

Отзыв официального оппонента

на диссертационную работу Шерстюк Юлии Вячеславовны

«ДИЗАЙН И СИНТЕЗ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПО β -ФОСФАТУ ПРОИЗВОДНЫХ АДФ-ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ ПОЛИ(АДФ-РИБОЗА)ПОЛИМЕРАЗЫ 1»,
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности
02.00.10 – биорганическая химия

Исследование природных и модифицированных нуклеозидов, а также их фосфорилированных производных является перспективным направлением биорганической химии.

Одной из важнейших проблем при использовании химиотерапевтических антираковых препаратов является блокирование работы клеточных систем, противостоящих действию лекарственных средств. Например, воздействие цитостатиков, повреждающих ДНК опухолевых клеток, нивелируется действием систем репарации ДНК, которые удаляют химические повреждения из ДНК и восстанавливают ее нативную структуру. В связи с этим поиск ингибиторов ключевых ферментов репарации ДНК, к которым относится суперсемейство поли(АДФ-рибоза)полимераз (ПАРП), относится к важнейшим направлениям химической науки и является одним из путей создания наиболее эффективной комплексной терапии опухолевых заболеваний.

Учитывая вышесказанное, синтез новых соединений, обладающих ингибирующей активностью в отношении ПАРП представляет важную и актуальную задачу современной химии.

В настоящей работе разработан и синтезирован новый класс ингибиторов ПАРП 1, одного из самых изученных ферментов суперсемейства ПАРП, основанный на модификации концевой фосфатной группы аденозин-5'-дифосфата (АДФ). Выбор платформы АДФ для исследований обусловлен структурой субстрата ферментов семейства ПАРП – НАД⁺.

В ходе работы решались следующие задачи:

1. Осуществить дизайн и синтез производных аденозин-5'-дифосфата, содержащий по концевой фосфатной группе остатки замещенных ароматических карбоновых кислот (серия I) или морфолиновые аналоги нуклеозидов (серия II), присоединенные через алифатический линкер.

2. Осуществить дизайн и синтез серии производных аденозин-5'-дифосфата, основанной на непосредственном связывании АДФ и остатка морфолинового нуклеозида (серия III).
3. Оценить влияние различных типов модификаций миметиков никотинамиднуклеозного фрагмента в сериях I-III на ингибирующее действие производных аденозин-5'-дифосфата, модифицированных по концевой фосфатной группе в реакции автополи(АДФ-рибозил)ирования ПАРП 1.

Текст диссертации изложен на 173 страницах, содержит 4 таблицы, 24 рисунка и 38 схемы. Работа представлена в классическом стиле и состоит из введения, обзора литературы, обсуждения полученных результатов, экспериментальной части, выводов и списка литературы, включающего 246 наименований.

Детально структурированный и хорошо изложенный **литературный обзор** представлен двумя главами. **Первая глава** посвящена ингибиторам ПАРП 1, которые на сегодняшний день находятся на различных фазах клинических испытаний, а также одобренные для применения в клинической практике. В обзоре литературы отражены сведения об особенностях строения данных соединений, а также проведен анализ взаимосвязи «структура – активность». **Вторая глава** посвящена химическим способам образования пирофосфатной связи в нуклеотидных производных. Рассмотрены методы формирования связи как активацией 5'-гидроксильной группы углеводного остатка нуклеозидов (неорганические и органические соединения фосфора), так и методы активации фосфатной группой в нуклеотидах (имидазольной группой, морфолином и пиперидином, карбодиимидами и т.д.). Материал второй главы опубликован как обзор в соавторстве в журнале ChemBioChem.

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

В первом разделе был осуществлен синтез модельного соединения, отработана методика активации фосфатной связи как активацией гидроксильной группы нуклеозида, так и активацией фосфатной группы нуклеотида (имидазолиновыми производными). Показано, что второй путь является предпочтительным, поскольку позволяет получать необходимый пирофосфат с хорошим выходом, а непрореагировавшие исходные монофосфаты можно повторно использовать в реакциях.

Второй раздел посвящен отработке метода получения конъюгата АДФ с линкерами, содержащими аминогруппу, а также синтезу соединений серий I и II - миметиков НАД⁺: в соединениях серии I фрагмент никотинамида заменен на различные ароматические карбоновые кислоты, а фрагмент рибозы – на алифатические линкеры; в конъюгатах серий II

никотинамидорибозид заменен на морфолиновые аналоги нуклеозидов, присоединенные к β -фосфату АДФ через алифатический линкер и оксалатный фрагмент по 2'-аминометильной группе (серия IIa) и на фрагмент уксусной кислоты по атому азота морфолинового кольца (серия IIб).

