

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Семакова Алексея Владимировича

«МОДИФИКАЦИЯ АНТРАЦИКЛИНОВЫХ АНТИБИОТИКОВ ПРИРОДНЫМИ СЕСКВИТЕРПЕНОВЫМИ ЛАКТОНАМИ»,

представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности **1.4.16. – Медицинская химия**

Актуальность темы работы. Антрациклиновые антибиотики остаются препаратами первой линии в химиотерапии широкого спектра злокачественных новообразований. Однако их клиническое применение существенно ограничивается дозозависимой кардиотоксичностью и развитием множественной лекарственной устойчивости (MDR). Поиск структурных аналогов, сохраняющих высокую противоопухолевую активность при сниженном токсическом профиле, является одной из приоритетных задач современной медицинской химии. Подход, предложенный А.В. Семаковым, основанный на прямом присоединении природных сесквитерпеновых лактонов (СЛ) к аминогруппе аминосахарного фрагмента антрациклинов через реакцию аза-Михаэля, представляет собой оригинальное и перспективное направление. Гипотеза о том, что образование фрагмента «лактон–амин» может придавать конъюгатам антиоксидантные свойства и снижать АФК-индуцированное повреждение кардиомиоцитов, обоснована литературными данными и придаёт работе высокую научную и практическую значимость.

Представленное к рассмотрению диссертационное исследование А.В.Семакова вносит существенный вклад в разработку новых антинеопластических агентов с улучшенным терапевтическим индексом, именно поэтому его следует считать *актуальным и обоснованным.*

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка цитируемой литературы. В первой главе (литературный обзор) обобщены имеющиеся в литературе данные по механизму антрациклиновой кардиотоксичности и существующим подходам модификации структуры антрациклиновых антибиотиков. Во второй главе приведены методики получения стартовых сесквитерпеновых лактонов из природных источников и пути их модификации и обсуждаются данные, полученные нами при непосредственном синтезе производных антрациклинов, показаны результаты первичного скрининга соединений на цитотоксическую активность. В третьей главе (экспериментальная часть) подробно описаны методики проведения экспериментов по получению как исходных лактонов, так и самих производных антрациклинов.

Диссертация изложена на 231 странице, содержит 80 рисунков, 15 таблиц и список литературы из 426 источников. Структура работы логична и соответствует поставленным задачам.

Цели и задачи диссертационного исследования. На основании проведенного автором анализа литературы и с учетом актуальности заявленной темы *цель настоящей диссертационной работы* сформулирована как «синтез высокоактивных производных антрациклиновых антибиотиков с потенциально сниженным, по сравнению с исходными антрациклиновыми антибиотиками, кардиотоксическим действием. Для достижения этой цели был выбран подход, основанный на получении алкилированных аналогов антрациклинов по аминогруппе даунозаминного фрагмента через реакцию присоединения аза-Михаэля с сесквитерпеновыми лактонами природного или полусинтетического происхождения».

Для достижения поставленной цели соискателем было сформулировано *четыре задачи*, успешное решение которых должно было позволить ему завершить запланированные исследования:

1) Поиск доступных растительных источников с большим содержанием сесквитерпеновых лактонов и выделение стартовых сесквитерпеновых лактонов из этих источников;

2) Расширение набора сесквитерпеновых источников как строительных блоков для реакции аза-Михаэля путем химической модификации имеющихся сесквитерпеновых лактонов;

3) Синтез конъюгатов даунорубицина с полученной библиотекой сесквитерпеновых лактонов, а также синтез amino-конъюгатов других антрациклинов (доксорубицина и 5-имино-даунорубицина) с СЛ;

4) Установление цитотоксической активности *in vitro* полученных модифицированных конъюгатов антрациклинов на клеточных культурах опухолевых линий.

Анализ полученных результатов. По мнению оппонента, все основные результаты были получены соискателем в рамках данного цикла исследований. Отмечаю, что содержательная часть диссертационной работы *полностью соответствует* заявленной *цели исследования* и сформулированным *задачам*, по каждой из которых соискателю удалось достичь научно- и практически значимых результатов.

