

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу
Тихомирова Александра Сергеевича «Синтез и свойства
противоопухолевых полифункциональных производных
гетероаренантрахинонов», представленную на соискание ученой степени
доктора химических наук
по специальности 1.4.3. Органическая химия

Актуальность работы

Трудно переоценить значение особых свойств органических соединений при их использовании для нужд экономики, медицины и народного хозяйства в целом. Учитывая, что более 80 процентов лекарственных препаратов представляют собой органические и элементоорганические молекулы, разработка методов направленного синтеза и модификации различных классов химических соединений является, без сомнения, одной из ключевых задач органической химии.

В этой связи выбор диссертантом в качестве объектов исследования соединений с антрахиноновым фрагментом представляется актуальным. Несмотря на то, что среди известных на сегодняшний день соединений данного ряда встречаются вещества, обладающие высокой токсичностью, разработка новых синтетических приемов, направленных на создание и изучение неизвестных ранее структур, имеет как теоретическую, так и практическую ценность.

В качестве примера можно привести противоопухолевые антрациклиновые антибиотики, содержащие в своей структуре ядро антрахинона, например, **доксорубицин** и аналоги, которые широко используются в современной химиотерапии онкологических заболеваний даже спустя десятилетия с момента их внедрения в клиническую практику.

Невозможно также переоценить роль гетероциклических соединений, которую они играют в *drug design*. По сравнению с другими хемотипами производных, антрахиноны, аннелированные с различными гетероциклами, характеризуются целым рядом ценных свойств, основанных на потенцировании их исходной активности за счет расширенных возможностей для их химической модификации.

В свете вышесказанного, систематические исследования и развитие методологии синтеза полифункциональных производных гетероаренантрахинонов для получения веществ с заданными биологическими свойствами представляется актуальным и востребованным научным направлением в органической химии.

Структура и содержание диссертации

Диссертационная работа изложена на 380 страницах и содержит 154 рисунка, 12 таблиц и 1 приложение. Диссертация построена по классическому принципу и включает введение, обзор литературы, разделы, посвященные обсуждению собственных результатов диссертанта, экспериментальную часть, заключение, список сокращений и список литературы, содержащий 362 источника.

Во введении обоснована актуальность выбранной темы исследования, раскрыта научная новизна, теоретическая и практическая значимость, а также сформулированы цель, задачи исследования и основные положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы ставит своей целью систематизацию имеющихся на сегодня синтетических данных, а также анализ противоопухолевых свойств соединений на основе антрахинона. В обзоре перечислены ключевые классы антрахинон-содержащих соединений, подходы к дизайну и поиску биологически активных соединений на основе антрахинонов. Большое внимание диссертант уделил анализу связи между строением производных антрахинона и проявляемыми ими противоопухолевыми эффектами, а также действием на внутриклеточные мишени. В результате ему удалось определить наиболее перспективные пути модификации, способные придать Самостоятельной ценностью стало рассмотрение полифармакологического действия антрахинонов в контексте поиска возможных стратегий преодоления лекарственной устойчивости опухолевых клеток.

Обзор хорошо структурирован, написан понятным литературным языком, содержит все необходимые иллюстрации.

В Обсуждении результатов диссертант подробно описывает все основные этапы и результаты проделанной экспериментальной синтетической работы и выполненных биологических испытаний. Основное внимание в диссертационном исследовании, как это следует из представленных материалов, уделялось разработке методов синтеза и изучению химических свойств антрафуранов, что связано с

выявленной ранее высокой противоопухолевой активностью некоторых соединений этого ряда.

Диссертационное исследование включает также разработку методов получения полифункциональных производных антра[2,3-*b*]тиофена и нафто[2,3-*f*]индола, содержащих сложноэфирную группу в положениях 2 и 3 гетероцикла, а также эфиров нафто[2,3-*g*]хинолин-3- и нафто[2,3-*g*]хромен-3-карбоновых кислот. Среди полученных диссертантом результатов следует выделить обнаруженные в ходе комплексного изучения различных гетероциклических систем, аннелированных к антрахинону, универсальные методы модификации заместителей и функциональных групп в *peri*-положениях и гетероциклическом ядре.

