

## ОТЗЫВ

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

Разработка низкомолекулярных лекарственных препаратов, направленных на лечение онкологических заболеваний, имеет неоспоримую ценность для здравоохранения РФ. Производные антрахинона являются мультифункциональной химической платформой, позволяющей создавать соединения с различными терапевтическими свойствами, среди которых противоопухолевая активность представляет наибольший интерес. Доксорубин и другие производные антрахинона уже доказали высокую клиническую эффективность при лечении различных злокачественных новообразований, однако они имеют ряд недостатков, которые требуют устранения и диктуют необходимость разработки улучшенных препаратов. Идентификация новых биологических мишеней для противоопухолевого действия антрахинонов также позволяет надеяться на создание мишень-специфических лекарственных средств.

Синтез и исследование свойств гетероциклических производных антрахинона рассматривают как одно из приоритетных направлений, в виду их высокой биологической активности, действию на несколько мишеней опухолевых клеток и возможности преодоления фактора множественной лекарственной устойчивости. Исследования, направленные на развитие методов получения и модификации гетероциклических производных антрахинона, способны решить задачу целенаправленного синтеза соединений с заданной структурой, а также дальнейшего масштабирования и наработки соединений-лидеров для проведения доклинических исследований.

В виду высокой фундаментальной и прикладной значимости, связанной с разработкой методологии синтеза гетероциклических производных антрахинона, а также поиском новых прототипов лекарственных средств, обладающих противоопухолевой активностью, тема диссертационного исследования Тихомирова А.С. является актуальной и востребованной.

Диссертационная работа Тихомирова А.С. написана по традиционному плану и состоит из Введения, Обзора литературы, Обсуждения результатов, Экспериментальной части, Заключение, Списка сокращений и Списка литературы, включающего 362 источника. Работа изложена на 380 страницах и содержит 154 рисунка, 12 таблиц и 1 приложение. Материал каждой главы диссертационной работы выстроен последовательно и логично, хорошо воспринимается, а приведенные иллюстрации органично дополняют текст.

Во введении автором обоснована актуальность темы исследования, исходя из ее научной новизны, практической и теоретической значимости, а также сформулированы цель, задачи исследования и основные положения, выносимые на защиту.



Обзор литературы посвящен анализу связи между структурой антрахинонов и их противоопухолевыми свойствами. Материал систематизирован и разделен на три подраздела, описывающие амино- и гидроксидантрахиноны, антрахиноны, конденсированные с гетероциклами, а также комплексы металлов на основе антрахинонов. Обзор демонстрирует основные направления поиска и разработки новых противоопухолевых антрахинон-содержащих соединений, дает представление о наиболее важных фармакофорных группах в составе соединений. Важным достоинством литературного обзора является обобщение традиционных и новых клеточных мишеней, на которые действуют антрахиноны, а также анализ тенденций и подходов к разработке новых противоопухолевых соединений. Данная глава диссертации позволяет оценить роль собственной работы автора на фоне общих достижений в химии и биологии антрахинона в мировой науке, а также подготовить читателя к восприятию результатов, полученных автором.

Обсуждение результатов содержит последовательное и обоснованное изложение основных результатов работы, разделенное на несколько подразделов. В первых разделах главы обсуждаются результаты химических исследований, выстроенные по типу гетероциклов, аннелированных с ядром антрахинона. Описаны разработанные методы гетероциклизации с формированием целевых гетероаренантрахинонов, включая антрафураны, антратиофены, нафтоиндолы, нафтохинолины и нафтохромены. Автором предложены оригинальные способы аннелирования пиррольного и фуранового ядра к антрахинону, основанные на реакциях Pd(0)-катализируемого кросс-сочетания/гетероциклизации и викариозного нуклеофильного замещения атома водорода в антрахиноне, применимые для получения широкого ряда производных антрафурана и нафтоиндола. В этом же разделе приведены результаты изучения химических свойств гетероаренантрахинонов, включая методы модификации карбоксильной и других функциональных групп в зависимости от ее положения в гетероциклическом ядре, а также заместителей в *peri*-положениях антрахинонового ядра. На основе оптимизированных методик была синтезирована библиотека гетероаренантрахинонов, содержащих замещенную карбоксамидную и другие функциональные группы в различных положениях гетероциклического ядра, а также заместители в *peri*-положениях хинонового ядра с целью тестирования биологической активности. Кроме того, для новых соединений было проведено изучение спектральных свойств и установлено влияние заместителей в структуре модифицированных антрахинонов на сдвиги полос поглощения.

