

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Зефирова Николая Алексеевича на тему «Биоизостерическая замена в дизайне и синтезе новых лигандов тубулина с противоопухолевой активностью», представленной на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.03 – органическая химия и 02.00.16 – медицинская химия

Лечение злокачественных опухолей является одной из важнейших и труднейших задач современной медицины, а создание новых и эффективных противоопухолевых препаратов является одной из важнейших проблем как синтетической органической химии, так и медицинской химии. Одной из самых популярных молекулярных мишеней для создания противоопухолевых лекарств является клеточный белок тубулин, играющий ключевую роль в процессе деления клетки и способный образовывать микротрубочки, играющие важную роль в процессе нежелательного деления клеток. В настоящее время на рынке имеются препараты, действующие на тубулин, однако их применение ограничивается либо высокой стоимостью, либо высокой токсичностью. Поэтому поиск новых, более дешёвых и менее токсичных лигандов тубулина, обладающих противоопухолевой активностью, является актуальной задачей.

В качестве объектов для изучения противоопухолевой активности автором выбраны несколько «прототипов» - важнейшим из которых являются производные колхицина (токсичного природного алкалоида безвременника осеннего (лат. *Cólchicum autumnále*). Ввиду высокой ингибирующей активности колхицина по отношению к образованию тубулиновых трубочек можно было ожидать, что модификация производных колхицина (и, в частности, его производного – тубулокластина) с высокой вероятностью приведет к синтезу достаточно активных производных, но для того, чтобы найти оптимальное, наиболее активное соединение, нельзя обойтись без химического синтеза, предваряемого, компьютерным «докингом» и биологическим тестированием. Широко известный у специалистов тубокластин содержит, помимо колхицина, адамантильный заместитель, связанный с колхицином мостиком из пяти атомов углерода и двух карбонильных групп. Также из литературы известно, что производные 2-метоксиэстрадиола, комбретастатина и подофилотоксина способны оказывать сильное ингибирование роста опухолевых клеток. Таким образом, синтетической

задачей данной работы являлось изучение различных вариантов связывания фармакофорных фрагментов перечисленных выше соединений путем варьирования длины линкерной группировки, либо непосредственно, либо в комбинации с заменой одного из связанных фрагментов (например, бициклононановый фрагмент вместо адамантанового, и т.п.). Оптимизация линкерных групп проводилась в основном путем изостерической замены атомов или групп. Конкретные варианты структурных модификаций просчитывались на основе компьютерного «докинга» и анализов литературных данных по соотношению структура-активность в рядах аналогов соединений лидеров. Для большинства синтезированных соединений приведены данные биотестирования на опухолевых клетках *in vitro*, которые показали очень хорошие результаты в наномолярном (иногда – в микромолярном) диапазоне концентраций. Таким образом, в работе представлена вся «триада» необходимых навыков будущего специалиста по медицинской химии – "синтез – докинг – биотесты".

Диссертация построена по классическому принципу и состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка литературы (196 стр., 243 ссылки).

Обзор литературы содержит 162 ссылки и составлен очень удобно для того, чтобы дать ясное представление читателю о современных методах модификации производных колхицина (тубулокластин и подобные соединения), 2-метоксиэстрадиола, подофилотоксина, комбретастина и их аналогов и для того, чтобы найти собственное направление исследований в этой области. По моему мнению, обзор литературы (или его часть) могут быть опубликованы в качестве самостоятельной научной работы.

Конкретные задачи, поставленные и решённые в диссертации можно разделить на несколько частей. В первой части путем варьирования длины мостика, связывающего фрагмент колхицина и адамантильный заместитель удалось подготовить для испытаний 9 новых соединений, причем все из них обладали цитотоксичностью даже большей, чем колхицин (табл. 2, стр. 53), а некоторые были сравнимы по цитотоксичности с широко известным препаратом – таксолом. На основании биологических тестов сделан вывод о том, что конкретное положение сложноэфирной группы в линкере и его длина мало влияет на биологическую активность. Однако, факт большей или меньшей активности производных колхицина не является неожиданным, потому, что его активность трудно «испортить», но зато можно улучшить. Гораздо более интересным и, можно сказать, выдающимся является факт, что удаление фрагмента колхицина из молекулы «колхицин-мостик-адамантан»

привело к соединениям, также обладающим высокой активностью в деполимеризации трубочек, пока, правда, в микромолярных концентрациях (стр. 111). Таким образом, подобные производные адамантана (74-76), довольно простые по строению и, скорее всего, недорогие, могут быть выбраны в дальнейшем для расширения структурного разнообразия веществ, обладающих противоопухолевой активностью.

