачу, так как биологическая активность хиральных соединений сильно зависит от их конфигурации.

Практическая значимость состоит в том, что Мусияк В.В. были разработаны методы синтеза конъюгатов пурина с аминокислотами, пептидами и гетероциклическими аминами. Среди полученных соединений выявлены конъюгаты пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2H-[1,4]бензоксазином, проявляющие высокую активность в отношении штаммов вируса простого герпеса, в том числе в отношении ацикловир-резистентного штамма. Обнаружены N-(пурин-6-ил)дипептиды, содержащие фрагменты (S)-фенилаланина и (S)-глутаминовой кислоты и обладающие высокой активностью в отношении штаммов микобактерий, в том числе в отношении штамма с множественной лекарственной устойчивостью.

Научная новизна убедительно обоснована диссертантом, также подтверждается присутствием статей в ведущих международных журналах по химии, включая «*Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*» (*impact factor* = 2.42) и «*Mendeleev Communications*» (*impact factor* = 2.10). Разработаны стереоспецифичные методы синтеза новых конъюгатов

пурина, в которых пурин связан непосредственно или через линкер, фрагмент ω -аминокислоты, с различными гетероциклическими аминами (в том числе хиральными). Получены новые *N*-(пурин-6-ил)дипептиды в энантиомерно чистом виде, в том числе производные *N*-(пурин-6-ил)глицил-(*S*)-глутаминовой кислоты, в которых фрагмент глицина заменен остатками различных α - и ω -аминокислот. С применением стратегии введения–удаления защитных групп синтезированы новые конъюгаты пурина с такими диаминокислотами, как орнитин и лизин, а также *N*-(пурин-6-ил)замещенные дипептиды на основе данных диаминокислот. Исследована антигерпетическая и антимикобактериальная активность полученных соединений, выявлено влияние структуры конъюгатов (строение аминокислотного фрагмента, природа гетероциклического амина) на биологическую активность.

Достоверность полученных результатов, **обоснованность** научных положений, выводов и заключения подтверждаются использованием полноценного набора современных методов анализа органических соединений, таких как ЯМР- спектроскопия, рентгеноструктурный анализ (для соединения (*S*)-**28c**), а также сопоставлением полученных результатов с литературными данными. Особенного внимания заслуживают методы определения энантиомерной чистоты продуктов реакции, достоверность которых не вызывает сомнения и основывается на серьезном научном уровне и экспериментальном опыте Лаборатории асимметрического синтеза ИОС УрО РАН в области выделения и стереоселективного получения оптически чистых соединений. Результаты работы, представленной к защите, прошли достаточную апробацию на международных и всероссийских конференциях.

Диссертация изложена на 145 страницах и включает введение, 3 главы (литературный обзор, обсуждение результатов и экспериментальная часть), список сокращений, заключение и список литературы, включающий ссылки на 196 литературных источников. Во введении диссертации убедительно обоснована актуальность темы исследования, дано представление о разработанности темы. Сформулированы цель и задачи диссертационной работы. Отражены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы; указаны положения, выносимые на защиту, методология и методы диссертационного исследования, а также за счёт чего обеспечивалась достоверность полученных данных. Представлены сведения о личном вкладе автора, об апробации результатов работы, публикациях и о структуре диссертации, а также приведены благодарности.

Литературный обзор хорошо структурирован и включает в себя данные по основным методам синтеза соединений, содержащих ядро пурина и фрагмент аминокислоты (разделы 1.1–1.3). В разделе 1.1 рассматриваются конъюгаты пурина, содержащие фрагмент аминокислоты в положении N-9, в разделе 1.2 – в положении C-6, в разделе 1.3

– производные пурина, несущие фрагменты аминокислот при атомах С-8, N-7, N-4, С-2. В отдельном разделе (раздел 1.4) уделяется внимание основным типам биологической активности производных пурина, таким как противовирусная, антимикобактериальная, противоопухлевая и цитокининовая, а также активность в отношении SAM-зависимых метилтрансфераз. Приведены важнейшие представители данного класса соединений и рассматривается влияние структуры (природа заместителей, природа линкера, аминокислотный фрагмент) на биологические свойства, даны общие представления о дизайне современных лекарственных соединений на основе пурина. Данный раздел подчеркивает высокую актуальность и важность выбранного направления работы. Достоинством литературного обзора является то, что его материал был опубликован в журнале «Успехи химии» (Груздев Д.А., Мусияк В.В., Левит Г.Л., Краснов В.П., Чарушин В.Н. Производные пурина, обладающие противотуберкулезной активностью // Успехи химии. 2018. Т. 87. С. 604-618).

В главе 2 представлены результаты исследований, полученные Мусияк В.В. в ходе выполнения диссертационной работы. Раздел 2.1 включает данные по синтезу исходных соединений: хиральных и ахиральных гетероциклических аминов, а также *N*-(пурин-6-ил)- ω -аминокислот, *N*-(пурин-6-ил)глицилглицина, простейших *N*-(пурин-6-ил)- α -аминокислот, которые использованы Верой Васильевной для получения пуринсодержащих коротких пептидов. Раздел 2.2 посвящен синтезу конъюгатов пурина с гетероциклическими аминами как связанных непосредственно, так и соединенных через линкер. Показана возможность 4-(3-аминопропаноил)-3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина выступать в качестве синтетического эквивалента соответствующего акрилата и давать продукты аза-Михаэля. В разделе 2.3 уделяется внимание синтезу конъюгатов пурина с диаминокислотами и дипептидами. Раздел 2.4 посвящен исследованию биологической активности полученных соединений, детально рассматривается влияние аминокислотного фрагмента в структуре конъюгатов на антигерпетические и антимикобактериальные свойства.

