

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

*доктора химических наук, Яровой Ольги Ивановны  
на диссертацию Воздвиженской Ольги Андреевны «Биологически активные  
конъюгаты пурина: синтез, скрининг, потенциальные биомишени»,  
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по  
специальности 1.4.3. Органическая химия  
(химические науки).*

### ***Актуальность темы диссертации***

Актуальность диссертационной работы Воздвиженской О.А. связана с важным поиском новых фармакологически активных соединений, сочетающих в себе значительную эффективность и достаточный профиль безопасности, для создания новых лекарственных препаратов. Особенно остро стоит вопрос создания новых противовирусных и противоопухолевых веществ, в связи с токсичностью применяемых в настоящее время препаратов и лекарственной устойчивостью социально-значимых вирусов и многих видов опухолей. Поиск новых агентов прямого противовирусного действия, особенно таких, механизм действия которых отличается от известных химиотерапевтических средств, задача архисложная и актуальность это сложно переоценить. Диссертация Ольги Андреевны посвящена именно этой цели – синтезу новых библиотек производных пурина, отличающихся по механизму действия от препаратов, применяемых в современной клинической практике.

### ***Степень обоснованности научных положений, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации***

Положения и выводы диссертации базируются на фундаментальных основах органической и медицинской химии. Методология исследования включает подробный анализ современного состояния поиска новых биологически активных веществ, систематизацию результатов анализа научных и практических исследований российских и зарубежных ученых, качественное сравнение методов синтеза целевых соединений.

Научная достоверность и обоснованность теоретических положений, результатов, выводов, предложений и рекомендаций диссертации определяются аргументированностью, полнотой охвата научных концепций и качественным анализом полученных данных.

Выстроенная автором последовательность и логика в изложении текста диссертации и структурировании материалов исследования позволили добиться целостности при подготовке диссертации и автореферата, а также обеспечить высокую аргументированность выводов и положений. Диссертация целостно построена, и ее содержание соответствует заявленной



логике исследования. Поставленные проблемы в работе полностью раскрыты и предложены авторские методы их решения.

### *Достоверность положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации*

Достоверность основных научных результатов диссертации Воздвиженской О.А. обеспечивается выбранной методологией исследования, а именно: современные методы синтеза и анализа органических соединений, проведение биологических исследований на высоком уровне. Подтверждение строения, анализ чистоты, энантиомерного и диастереомерного состава полученных соединений осуществлялись на сертифицированных и поверенных приборах ЦКП САОС ИОС УрО РАН.

Полученные результаты опубликованы в семи статьях в рецензируемых научных журналах, определенных ВАК РФ и Аттестационным советом УрФУ и входящих в международные базы цитирования Scopus и Web of Science; 13 тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях, что немаловажно - получен 1 патент РФ. Работа широко освещена на 11 всероссийских и международных конференциях: V Всероссийская с международным участием конференция по органической химии (Владикавказ, 10-14 сентября 2018); «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов» MOSM 2018 (Екатеринбург, 15-17 ноября 2018); «Техническая химия. От теории к практике» (Пермь, 20-24 мая 2019), «МедХим-Россия 2019» (Екатеринбург, 9-14 июня 2019), «Марковниковские чтения: органическая химия от Марковникова до наших дней» (Красновидово, 17-20 января 2020), «ChemCYS 2020» (Бланкенберге, Бельгия, 19-21 февраля 2020), «Проблемы теоретической и экспериментальной химии» (Екатеринбург, 6-9 октября 2020), «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии» (Екатеринбург, 18-21 ноября 2020), 6-й Северо-Кавказский симпозиум по органической химии (Ставрополь, 18-22 апреля 2022), «Новые перспективные противоопухолевые препараты и медицинские технологии: проблемы, достижения, перспективы» (Москва, 20-21 апреля 2023), VII Международная конференция «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов» MOSM 2023 (Екатеринбург, Пермь, 10-16 сентября 2023).

Практическая значимость обусловлена выявлением новых веществ с высокой противовирусной, антибактериальной, противоопухолевой активностью, представляющие интерес для создания на их основе или на основе их аналогов новых эффективных препаратов. Для соединения-лидера установлена мишень его противогерпетического действия, что открывает возможности получения соединений с иным механизмом действия, чем у



применяемых в настоящее время препаратов, и создания на их основе эффективных лекарственных средств.

Все изложенное позволяет сделать заключение о достоверности положений, выносимых на защиту.

### *Характеристика структуры и содержания диссертации*

Диссертационное исследование построено по классическому принципу и содержит в себе литературный обзор, обсуждение результатов, экспериментальную часть и выводы по работе. Работа общим объемом 167 страниц содержит 101 схему, 31 таблицу, 22 рисунка. Библиографический список цитируемой литературы состоит из 164 наименований. Литературный обзор посвящен высшие  $\omega$ -аминокислотам, а именно их синтезу, биологической активности, и изучению связи структура-активность производных содержащих различные высшие аминокислоты. Необходимо отметить **высокое качество** представленного литературного обзора. Автор уделил внимание как современным методом синтеза  $\omega$ -аминокислот, биологической активности природных и синтетических соединений так и использованию  $\omega$ -аминокислот для структурной модификации биологически активных соединений. Особое внимание уделено противоопухолевой активности производных, подробно обсуждается связь строения с проявляемыми свойствами. Можно порекомендовать Ольге Андреевне и научному руководителю опубликовать представленный в диссертации обзор в качестве отдельной монографии.

