

ОТЗЫВ

официального оппонента д.х.н., проф. Михайлова С. Н. о диссертационной работе

Шерстюк Юлии Вячеславовны

«Дизайн и синтез модифицированных по β -фосфату производных АДФ –

потенциальных ингибиторов поли(АДФ-рибоза)полимеразы 1», представленной на соискание

ученой степени кандидата химических наук

по специальности 02.00.10 – биорганическая химия

Модифицированные нуклеозиды и их фосфорилированные производные играют важную роль в современной молекулярной и клеточной биологии и медицине в качестве незаменимых инструментов исследования и перспективных избирательных регуляторов клеточного метаболизма. Актуальность диссертации Шерстюк Ю. В. не вызывает сомнений, поскольку она посвящена дизайну и исследованию методов синтеза конъюгатов АДФ в качестве перспективных ингибиторов поли(ADP-рибоза)полимераз (ПАРП), что значительно расширяет возможности применения нуклеотидных производных и открывает возможность создания новой платформы для разработки новых классов ингибиторов ПАРП.

Цель работы состояла в разработке подходов к созданию производных АДФ, модифицированных по концевой фосфатной группе, в качестве потенциальных ингибиторов ПАРП 1. Работа представляет собой логично построенное и успешно выполненное исследование, основными этапами которого являются дизайн конъюгатов АДФ, оптимизация метода образования пирофосфатной связи, разработка универсального подхода к созданию библиотеки соединений, разработка метода синтеза морфолиновых аналогов нуклеозидов, определение влияния различных типов модификация по β -фосфату аденозина на ингибирующий эффект в отношении ПАРП 1.

Диссертационная работа Шерстюк Ю. В. изложена на 173 страницах машинописного текста и содержит 24 рисунка, 38 схем и 4 таблицы. Она включает в себя следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Экспериментальная часть», «Выводы» и «Список цитируемой литературы». В диссертационной работе процитировано 246 источника, работа хорошо проиллюстрирована рисунками, схемами и таблицами.

Во введении автор обозначает место своего исследования в ряду современных работ и формулирует его цели. Обзор литературы состоит из двух независимых частей. Первая часть посвящена ингибиторам ПАРП, одобренным или испытываемым для применения в клинической практике. Вторая часть содержит обзор химических способов образования

пирофосфатной связи в нуклеотидных производных. Обзор хорошо структурирован и написан с глубоким пониманием предмета обсуждения. Автор делает вывод о необходимости оптимизации синтетических подходов к образованию пирофосфатной связи.

Обзор производит хорошее впечатление и убедительно аргументирует актуальность задач диссертации, служит основанием для формулировки основных требований к конструированию библиотеки АДФ конъюгатов и решению синтетических проблем по её созданию. Вторая часть литературного обзора опубликована Sherstyuk Y.V., Abramova T.V. How to form a phosphate anhydride linkage in nucleotide derivatives // ChemBioChem. – 2015. – V. 16. – P. 2562-2570

Введение в части главы «Результаты и обсуждение» посвящено дизайну конъюгатов АДФ и обоснованности выбора ненуклеотидного и нуклеотидного остатка по β -фосфату АДФ. Первая часть главы «Результаты и обсуждение» посвящена оптимизации метода образования пирофосфатной связи в фосфорилированных производных нуклеозидов. Автором обоснованно выбрана стратегия синтеза пирофосфатных производных, а также проведена оптимизация метода синтеза на примере модельного соединения. Эффективность выбранной стратегии образования пирофосфатной связи подтверждена синтезированной библиотекой конъюгатов АДФ с достаточно высокими выходами.

Ключевой находкой настоящего исследования стало использование блочного подхода к созданию библиотеки АДФ конъюгатов, что позволило синтезировать большое количество соединений.

Следующая часть работы посвящена синтезу морфолиновых нуклеозидов. Автором предложен усовершенствованный метод синтеза морфолиновых нуклеозидов. Впервые получены 5-галогенпиримидиновые морфолиновые нуклеозиды из соответствующих 5-галогенпиримидиновых нуклеозидов.

Следует отметить общий хороший уровень диссертационной работы Ю.В.Шерстюк и хорошее представление полученных результатов в диссертации и автореферате. Всего в работе получено и охарактеризовано 98 соединений из них 82 новых. Эта большая работа отличается четкостью постановки задачи и оптимальными методами ее решения.

К замечаниям, не влияющим на общую положительную оценку работы, можно отнести следующие. Экспериментальная часть работы написана небрежно, не приводятся экспериментальные ЯМР-, масс- и УФ-спектры. Чистота полученных соединений не подтверждена данными ЖХВД. Анализ ЯМР спектров проведен поверхностно, не проведено соотнесение сигналов нуклеозидных остатков и не рассчитаны константы спин-спинового взаимодействия (КССВ) (экспериментальная часть).

Не указано, в каких условиях и на каких приборах проводилась регистрация ^1H , ^{13}C и ^{31}P ЯМР спектров (при подавлении сигналов протонов в двух последних случаях). Также пропущены важные детали эксперимента, в ряде случаев не указано в виде какой соли получены вещества. Не указана хиральность при 2'- и 6'-атомах морфолиновых производных.