Для замены колхицина в качестве фармакофорной группы в молекулах – лигандах тубулина, диссертантом также использован 2-метоксиэстрадиол, обладающий значительно более низкой токсичностью. Стероиды являются одними из важнейших регуляторов биологических процессов, поэтому модификация стероидов чаще, чем в случае других классов органических соединений, может приводить к получению биологически активных продуктов. Поэтому выбор 2-метоксиэстрадиола, известного лиганда для тубулина, в качестве соединения-лидера представлялся вполне логичным. Однако, цитотоксичность препаратов, полученных в этой части, оказалась не такой высокой, как в случае производных тубулокластина. Тем не менее результаты тестирования показали кластеризирующий эффект полученных продуктов на микротрубочки тубулина, а также необычное влияние на сеть микротрубочек (т.н. "закручивание").

Интересные результаты получены автором при изучении возможной замены фрагмента адамантана на бицикло[3.3.1]нонановую группировку в конъюгатах с колхицином. С одной стороны, они показывают, что важнейшей фармакофорной группой в подобных конъюгатах был и остается колхицин. С другой стороны, демонстрируют возможность замены адамантана на бициклононановую структуру без серьезной потери цитотоксичности. Вообще в диссертации уделяется значительное внимание исследованию различных комбинаций заместителей и активных фармакофорных групп ("биоизостерическая замена"), что приводит к очень интересным находкам активных цитостатиков (например, 34f), активность которого сравнима с активностью клинически используемого противоопухолевого препарата таксола.

В работе синтезировано большое количество новых соединений, результаты испытаний приведены, по моим подсчетам, для 59 из них. Какие-то соединения активны в наномолярных концентрациях, какие-то – в микромолярных. Но несомненным является то, что данная работа является ценным вкладом автора как в органическую, так и в медицинскую химию.

Строение всех синтезированных соединений доказано методами ЯМР ^1H и ^{13}C , подтверждено данными масс-спектров MALDI TOF и элементного анализа. В необходимых случаях использованы эксперименты по ядерной спектроскопии с эффектом NOESY.

Диссертационная работа Н.А. Зефирова очень аккуратно и тщательно оформлена и практически не содержит опечаток. Как пример тщательности, могу привести выдержки из списка сокращений. Кроме расшифровки таких, не всем знакомых сокращений, как EEDQ, приведена расшифровка таких сокращений, как Me (метил), Et (этил), и даже ЯМР (ядерный магнитный резонанс) и МГУ – Московский государственный университет. Вместе с тем, к любой диссертационной работе по органической химии можно придраться, если внимательно изучать экспериментальную часть. С большим трудом, но всё же мне удалось найти данные ЯМР спектров соединений, в которых либо не хватает одного атома углерода, либо есть "лишние" сигналы. Тем не менее, необходимо подчеркнуть, что экспериментальная часть работы выполнена тщательно и она настолько велика и разнообразна по использованным методам, что на её основе можно было бы создать мини-курс по органическому синтезу для студентов, или поставить новые задачи в спецпрактикуме.

В качестве замечаний к работе считаю необходимым отметить чрезмерный объём автореферата и субъективные трудности его чтения (27 стр. очень мелкого шрифта). Для защиты диссертации автору хватило бы и меньшего объёма исследований, тем более, что некоторые из них сделаны в соавторстве с аспирантами кафедры органической химии. Это прежде всего касается раздела про создание мостиков на основе пятичленных гетероциклов. Диссертант честно указывает, что эта часть сделана совместно (стр. 102), данные по синтезу этих соединений на защиту не выносятся, обсуждаются только результаты испытаний, при этом сами соединения проявили умеренную цитотоксичность в микромолярном диапазоне. Т. е. формальных претензий к автору представленной диссертации быть не может, и синтез соединений из этой части может быть защищен в других работах. Но мне представляется, что диссертационная работа Н.А.Зефирова несколько не проиграла бы и без этой части, и без двух статей (№№5 и 9) из 12 (или даже 15), представленных в списке публикаций. Однако высказанные замечания являются скорее "придирами" и не влияют на высокую оценку представленной работы.

По актуальности темы, объему выполненных исследований, новизне полученных результатов, методам исследования и практической значимости диссертационная работа соответствует 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, Зефиров Николай Алексеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.16 - медицинская химия, 02.00.03 - органическая химия.

Официальный оппонент:

доктор химических наук по специальности
02.00.08 - Химия элементоорганических соединений

Лукашев Николай Вадимович

Наименование организации:

Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ имени М.В. Ломоносова)

Должность:

Профессор кафедры органической химии Химического факультета

Адрес: 119991, г. Москва, Ленинские Горы, д. 1, стр. 3

Телефон: +7(495)9395310 Адрес электронной почты:

nvlukashev@gmail.com

30 января 2018 г.

