

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Филимонова Александра Сергеевича «Дизайн и синтез производных усниновой кислоты в качестве ингибиторов тирозил-ДНК-фосфодиэстераз 1 и 2, ферментов репарации ДНК человека», представленную на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.3. Органическая химия, 1.4.16. Медицинская химия

Актуальность темы исследования.

Онкологические заболевания входят в тройку наиболее распространенных заболеваний в мире и, к сожалению, часто становятся причиной летального исхода. В этой связи чрезвычайно актуально создание высокоэффективных инновационных отечественных противоопухолевых препаратов. Большинство типов злокачественных клеток имеют либо нарушения в механизмах ответа на повреждения ДНК, либо, наоборот, чрезмерно активные механизмы репарации ДНК. Значительному числу ДНК-повреждающих агентов, используемых в современных методах лечения, противостоит широкое разнообразие путей ответа опухолевых клеток на повреждение ДНК. Поиск ингибиторов важных ферментов и факторов репарации ДНК относится к перспективным направлениям современной фармакологии и является одним из путей создания эффективной терапии онкологических заболеваний, особенно для борьбы с лекарственно-устойчивыми опухолями. Такие соединения должны быть способны ингибировать функции ключевых ферментов репарации ДНК, что существенно усилит эффективность традиционных методов лечения. Тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1 и 2 являются перспективными мишенями для лечения онкологических заболеваний, поскольку играют ключевую роль в удалении повреждений ДНК, образующихся при действии широко используемых в антираковой терапии соединений группы камптотецина (иринотекан и топотекан). Сочетание противоопухолевых препаратов и ингибиторов тирозил-ДНК-фосфодиэстераз, в том числе дуального действия, может существенно повысить эффективность химиотерапии.

Значительный интерес представляют производные вторичного метаболита лишайников усниновой кислоты, высокая ингибирующая активность соединений этого класса в отношении тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1 подтверждена в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Однако, отсутствие данных о влиянии структуры ингибитора на величину эффекта и на токсичность соединений делает актуальным исследование, посвящённое синтезу на основе усниновой кислоты новых соединений, оценке их ингибирующих свойств тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1 и 2 и выявлению взаимосвязи структура-активность. Таким образом, диссертационная работа Филимонова Александра Сергеевича, целью которой является синтез новых производных усниновой кислоты, направленно модифицированных введением фрагментов различного структурного типа; изучение взаимосвязи между химической структурой полученных соединений и биологической активностью, безусловно, **актуальна и практически значима.**

Общая структура и апробация работы.

Представленная диссертационная работа изложена на 158 страницах машинописного текста и содержит 86 схем, 14 рисунков и 31 таблицу. Работа построена

традиционно и состоит из списка используемых сокращений, введения, обзора литературных данных (Глава 1), обсуждения результатов (Главы 2), экспериментальной части (Глава 3), результатов и выводов, а также списка цитируемой литературы (139 литературных источников) и 9 приложений. Основное содержание диссертационного исследования изложено в 8 статьях в журналах, входящих в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК РФ и индексируемых международными библиографическими базами данных (Scopus, Web of Science). Полученные результаты были доложены на 14 конференциях различного уровня.

Литературный обзор.

В первой главе обобщены известные методы модификации усниновой кислоты. В целом, данная глава достаточно полно отражает текущее состояние исследований в этой области и позволяет автору выделить реакционноспособные структурные фрагменты и сделать обоснованный выбор направления химических модификаций, позволяющих получать новые производные усниновой кислоты.

Содержание работы и её научная новизна.