Например, страница 114. Аденозин-5'-О- $[\beta$ -(3-аминопроп-1-ил)пирофосфат] (соединение 3.26, Схема 3.7). Rf 0.27 (iPrOH–конц. водн. аммиак– H_2O , 6:1:3); ^1H -ЯМР (D_2O): 8.50 (1H, с, H8-Ade), 8.24 (1H, с, H2-Ade), 6.12 (1H, д, J 5.7, H1'), 4.56–4.51 (1H, м, H2'), 4.43–4.38 (1H, м, H3'), 4.27–4.21 (2H, м, H5'), 4.08 (2H, каж.кв, J 5.8, CH_2OP), 3.17 (2H, т, J 6.6, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.01 (2H, каж.квин, J 6.1, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); ^{31}P -ЯМР (D_2O): -10.87 (д, J 19.6), -11.25 (д, J 19.6); масс-спектр ESI (m/z): [M-H]⁻ $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{O}_{10}\text{P}_2$ - вычислено 483.079; найдено 483.094.

Еще один пример ПМР спектров на странице 129, где сигналы протонов рибозного остатка обозначены как мультиплеты. На самом деле в рибонуклеозидах эти сигналы проявляются в виде дублета (1'-H), дублета дублетов (сигналы 2'-,3'-, 5'a- и 5'b-H) и самый сложный сигнал 4'-H - ддд. На современных приборах эта система легко расширяется. (T. R. Hoye, P. R. Hanson, J. R. Vyvyan. A Practical Guide to First-Order Multiplet Analysis in ^1H NMR Spectroscopy. J. Org. Chem. 1994, 59, 4096-4103). Следует отметить, что спектры ЯМР в разделе «Синтез 4'-N-триморфолиновых нуклеозидов» описаны заметно лучше.

2',3',5'-Три-О-ацетилюридин (соединение 3.153). Выход составил 98 % (9.8 ммоль, 3.63 г). Rf 0.23 (Петр. эфир–EtOAc, 1:2); ^1H -ЯМР (CD_3CN): 9.52 (1H, с, NH-Ura), 7.47 (1H, д, J 8.18, H6-Ura), 5.90 (1H, д, J 5.02, H1'), 5.68 (1H, д, J 8.09, H5-Ura), 5.37-5.27 (2H, м, H2', H3'), 4.32-4.18 (3H, м, H4', H5'), 2.04 (3H, с, CH_3), 2.03 (3H, с, CH_3), 2.01 (3H, с, CH_3); КССВ J5,6 должна быть равна J 6,5.

Полученные в работе производные аденозин 5'-дифосфата были изучены в отношении ПАРП-1 и ПАРП-2. Все соединения практически не ингибировали эти ферменты (Табл.3.1-3.4). К сожалению, в этих таблицах отсутствуют данные ингибирования этих ферментов известными соединениями. Так, например, IC50 для 3-аминобензамида составляет 60 μM . К настоящему времени найдены соединения, ингибирующие ПАРП в наномолярных концентрациях.

Приведенные замечания и недостатки не снижают общего хорошего уровня исследования, не влияют на теоретические и практические результаты диссертации и не изменяют общего хорошего впечатления от рассматриваемой работы.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений, так как они хорошо аргументированы и подтверждены экспериментальными данными, полученными с использованием современных средств и методик проведения исследований. Представленные

выводы обоснованы, соответствуют поставленным в диссертационной работе целям и в полной мере отражают объём полученного экспериментального материала.

Диссертация Шерстюк Ю. В. является законченным научно-исследовательским трудом, выполненным автором самостоятельно на хорошем научном уровне. По результатам работы опубликовано 5 статей, две из которых опубликованы в журналах с высоким импакт-фактором (1-2 квартиль) ChemBioChem и Molecular Diversity и представлены на нескольких конференциях. Автореферат и опубликованные работы достаточно полно отражают основное содержание диссертации. Работа докладывалась на нескольких конференциях.

Автореферат и публикации в полной мере отражают содержание диссертации. Выводы обоснованы, подтверждены приведенными результатами исследований. Представленная работа по значимости, новизне, объему, достигнутым результатам соответствует всем требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (с изменениями, внесенными Постановлениями Правительства РФ от 30.07.2014 № 723 и от 21.04.2016 № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Шерстюк Ю. В., заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности: 02.00.10 – биорганическая химия.

Официальный оппонент,

зав. лабораторией дизайна и синтеза биологически активных соединений

ФГБУ «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН»,

профессор, д.х.н.

Михайлов С. Н.

Подпись официального оппонента Михайлова С. Н. заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ ИМБ РАН,

к.в.н.



13.06.2018

Бочаров А. А.

Михайлов Сергей Николаевич, д.х.н., профессор, зав. лабораторией дизайна и синтеза биологически активных соединений ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН (ИМБ РАН); Россия, 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д.32; e-mail: smikh@imbr.ru