Во второй части этой главы приводятся результаты тестирования противоопухолевых свойств гетероаренантрахинонов и их действия на клеточные мишени. В частности, обсуждается антипролиферативная активность полученных соединений, а также ее взаимосвязь со строением гетероаренантрахинонов. Благодаря комплексному скринингу синтезированных библиотек соединений на цитотоксичность в отношении ряда опухолевых клеток, показана важная роль отдельных заместителей и функциональных групп в структуре гетероаренантрахинонов. Выявлена зависимость преодоления Pgp-опосредованной резистентности опухолевых клеток от строения



гетероцикла, карбоксамидной группы и заместителей в *peri*-положениях, а также структуры гетероциклического ядра и циклического диамина в составе карбоксамидной группы гетероаренантрахинонов. Доказана эффективность мишень-ориентированного дизайна с применением методов компьютерного моделирования для получения высокоаффинных и селективных лигандов G-квадруплексов. Автором проведен отбор лидерных соединений на основе производных нафто[2,3-*f*]индол-3-карбоксамида и нафто[2,3-*g*]хинолин-3-карбоксамида, обладающих противоопухолевой активностью на моделях *in vivo* и показан потенциал дальнейшей разработки новых химиотерапевтических препаратов.

Экспериментальная часть диссертационной работы оформлена на высоком научном и методическом уровне и включает в себя все необходимые методики синтеза обсуждаемых соединений и их физико-химические и спектральные характеристики, а также методы биологического тестирования соединений и проведения компьютерных расчетов. Общие сведения об использованном оборудовании, на котором были получены результаты исследований, подробное описание методик проведения экспериментов, позволяют воспроизвести полученные результаты.

Диссертация завершается обобщающим заключением и выводами к проделанной работе, которые полностью отражают достижение поставленной цели и задач исследования. Также в заключении сформулированы перспективы дальнейшего развития научной тематики в области создания противоопухолевых соединений в ряду гетероциклических производных антрахинонов.

Результаты выполнения диссертационной работы Тихомирова А.С. имеют высокое научное и практическое значение. Научная значимость проведенного исследования, прежде всего, связана с разработкой новых методов аннелирования различных гетероциклов к антрахинону, конструирования полициклических соединений, изучению химических свойств и эффективных путей трансформации отдельных заместителей и функциональных групп в составе полифункциональных органических соединениях. Найденные эффективные синтетические схемы расширяют возможности функционально-ориентированного дизайна и синтеза соединений с заданным строением. В диссертации впервые показана роль гетероциклического ядра и положения функциональных групп гетероаренантрахинонов в воздействии на внутриклеточные мишени, индукции гибели опухолевых клеток, а, главное, в возможности преодоления механизмов множественной лекарственной устойчивости. Открытие способности соединений одновременно воздействовать на несколько мишеней противоопухолевой терапии способствует дальнейшей разработке новых мультитаргетных лекарственных препаратов.

Практическая ценность заключается в идентификации ряда новых высокоактивных соединений, подавляющих рост опухолевых клеток, в том числе с активированными механизмами устойчивости к химиотерапевтическим препаратам. Оптимизация методик синтеза позволяет использовать их для препаративной наработки полифункциональных гетероаренантрахинонов. Прикладная ценность работы подкрепляется выявлением соединений-кандидатов, показавших достоверное противоопухолевое действие *in vivo*, перспективных для углубленного доклинического изучения, а также 4 патентами РФ.



Все полученные результаты являются новыми, их обоснованность и достоверность не вызывает сомнений и подтверждается тщательной проработкой и воспроизведением поставленных экспериментов, а также применением комплекса методов физико-химического анализа полученных соединений с использованием современного сертифицированного оборудования и программного обеспечения. Достоверность биологических исследований подтверждается верифицированными методиками исследования цитотоксичности, механизма клеточной гибели, взаимодействия с топоизомеразами, а также методами статистическим анализа, использованными для обработки данных биологических экспериментов.

Диссертационная работа прошла апробацию на научных конференциях, а основные результаты опубликованы в 24 статьях в журналах из перечня ВАК, индексируемых международными базами данных Web of Science/Scopus, и имеющих независимую международную экспертизу. Кроме того, по результатам работы опубликовано более 50 тезисов докладов на международных и всероссийских научных конференциях, получено 4 патента РФ на изобретения.

Результаты диссертационной работы Тихомирова А.С. имеют фундаментальное и прикладное значение как для органической, так и медицинской химии, и могут быть использованы и развиты в университетах и научно-исследовательских центрах химико-биологического профиля, занимающихся исследованиями в области создания новых противоопухолевых препаратов, таких как: Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Институт тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова РТУ МИРЭА, Институт органической химии имени Н.Д. Зелинского, Национальном медицинском исследовательском центре имени Н.Н. Блохина и многих других.

Работа выполнена на высокой теоретическом и экспериментальном уровнях, однако при ознакомлении с ней возник ряд вопросов и замечаний, перечисленных ниже:

1. Одним из постулатов работы, является важность создания мишень-ориентированных противоопухолевых агентов, поэтому представлялось весьма актуальным в литературном обзоре выделить отдельный раздел с анализом выявленных клеточных мишеней и основных типов антрахинонов, воздействующих на них.

