



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФИЦ КазНЦ РАН,

Чл.-корр. РАН, д.ф.-м.н. А.А.Калачев

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» (ФИЦ КазНЦ РАН) на диссертационную работу Салимовой Альфии Раисовны «*Ti*-катализируемое гомо- и кросс-цикломагничирование 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

Актуальность темы работы

Онкологические заболевания занимают второе место в списке причин смертности населения. Несмотря на то, что в современной терапии онкологических заболеваний применяется большое число лекарственных препаратов с различными механизмами действия, существует множество проблем, связанных с их эффективностью и безопасностью. Среди них следует отметить постоянно увеличивающуюся устойчивость раковых клеток к различным соединениям (резистентность), низкую избирательность их действия и высокую токсичность. В связи с этим поиск новых эффективных соединений противораковой направленности является важной задачей медицинской химии. Среди новых типов и классов соединений особый интерес представляют природные вещества органического происхождения, для которых, как правило, характерна низкая токсичность. В ряду природных соединений выделяются функционально замещенные жирные кислоты и их производные, проявляющие в ряде случаев высокую цитотоксичность и избирательность по отношению к опухолевым клеткам. Так, в последнее время уделяется большое внимание 5Z,9Z-диеновым кислотам, выделяемым из различных видов морских губок, кораллов и плодов голосеменных растений. Среди множества мишеней, на которые направлено действие лекарственных противоопухолевых веществ, особенно выделяются топоизомеразы, отвечающие за процессы репарации ДНК. Согласно данным Chemical Abstracts, поиску ингибиторов топоизомераз I и II только за 2020-2025 гг. посвящено более 270 обзоров. Такое внимание исследователей обуславливает высокую актуальность поиска ингибиторов топоизомераз как мишеней в опухолевых клетках на основе хорошо зарекомендовавших себя различных классов природных соединений, в том числе, непредельных жирных кислот. В связи с вышесказанным, работа А.Р.Салимовой,

направленная на поиск эффективных ингибиторов топоизомераз в ряду малотоксичных 5Z,9Z-диеновых кислот, является актуальной.

Общая характеристика работы

Представленная диссертационная работа построена классически и состоит из введения, трех глав, заключения и списка литературы (243 ссылки). Работа изложена на 167 страницах, содержит 7 схем, 31 рисунок и 4 таблицы. Во введении обоснована актуальность темы исследования, представлены цели и задачи работы, сформулирована новизна полученных результатов и их теоретическая и практическая значимость, приведены сведения о методологии работы, сформулированы основные положения, выносимые на защиту. Следует отметить, что формулировки последнего раздела представлены как выводы, а не как положения, выносимые на защиту. Их следовало бы написать следующим образом: 1) новый метод синтеза..., 2) основные закономерности..., 3) ингибирующие свойства... и т.д.

Первая глава включает литературный обзор на тему «Успехи в химии природных и полусинтетических ингибиторов топоизомеразы I/II», где представлены общие сведения о ДНК-модифицирующих ферментах – топоизомеразах I и II. Проведен анализ литературных данных о природных соединениях (алкалоидах, жирных кислотах, флавоноидах, полифенолах, нафтохинонах и др.) и их полусинтетических аналогах, проявляющих ингибирующие свойства. В обзор также включены сведения о биологической активности ряда представителей жирных кислот, в том числе, 5Z,9Z-диеновых. В конце обзора представлено заключение, обосновывающее выбор направления исследований в работе.

Вторая глава посвящена обсуждению полученных экспериментальных данных по разработке методов синтеза стереоизомерно чистых диеновых кислот и их производных, содержащих в своей структуре 1Z,5Z-диеновую группу. Кроме того, представлены результаты исследований по изучению биологических свойств синтезированных соединений в качестве ингибиторов топоизомеразы человека I и II *in vitro*. Изучены также закономерности влияния структуры исследуемых соединений на каталитическую активность ключевых ферментов клеточного цикла. Приведены результаты изучения цитотоксичности полученных соединений на клеточных линиях, выявлены наиболее перспективные образцы производных 5Z,9Z-диеновых кислот в исследованиях *in vivo*.

В третьей главе приведены методы синтеза и спектральные характеристики новых химических соединений, а также методики оценки биологической активности.

Научная новизна работы

Среди результатов, полученных автором и отличающихся новизной, необходимо отметить следующие. Прежде всего, впервые разработан эффективный каталитический метод синтеза природных и синтетических жирных nZ,(n+4)Z-диеновых кислот, а также их аналогов с высокими выходами и селективностью. Метод основан на использовании реакции перекрестного межмолекулярного цикломагнирования на примере новых объектов – терминальных алифатических и кислородсодержащих 1,2-диенов под действием катализатора Cr_2TiCl_2 .