Научная новизна работы не вызывает сомнений и определяется следующими данными:

- Впервые синтезирован ряд гибридных молекул, объединяющих фрагменты антрациклиновых антибиотиков (даунорубицина, доксорубицина, 5-имино-даунорубицина) и природных/полусинтетических сесквитерпеновых лактонов различных структурных типов (эвдесманолиды, гваянолиды, эремофианолиды, гермакранолиды).
- Впервые показана применимость сесквитерпеновых лактонов в качестве прямых алкилирующих агентов в реакции аза-Михаэля с антрациклинами без использования промежуточных активированных форм.
- Разработаны и оптимизированы препаративные методики выделения и модификации СЛ (включая каталитическую миграцию двойной связи молекулярным иодом, галогенлактонизацию с последующей перегруппировкой скелета, «темновое» генерирование синглетного кислорода для синтеза артемизитена), что расширяет доступность данных соединений как удобных синтетических исходных.
- Установлено, что полученные конъюгаты сохраняют или превосходят исходный даунорубицин по антипролиферативной активности, индуцируют арест клеточного цикла в фазе G2/M, запускают апоптоз и демонстрируют способность преодолевать резистентность линии K562/DNR.

Практическая и теоретическая ценность диссертации заключаются в:

- Выявлении двух соединений-лидеров (конъюгаты даунорубицина с эпокси-изоалантолактоном и дегидрокостус-лактоном), обладающих высокой цитотоксичностью *in vitro* и сниженной токсичностью для нормальных клеток, которые переданы для доклинических исследований кардиотоксичности *in vivo*.
- Разработке масштабируемых методик выделения ключевых лактонов из коммерчески доступного растительного сырья, что снижает себестоимость получения исходных субстратов.
- Создании методологической базы для комбинаторного синтеза библиотек N-алкильных производных антрациклинов с целью поиска агентов, обходящих механизмы множественной лекарственной устойчивости.

Диссертантом проделана впечатляющая по объему и полученным результатам работа по выделению, очистке и модификации индивидуальных фракций СЛ. Особо хотелось бы отметить важные для практического использования данные и рекомендации по колоночному разделению фракций и дробной кристаллизации чистых веществ. В этом ключе замечательной находкой можно назвать получение аминопроизводных лактонов с последующей регенерацией очищенных исходных.

Все научные положения, выносимые на защиту, логически вытекают из представленных экспериментальных данных и подкреплены современными физико-химическими и биологическими методами исследования. Достоверность

результатов обеспечивается применением валидированных аналитических методик (ЯМР $^1\text{H}/^{13}\text{C}$, ИК-спектроскопия, ВЭЖХ-МС, РФА для отдельных соединений), использованием стандартных клеточных линий, проведением экспериментов в повторностях, статистической обработкой данных и применением контрольных соединений. Противоречий между представленными данными и выводами не обнаружено.

Вопросы и замечания. После внимательного ознакомления с текстом диссертационной работы, автореферата и публикаций автора появился ряд уточняющих вопросов, в ответах на которые хотелось бы увидеть мнение соискателя либо получить дополнительные пояснения:

- В автореферате указано, что снижение кардиотоксичности ожидается за счёт антиоксидантных свойств фрагмента «лактон–амин». Проводились ли в рамках данной работы прямые измерения генерации активных форм кислорода в кардиомиобластах (например, линии H9c2) или оценка митохондриальной дисфункции для экспериментального подтверждения данной гипотезы?
- Реакция аза-Михаэля между СЛ и антрациклинами требует инкубации до 7 суток. Рассматривались ли варианты катализа (например, кислотный/основной, мицеллярный или микроволновой активация) для оптимизации кинетики процесса и повышения выхода целевых конъюгатов без риска деградации антрациклинового компонента?
- Недостаточно обоснован выбор именно реакции аза-Михаэля; также не полностью оценены потенциальные ограничения метода (региоселективность, побочные реакции с другими реакционными центрами антрациклинов и СЛ).
- Хотя преодоление кардиотоксичности заявлено как основная цель работы, экспериментальные данные *in vivo* по оценке кардиотоксического профиля полученных конъюгатов (гистология миокарда, биомаркеры повреждения сердца, функциональные параметры) в тексте диссертации не представлены.
- Не изучена стабильность полученных соединений в плазме крови, буферных системах при физиологических значениях pH, не оценена скорость гидролитического распада или метаболической трансформации, что критически важно для оценки перспективности соединений как лекарственных кандидатов.
- Не проведено систематического сопоставления структурных особенностей лактонов (тип скелета, наличие функциональных групп, конфигурация двойных связей) с биологической активностью конъюгатов, что ограничивает возможности рационального дизайна следующих поколений соединений.

