

«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель директора

Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Федерального
исследовательского центра проблем
химической физики и медицинской химии

Российской академии наук

д.х.н. Бадамшина Э.Р.



«21» сентября 2024 г

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального
исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии
Российской академии наук (ФИЦ ПХФ и МХ РАН)
(142432, Московская обл., г. Черноголовка, проспект Академика Семенова, д. 1,
адрес сайта: <https://www.icp.ac.ru/>)

Диссертация «Модификация антрациклиновых антибиотиков природными сесквитерпеновыми лактонами» на соискание ученой степени кандидата химических наук выполнена в Институте физиологически активных веществ Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук.

В период подготовки диссертации соискатель Семаков Алексей Владимирович работал в лаборатории природных соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологически активных веществ Российской академии наук (ИФАВ РАН), который в 2022 г. был преобразован в структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук (ФИЦ ПХФ и МХ РАН), в должности младшего научного сотрудника. В настоящее время является младшим научным сотрудником

лаборатории природных соединений Отдела медицинской и биологической химии ИФАВ ФИЦ ПХФ и МХ РАН.

Соискатель в 2013 г. окончил Биологический факультет Федерального государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» по специальности «биохимия».

В 2014 – 2018 гг. соискатель прошел обучение в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологически активных веществ Российской академии наук (ИФАВ РАН) по направлению подготовки 04.06.01 Химические науки по специальности 02.00.10 Биоорганическая химия (новый шифр 1.4.9). Справка об обучении с результатами сдачи кандидатских экзаменов выдана в 2024 г. Федеральным государственным бюджетным учреждением науки Федеральным исследовательским центром проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук.

Научные руководители – Клочков Сергей Георгиевич, кандидат биологических наук (специальность 03.00.09 – энтомология); Брель Валерий Кузьмич, доктор химических наук (специальность 02.00.03 – органическая химия), профессор, главный научный сотрудник лаборатории фосфорорганических соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института элементоорганических соединений имени А.Н.Несмеянова.

По итогам обсуждения диссертации «Модификация антрациклиновых антибиотиков природными сесквитерпеновыми лактонам» на семинаре Отдела медицинской и биологической химии ИФАВ ФИЦ ПХФ и МХ РАН принято следующее заключение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Семакова Алексея Владимировича посвящена выделению и химической модификации природных сесквитерпеновых лактонов с целью синтеза на их основе конъюгатов с антрациклиновыми производными (даунорубицином и доксорубицином). Кроме того, большая часть исследования связана с определением цитотоксической активности новых соединений на клеточных культурах опухолевых линий и установлением ее связи со структурой.

Актуальность темы

Антрациклиновые антибиотики с момента введения в клиническую практику в 70-х годах XX в. и до настоящего времени широко используют в качестве противоопухолевых

препаратов. Однако их применение ограничивается побочным действием, в числе которых следует отметить высокую кардиотоксичность и множественную лекарственную устойчивость. Важной задачей становится поиск на основе антрациклинов препаратов со сниженной токсичностью, способных преодолевать эти недостатки и действовать на широкий спектр опухолей. Одним из подходов к созданию таких производных является модификация природными сесквитерпеновыми лактонами – природными соединениями, обладающими собственной цитотоксической активностью.

Новизна и практическая значимость результатов работы

Разработаны препаративные методы выделения сесквитерпеновых лактонов, имеющих углеродный скелет разного типа, -- эвдесманолоидов, гваянолидов, эремофианолидов, гемакранолидов, из доступного растительного сырья. Показано, что доступные лактоны девясила -- алантолактон и изоалантолактон – могут служить субстратами для синтеза лактонов с разным строением углеродного скелета и содержащих различные функциональные группы. Предложены пути трансформации скелета и заместителей в природных лактонах, включая методы миграции двойной связи и различные перегруппировки, которые можно применять для синтеза новых органических соединений различных классов. На примере артемизитена подобраны и оптимизированы условия взаимодействия с синглетным кислородом, в том числе в «темновом» варианте, протекающего быстро и с высокими выходами продукта.

Впервые синтезированы гибридные молекулы, сочетающие в структуре фрагменты даунорубицина и сесквитерпеновых лактонов. Показана возможность использования аза-реакции Михаэля для модификации доксорубицина и 5-иминодаунорубицина природными γ -лактонами, содержащими активированную экзометиленовую группу. Эти подходы могут быть использованы для создания библиотек лактонов, предназначенных как для использования в качестве «строительных блоков» в комбинаторной химии, так и для поиска селективных ковалентных ингибиторов широкого круга ферментов (гликолиза, NF-kB, ферментов сигнальных каскадов). Потенциально такие мишени могут привести к созданию лекарств против диабета 2-го типа, прогрессии атеросклероза и аутоиммунных заболеваний, а также противоопухолевых препаратов.

Биологическое тестирование новых конъюгатов на линиях опухолевых клеток (карциномы легкого A549, рабдомиосаркомы RD, карциномы толстого кишечника HCT116 и аденокарциномы молочной железы MCF7) позволил отобрать два соединения-лидера (конъюгаты даунорубицина с эпоксиизоалантолактоном и дегидрокостуслактоном), существенно превосходящих исходный антибиотик по

антипролиферативному действию и обладающих низкими значениями острой токсичности. Данные соединения в настоящее время проходят исследования *in vivo* на развитие антрациклин-индуцированной кардиомиопатии.

