

ОТЗЫВ

Официального оппонента на диссертацию Зефирова Николая Алексеевича «Биоизостерическая замена в дизайне и синтезе новых лигандов тубулина с противоопухолевой активностью», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.16 – Медицинская химия, 02.00.03 – Органическая химия

Диссертационная работа Зефирова Н.А. посвящена разработке новых таргетных противоопухолевых лекарственных кандидатов, действующих на микротубулярные клеточные структуры.

Различные формы злокачественных новообразований в совокупности остаются «убийцей №1» в мире среди всех других заболеваний. Дополнительную актуальность диссертационному исследованию придает клинически один из самых валидированных, но при этом чрезвычайно непростой тип биологической мишени – микротубулярные структуры. На них действует целый ряд клинически важных препаратов (например, паклитаксел, доцетаксел, винкристин, винбластин и другие), но при этом остаются серьезные проблемы, связанные с эффективностью, побочными эффектами, фармакокинетикой, физико-химическими свойствами. Несомненно, оптимизация структур известных соединений-лидеров способна привести к открытию новых, высокоэффективных и более безопасных препаратов. Сказанное означает, что представленное исследование носит актуальный характер.

Диссертация структурирована традиционным образом и состоит из литературного обзора (раздел 1), описания результатов и их обсуждения (раздел 2), экспериментальной части (раздел 3), выводов и списка литературы (разделы 4 и 5).

В литературном обзоре обсуждаются особенности белка тубулин как молекулярной мишени для создания противоопухолевых средств, а также строение и закономерности структура-активность для ряда важнейших веществ, действующих на тубулярные структуры, и их аналогов, включая, тубулокластин, 2-метоксиэстрадиол, подофиллотоксин, комбретастин. Выбор указанных структур обусловлен тем обстоятельством, что именно они стали объектами структурных модификаций, исследованных в диссертационной работе. Внимание автора было сфокусировано на описанных в литературе биоизостерных трансформациях соединений-лидеров и на анализе соответствующих изменений биологических фармакологически значимых свойств. Литературный обзор позволил выявить наиболее перспективные модификации указанных молекулярных скэффолдов, реализованные в диссертационной работе, а также наметить синтетические подходы к решению этой задачи.

В основной части работы (раздел 2) представлен обширный, систематический цикл исследований, связанных с направленной химической трансформацией исходных структур, способных взаимодействовать со специфической областью тубулина – колхициновым доменом. А именно, описана модификация структур тубулокластина (N-(7-(адамант-2-илокси)-7-оксогептаноил)-N-дезацетилколхицина), подофиллотоксина, 2-метоксиэстрадиола и комбретастина А-4 или их близких аналогов, с использованием трех типов классической и неклассической биоизостерной замены. В частности, в соединениях, которые содержат отдельные фармакофорные элементы, соединенные линкером, варьировался тип линкерной группировки. Далее, изучалась взаимозаменяемость каркасных и мостиковых группировок в структурах соединений-лидеров. Наконец, исследовались нетрадиционные варианты замены полициклических систем исходного соединения мостиковыми группировками. Идейно-концептуальной основой работы, пожалуй, можно назвать дизайн гибридных бифармакофорных структур, способных к тонкому модулированию структурной организации микротубулярных структур.

Экспериментальная часть (раздел 3) детально и квалифицированно представляет методы синтеза и аналитические параметры полученных соединений. В целом не вызывает сомнений адекватность использованных методов аналитической характеристики, позволяющих надежно доказать структуры новых соединений. Вполне адекватно представлены и биологические, а также компьютерные методы.

Раздел 4 хорошо отражает ключевые выводы, которые можно сделать из исследования. Список литературы (раздел 5) весьма представительен (243 работы) и надлежащим образом оформлен.

Содержание работы достаточно полно отражено в 12 статьях в российских и международных научных журналах (все статьи – в журналах, рекомендованных ВАК) и 9 тезисах докладов конференций. Диссертация апробирована в рамках широкого представления ее основных материалов на ряде значительных российских и международных конференций по органической и медицинской химии (на последнем из таких форумов, 3-ей Российской конференции по медицинской химии, оппоненту предоставилась возможность знакомства с данной работой в качестве ведущего научной сессии, на которой выступал автор диссертации).

