

## Отзыв

официального оппонента Волчо Константина Петровича  
на диссертационную работу Салимовой Альфии Раисовны «Ti-  
катализируемое гомо- и кросс-цикломагнирование 1,2-диенов в синтезе  
природных и синтетических nZ,(n+4)Z-диеновых кислот – ингибиторов  
топоизомераз I и II»,  
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук  
по специальностям 1.4.3 «Органическая химия» и 1.4.16 «Медицинская  
химия»

Одним из эффективных подходов в противоопухолевой терапии является воздействие на топоизомеразы, играющие важную роль в подготовке клетки к делению. Имеющиеся в настоящее время на рынке лекарственные средства (топотекан, иринотекан и другие) стабилизируют ковалентные комплексы топоизомераз с расщепленной ДНК, что, в конечном итоге, приводит к образованию токсичных двухцепочечных разрывов и гибели клетки. Это весьма эффективный подход, полезность которого, однако, нередко нивелируется повышенной активностью ферментов, способных устранять такие повреждения. В этой связи, перспективным представляется подход, в рамках которого осуществляется ингибирование топоизомераз до их связывания с ДНК. Хотя в этом случае можно ожидать несколько меньшей цитотоксичности, по сравнению с применяющимися в клинической практике ингибиторами топоизомераз, опухолевой клетке сложнее противостоять такому воздействию, что может предотвращать развитие резистентности. В связи с вышесказанным, тема работы Салимовой Альфии Раисовны, направленной на поиск новых ингибиторов топоизомераз человека, безусловно, является важной и актуальной. Учитывая имеющиеся данные по способности природных 5Z,9Z-диеновых кислот ингибировать топоизомеразы, выбор конкретной задачи для решения в рамках диссертационного исследования также представляется обоснованным.

**Объем и структура работы.** Диссертационная работа изложена на 167 страницах. Она построена традиционным способом и состоит из введения, литературного обзора, главы, посвященной обсуждению результатов, экспериментальной части, заключения и выводов, а также списка цитируемой литературы, насчитывающего 243 источника.

В очень полезном **литературном обзоре** приведены данные по структуре и биологическим свойствам ингибиторов топоизомераз природного происхождения или синтезированных на основе природных веществ. В частности, продемонстрировано, что

жирные 5Z,9Z-диеновые кислоты являются перспективными структурными фрагментами для разработки новых ингибиторов топоизомераз.

Далее, в Главе 2 «Обсуждение результатов», приведены описание и анализ основных результатов, полученных автором.

В результате проведенных Салимовой А. Р. исследований разработаны эффективные подходы к стереоселективному синтезу природных  $nZ(n+4),Z$ -диеновых кислот и их синтетических аналогов с использованием оригинального подхода, основанного на применении реактивов Гриньяра с использованием катализатора  $Cp_2TiCl_2$  для межмолекулярного цикломагнирования терминальных алифатических и кислородсодержащих алленов.

Разработанный подход был впервые с успехом применен для получения диолов и дикислот, содержащих  $nZ(n+4),Z$ -диеновый фрагмент. На основе этих диолов и дикислот были синтезированы наборы сложных эфиров, содержащих ароматические остатки или алифатические фрагменты различной длины во вводимых заместителях.

В результате продленного соискателем большого объема синтетической работы осуществлен стереоселективный синтез представительного набора соединений, содержащих  $nZ(n+4),Z$ -диеновый фрагмент и перспективных для изучения их ингибирующей активности в отношении топоизомераз.

Далее была изучена способность синтезированных соединений ингибировать активность топоизомераз человека I и II в *in vitro* экспериментах. Показано, что многие  $nZ(n+4),Z$ -диеновые кислоты являются умеренными ингибиторами топоизомеразы I, действуя в концентрациях 50 мкМ и выше, и высокоактивными ингибиторами топоизомеразы II, демонстрируя сильное ингибирующее действие уже в субмикромольной концентрации (0.1 мкМ). На основании молекулярного моделирования предположено, что  $nZ(n+4),Z$ -диеновые кислоты могут ингибировать активность топоизомераз, взаимодействуя и с ферментами, и с субстратной ДНК.

