

ВІДГУК
офіційного опонента
на дисертацію Антоніни Валеріївни Попової
“Синтез та властивості аналогів природних ауронів”,
подану на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук
за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія

Дисертаційну роботу А.В. Попової присвячено розробці нових методів синтезу й модифікації природних ауронів та їхніх аналогів, а також дослідженню біологічної активності отриманих сполук.

Актуальність теми дисертації не викликає сумнівів. Аурони належать до флавоноїдів і за своєю структурою є аналогами хромонів, у яких 6-членний пірановий цикл замінено на 5-членний фурановий. Подібно до широко вивчених хромонів, аурони є перспективним класом сполук, що володіють значною біологічною активністю й цінними фармакологічними властивостями. Це, зокрема, антиоксидантна, протипухлинна, протимікробна та противірусна дія. Крім аналогії з хромонами, ядро ауронів є ізостером пурину, що лежить в основі багатьох типів їхньої біологічної активності, пов'язаних, наприклад, з АТФ-залежними ферментами. В той же час, аурони значно менш досліджені порівняно з іншими флавоноїдами. Незважаючи на певні досягнення в сфері синтезу ауронів та їхніх похідних, існує потреба в розробці нових зручних та препаративних методик отримання сполук цього класу. Важливу проблему синтезу й модифікації таких сполук із потенційною терапевтичною дією й досліджено в даній дисертації.

Роботу виконано в безпосередньому зв'язку з науковою тематикою відділу хімії біоактивних азотовмісних гетероциклічних основ Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України.

Дисертація побудована за традиційною схемою і складається зі вступу, 5-ти розділів, висновків і переліку цитованої літератури, а також додатку. Її обсяг досить великий (194 с. тексту, в т.ч. 166 с. без списку літератури й додатку).

Літературний огляд (розділ 1) присвячено проблемам хімічного синтезу ауронів. Основну його частину займає узагальнення літературних даних стосовно різних методів отримання ауронів (з халконів, бензофуранонів та ін.) та їхньої функціоналізації. Значну увагу в огляді приділено розгляду хімічних властивостей природних ауронів та їхніх аналогів. Огляд добре структурований і є достатньо повним, охоплюючи літературу до кінця 2017 р. Він справляє хороше враження і свідчить про добре знайомство дисертанта зі своєю сферою досліджень. Список літератури справді об'ємний і містить 224 найменування (5 із них – включені в загальний список статті автора за темою дисертації).

Основну частину роботи (розділи 2-5) присвячено питанням розробки нових методів синтезу похідних і аналогів ауронів з різними типами замісників та фармакофорних груп, дослідженню їхніх хімічних трансформацій і біологічної активності в модельних тест-системах.

Коротко зупинимося на основних досягненнях дисертаційної роботи.

На першому етапі було запропоновано зручні препаративні методи синтезу ряду відносно простих типів заміщених ауронів, таких як 6-гідрокси- та 4,6-дигідроксиаурони та їхні аналоги, 2'- і 4'-карбоксіяурони, що надалі служили вихідними синтонами для отримання складніших структур.

Автором реалізовано кілька шляхів модифікації ауринового ядра, які ґрунтуються передусім на реакціях амінометилування ауронів та перетвореннях відповідних основ Манніха.

Розроблено спосіб регіоспецифічного амінометилування 6-гідроксиауронів з використанням аміналів амінів, яке спрямовується в положення С-7, а також подвійного амінометилування з утворенням 5,7-біс-амінометильних похідних.

Важливе значення для органічного синтезу мають запропоновані методи модифікації ауронів з використанням отриманих основ Манніха. Зокрема, їхнє застосування дає можливість вводити ацетокси- та метокси-метильні групи в бензофурановий фрагмент.

Особливо цікавими з хімічного погляду, на нашу думку, є розділи роботи, присвячені синтезу нових гетероциклічних систем, що містять ауриновий фрагмент. Так, взаємодія основ Манніха з енамінами дозволила вперше отримати ряд досить складних полігетероциклічних систем на основі бензофуранонового ядра ауруну, а також гібридні сполуки, що містять ауриновий та хромоновий фрагменти, з'єднані через метиленову групу.

В цьому ж контексті запропоновано використовувати 7-функціонально заміщені ауриони для алкілювання N-вмісних гетероциклів. На основі цього підходу вдалося розробити ефективні методи синтезу ауринометильних похідних деяких гетероциклів.