Еще одним важным, с точки зрения оппонента, достижением диссертанта является выявление ключевых различий в реакционной способности отдельных гетероциклов и существенные ограничения в адаптации отдельных методик, свидетельствующие о важной роли гетероциклического ядра в химических свойствах гетероаренантрахинонов.

Итогом обширных химических исследований стал скрининг противоопухолевых свойств полученной библиотеки соединений, описание результатов которого приводится во второй части этой главы.

В результате тестирования антипролиферативных свойств новых веществ была выявлена связь активности со структурой гетероаренантрахинонов. Диссертантом показано, что строение гетероциклического ядра оказывает существенное влияние на способность блокировать рост резистентных опухолевых клеток, а также преодолевать Pgp-опосредованный механизм выведения ксенобиотиков.

К заслуживающим пристального внимания результатам, можно отнести также обнаруженную способность некоторых гетероаренантрахинонов параллельно воздействовать на различные мишени в опухолевых клетках, включая как дуплекс и G4 ДНК, топоизомеразу 1, индукцию АФК, tNOX, Sirtuin 1 и Aurora B киназу. Выявленный мультитаргетный эффект может быть использован для конструирования лекарственных препаратов, способных преодолевать механизмы множественной лекарственной устойчивости. Ключевым прикладным результатом диссертационной работы стала идентификация соединений-лидеров и подтверждение их противоопухолевой активности на моделях опухолей лабораторных животных.

Перспективным представляется факт установления диссертантом возможности реализации пролиферативного эффекта как путем генерации АФК, так и, в случае производных индола, по АФК-независимому пути.

Экспериментальная часть диссертационной работы выполнена на высоком методическом уровне. Методики синтеза промежуточных и конечных соединений приведены в полном объеме и могут быть без труда воспроизведены специалистами в данной области. Для идентификации синтезированных соединений диссертант использовал современные физико-химические методы, среди которых спектроскопия ЯМР ^1H , ^{13}C , в т.ч. – двумерные импульсные последовательности ($^1\text{H}\{^{13}\text{C}\}$ HSQC, $^1\text{H}\{^{13}\text{C}\}$ HMBC, COSY, ROESY), масс-спектрометрия высокого разрешения, ИК-спектроскопия, ВЭЖХ. Такой представительный набор не оставляет сомнений в достоверности полученных экспериментальных данных, а также выводов сделанных на их основе. В описании полученных соединений содержатся все необходимые физико-химические и спектральные характеристики, однозначно подтверждающие соответствие приписываемым структурам.

Диссертация завершается **Заключением и Выводами**, а также обозначением возможностей дальнейшего развития научной тематики, которые полностью отражают достижение поставленной цели и задач исследования.

Научная и практическая значимость результатов

Результаты, полученные в ходе выполнения диссертационной работы Тихомирова А.С. характеризуются существенным научным и практическим значением. Разработка новых принципиальных подходов для синтеза линейных гетероаренантрахинонов, содержащих сразу несколько заместителей и функциональных групп, расширяет возможности синтеза сложных полифункциональных гетероциклических соединений. Очевидно, что данные схемы синтеза могут послужить основой и быть адаптированы при синтезе, например, ангулярных аналогов или других типов полициклических структур. Гетероаренантрахиноны обладают, например, ценными биологическими и фотохромными свойствами, поэтому предложенные решения по направленному синтезу таких структур упрощают их изучение. Методы модификации гетероаренантрацендионов, описанные в диссертационной работе, также

способствуют рациональному дизайну соединений с заданными свойствами и позволяют реализовывать точечную модификацию их химической структуры. В виду этого, хочется отметить следующие разработанные методы: а) окислительного *N*-дезалкилирования и восстановительного дезалкилирования заместителей в пери-положениях, а также способ *N*-, *S*-, *O*-функционализации положения 2 эфиров 2-оксонафта[2,3-*g*]хинолинов при действии реагентов пептидного синтеза, который может быть адаптирован для модификации других типов оксогетероциклов.