Детальное изучение ингибирующей активности наиболее перспективных соединений, (5Z,9Z)-эйкоза-5,9-диеновой кислоты **46** и (5Z,9Z)-11-фенилундека-5,9-диеновой кислоты **7**, показало, что эти кислоты эффективно ингибируют обе топоизомеразы в субмикромольной концентрации.

Показано, что кислота **46** ингибирует жизнеспособность опухолевых клеток HL-60 и K562 в субмикромольной концентрации, значительно превосходя по активности препараты сравнения Камптотecin и Этопозид, а также демонстрирует умеренную антипролиферативную активность в отношении нормальных лимфоцитов и фибробластов.

Столь многообещающие результаты позволили перейти к *in vivo* экспериментам, с использованием двух мышинных моделей, с солидной злокачественной мышинной лимфомой (RLS) и карциномой легких Льюис (LLC), с использованием соединений **46** и **7**. В случае модели с RLS, (5Z,9Z)-эйкоза-5,9-диеновая кислота **46** не проявляла достоверного противоопухолевого эффекта, хотя ее использование и приводило к задержке роста трансплантатов на 15-20% относительно контроля. Более эффективным оказалось применение кислоты **46** на модели с LLC, приводившее к достоверной задержке роста опухолевых узлов относительно контроля. При использовании (5Z,9Z)-11-фенилундека-5,9-диеновой кислоты **7** наблюдался достоверный противоопухолевый эффект на модели с RLS, при этом соединение **7** не уступало по эффективности препарату сравнения доксорубину, оказывая менее выраженное, чем доксорубин, токсическое действие на организм животных.

Изучение цитотоксической активности сложных эфиров 5Z,9Z-диеновых дикарбоновых кислот, их моно- и диэфиров, а также аналогов, содержащих спиртовую группу, показало, что они активны в субмикромольном или наномольном диапазонах концентраций, демонстрируя большую активность по отношению к опухолевым линиям клеток в сравнении с фибробластами. Наиболее активные соединения **20a** и **20d** в этих же концентрациях ингибировали каталитическую активность топоизомеразы I. Показано, что эти соединения вызывают апоптоз, подавляя основные сигнальные пути, ответственные за рост и дифференцировку клеток и останавливая клеточный цикл в S-фазе.

Таким образом, автором разработаны методики и осуществлен целенаправленный синтез представительного набора новых соединений, содержащих nZ(n+4),Z-диеновый фрагмент, продемонстрирована способность многих синтезированных соединений ингибировать топоизомеразы человека I и II и пролиферацию опухолевых клеток различных линий, а также способность замедлять рост опухолей в *in vivo* экспериментах. Сделаны обоснованные предположения по механизму действия новых соединений. Эти достижения и составляют научную и практическую новизну проведенного исследования.

В экспериментальной части описываются методы исследований и приводятся данные, необходимые для анализа полученных автором результатов и проверки их достоверности. Высокая достоверность полученных результатов и выводов обоснована и применением комплекса современных научных экспериментальных и расчетных подходов.

**Заключения и выводы**, сделанные в диссертационной работе, в достаточной степени обоснованы экспериментальным материалом, подтверждены современными

физико-химическими методами анализа, корректно обсуждены с позиции современных органической и медицинской химии и не вызывают сомнений.

В целом, можно констатировать, что диссертационная работа удовлетворяет критериям научной новизны и практической значимости.

Результаты исследования прошли апробацию на всероссийских конференциях. Содержание диссертации отражено в 7 статьях, опубликованных в уважаемых международных и отечественных журналах, рекомендованных ВАК.

Публикации полностью отражают основное содержание диссертации. Содержание автореферата соответствует основным идеям и выводам диссертации.

