

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу **Загитова Вадима Венеровича** "Синтез и биологическая активность новых простаноидов J,E-типа из клопростенола", представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. Органическая химия

Простагландины (эйкозаноиды) являются структурными аналогами простановой кислоты. О биосинтезе простагландинов впервые независимо сообщили Бергсторм и ван Дорп с соавторами. Ими было показано, что некоторые ω -6-ненасыщенные жирные кислоты являются биологическими предшественниками простагландинов. Более поздние работы этих ученых были посвящены изучению биосинтеза простагландинов разных серий. Двумя наиболее широко используемыми путями синтеза простагландинов являются 1) циклопентиллактонный путь Кори и 2) бициклогексановый путь. В организме активность эйкозаноидов значительно различается от числа двойных связей в молекуле, которое зависит от строения исходной жирной кислоты.

В связи с высокой нестабильностью природных простагландинов в основной и кислой средах разработаны различные химически стабильные молекулы, которые пригодны для применения в качестве лекарственных препаратов. Исследования метаболизма и катаболизма различных простагландинов *in vitro* и *in vivo* показали, что они быстро метаболизируются и у животных, и у человека. Изменение структурных блоков молекулы простагландина, например, ω -цепи, позволяет значительно увеличить общую стабильность молекулы, а значит и увеличить интенсивность биологического воздействия. Простагландины оказывают широкий спектр биологического воздействия на репродуктивную, желудочно-кишечную, дыхательную и сердечно-сосудистую системы животных и человека и поэтому находят применение во многих отраслях медицины, таких как терапия язвенной болезни (простагландины F- и E-типа), в офтальмологии при лечении глаукомы (ω -арилокси и F-замещенные простагландины), лечении сердечно-сосудистых болезней (простаглицлины) и в акушерстве (простагландины F- и E-типа). Простагландины широко используются при индукции родов и терапевтических аборт, тем самым, контролируя репродуктивные функции у человека и животных. Основными биологическими эффектами простагландинов являются увеличение, либо уменьшение циклического АМФ, ингибирование АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов, снижение артериального давления у животных, влияние на липидный и углеводный обмен.

В последние десятилетия активно ведутся работы по изучению цитотоксичности кросс-сопряженных циклопентеновых простагландинов, которые достаточно устойчивы

в биологических средах и рассматриваются как перспективные лекарственные агенты. Стоит отметить, что большинство методов синтеза простагландинов, разработанных ранее, в основном, используются для получения целевой молекулы из простых исходных составляющих, тогда как только очень небольшое количество работ описывают превращения простагландинов от одного вида к другому. Следовательно, данный раздел химии простагландинов является малоизученным и, тем самым, открывает широкие возможности для исследовательской деятельности. Диссертационная работа Загитова Вадима Венеровича, посвященная получению новых простагландинов из клопростенола и исследованию их биологической активности, безусловно, отличается высокой **актуальностью и практической значимостью**.

Автором сформулирован и успешно решен ряд научно-исследовательских задач фундаментального и прикладного характера. **Научная новизна** представленного исследования заключается в разработке и оптимизации методов модификации молекулы простагландина, таких как: 1) направленная защита определенных гидроксильных групп; 2) синхронное отщепление метансульфокислоты из 9 положения, при окислении гидроксила в 11 положении молекулы; 3) реакция сдвига Δ^{13} двойной связи с получением кросс-сопряженной системы; 4) получение фторзамещенных аналогов действием DAST. Таким образом в ходе диссертационной работы разработаны методы направленного многостадийного перехода от клопростенола к его PGE₂ аналогу (5 стадий); 8 α -F, 8 β -F и 9 β -F аналогам (5 стадий); 11-дезоксид- $\Delta^{8,9}$ аналогу (4 стадии); Δ^{12} -PGJ₂ и Δ^{12} (E)-PGJ₂ аналогам (9 стадий); 15-дезоксид- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂ аналогу (10 стадий).

Важно, что в ходе исследования, среди синтезированных соединений были выявлены несколько соединений с ярко выраженной профильной биологической активностью (метилловый эфир PGE₂ и 15-дезоксид- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂ аналоги клопростенола).

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы Загитова Вадима Венеровича состоит в установлении возможности направленного синтетического перехода от простагландина PGF_{2 α} типа к простагландинам PGE₂, PGJ₂ и Δ^{12} -PGJ₂. Исследованы и оптимизированы стадии, позволяющие модифицировать скелет молекулы простагландина.