2. При изложении синтетической части работы автор использует постадийное изложение синтетических стадий, что затрудняет совокупное восприятие общей синтетической схемы и несколько занижает ценность сделанных выводов.

3. Для восстановления нитрогруппы разных субстратов использовались различные восстановители ( $\text{Fe}+\text{HCl}$ , дитионит натрия,  $\text{H}_2+\text{Pd}/\text{C}$ ), однако причины различного выбора восстановителей в тексте диссертации практически не обсуждаются.

4. В неудавшейся попытке восстановительной циклизации на рисунке 2.63 при синтезе нафтоиндола 152 был использован триэтилфосфит. Не было ли попыток использования иных восстановителей?

5. Каким образом подтверждали образование соединения 120 и/или ему подобных в виде тригидрохлоридов?



6. При сравнении результатов МТТ-тестов для различных классов антрахинонов не приведена достоверность, что в некоторых случаях затрудняет восприятие массива биологических исследований. Например, утверждение, что нафтоиндольные производные 161-169, проявили большую цитотоксичность чем тиофены 201-209, требует дополнительного подтверждения с использованием методов статистики.

7. В работе проведено моделирование связывания гетероаренантрахинонов с ДНК, Р-гликопротеином, протеинкиназами Aurora A, Aurora B, означает ли, что данный класс соединений нацелен только на эти мишени, планируется ли поиск и изучение других клеточных мишеней для гетероаренантрахинонов?

8. Для определения кинетики накопления гетероаренантрахинонов в опухоли была построена на собственной флуоресценции соединений. Из рисунка 2.106 видно, что соединения 162 и 267 по-разному накапливаются в клетках K562. Насколько верно утверждение, что у обоих соединений хорошее проникновение?

9. В эксперименте по определению АФК (рисунок 2.109) используются концентрации аренантрахинонов, которые в 2-4 раза превышает  $IC_{50}$ . Что при этом происходило с клеточными культурами?

10. Для определения противоопухолевой активности на моделях опухолей лабораторных животных были выбраны соединения лидеры 162 и 267. Каковы причины выбора соединения 267, при условии невыдающихся значений  $IC_{50}$  и индекса резистентности 2 (в таблице 2.12 почему-то указано соединение 76). Для соединения 162 значения RI «прыгают» по тексту диссертации от 26 до 125, что затрудняет восприятие результатов.

11. В экспериментальной части не указаны: прибор для определения температуры плавления, не описана подготовка растворителей и их производитель, размерность силикагеля для колоночной хроматографии.

12. В тексте диссертации присутствуют опечатки, орфографические ошибки, ошибки в нумерации соединений в синтетических схемах и неудачные выражения, например,

- на стр. 8, 18 «перспективные» или «улучшенные», или «еще более перспективные» противоопухолевые свойства – требуют конкретизации;
- на стр. 16 не понятно о каком виде активности идет речь;
- на стр. 22-23 «антипролиферативное действие, которого составляло  $IC_{50}$ », «цитотоксическая активность»;
- в списке литератур ссылка 10 и 27 «задвоилась», ссылка 56 дана не на патент, а на статью (патент ссылка 57);
- рисунок 1.24, а также стр. 75, 93 – неправильно указаны номера соединений;
- стр. 96 «в виде гидробромидов», на самом деле «гидрохлориды»;
- стр. 98, 99 по тексту идут ссылки на несуществующий рисунок 2.41Д;
- в синтетических схемах получения различных карбоксамидов в виде мезилатов (например, рисунок 2.85) указана только одна молекула MsOH, хотя необходимо  $n \cdot MsOH$ , например, для соединения 222.



Несмотря на перечисленные замечания и вопросы, которые в основном носят редакторский и/или дискуссионный характер, их наличие не снижает общее высокое впечатление о представленной диссертации и ее научной ценности.

Диссертационная работа Тихомирова Александра Сергеевича «Синтез и свойства противоопухолевых полифункциональных производных гетероаренантрахинонов», характеризуется высокой актуальностью и имеет высокий 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 паспорту научной специальности 1.4.3. Органическая химия, а также 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).

Таким образом, Тихомиров Александр Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по научной специальности 1.4.3. Органическая химия.

Официальный оппонент:

директор Института тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова РТУ МИРЭА, профессор кафедры химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии имени Н.А. Преображенского, доцент, доктор химических наук

(по научной специальности 02.00.10 Биоорганическая химия)

тел.: +7 916 3869982

e-mail: maslov\_m@mirea.ru

Маслов Михаил Александрович

10 сентября 2024 г.

Подпись М.А. Маслова заверяю

Заместитель первого проректора



Н.Б. Голованова

Я, Маслов Михаил Александрович, даю свое согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета РХТУ.1.4.01, и их дальнейшую обработку.