Вторая глава посвящена обсуждению собственных результатов. Здесь автором приведены основные результаты проведённого исследования. Так, автором синтезирован широкий ряд новых замещённых гидразонотиазолов на основе (+)- и (-)-усниновых кислот. Впервые синтезирован ряд тиазолов на основе усниновой кислоты, содержащих амидный или карбамидный заместитель в тиазольном кольце. Исходя из монотерпеновых аминов на основе усниновой кислоты синтезирован ряд новых енаминов по положению C¹¹. Разработан новый подход к синтезу производных усниновой кислоты, содержащих енаминную группу при C¹ атоме углерода. Предложен подход к синтезу, а также синтезированы первые представители нового класса производных усниновой кислоты, модифицированные как по кольцу А (гидразонотиазольный заместитель), так и по кольцу С (енаминная группа или аннелированный пиразольный цикл). В качестве потенциальных ингибиторов TDP2 синтезирован ряд новых сульфидов, сульфоксидов, а также сульфонов на основе усниновой кислоты, содержащих гетероциклический заместитель при атоме серы. Среди синтезированных соединений выявлены высокоэффективные низкотоксичные ингибиторы TDP1. Показано, что в ряду гидразоно- и амидотиазолов ингибирующая активность по отношению к TDP1 зависит от структуры заместителя в тиазольном цикле, а в ряду терпеноенаминов несущественно зависит от структуры терпенового заместителя. Выявлены дуальные ингибиторы TDP1 и TDP2 в ряду производных усниновой кислоты класса сульфидов, гидразонотиазолов и производных, сочетающих гидразонотиазольный фрагмент с конденсированным с кольцом С пиразольным циклом. Выявлены структурные модификации усниновой кислоты, ведущие к повышению ингибирующей активности по отношению к тирозил-ДНК-фосфоэстеразам 1 и 2 и снижению собственной цитотоксичности соединений.

Совокупность этих исследований и впервые проведенных превращений обеспечивает **научную новизну работы**. Достоверность результатов и выводов не вызывает сомнения, так как они базируются на качественном экспериментальном материале, обеспеченном широким и квалифицированным использованием большого

арсенала физических методов, применяемых в органической химии (ЯМР ^1H , ^{13}C -спектроскопия, рентгеноструктурный анализ, масс-спектрометрия высокого разрешения).

Практическая значимость работы заключается в разработке подходов к синтезу ранее не известных классов производных усниновой кислоты, с использованием которых могут быть получены библиотеки новых биологически активных соединений. Выявлены закономерности взаимосвязи структуры производных усниновой кислоты с их ингибирующей активностью в отношении тирозил-ДНК-фосфодиэстераз 1 и 2, а также цитотоксичностью соединений, что позволит прогнозировать и направленно менять эти свойства в будущих производных усниновой кислоты. Обнаружены высокоэффективные низкотоксичные ингибиторы TDP1, проявляющие активность в концентрациях вплоть до 10 нМ, усиливающие цитотоксический эффект топотекана в 2-6 раз. Для (R,E)-8-(2-(2-(4-бромбензилиден)гидразинил)тиазол-4-ил)-1-(4-бромофенил)-5,7-дигидрокси-3,4а,6-триметил-1,4а-дигидро-4Н-бензофуоро[3,2-f]индазол-4-она противоопухолевое и антиметастатическое действие при совместном применении с топотеканом было подтверждено в экспериментах *in vivo*. Впервые синтезированы производные усниновой кислоты, являющиеся эффективными дуальными ингибиторами TDP1 и TDP2. Предложены синтетические подходы, приводящие к снижению цитотоксичности производных усниновой кислоты.

По представленной работе имеются следующие замечания:

- 1) В нумерации оглавлении, как и в нумерации заглавий разделов, ошибка: после первой главы следует сразу третья.
- 2) В тексте присутствуют опечатки. Например: на стр. 7 «тирозил_ДНК-фосфодиэстераза» вместо «тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы»; на стр. 8 «C1», в то время как во всем остальном тексте используется верхний регистр «C¹»; на стр. 37 «получения соединений 86 и 87», хотя на схеме и далее в тексте речь идет о соединениях 89 и 90; на стр. 62 «а также заместителем», вероятно мелось в виду «а также терпеновым заместителем»; на стр. 81 «(147b, 148b)» скобка выделена полужирным шрифтом; на стр. 82 «от строения стереоцентра», вероятно имелась в виду конфигурация стереоцентра; местами в тексте встречаются недостающие пробелы.
- 3) В приложении 2 на графиках соединение обозначено как 5b, в то время как в заглавии речь идет о производном 140b. Аналогичная ошибка в приложении 7 – на графиках обозначены соединения 151a-d, а в заглавии 152a-d. В приложении 5 в таблицах используются и точки, и запятые в качестве десятичного разделителя, следовало использовать только запятые.
- 4) В экспериментальной части для обозначения масс-спектрометрии высокого разрешения используется HRMC, правильным обозначением является HRMS.
- 5) В таблицах 13-27 экспериментальной части встречаются не до конца переведенные обозначения мультиплетности сигналов, например d вместо д. Также в таблицах 17-23 встречаются обозначения «Сттucture» вместо «Структура».
- 6) На схеме 67 стр. 55, неправильно изображена структура тиомочевин 142a-e, один из атомов кислорода следует заменить на атом серы.