Также впервые в работе осуществлен синтез ряда природных и новых, не описанных ранее, жирных кислот с различным расположением 1Z,5Z-диеновой группировки и карбоксильной группы. Это позволило получить данные о закономерностях влияния структуры синтезированных стереоизомерно чистых nZ(n+4)Z-диеновых кислот на активность ингибирования по отношению к топоизомеразам I (hTop1) и II (hTop2α) *in vitro*, а также выявить наиболее активные ингибиторы. Кроме того, получены данные о высокой цитотоксической активности синтезированных соединений в отношении ряда опухолевых клеточных линий.

Следует также отметить эффективный стереоселективный синтез нового интересного объекта – (5Z,9Z)-11-фенилундека-5,9-диеновой кислоты, проявившей выраженную ингибирующую активность к топоизомеразам I и IIα *in vitro*, который авторы связали с влиянием введенного в молекулу 5Z,9Z-диеновой кислоты электронодонорного фенильного заместителя.

Впервые обнаружено, что (5Z,9Z)-эйкоза-5,9-диеновая кислота проявляет достоверный противоопухолевый эффект в эксперименте *in vivo* на группах мышей с привитой злокачественной карциномой Льюиса легких (LLC) и солидной злокачественной мышинной лимфомой (RLS) на уровне препарата доксорубицин.

Наконец следует отметить новые данные о цитотоксичности синтетических аналогов природных 5Z,9Z-диеновых кислот в отношении клеточных культур различных видов лейкемии (Jurkat, HL-60, K562, U937) в опытах *in vitro*, а также данные по влиянию на клеточный цикл и способность индуцировать апоптоз.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключений соискателя, сформулированных в диссертации

Достоверность полученных результатов основана на использовании современных методов органического синтеза и металлокомплексного катализа, а также физических методов исследования структуры химических соединений (ЯМР, ИКС, масс-спектрометрия). Привлечены классические методы выделения и очистки соединений (ректификация, тонкослойная и колоночная хроматография, перекристаллизация). Биологическая активность соединений изучена с привлечением проточной цитометрии. Оценка ингибирования ферментов проведена стандартными методами. Экспериментальные биологические работы с животными выполнены в соответствии с общепринятыми протоколами. Расчеты *in silico* и методом молекулярного докинга проведены по общепринятой методологии.

Полученные результаты воспроизводимы, согласуются с аналогичными данными для других природных соединений из литературы. В работе использованы известные теоретические и методологические подходы, результаты которых не противоречат друг другу. Приведенные выводы обоснованы и базируются на полученных экспериментальных данных.

Результаты диссертации достаточно полно изложены в 7 статьях в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, входящих в международные реферативные базы данных Scopus и Web of Science, а также в 6 тезисах докладов международных и российских научно-практических конференций. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

Практическая значимость работы

Практическая значимость настоящей работы состоит в выполнении программы ориентированных фундаментальных исследований по созданию и разработке важных и перспективных для применения в практике стереоселективных методов синтеза природных 5Z,9Z-диеновых кислот, а также их синтетических производных различной химической структуры. Практически значимым является подробное изучение свойств полученных соединений *in vitro* в качестве ингибиторов топоизомеразы человека I и II, установление закономерностей влияния структуры кислот и природы заместителя на эффективность ингибирования топоизомераз, выявление наиболее активных ингибиторов топоизомераз, а также изучение противоопухолевых свойств 5Z,9Z-диеновых кислот *in vivo* на лабораторных животных со злокачественной карциномой легких Льюис (LLC) и солидной злокачественной мышинной лимфомой (RLS).

Полученные результаты могут быть рекомендованы к использованию в научных учреждениях и коммерческих компаниях, занимающихся созданием и исследованием малотоксичных противоопухолевых соединений, перспективных для терапии онкологических заболеваний.

Замечания и вопросы

Несмотря на общий высокий научный уровень работы, имеется ряд вопросов и замечаний:

1) При описании методов синтеза целевых соединений в обсуждении экспериментальной части автор лишь приводит общие схемы, практически не обсуждая химизм процессов и не обосновывая соотношения реагентов в этих многокомпонентных реакциях. При этом автор ссылается на разработанные ранее аналогичные подходы, не обосновывая новизны предложенных в данной работе методов или отличий от ранее опубликованных.

2) Несмотря на то, что обзор по литературе достаточно большой и подробный, практически нет ссылок на работы 2022-2024 гг. На рис. 1.2 (стр. 20) в формулах ошибки – лишние связи с азотом. На рис. 1.3 (стр. 28) многочисленные ошибки в формулах коралина, лунакридина, ликобетаина, берберины, пиридоакридина, эллиптицида. Формула лунакридина приведена дважды и оба раза неправильно. Формула берберины также приведена неправильно. Вместо калотриксина под формулой указан картоксин Б (такого соединения нет).