Глава 3 (Экспериментальная часть) включает методики синтеза, выделения и установления энантиомерной чистоты конъюгатов пурина с аминокислотами и гетероциклическими аминами, спектральные данные (ЯМР ^1H и ^{13}C), данные элементного анализа и масс-спектрометрии для полученных соединений. В данном разделе приведены методики по исследованию биологической активности.

Автореферат и опубликованные в научной печати работы В.В. Мусияк (15 публикаций, включая 5 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК и входящих в библиографические базы данных Scopus и Web of Science, и 3 патента) полно и правильно отражают основные научные результаты, положения и выводы, приведенные в диссертации.

При ознакомлении с диссертацией и авторефератом возник ряд вопросов и замечаний:

- 1) В диссертации используется для объяснения основных свойств производных пурина значение величины pK_a (с. 11 автореферата, с. 63 диссертации). Здесь необходимо было уточнить, что данная величина относится не к кислотности самих производных пурина, а кислотности их протонированных форм.
- 2) При взаимодействии гетероциклических аминов с 6-хлорпурином и его производными наблюдается резкое различие в реакционной способности между 2-метилиндолином (**3**) (выходы **25b**, **26b** – 88–91%) и аминами **4–6**, в которых нуклеофильный атом азота является частью шестичленного цикла (выходы **25c–e**, **26c–e** – 10–34%) (с. 11 автореферата, с. 63 диссертации). При этом даже варьирование условий не позволяет поднять выходы продуктов, полученных из аминов **4–6**. Как можно объяснить разную реакционную способность данных метилзамещенных гетероциклических аминов?
- 3) Конъюгаты пурина с дипептидами (например, **29a–c**, **32a**, **36**) были получены с высокой стереоселективностью, но при диапазоне выходов данных продуктов при использовании как стратегии, связанной с нуклеофильным замещением хлора, так и карбодиимидного метода составил 30–55%. С чем связан такой диапазон выходов? Возможно ли его повысить с сохранением стереоселективности протекающих реакций?
- 4) Среди исследуемых соединений наибольшую противогерпетическую активность проявил конъюгат (*S*)-**17**, содержащий фрагмент 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2*H*-[1,4]бензоксазина. Как можно объяснить влияние данной группы на биологическую активность? Есть ли примеры в литературе веществ, содержащих данный фрагмент и проявляющих высокую противовирусную активность?

Все вопросы и замечания не влияют на общее хорошее впечатление от диссертационной работы и на высокую оценку проведенных исследований. Автором использована сложная техника эксперимента, экспериментальные результаты, полученные В. В. Мусияк в данной диссертационной работе, грамотно и профессионально интерпретированы, предложены возможные механизмы превращений с указанием интермедиатов, обсуждено влияние заместителей на стереоселективность превращений, а также рассмотрена связь структуры полученных соединений с их биологической активностью. Тщательный подход к поиску оптимальных условий проведения каждой трансформации позволил получить широкий ряд энантимерно чистых конъюгатов пурина с гетероциклическими аминами, аминокислотами и дипептидами. Важной особенностью диссертационной работы является ее большая практическая значимость, связанная с получением соединений с высокой противогерпетической и анимикобактериальной активностью, но следует отметить также и серьезный фундаментальный характер данного исследования, направленного на изучение стереоселективности превращений, реакционной способности и таутомерии.

Результаты диссертационной работы Мусияк В.В. представляют интерес для специалистов в области органической и медицинской химии и могут быть использованы в таких научных учреждениях, как ИОХ РАН, УрФУ, ИНЭОС РАН, МГУ, СПбГУ и др.

Диссертация Мусияк В.В. является тщательно спланированным, цельным исследованием и представляет **законченную научно-квалификационную работу**. Диссертация и автореферат грамотно написаны и аккуратно оформлены. Считаю, что диссертационная работа Мусияк Веры Васильевны **“Синтез и биологическая активность конъюгатов пурина с аминокислотами и гетероциклическими аминами”** по актуальности, объему выполненной работы, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности результатов, обоснованности научных положений и выводов отвечает требованиям пп. 9-14 “Положения о присуждении ученых степеней”, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Мусияк Вера Васильевна, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – Органическая химия.

Официальный оппонент:

Обыденнов Дмитрий Львович,
кандидат химических наук (02.00.03
– Органическая химия),
доцент кафедры органической
химии и высокомолекулярных
соединений Института естественных
наук и математики ФГАОУ ВО
«Уральский федеральный
университет имени первого
Президента России Б.Н. Ельцина»,

Адрес:
620000, Россия, г. Екатеринбург, пр. Ленина 51
Телефон: +7(343)3899725
e-mail: dmitry.obydennov@urfu.ru




Обыденнов Д. Л.

29 ноября 2018 г.

Подпись Обыденнова Д.Л. заверяю
ученый секретарь диссертационных советов УрФУ
29 ноября 2018 г.


Онишко А. А.