### **Замечания**

Хотя работа лишена принципиальных недостатков, тем не менее, по ней могут быть сделаны следующие замечания и комментарии:

1. Литературный обзор был бы наглядней, если бы для всех соединений были приведены ингибирующие концентрации по отношению к топоизомеразам.
2. В начале Главы 2 «Обсуждение результатов» стоило привести схемы синтеза исходных алленов, что позволило бы читателю понимать степень их синтетической доступности.
3. На схеме 2.6 в соединениях **20** изображено лишнее метиленовое звено. В описании к рис. 2.14 местами допущен сбой нумерации («23» вместо «20»), на рис. 2.16Б на гистограмме не подписаны соединения.
4. В описании эксперимента *in vivo* использовалась нумерация соединений, не совпадающая с нумерацией этих веществ, применявшейся в описании синтеза и ингибирующей активности, что неудобно и может запутывать.
5. Стр. 89. «В результате было обнаружено, что увеличение концентрации диеновой кислоты от 0,025 мкМ до 0,125 мкМ (**20a**) или от 0,01 до 0,07 мкМ (**20д**) вызывает постепенное увеличение количества образующихся топоизомеров ..., что свидетельствует об усилении релаксации, то есть увеличении активности топоизомеразы I при уменьшении концентрации ингибитора». Вообще то, из текста следует увеличение активности топоизомеразы I при увеличении концентрации ингибитора, хотя это и противоречит данным на рис. 2.14.
6. Экспериментальная часть, стр. 100. Утверждение «Выходы продуктов определяли с помощью ГЖХ-анализа» плохо согласуется с приведенными методиками и требует объяснения.

7. Заключение. «Одновременно нами впервые разработаны...». В чем состоит важность этой «одновременности», что она вынесена в заключение?
8. Приведение в автореферате электрофореграмм без расшифровки того, что скрывается под номерами дорожек, фактически бессмысленно. Как минимум нужно было привести номера дорожек в тексте, обсуждающем представленные на этих электрофореграммах результаты.
9. Встречаются опечатки, неточности и неудачные выражения, например: «II стадия предклинических испытаний» (стр. 18, 19.); на стр. 27 соединение названо «эллиптицин», а на рисунке 1.3 – «эллиптицид»; на этом же рисунке неправильно нарисованы берберин и лунакридин; многие соединения, упомянутые на стр. 31 и 32, вовсе не нарисованы; на стр. 39 соединение названо «манзонон Е», а на рисунке 1.8 – «манзон Е»; «ЯМР 1 и 13 спектроскопии» (стр. 62); «p-p-взаимодействие» (стр. 86, 141); «показатель стыковки» (стр. 91) и т.д.

Видно, что все приведенные выше замечания носят технический или дискуссионный характер и не затрагивают существа работы.

В своем исследовании Салимовой Альфией Раисовной решена научная задача, связанная с разработкой нового каталитического метода синтеза соединений, содержащих  $nZ(n+4)$ , Z-диеновый фрагмент, и показано, что такие соединения перспективны для дальнейшей разработки в качестве ингибиторов топоизомеразы человека I и II для использования в противоопухолевой терапии.

Таким образом, диссертационная работа Салимовой А. Р. по актуальности, научной новизне и практической значимости полученных результатов соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции), а ее автор, Салимова Альфия Раисовна, заслуживает присуждение ученой степени кандидата химических наук по научным специальностям 1.4.3. – Органическая химия и 1.4.16. – Медицинская химия.

Официальный оппонент

доктор химических наук, профессор РАН,  
главный научный сотрудник лаборатории физиологически активных веществ  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирский институт  
органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии  
наук (НИОХ СО РАН),

E-mail: volcho@nioch.nsc.ru; тел. +7 (383) 3308870

15.01.2025



Волчо Константин Петрович

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН);**

630090, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева, 9, Новосибирский институт органической химии СО РАН

Контактный телефон НИОХ СО РАН: (383)330-88-50; E-mail: benzol@nioch.nsc.ru; адрес официального сайта: <http://web.nioch.nsc.ru/nioch/>

Подпись Волчо К.П. заверяю:

Ученый секретарь НИОХ СО РАН,  
кандидат химических наук



15.01.2025



Бредихин Роман Андреевич