3) В экспериментальной части автором представлены спектры ЯМР $^{13}\text{C}-\{^1\text{H}\}$, а не спектры ЯМР ^{13}C , которые предполагают перечисление констант спин-спинового взаимодействия. В диссертации не приведено ни одного примера, иллюстрирующего использование корреляционных спектров ЯМР, которые бы подтверждали полную интерпретацию сигналов в спектрах ЯМР $^{13}\text{C}-\{^1\text{H}\}$, приведенную автором.

4) В экспериментальной части недостаточно подробно описаны биологические эксперименты, в частности по цитотоксичности. Не указано, в каких растворителях растворяли вещества для испытаний (в том числе в экспериментах с топоизомеразами), как получены эмульсии веществ, растворенных в масле, с использованием ПАВ (например, твина, стр. 77, не указана также его молекулярная масса), какова устойчивость эмульсий. Автор не приводит рассчитанных индексов селективности – очень важной характеристики испытуемых веществ.

5) Следовало ли автору выносить в вывод № 6 утверждение: «Установлено, что синтезированные сложные эфиры ненасыщенных 5*Z*,9*Z*-диеновых кислот проявляют высокий цитотоксический эффект в отношении ряда раковых и нормальных клеточных линий (Jurkat, HL-60, K562, U937, Fibroblasts)...» (стр. 140). Это означает, что полученные соединения не обладают никакой селективностью.

В работе имеются опечатки, несоответствия окончаний падежей (стр. 43, 44, 50, 53, 57, 59, 62, 67, 74, 76, 83, 84, 97, 101 и т.д.), отсутствует единообразие краткого обозначения топоизомеразы (стр. 19, Top1; стр. 21, TopI; стр. 22, Торо I; стр. 72, топо I, топо II и др.), стилистически неправильные выражения (стр. 53, «ферменты топоизомеразы... являются одним из важнейших ферментов...» и др.).

В ряде случаев имеются неточности в номенклатуре, например 2,5-диалкилиденмагнеза-циклопентанов (магнаи) стр. 54 «гомоцикломагнезирование» (стр. 84), при описании спектров английские символы вместо русских (стр. 111-113). Каждый абзац следует начинать с заглавной буквы без учета впереди стоящих символов и цифр (например, стр. 75, 101-125 и т. д.)

Что такое «антиизо структуры» (стр. 45), и DAPI (нет расшифровки, стр. 67)?
 Что означают записи: «в выбранных условиях эксперимента 2:3:EtMgBr:Mg:[Ti] = 10:12:40:32:0.5» (стр. 62, на этой стр. нет соединений **2** и **3**), «подтверждено методами ЯМР 1 и 13 спектроскопии» (стр. 62), «...процесс ингибирования носит двойственный характер...» (стр. 74-75), «реакцию перекрестного цикломагнезии» (стр. 83), «...аналогов ранее синтезированных кислот, отличающихся ориентацией карбоксильной группы» (стр. 85), «активность соединений свинца **20a** и **20e**» (откуда свинец? стр. 92)

Отмеченные выше недостатки не являются принципиальными, не снижают высокой научной значимости проведенного исследования и не влияют на общую положительную оценку работы. В целом автором проделана большая трудоемкая экспериментальная работа по синтезу, выделению, структурной идентификации и оценке биологических свойств более 60 новых соединений, которая потребовала от автора не только очень квалифицированного владения методами экспериментальной органической химии, но и методами и приемами медицинской химии.

Заключение

Диссертационная работа Салимовой Альфии Раисовны на тему «*Ti*-Катализируемое гомо- и кросс-цикломагнезирование 1,2-диенов в синтезе природных и синтетических *nZ*,(*n*+4)*Z*-диеновых кислот – ингибиторов топоизомераз I и II» является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной автором самостоятельно на высоком научном уровне, в которой содержатся решения актуальной научной задачи в области органической и медицинской химии, а именно, разработки эффективных стереоселективных методов синтеза природных и синтетических жирных *nZ*,(*n*+4)*Z*-диеновых кислот, а также их аналогов в качестве ингибиторов топоизомераз I и II. Работа полностью соответствует критериям пп. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2024 года № 842 (с изменениями и дополнениями), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени

кандидата химических наук по специальностям 1.4.3. – Органическая химия и 1.4.16. – Медицинская химия.

Отзыв подготовлен заведующим лабораторией Фосфорсодержащих аналогов природных соединений Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН, чл.-корр. РАН, д.х.н., проф., заслуженным деятелем науки Республики Татарстан Мироновым Владимиром Федоровичем.

23.01.2025 г.


 Миронов Владимир Федорович,
 Должность: заведующий лабораторией
 Телефон 8(843)2727384
 e-mail: mironov@iopc.ru



Наименование организации:

Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»

Адрес: 420088, г. Казань, ул. Акад. Арбузова, д. 8.