Структура диссертации, её содержание. Диссертационная работа Загитова В.В. построена стандартным образом и состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, заключения, выводов, списка сокращений, списка литературы и 3 приложений. Работа изложена на 142 страницах машинописного текста, включает 46 схем, 22 рисунка, 9 таблиц и 3 приложений с данными биологических

испытаний. Список использованной литературы содержит 84 ссылки на работы российских и зарубежных авторов.

Во введении раскрыта актуальность темы, определены цели и задачи исследования, сформулированы научная новизна и практическая значимость работы, положения, выносимые на защиту, обоснование достоверности полученных результатов и сведения об апробации диссертации на конференциях различного уровня, ее структуре и публикациях по теме диссертации.

В первой главе представлен хорошо структурированный, достаточно подробный аналитический обзор научной литературы, касающийся направленного синтеза и биологической активности простагландинов разных типов. Обзор дает ясную картину основных достижений в области синтеза и исследований биологической активности простагландинов за последние 10 лет. Состоит из 6 главных разделов и заключения. В разделах последовательно изложены вопросы биосинтеза природных простагландинов, биологической активности природных и синтетических простагландинов, синтеза практически важных простагландинов с ароматическим фрагментом и синтетические подходы к кросс-сопряженным циклопентеноновым простагландинам.

Во второй главе, состоящей из 4 разделов, описаны рабочие условия проведения экспериментов, поэтапно раскрыто получение различных аналогов клопростенола для терапии глаукомы, использования в гинекологии и терапии онкологических заболеваний. Так в первом разделе описывается получение возможных антиглаукомных агентов – F-замещенных аналогов клопростенола, действием реагента DAST на подготовленный 11,15-дизащищенный блок. Описывается аномальный характер превращения и предполагается его механизм. Второй подраздел посвящен получению PGE₂ аналогов клопростенола – кислоты и ее эфира – возможных веществ для применения в гинекологии. В третьем разделе описывается синтетический путь от клопростенола к его кросс-сопряженным циклопентеноновым аналогам. В данном разделе подробно рассматривается вопрос дифференциации гидроксильных групп исходной молекулы, наведения целевого циклопентенонового кора, сдвига Δ^{13} -двойной связи в общую для молекулы систему кросс-сопряжения и выделения целевых соединений без защитных групп. Стоит отметить, что все синтетические изыскания сопровождаются данными по изучению профильной биологической активности полученных соединений.

В третьей главе содержится подробное описание разработанных методов модификации молекулы клопростенола, и приведены данные, необходимые для анализа и

понимания полученных автором результатов, что вполне достаточно для заключения о **достоверности** полученных научных результатов и их обсуждения.

Диссертация завершается заключением, содержащим обобщение полученных результатов и выводами, отвечающими поставленным задачам диссертационной работы.

Диссертационное исследование представляет собой завершённую работу, выполненную на высоком уровне. Поставленная автором **цель достигнута, все задачи успешно решены.**

Представленные в работе **научные положения и выводы** являются **обоснованными**. **Автореферат** лаконичен и логично структурирован, в полной мере отражает структуру и содержание диссертации. По материалам работы опубликовано 5 статей, из них 4 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, и входящих в международные базы цитирования Web of Science и Scopus, тезисы 4 докладов на международных и всероссийских конференциях.

Работа оформлена на высоком методическом и синтетическом уровне. Тем не менее, в ходе прочтения диссертации и автореферата возникли следующие **вопросы и замечания**:

1. В гл. 2.1.1. при описании эксперимента с введением атома фтора с помощью реагента DAST указано, что реакцию проводили в CH_2Cl_2 , при температуре -78°C с постепенным подъёмом (~ 1 ч) до комнатной. При этом наблюдалось образование значительного количества побочных продуктов. Предпринимались ли попытки увеличить выход целевых фторпроизводных, например, заменой растворителя или проведением реакции в более мягких условиях при температуре не выше 0°C ?
2. Не проводился ли эксперимент по получению гем-дифторпроизводных с применением реагента DAST на основе кетопроизводного **16**, синтезированного в гл. 2.2.1.?
3. При исследовании антитромбоцитарной активности тромбоциты получали от здоровых добровольцев. Где происходил набор здоровых добровольцев и как определялось здоровье этих добровольцев? Известно, что в человеческой популяции существует большое количество индивидов, у которых агрегация тромбоцитов, точнее время этой агрегации варьирует в достаточно широких пределах, как в сторону уменьшения (т.е. удлинения времени агрегации), так и в сторону увеличения. Также, даже при однократном приеме здоровым добровольцем таблетки ацетилсалициловой кислоты в течении трех дней агрегация тромбоцитов будет резко замедлена из-за полной блокады циклооксигеназы I и II в тромбоцитах. Применялся ли какой-либо опросник для