Следует отметить ряд несомненных положительных особенностей диссертационной работы.

В первую очередь, необходимо отметить системный характер и очень большой объем проделанной экспериментальной и теоретической работы, отраженной в диссертации. Представленные в тексте диссертации результаты получены с использованием мощного арсенала компьютерных, синтетических, аналитических, биологических и фармакологических методов, что, несомненно, характеризует исследование как современное и высокотехнологичное. Полученные результаты проанализированы и обсуждены на высоком научно-теоретическом уровне.

Литературный обзор характеризуется выраженной актуальностью и фокусированностью тематики как самой по себе, так и в качестве концептуальной основы для всей многоплановой экспериментальной и теоретической работы, отраженной в диссертации. Литературный обзор написан грамотно и содержательно, с привлечением впечатляющего объема актуальной информации, относящейся к медицинско-химическому дизайну, синтетической органической химии, компьютерному молекулярному моделированию и фармакологии.

В рамках чисто синтетических достижений можно отметить разработанные автором систематические подходы к конструированию широкого ряда мостиковых и каркасных структур на основе известных тубулин-связывающих агентов. Более чем убедительным выглядит набор синтетических подходов, активно освоенных и использованных автором для синтеза многочисленных соединений, отличающихся непростым строением и многофункциональностью. Из более частных моментов следует упомянуть необычную BF_3 -катализируемую реакцию раскрытия оксиранового фрагмента фенилзамещенного оксаспиро[2.5]октана, сопровождающуюся внутримолекулярной циклизацией и восстановлением и ведущую к оригинальной трициклической структуре.

С точки зрения биологии и особенно фармакологии вызывают значительный интерес новые обнаруженные эффекты синтезированных соединений на микротубулярный аппарат клетки. В частности, речь идет о неизвестных ранее эффектах, вызывающих необычные морфологические изменения в тубулиновых полимерах.

Несомненным достоинством работы является активное, можно даже сказать рутинное применение передовых методов компьютерного моделирования к анализу полученных результатов, а также к прогнозированию биологических свойств новых молекул. Это отличительная и превосходная черта научной школы медицинской химии, основателем которой является акад. Н.С. Зефирова, и к которой принадлежит соискатель.

Практическая значимость исследования несомненна. В частности, идентифицированы два соединения-лидера с наномолярной цитотоксической концентрацией (IC_{50} в районе 6 нМ), соответствующей активности таксола, одного из

самых активных и наиболее важных на сегодняшний день противоопухолевых средств. Эти соединения могут оказаться перспективными объектами дальнейших доклинических исследований либо прототипами для оптимизационных экспериментов. Кроме того, обнаружен новый перспективный хемотип противоопухолевых соединений, представителем которого является 5-(гидроксиметил)-2-метоксифенил адамантил-1-ацетат; эта структура также является ценным объектом для дальнейшей медицинско-химической оптимизации и поиска лекарственных кандидатов. Был обнаружен еще целый ряд интересных новых структур, обогащающих медицинскую химию соединений, действующих на микротубулярные структуры.

Работа написана аккуратно, очень хорошим научным языком, с минимальным содержанием неудачных выражений, неуместного сленга и опечаток. Диссертация прекрасно иллюстрирована, содержит сбалансированный набор текстовой, графической и табличной информации.

По работе следует сделать ряд критических замечаний:

(1) Не для всех соединений в экспериментальной части представлены аналитические характеристики, рекомендуемые в современной высокорейтинговой химической периодике в качестве исчерпывающего доказательства структуры вещества. В частности, для некоторых соединений представлены лишь ЯМР-спектры, без элементного анализа или масс-спектров высокого разрешения (примеры – соединения **52**, **54** и другие).