Основная часть диссертационного исследования разделена на два больших раздела. Первая часть посвящена непосредственно описанию синтеза исходных структурных блоков и целевых соединений. Основной упор сделан на синтетические модификации конъюгата пурина с 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2Н-[1,4]бензоксазином, содержащий в качестве линкера остаток 6-аминогексановой кислоты (соединение **18e** из текста работы). Автором была поставлена цель выявить влияние длины  $\omega$ -аминокислотного линкера, влияние N-гетероциклического фрагмента и влияние фрагмента пурина на проявление целевой активности. Все дальнейшие описание представлены как решения поставленных целей. Важно отметить, что химическая часть написана отличным научным языком, во всех случаях установление строения полученных соединений проведено с использованием самых современных физико-химических методов. В тех случаях, когда проводился синтез энантиомерно чистых производных, дополнительно энантиомерная чистота подтверждалась методом ВЭЖХ на хиральной неподвижной фазе. Изучена водорастворимость модифицированных конъюгатов **31** и **33a**, а также соединения **18j** с незамещенным положением N9 пурина, показано, что для соединения с остатком  $\beta$ -D-рибофуранозы (**33a**) – растворимость в воде в 10,6



раз выше. Проведена модификация соединения **18e** в части замены фрагмента пурина на пуриноподобные структуры, таких как 7-деазапурин и 6,7-диметоксихиназолин. Вторая глава диссертационного исследования Воздвиженской О.А. посвящена анализу данных биологической активности. Изучение активности синтезированных агентов в отношении вируса герпеса проведено в соавторстве с коллегами из Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи». В работе проведен подробный анализ связи строения синтезированных веществ с проявляемой антигерпесной активностью, выявлено соединение-лидер. С целью выяснения на какой стадии жизненного цикла действует соединение-лидер, проведен эксперимент «по времени добавления», анализ данных которого позволяет предположить, что соединение (S)-**18e** наиболее вероятно ингибирует репродукцию ВПГ путем супрессии репликации вируса. Совместно с коллегами-вирусологами проведена серия последовательных пассажей эталонного штамма ВПГ-1/L2 в присутствии соединения (S)-**18e**, в результате чего получен резистентный штамм и проведено полногеномное секвенирование. В результате сравнительного анализа генома эталонного штамма ВПГ-1 и геномов трех клонов ВПГ-1, выделенных из устойчивой к соединению-лидеру популяции, установлено 5 мутаций, приводящих к заменам аминокислот. Авторы предполагают, что за резистентность к (S)-**18e** наиболее вероятно ответственна мутация в гене UL15, задействованном в ряде ключевых этапов репродуктивного цикла ВПГ-1. Совместно со специалистами в области молекулярного моделирования проведен молекулярный докинг и молекулярно-динамические симуляции. Крайне важно, что в дополнение к этим исследованиям проведено изучение активности в отношении ВПГ-1 и ВПГ-2 в опытах *in vivo* с использованием животной модели. В дополнение к изученной активности в отношении вирусов герпеса проведено изучение активности соединений в отношении вируса гриппа А H1N1 и вирусов гриппа В. Изучена антибактериальная и противоопухолевая активность синтезированных соединений, во всех случаях проводится анализ связи структуры с проявляемой биологической активностью. Показано, что в ряду конъюгатов пурина получено соединение **34a**, которое не проявляет цитотоксической активности в отношении здоровых клеток линии Wi-38, но при этом сохраняет активность в отношении опухолевых клеточных линий.

Экспериментальная часть диссертационного исследования содержит полную информацию об исходных веществах, используемых приборах и методах синтеза всех промежуточных и целевых соединений. В общем, в результате исследования синтезировано и описано более 80 химических соединений. Далее в работе приводится заключение и полный список используемых сокращений. Список литературы оформлен в соответствии с требованиями ГОСТ и содержит современные ссылки на литературу.



### *Научная новизна исследования*

Представленная диссертация обладает значительной научной новизной. Так, Воздвиженской О.А. с применением оригинальных синтетических подходов впервые получены новые конъюгаты пурина с фрагментом 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2Н-[1,4]бензоксазина, содержащие в качестве линкера остатки высших ω-аминокислот. Впервые синтезирован широкий круг конъюгатов пурина в которых фрагмент 3,4-дигидро-3-метил-7,8-дифтор-2Н-[1,4]бензоксазина заменен на гетероциклические амины (неаннелированные, бензаннелированные, содержащие атомы фтора) или производные адамантана, изучена их биологическая активность. Проведено подробное изучение связи между структурой и активностью полученных соединений. Впервые получены аналоги выявленных высокоактивных соединений путем введения углеводных и псевдоуглеводных фрагментов в положение N9 пурина, что позволило увеличить их растворимость и биодоступность. Показана возможность применения разработанных подходов к синтезу структурных аналогов пурина, что позволило получить новые производные 6,7 диметоксихиназолина и энантимерно чистые производные 7 деазапурина. Впервые предположено, что мишенью противогерпетического действия соединения-лидера может быть его связывание с субъединицей терминазы вируса простого герпеса типа 1 (ВПГ-1). С использованием методов молекулярного моделирования определен возможный сайт связывания соединения-лидера с мишенью.