учета таких случаев при наборе образцов тромбоцитов у здоровых доноров для контроля?

4. Таблица 2.3 Данные цитотоксичности кросс-сопряженных аналогов клопростенола. Внизу под таблицей написано, что у природной конфигурации хиральных соединений **41-44** цитотоксичность ожидаемо будет в 2-5 раз выше, чем для приведенных рацематов. Почему Вы так думаете?
5. Таблица 2.4 – Цитотоксичность соединений **45** и **46**. Утверждение «.....при сравнительном анализе соединений нативного **45** и изомерного **46** строения видно, что вещество с природной конфигурацией углеродного скелета оказывается более токсичным по отношению к линии клеток НЕК293 и в общем оказывается более токсичным по отношению к раковым линиям, по сравнению со своим изомером.....». не совсем верно, поскольку значение цитотоксичности соединения **46** по отношению к условно-нормальной линии НЕК293 составляет 34.39 ± 0.57 , то есть оно наоборот менее токсично для линии НЕК293, чем, например, для линии MCF (33.21 ± 1.04), то есть, другими словами, чтобы получить половинную летальную дозу для НЕК293, нужно большее количество вещества, чем для линии MCF.
6. Вы очень часто используете в своей работе аббревиатуру IC_{50} , однако гораздо более правильным было бы использование CC_{50} . IC_{50} , или концентрация полумаксимального ингибирования, — показатель эффективности лиганда при ингибирующем биохимическом или биологическом взаимодействии, который показывает, сколько нужно лиганда-ингибитора для ингибирования биологического процесса на 50 %. В данной диссертационной работе нет описания ингибирования ферментативных или каких-либо других процессов с участием лиганд-рецепторного взаимодействия. 50%-ная концентрация цитотоксичности (CC_{50}) — это концентрация тестируемых соединений, необходимая для снижения жизнеспособности клеток на 50%. В тестах на цитотоксичность используется серия возрастающих концентраций противовирусного продукта, чтобы определить, какая концентрация приводит к гибели 50 процентов клеток-хозяев. Это значение представляет собой среднюю концентрацию клеточной цитотоксичности и определяется как 50% цитотоксичная концентрация (CC_{50}). Таким образом, в диссертации, по сути, фигурирует показатель CC_{50} , который ошибочно маркируется IC_{50} .

Отмеченные вопросы и замечания не носят принципиального характера и не снижают ценности и высокой положительной оценки диссертационной работы, квалификации, роли и вклада ее автора. Диссертационная работа Загитова Вадима Венеровича по актуальности решаемой проблемы, объему проведенных исследований, уровню научной значимости **соответствует** требованиям п. 1 «Выделение и очистка новых соединений», п. 2 «Открытие новых реакций органических соединений и методов их исследования», п. 3 «Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул» паспорта специальности 1.4.3 Органическая химия и решает одну из основных задач органической химии.

На основании проведенного анализа можно заявить, что по своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости полученных результатов представленная диссертационная работа удовлетворяет требованиям, установленным пп. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (в действующей редакции), а ее автор, Загитов Вадим Венерович заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. Органическая химия.

Официальный оппонент

Дьяконов Владимир Анатольевич

30 января 2024 года

доктор химических наук по специальностям 02.00.03 – «Органическая химия» и 02.00.15 – «Кинетика и катализ», доцент, профессор РАН, ведущий научный сотрудник, руководитель Группы 25 «Лаборатория металлоорганического синтеза и катализа» Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук» (ИОХ РАН)

Почтовый адрес:

119991, г. Москва, Ленинский проспект, 47, ИОХ РАН

Тел.: +7 499 137-29-44

e-mail: DyakonovVA@ioc.ac.ru

Подпись В.А. Дьяконова заверяю:
Зам. директора ИОХ РАН