- В структурах **10**, **14**, **16**, **19** (автореферат) метильная группа при «верхней» двойной связи изображена так, что нет возможности понять конфигурацию алкена;
- Хотелось бы подробнее узнать про роль нитрата серебра для создания неподвижных фаз для колоночной хроматографии и методы приготовления таких носителей.
- *Рекомендации:* оппонент не советовал бы диссертанту часто упоминать про исследования, «выходящие за рамки данной работы»; методики, оптимизированные для получения миллиграммовых количеств соединений, могут потребовать существенной доработки для масштабирования до граммовых количеств, необходимых для углубленных биологических исследований – соответствующие технологические аспекты в работе не обсуждаются; очень хотелось узнать про механизм образования **40**.
- *Редакторские и стилистические:* «DAU и DOX», «СЛ» надо было бы расшифровать при первом использовании (автореферат); замечено некоторое количество опечаток, особенно видна нелюбовь автора к запятым; символ элемента «иод» *I*, а не *J*; «кокатализатор»; являются «взаимными изомерами»; «все остальные соединения поглощающие в слабой области 1H-ЯМР имели природу флавонов»; чем соединение **1** отличается от соединения **23** (обсуждение результатов, Рис. 45, 47 и Табл. 2) – если **1** это *алантолактон*, то положение эндоциклической двойной связи указано неверно; «Как правило, в продуктах реакции присоединения аза-Михаэля лактона к аминогруппе антрациклина почти полностью преобладал только один оптический изомер» (стр. 121) – правильнее говорить *диастереомер*; соединение **70** не является лактоном; в списке литературы не принято ставить «и» перед фамилией последнего автора.

Высказанные замечания и вопросы не снижают общую высокую оценку представленного научного исследования и не влияют на общее очень положительное впечатление от рецензируемой диссертационной работы.

Заключение. Считаю, в ходе выполнения исследований соискатель получил обширный экспериментальный материал, который по своей *новизне, объёму* и научному *качеству* является *достаточным* для кандидатской диссертационной работы. Основное содержание работы нашло отражение в 14 статьях в отечественных и иностранных научных журналах, рекомендованных ВАК, 1 статье в научном журнале, входящим в список РИНЦ и в 27 тезисах в сборниках докладов конференций. Автореферат и публикации отражают содержание диссертационной работы. Стоит отметить, что представленная диссертация является *логически завершённым* самостоятельным научным исследованием.

Изложенный материал и полученные в работе результаты полностью соответствуют паспорту специальности 1.4.16. – Медицинская химия. В диссертации решены задачи молекулярного дизайна новых биологически активных соединений, разработаны оригинальные синтетические подходы к получению гибридных молекул на основе известных лекарственных субстанций и природных скаффолдов, проведено комплексное изучение их противоопухолевой активности *in vitro*, оценена селективность и цитотоксичность в отношении нормальных клеточных линий, исследованы механизмы влияния на клеточный цикл и апоптоз. Работа вносит вклад в разработку новых антинеопластических агентов с улучшенным терапевтическим индексом, что полностью отвечает целям и задачам специальности.

Диссертационная работа «**Модификация антрациклиновых антибиотиков природными сесквитерпеновыми лактонами**» по актуальности темы, новизне, объему, научному и практическому значению полученных результатов, обоснованности сделанных выводов и уровню исполнения **соответствует требованиям к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук**, в том числе пп. 9-14 «Положения и присуждении ученых степеней» ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013г. № 842 (в текущей редакции) и другим требованиям ВАК, а **автор** работы, Семаков Алексей Владимирович, **заслуживает присуждения** ему искомой **степени кандидата химически наук** по специальности 1.4.16. – Медицинская химия.

Я, Вацадзе Сергей Зурабович, даю свое согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку в соответствии с требованиями Минобрнауки РФ.

Официальный оппонент:



Вацадзе Сергей Зурабович, профессор РАН, доктор химических наук по специальности 1.4.3 – органическая химия, профессор по специальности 1.4.3 – органическая химия, заведующий лабораторией супрамолекулярной химии (№2) ФГБУН Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН (ИОХ РАН)
Адрес: 119991, Москва, Ленинский проспект, д. 47
Телефон: +7 (499) 137-2944, Электронный адрес: vatsadze@ioc.ac.ru
Дата «13» мая 2026 г.

Подпись Вацадзе С.З. заверяю:
Ученый секретарь ИОХ РАН,
к.х.н.



 Коршевец И.К.