В третьем разделе представлен синтез конъюгатов серии III, в которой морфолиновые аналоги нуклеозидов, в том числе и галогензамещенных нуклеозидов, присоединены к β -фосфату АДФ по 2'-амино или 2'-гидрокси метильной группе.

В четвертом разделе приведены результаты исследований серий синтезированных соединений в отношении ингибирования реакции автополи(АДФ-рибозил)ирования ПАРП 1 (серии соединения I-III) и ПАРП 2 (серия соединений III), и анализ «структура -активность». Установлено, что полученные авторами миметики НАД⁺ являются умеренными ингибиторами исследуемых ферментов репарации ДНК (IC_{50} 40-400 мкМ). Наиболее ярко себя проявили соединения серии III, содержащие морфолиновые аналоги нуклеозидов, связанные с аденозином пирофосфатной связью без дополнительного линкера.

Полученные результаты демонстрируют практическую ценность данной работы, с точки зрения перспективности развития данного направления и, возможно, последующего выхода на лекарственные агенты.

Экспериментальная часть диссертации содержит подробное описание всех экспериментов и детальные характеристики полученных соединений, с использованием физико-химических методов (масс-спектрометрии MALDI и ESI; ЯМР спектроскопия 1H , ^{13}C , ^{31}P и ^{19}F).

Выводы диссертации основываются на полученных результатах и сомнений не вызывают.

В процессе прочтения к диссертации и автореферату работе появились следующие вопросы и замечания.

- 1) При получении соединений серии I использовался большой ряд ароматических кислот, содержащих различные функциональные группы (амино, гидрокси и т.д.). Оказывают ли эти группы влияние конечный результат превращений (скорость реакции, выходы продуктов и т.д.)?
- 2) Анализируя структуры соединений серии IIa и IIб, можно увидеть, что меняется два параметра: природа линкера (остаток щавелевой кислоты и уксусной кислоты), а также место присоединения к морфолиновому фрагменту соответствующего нуклеозида. Объединение этих подгрупп в одну группу несколько затрудняет понимание логики изложения материала.

- 3) При описании синтеза морфолиновых нуклеозидов, автор указал, что морфолиновый цикл является основанием Шиффа (стр.75). Однако, согласно определению, основания Шиффа - это имины, общей формулы $R_2C=NR'$ ($R' \neq H$). Поэтому использование в данном случае термин «основание Шиффа» считаю некорректным.
- 4) В описании синтеза конъюгатов серии I и III, отсутствуют данные о выходах соединений, из физико-химических характеристик приведены только масс-спектры. Для соединений серий IIa и IIб также приведены только масс-спектры.
- 5) В части, где представлены данные по ингибированию ПАРП, отсутствуют данные по ингибированию фермента контрольными соединениями, что не позволяет сделать адекватную оценку активности полученных конъюгатов. Считаю, что в представленной работе использование двух референсных соединений: НАД⁺ (поскольку полученные в ходе работы соединения являлись миметиками последнего) и известного соединения -ингибитора ПАРП, - более полно отражало бы результаты исследований. Биологические данные по серии I представлены в графическом виде, что несколько затрудняет сравнение их активности с активностью соединений других серий.

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 13 тезисов докладов, 3 экспериментальные статьи и 1 обзор в российских и международных научных журналах, входящих в список изданий, рекомендованных ВАК РФ, рецензируемых и индексируемых в признанных международных системах цитирования. Выводы к работе соответствуют поставленной цели и решаемым задачам, подкреплены детальным описанием выполненных экспериментов.

Диссертационная работа Шерстюк Юлии Вячеславовны «ДИЗАЙН И СИНТЕЗ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПО β -ФОСФАТУ ПРОИЗВОДНЫХ АДФ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ ПОЛИ(АДФ-РИБОЗА)ПОЛИМЕРАЗЫ 1» 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 биоорганической химии, а именно расширение спектра применения как природных, так и модифицированных нуклеозидов для синтеза конъюгатов обладающих ценными биологическими свойствами. 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, Шерстюк Юлия Вячеславовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.

Официальный оппонент,

к.х.н., с.н.с. Лаборатории физиологически-активных веществ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН).

630090, г.Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева 9

телефон, e-mail (оппонента): +7(383)3308870, ana@nioch.nsc.ru

/Саломатина О.В./

Подпись Саломатиной О.В. заверяю

Ученый секретарь НИОХ СО РАН, к.х.н.



/Бредихин Р.А./

7 июня 2018 г.