- 7) На схемах 71 и 72 для соединений с гетероароматическим и ароматическим заместителями указан выход продуктов реакции, в то время как для производных с терпеновым заместителем выход отсутствует. Не для всех терпеновых заместителей указан использованный стереоизомер.
- 8) Таблица 10 на стр. 79 сложна для восприятия. Следовало разделить её по крайней мере на две таблицы, по одной для каждого фермента.
- 9) К сожалению, в разделе «Изучение реакции усниновой кислоты с аммиаком» отсутствуют предположения о том, почему проведение реакции именно в воде способствует образованию нового енамина **156**.
- 10) Цитотоксичность разных типов соединений измерялась с использованием различных клеточных культур. Так цитотоксичность тиазола с амидным заместителем **140b** измерялась на клеточной культуре MCF-7, цитотоксичность гидразонотиазолов **148-150**, как и енаминов **152** – на клетках HeLa, в то время как для гибридных производных **162a-d** исследования проводились на широком ряду клеточных линий – HeLa, HCT-116, HEK293a, MRC-5, T98G, A-549 и MCF-7. Выбор клеточных линий в тексте работы никак не комментируется.

Имеющиеся замечания не являются принципиальными, не затрагивают суть работы и не портят общего положительного впечатления, а также не ставят под сомнение цель работы и положения, выносимые на защиту автором. Поставленная цель - синтез новых производных усниновой кислоты в качестве потенциальных ингибиторов ферментов репарации ДНК человека TDP1 и TDP2 и изучение влияния структурных модификаций на ингибирующую активность и цитотоксичность получаемых производных – автором полностью достигнута. Совокупность полученных автором результатов можно квалифицировать как решение актуальной фундаментальной задачи, имеющей существенное значение как для органической, так и для медицинской химии.

Заключение.

Диссертационная работа Филимонова Александра Сергеевича на тему «Дизайн и синтез производных усниновой кислоты в качестве ингибиторов тирозил-ДНК-фосфодиэстераз 1 и 2, ферментов репарации ДНК человека» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой содержится решение научной задачи, имеющей большое значение для органической и медицинской химии, а именно – разработка подходов к синтезу новых производных усниновой кислоты, оценка их способности к ингибированию ферментов Tdp1 и Tdp2 человека, а также выявление низкотоксичного соединения-лидера. Автором проведено актуальное исследование, выполненное на высоком экспериментальном и теоретическом уровне. Автореферат и публикации соответствуют основному содержанию диссертации. Полученные автором результаты и сделанные на их основе выводы достоверны и не вызывают сомнений. Диссертация соответствует специальностям 1.4.3. Органическая химия, 1.4.16. Медицинская химия.

Учитывая актуальность, научную и практическую значимость представленной работы, достоверность полученных результатов и обоснованность выводов, считаю, что диссертационная работа «Дизайн и синтез производных усниновой кислоты в качестве ингибиторов тирозил-ДНК-фосфодиэстераз 1 и 2, ферментов репарации ДНК человека»

полностью соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Постановление Правительства РФ №842 в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор – Филимонов Александр Сергеевич – заслуживает присуждения степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.3 Органическая химия, 1.4.16 Медицинская химия.

Платонова Яна Борисовна,

кандидат химических наук по специальности 1.4.16 Медицинская химия, научный сотрудник Лаборатории катализа и газовой электрохимии Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова

Телефон: +7(920)-260-26-01

E-mail: knoposk@inbox.ru

Почтовый адрес: 119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова

Телефон: +7 (495) 939-10-00

E-mail: info@rector.msu.ru

<https://www.msu.ru>

15.11.2024 г.



Подпись к.х.н. Я.Б. Платоновой заверяю:

И.о. декана Химического факультета МГУ

проф., д.х.н., С.С. Карлов