Розглянуті вище синтетичні підходи дають можливість кон'югації в одній молекулі двох біоактивних фрагментів, у т.ч. з різними типами біологічної активності. Це важливо для створення новітніх лікарських засобів комплексної дії, яку спрямовано на модуляцію активності одночасно кількох молекулярних мішеней (т.зв. мультитаргетна терапія).

В дисертаційній роботі синтезовано велику кількість нових сполук, які повністю охарактеризовано; їхню будову підтверджено за допомогою відповідних фізико-хімічних методів.

Дуже важливою та цікавою частиною даної роботи є дослідження деяких аспектів біологічної активності отриманих сполук *in vitro*, в першу чергу протипухлинної. Відповідні дані наведено в розділі 4 – найменшому за розміром,

та не за значенням. Серед аналогів природних ауронів ідентифіковано речовини, що виявляють цитотоксичну дію в культурах пухлинних клітин, зокрема, щодо клітин раку простати лінії PC-3 та раку товстої кишки людини лінії LS174T в концентраціях порядку 1-10 мкМ. Це в першу чергу гідрокси-похідні ауронів. Результати біологічного скринінгу свідчать про значний потенціал цих сполук як протипухлинних засобів.

Показано також, що похідні 4'-карбоксиаурону в мікромолярних, а деякі навіть у наномолярних концентраціях ефективно інгібують активність фермента ксантинооксидази з IC_{50} у межах 46 нМ – 3.84 мкМ. Цей важливий фермент є клітинною мішенню для антиоксидантних препаратів, призначених, зокрема, для терапії гіперурекемії та подагри. Висока біологічна активність сполук даного ряду (знайдено 6 речовин з IC_{50} в наномолярному діапазоні, таблиця 4.2) робить їх дуже перспективними для дизайну на їхній основі нових непуринових інгібіторів ксантинооксидази. Важливо, що аналіз залежності “структура–активність” уже дозволив зробити певні висновки щодо структурних елементів, які визначають біологічну активність інгібіторів на основі ауронів.

Слід зазначити, що перед нами досить складна комплексна робота, яку виконано на справді високому рівні, з використанням арсеналу сучасних методів досліджень. Крім синтетичних методів біоорганічної хімії, в роботі широко використовувались спектроскопічні методи. Це, зокрема, ЯМР-спектроскопія (відзначимо застосування в структурному аналізі різних варіантів 2D-ЯМР, у т.ч. з гетероядерною кореляцією), ІЧ-спектроскопія, мас-спектроскопія. При цьому об'єктами дослідження були сполуки, часто досить складні за своєю структурою. Безумовно, синтез і підтвердження будови подібних сполук вимагає високого рівня підготовки. Для пошуку біоактивних сполук використовувались методи біологічного скринінгу в клітинних культурах і ферментативних системах *in vitro*.

Отримані цікаві результати відзначаються безумовною науковою новизною. Автором розроблено ряд ефективних методів отримання аналогів природних ауронів, у т.ч. введення в різні положення фармакофорних фрагментів. Ці методи, про які йшлося вище, відкривають можливості дизайну та синтезу нових, часто важкодоступних сполук із потенційною біологічною активністю. На наш погляд, у цьому контексті особливо цікавою є досягнута автором можливість отримання складних полігетероциклічних систем, що містять ауруновий фрагмент, зокрема, сполук типу аурон-хромонових гібридів.

Робота має й очевидне практичне значення. Звичайно, розроблені методи синтезу та модифікації ауронів важливі для органічної та біоорганічної хімії гетероциклічних сполук, оскільки дозволяють отримувати нові речовини в препаративному масштабі. Разом з тим, у результаті проведених досліджень знайдено нові біологічно активні сполуки на основі ауронів. До них належать нові інгібітори ксантинооксидази з антиоксидантною дією, ефективні в наномолярних

концентраціях, а також сполуки з високою антипроліферативною активністю. Серед останніх слід відзначити перспективні похідні, протипухлинна дія яких на порядок вища, ніж у класичного клінічного препарату цисплатину.

Отже, у представленій дисертаційній роботі отримано цілий ряд нових, актуальних наукових і науково-практичних результатів. На нашу думку, мета дослідження, сформульована автором, успішно досягнута.