В работе получен значительный массив экспериментальных данных, позволивший провести анализ связи структура-активность и определить наиболее критичные элементы структуры гетероаренантрахинонов, а также сформулировать направления их дальнейшей оптимизации. Данные о воздействии гетероаренантрахинонов на неклассические мишени (tNOX, Sirt1, Aurora киназы) в опухолевых клетках способствуют рациональному дизайну будущих поколений мишень-направленных противоопухолевых производных антрахинона. С другой стороны, результаты исследования укрепляют концепцию противоопухолевой полифармакологии, согласно которой, одновременное воздействие на принципиально разные мишени способствует преодолению лекарственной устойчивости. Практическая ценность, подкрепляется получением ряда высокоактивных соединений с перспективными противоопухолевыми свойствами, а также отбором лекарственных кандидатов, обладающих противоопухолевым действием *in vivo*.

Новизна проделанных исследований и полученных результатов

Новизной работы стала разработка путей аннелирования гетероциклических ядер к замещенным производным антрахинона, содержащих различные функциональные группы. Представлены новые схемы синтеза и полифункционализированных производных антра[2,3-*b*]фурана, антра[2,3-*b*]тиофена и нафто[2,3-*f*]индола, а также нафто[2,3-*g*]хинолина и нафто[2,3-*g*]хромена. Разработан ранее не известный метод получения антра[2,3-*b*]фуранов и нафто[2,3-*f*]индолов, содержащих в положении 2 различные заместители, основанный на Pd(0)-катализируемой реакции кросс-сочетания/гетероциклизации. Предложены и оптимизированы пути химической модификации заместителей гетероциклического ядра и пери-положений производных гетероаренантрахинонов, прежде всего, с получением производных карбоновых кислот. Показано существенное влияние

гетероциклического ядра и положения функциональных групп на химические и биологические свойства изостерных соединений, зачастую обуславливающее выбор схемы. Проведен комплексный анализ закономерностей между строением и противоопухолевыми свойствами гетероаренантрахинонов, а также определено значение отдельных структурных элементов в проявляемых биологических эффектах.

Впервые показана роль гетероциклического ядра и положения карбоксамидной группы гетероаренантрахинонов в способности преодоления механизмов множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток. На примере амидов гетероаренантрахинон-карбоновых кислот продемонстрировано, что (*S*)-3-аминопирролидин является удачной альтернативой ключевому фармакофору антрациклиновых антибиотиков – дезокси аминосахару даунозамину в качестве элемента боковой цепи.

Впервые показано, что антипролиферативная активность некоторых производных 4,11-диаминоантрафурандионов связана с воздействием на оксидазу tNOX и NAD⁺ - зависимую деацетилазу Sirtuin 1 и последующим увеличением уровня ацетилирования белка p53 апоптозом опухолевых клеток.

Отобраны высокоактивные соединения-лидеры, действующие на ряд внутриклеточных мишеней, включая нуклеиновые кислоты, топоизомеразы 1 и 2, Sirt1 и tNOX, протеинкиназы Aurora A и B, перспективные для разработки новых мультитаргетных противоопухолевых средств.

Обоснованность и достоверность результатов

Научные результаты, положения, выносимые на защиту, и выводы диссертационной работы полностью обоснованы и не вызывают сомнений. Достоверность результатов подтверждается применением комплекса различных методов анализа полученных соединений, тестированием свойств полученных соединений в независимых лабораториях, а также детализированным описанием поставленных экспериментов. Результаты диссертационного исследования прошли независимую международную экспертизу в процессе подготовки и публикации научных статей, подаче заявок на гранты РФФИ, РНФ и Президента РФ. Работа прошла неоднократную апробацию на научных конференциях в виде устных и стендовых докладов.

Публикации по теме работы

Результаты исследований Тихомирова А.С. по теме диссертационной работы опубликованы в 24 статьях в журналах из перечня ВАК, индексируемых международными базами данных Web of Science/Scopus. Им опубликовано также более 50 тезисов докладов на международных и всероссийских научных конференциях и получено 4 патента РФ на изобретения.

Рекомендации по применению результатов диссертации

Результаты представленного диссертационного исследования характеризуются существенным фундаментальным и прикладным значением для химии производных антрахинона, поликонденсированных гетероциклических соединений, медицинской химии и рационального дизайна лекарственных средств. Полученные результаты обладают ценностью и могут быть развиты для создания оригинальных отечественных противоопухолевых лекарственных препаратов в сотрудничестве с индустриальными или академическими партнерами, проводящих разработки и исследованиям биологически активных и противоопухолевых соединений.