### *Замечания по диссертации*

В работе отсутствуют ошибки, которые могли бы сказаться на обоснованности выводов и заключений, сделанных диссертантом. В тоже время хотелось обратить внимание на следующие моменты, изложенные в диссертационном исследовании. В главе 2.2.6 автор описывает синтез соединения **40**, в котором фрагмент пурина заменен на остаток 6,7-диметоксихиназолина. Можно ли этот фрагмент рассматривать как пуриноподобную структуру?

В работе отсутствует анализ стоимости используемых реактивов, так, например, коммерчески доступный 6-хлор-7-деазапурин и используемый в работе 6-хлорпурин – какой из этих реактивов более доступный?

Основное замечание касается приведенных данных по биологической активности. Во всех таблицах с данными *in vitro* отсутствует доверительный интервал. С чем это связано, какое количество независимых повторов было проведено, насколько представленные результаты воспроизводимы? В



некоторых случаях, как в таблице 2.2 значимые цифры в результатах меняются от двух после запятой до нуля. Как правило, химиотерапевтический индекс приводится в целых числах, без использования дробных знаков, это обусловлено именно ошибкой эксперимента *in vitro*.

Данные по антигерпесной активности приведены в микромолях, в то время как данные по активности в отношении вирусов гриппа приведены в мкг/мл, что значительно усложняет анализ данных. Известно, что любые эксперименты с живыми системами зависят от множества факторов и наличие доверительного интервала необходимо для полноценного анализа. Так, например, для соединения **26b** токсичность на клетках MDCK приведена как 170 и 58.8 мкг/мл, по видимо эти эксперименты были сделаны в разное время.

Для раздела 2.3.3, посвященному изучению с использованием животной моделью было бы целесообразно привести данные на используемый препарат сравнения.

Раздел 2.3.4, посвященный изучению противогерпетической активности соединения-лидера в комбинации с известными противогерпетическими соединениями содержит крайне мало информации. Либо его надо было усилить конкретными значениями, либо, возможно, вообще убрать из текста диссертации.

Данные по противоопухолевой активности в тексте диссертации приводятся в моль/л, хотя более удобно и информативно приводить их так, как в автореферате – в мкМ.

Авторы предполагают, что мишенью противогерпетического действия соединения-лидера является большая субъединица терминазы ВПГ-1 и выносят это в выводы. Результаты молекулярной динамики показывают, что лиганд не удерживается долгое время в найденном сайте связывания. В тоже время секвенирование показало замены в ДНК полимеразе. Возможно, данное утверждение несколько преждевременное и необходимы дополнительные исследования. Однако следует заметить, что установление механизма действия крайне сложная задача и данное замечание носит дискуссионный характер.

### **Заключение**

Диссертация Воздвиженской Ольги Андреевны на тему «Биологически активные конъюгаты пурина: синтез, скрининг, потенциальные биомишени», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук, является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком уровне. Достижение поставленной в диссертационном исследовании цели сопряжено с решением целого комплекса задач, имеющих теоретическое и прикладное значение. В результате диссертантом проведен синтез новых библиотек производных пурина, проведен анализ биологических свойств



синтезированных агентов и выявлены соединения-лидеры в каждом направлении.

Диссертация и автореферат соответствуют пунктам Паспорта специальности 1.4.3 Органическая химия (химические науки): 1. Выделение и очистка новых соединений; 3. Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул; 6. Развитие систем описания индивидуальных веществ; 7. Выявление закономерностей типа «структура – свойство».

Автореферат диссертации О.А. Воздвиженской полностью соответствует тексту диссертации, отражает ее основное содержание, имеет логически грамотное построение и последовательность изложения результатов исследования.

По результатам диссертационного исследования автором опубликовано достаточное количество научных работ. Диссертационная работа удовлетворяет требованиям п.9-14 Положения о присуждении ученых степеней в УрФУ, а ее автор, Воздвиженская Ольга Андреевна, заслуживает присуждения степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 органическая химия (химические науки).

**Официальный оппонент:**

Доктор химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологически активных веществ НИОХ СО РАН

Яровая Ольга Ивановна

*Контактная информация:*

630090 г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, д. 9,  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН)

Телефон:(383)330-88-50, +7913 9094763

Факс:(383)330-97-52

e-mail: ooo@nioch.nsc.ru (Яровая О.И.)

Подпись Яровой О.И. заверяю:

Ученый секретарь НИОХ СО РАН

К.х.н. Бредихин Р.А.

«28» октября 2024 г.