(2) Типично применяемым в работе способом идентификации активных соединений является измерение цитотоксичности (МТТ-тест) по отношению к линии опухолевых клеток A549 (карцинома легкого) в сочетании с иммунофлуоресцентной спектроскопией. Не ставя под сомнение адекватность указанных экспериментальных подходов для решения задач данной работы, следует отметить, что они недостаточны для идентификации соединений, перспективных для дальнейшей фармацевтической разработки. Так, стандартным способом действия при обнаружении активных соединений (или даже на этапе первичного скрининга) является использование панели опухолевых линий, а также ряда нормальных или условно-нормальных клеток, с целью выявления селективности действия на опухолевые и нормальные клетки, необходимого в свете перспектив разработки безопасных лекарственных средств. В противном случае исследование превращается в чисто биологическое, имеющее лишь не прямое отношение к разработке лекарств. Дополнительно следует отметить, что количественная мера активности, выражаемая лишь цитотоксичностью по отношению к одной линии опухолевых клеток, в определенной мере обесценивает поиски закономерностей

структура-активность, которым уделено значительное внимание в работе. Как правило, для разных линий опухолевых клеток этот параметр способен довольно существенно отличаться, т.е. выявленные закономерности, наиболее вероятно, являются достаточно шаткими (пока не доказано обратное).

(3) В некоторых случаях, вероятно, было бы нелишним привлечение аппарата QSAR-анализа, который мог бы эффективно направить дальнейшие поисковые работы (этот пункт носит скорее рекомендательный, и в меньшей степени критический характер);

Далее, с точки зрения обеспечения перспектив развития обнаруженных активных соединений и хемотипов и их дальнейшей разработки до разрешенных к применению лекарственных соединений, у выполненной работы можно отметить ряд методологических недостатков:

(4) В идеале уже на исследовательских стадиях разработки необходимо обеспечить качественный анализ физико-химических свойств, а также сопутствующих ADME-параметров соединений-лидеров. Их неоптимальный профиль, как правило, является не менее серьезной причиной неуспеха лекарственных кандидатов на этапах разработки лекарств, чем недостаточная активность. В работе не предпринимается попыток инициации подобных экспериментов и дискуссий.

(5) Если исходить из принципов технологичности и экономической целесообразности дальнейшей разработки в качестве лекарственного кандидата, то применяемый автором работы подход требует дополнительного серьезного анализа. Следует внимательно проанализировать синтетические этапы, количество стадий, количество стадий, на которых применяется колоночная хроматография, и т.п. Подобных мотивов в работе не обнаружено, при том что некоторые из активных структур на этот счет выглядят неоптимальными.

(6) Также, по убеждению оппонента, медицинские химики должны чрезвычайно бережно подходить к каждому новому перспективному соединению, обеспечивая их своевременную патентную защиту и лишь затем публикуя результаты в чисто научной периодике. Так, в представленной работе открыт ряд соединений-лидеров, но по какой-то причине не взято ни одного патента, не говоря уже о более значимых шагах (инициация официальных доклинических исследований, поиск индустриального партнера и т.п.). В значительной мере это не вина, а беда современной российской науки, которой в качестве критериев успешности вменяют не реальные препараты в разработке и производстве, а новые и новые публикации.

(7) Встречаются немногочисленные опечатки (особенно в экспериментальной части). Примеры: «подксилили до рН=1» (стр. 160, строка 1 снизу).

Отмеченные недостатки в целом не снижают научных достоинств работы, не влияют на выводы и не меняют существа положений, вынесенных автором на защиту.

В целом, Зефирова Н.А., выполнил актуальное, масштабное и имеющее перспективы развития исследование в сфере органической и медицинской химии. Полученные результаты, без сомнения, имеют важное значение для химии исследованных классов соединений, а также для разработки новых высокоэффективных и безопасных противоопухолевых и отчасти антибактериальных лекарственных средств.

Диссертационная работа Зефирова Н.А. «Биоизостерическая замена в дизайне и синтезе новых лигандов тубулина с противоопухолевой активностью» является законченным квалификационным научным исследованием, выполненным на актуальную тему на высоком научном уровне, обладает научной новизной и практической значимостью и соответствует всем требованиям и отвечает критериям, установленным в п. 2 «Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова», утвержденного Ректором Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова 27 октября 2016 года, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Зефирова Николай Алексеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.16 - медицинская химия, 02.00.03 - органическая химия.

Официальный оппонент:

Доцент кафедры медицинской химии
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)
федеральный университет» Минобрнауки России,
доктор химических наук (02.00.03 –
органическая химия)

Балакин К.В.

29.01.2018 г.

420008, Россия, РТ, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации, кафедра медицинской химии

Email: kvbalakin@kpfu.ru, kvbalakin@gmail.com

Контактный телефон: 8 966 119-4454