Звичайно, робота не позбавлена й певних недоліків, серед яких можна відзначити наступні.

Розділ 4 дисертації присвячений дослідженню біологічної активності отриманих сполук ряду ауронів. На жаль, роботі не вистачає огляду літературних даних щодо спектру біологічних властивостей сполук даного класу, в ній це важливе питання розглядається лише побіжно.

В роботі отримано цікаві дані щодо біологічної активності сполук, проте ніде не вказано жодних деталей того, як саме проводили дослідження в культурах клітин та в ферментативній тест-системі на основі ксантиноксидази, як визначали величини IC_{50} препаратів, тощо.

В тексті роботи говориться про антипроліферативну дію ряду речовин у концентрації 10 мкМ, що в деяких випадках зберігається і при 1 мкМ. У висновку б просто зафіксовано, що деякі сполуки виявляють високу біологічну активність. Насправді ж результати значно сильніші, про що свідчать величини IC_{50} – найважливішого показника біоактивності (таблиця 4.1). Правильніше говорити про те, що знайдено сполуки, активні в низьких мікромольних концентраціях, у т.ч. 3 речовини з IC_{50} у межах 3.7–8.8 мкМ, а одна похідна виявляє активність у субмікромольному діапазоні ($IC_{50} = 0.74$ мкМ). Аналогічно, у висновках було доречно прямо навести значення IC_{50} для інгібування ксантиноксидази, адже ці результати справді серйозні (6 сполук з IC_{50} в межах 46-80 нМ!)

Як приклад практичного значення результатів наводиться можливість використання похідних ауронів для отримання спеціальних полімерів. Це справді важливо, але в самій дисертації ця тема безпосередньо й детально не вивчалася, відповідні дані згадуються в кількох місцях, та лише досить поверхово.

В роботі широко використовували хромато-мас-спектрометрію, проте не наводяться повні деталі проведення аналізу.

Деякі аббревіатури, такі як IC_{50} , API (іонізація при атмосферному тиску), ES (електроспрей), варто було додатково розшифрувати.

Дисертація і автореферат написані гарною мовою, і ми зустрічаємо мало стилістичних і синтаксичних огріхів, на яких, на наш погляд, не варто зупинятися.

Вказані вище недоліки не носять принципового характеру, є переважно технічними й жодним чином не впливають на висновок про загальний високий рівень представленої дисертації.

Результати роботи повністю опубліковані у фахових виданнях. При цьому чотири з п'яти статей вийшли друком у хороших міжнародних журналах, серед яких у першу чергу *Bioorganic and Medicinal Chemistry* (видавництво Elsevier, імпакт-фактор 2.881), а також *Chemistry of Heterocyclic Compounds* (видавництво Springer, імпакт-фактор 1.201) та *Chemistry of Natural Compounds* (Springer, імпакт-фактор 0.450). Ці серйозні публікації підтверджують високий рівень дисертаційної роботи й отриманих результатів. Крім цього, результати роботи доповідалися на численних представницьких наукових конференціях, значна частина з яких – міжнародні.

Дисертація і автореферат добре оформлені. Висновки роботи обґрунтовані, стислі, чітко сформульовані та висвітлюють основні результати, отримані дисертантом. Зміст автореферату повністю відповідає змістові дисертації та відображає її основні положення. Достовірність результатів роботи, отриманих із використанням адекватних сучасних методів досліджень, не викликає жодних сумнівів.

Таким чином, у роботі на високому експериментальному й теоретичному рівні досліджено проблеми синтезу та біологічних властивостей нових похідних і аналогів ауронів. Значний обсяг виконаних досліджень, безумовна наукова новизна і практичне значення отриманих результатів свідчать про те, що представлена до захисту дисертація є завершеною науковою працею на актуальну тему та становить вагомий внесок у біоорганічну та органічну хімію загалом і в хімію ауронів зокрема.

Підсумовуючи, вважаю, що дисертаційна робота “Синтез та властивості аналогів природних ауронів” цілком відповідає всім сучасним вимогам, що висуваються до кандидатських дисертацій, а її автор, Антоніна Валеріївна Попова, повністю заслуговує на присвоєння наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія.

Офіційний опонент:

завідувач відділу синтетичних біорегуляторів
Інституту молекулярної біології та генетики
НАН України, доктор хімічних наук

І.Я. Дубей