Замечания

Диссертация выполнена на высоком теоретическом и экспериментальном уровнях, принципиальных замечаний, влияющих на ее высокую оценку у оппонента не имеется. Тем не менее, при ознакомлении с ней возник ряд следующих комментариев:

1. При синтезе лигандов G-квадруплексов, содержащих три боковые цепи, не удастся ли совместить стадии амидирования и замещения 4,11-метоксигрупп в одну, используя на стадии синтеза амида избыток диаминоалкана?

2. Почему соединения **88, 91, 94, 95** получены в виде гидрохлоридов, в то время как преобладающее большинство 4,11-дигидроксипроизводных амидов гетероаренантрахинон-карбоновых кислот было выделено и исследовалось в виде метансульфонатов? Оценивалось ли влияние солевой формы на противоопухолевые свойства одних и тех же соединений?

3. Вывод о том, что «разработанная методика синтеза гетероареноантрахинонов позволяет получить широкий ряд ...» следовало бы дополнить указанием особенностей и достоинств этой методики, отличающей ее от известных.

4. Известно, что в подавляющем большинстве случаев, оптические изомеры проявляют различную биологическую активность. В частности, упоминаемый в работе (*S*)-энантиомер биоизостерного антрафурана в 2-4 раза более активен по сравнению с (*R*)-энантиомером. Имеется ли у диссертанта объяснение того факта, что (*R*)- и (*S*)-энантиомеры в парах некоторых индол- и тиюфен- конденсированных производных проявили сходную биологическую активность?

5. Думается излишне было нумеровать единственное Приложение к диссертации.

6. Список сокращений, исключительно по мнению оппонента, органичнее смотрелся бы в начале диссертации.

7. На стр. 328 представлены Выводы, которые потерялись в содержании.

Перечисленные замечания не снижают актуальности, новизны и практической значимости представленной диссертации и носят дискуссионный характер.

Заключение по диссертационной работе

Диссертационная работа Тихомирова Александра Сергеевича «Синтез и свойства противоопухолевых полифункциональных производных гетероаренантрахинонов», является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержатся решения поставленной цели и задач научного исследования. Работа характеризуется высокой актуальностью и имеет необходимый уровень научной новизны, а полученные результаты имеют теоретическую и практическую значимость. Объем диссертации, ее содержание, экспериментальный и теоретический уровень, содержащиеся в ней обобщения и выводы, соответствуют по паспорту специальности 1.4.3. Органическая химия, а также всем требованиям к докторским диссертациям, изложенным в п. 2. «Положения о порядке присуждения ученых степеней в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», утвержденного Приказом и.о. ректора РХТУ им. Д.И. Менделеева № 103ОД от 14.09.2023 г. (с последующими редакциями).

Обоснованно полагаю, что Тихомиров Александр Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.3. Органическая химия.

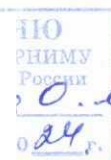
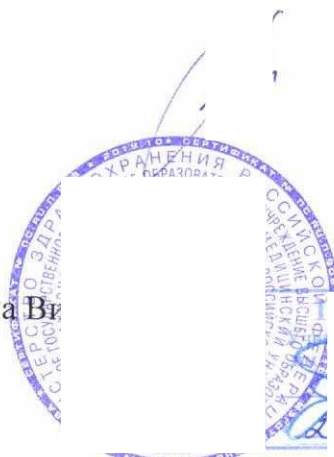
Официальный оппонент,

Заведующий кафедрой химии, директор Института фармации и медицинской химии
Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего
образования «Российский национальный исследовательский медицинский
университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, доктор химических наук (по
специальности органическая химия 02.00.03) доцент, профессор РАН

В.В. Негребецкий

29.08.2024

Личную подпись Негребецкого Вадима Витальевича
удостоверяю



*Даю свое согласие на обработку персональных данных, включенных в
документы, связанные с работой диссертационного совета.*

Вадим Витальевич Негребецкий

*Директор Института фармации и медицинской химии Федерального
государственного автономного образовательного учреждения высшего образования
«Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.
Пирогова» Минздрава России, заведующий кафедрой химии Института фармации и
медицинской химии Федерального государственного автономного образовательного
учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский
медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России*

*117513, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1, стр. 6, +7 495 434 04 65,
negrebetsky1@rsmu.ru*

В.В. Негребецкий