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Достоверность результатов, полученных в работе, обеспечивается согласованностью и непротиворечивостью результатов, полученных с помощью разных современных методов анализа, стабильной воспроизводимостью экспериментальных данных и их соответствии сведениям, имеющимся в научной литературе. Результаты работы подвергались многократной независимой положительной экспертизе и опубликованы в ведущих рецензируемых изданиях, индексируемых в Scopus и Web of Science, и относящихся к журналам K1 и K2 в классификации ВАК Минобрнауки РФ. Основные положения и результаты диссертации неоднократно обсуждались на российских и международных конференциях:

1. XII Всероссийская научная конференция с международным участием и школа молодых ученых «Химия и технология растительных веществ» (Киров, 29.11–02.12.2022 г.);
2. VII Всероссийская конференция по молекулярной онкологии (Москва, 21–23.12.2022 г.);
3. V Всероссийская конференция по молекулярной онкологии (Москва, 16–19.12.2019 г.);
4. VI Всероссийская конференция по молекулярной онкологии (Москва, 21–23.12.2021 г.);
5. 5-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021» (Волгоград, 16–19.05.2022 г.);
6. 4-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2019» (Екатеринбург, 9–14.06.2019 г.);
7. X Всероссийская научная конференция и школа молодых ученых «Химия и технология растительных веществ» (Казань, 5–9.06.2017 г.);
8. Международная научно-практическая конференция «Достижения и перспективы развития фитохимии» (Караганда, Казахстан, 10–11.04.2015 г.).

Плановый характер работы

Исследования по теме диссертации выполнены в рамках государственного задания ИФАВ РАН ФИЦ ПХФ и МХ РАН (рег. номера FFSN-2021-0013 и FFSG-2024-0021) и поддержаны грантами Российского научного фонда (№№ 23-23-00575, 19-73-00343) и Российского фонда фундаментальных исследований (№№ 18-33-00567 мол_а, 18-33-20209 мол_а_вед, 18-03-00757 А, 16-03-00674 А, 15-03-03940).

Полнота опубликования результатов и ценность научных работ соискателя ученой степени

Всего по материалам диссертации соискателем совместно с соавторами опубликовано 8 статей в отечественных и иностранных рецензируемых научных журналах, и 1 статья в журнале, рекомендуемом ВАК Минобрнауки РФ для защиты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук ВАК и входящем в список РИНЦ, а также 15 тезисов докладов на конференциях разного уровня.

Статьи по результатам работы:

1. **A.V. Semakov**, L.V. Anikina, S.A. Pukhov, S.V. Afanas`eva, S.G. Klochkov. Conjugates of Alantolactone with Anthracycline Antibiotics // Chemistry of Natural Compounds. – 2016. – Vol. 52, No. 4. – P. 695–696; DOI: 10.1007/s10600-016-1744-y
2. **A.V. Semakov**, S.V. Afanas`eva, S.G. Klochkov. New Synthesis of Eremophilanes from Alantolactone // Chemistry of Natural Compounds. – 2016. – Vol. 52, No. 5. – P. 643–944; DOI: 10.1007/s10600-016-1827-9
3. С.Г. Клочков, С.А. Пухов, М.Е. Неганова, Е.С. Дубровская, Л.В. Аникина, С.В. Афанасьева, **А.В. Семаков**. Биологическая активность алантолактонов в экспериментах на клетках // Biomedical Chemistry: Research and Methods. – 2018. – Vol. 1, Is.3. Art. ID e00047; DOI: 10.18097/bmcrm00047
4. **A.V. Semakov**, L.V. Anikina, S.V. Afanasyeva, S.A. Pukhov, S.G. Klochkov. Synthesis and Antiproliferative Activity of Conjugates of Anthracycline Antibiotics with Sesquiterpene Lactones of the Elecampane // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. – 2018. – Vol. 44, Is.5. – P. 538–546; DOI: 10.1134/S1068162018040167
5. Л.В. Аникина, **А.В. Семаков**, С.В. Афанасьева, С.А. Пухов, С.Г. Клочков. Синтез и антипролиферативная активность конъюгатов даунорубицина с сесквитерпеновыми лактонами // Химико-фармацевтический журнал. – 2018. – Т. 52, №4. – С. 23–26; DOI: 10.30906/0023-1134-2018-52-4-23-26
6. **A.V. Semakov**, S.G. Klochkov. Addition Products of Thiophenol and Selenophenol to Inula Helenium Lactones // Chemistry of Natural Compounds. – 2020. - Vol. 56, No. 2. – P. 254–256; DOI: 10.1007/s10600-020-03000-7
7. **А.В. Семаков**, С.Г. Клочков. Способы препаративного выделения изоалантолактона и алантолактона из корней девясила высокого // Химия растительного сырья. – 2020. – №3. – С. 145–154; DOI: 10.14258/jcprm.2020034681

8. M. Neganova, A. **Semakov**, Yu. Aleksandrova, E. Yandulova, S. Pukhov, L. Anikina, S. Klochkov. N-Alkylation of Anthracycline Antibiotics by Natural Sesquiterpene Lactones as a Way to Obtain Antitumor Agents with Reduced Side Effects // *Biomedicines*. – 2021. – Vol. 9, Is. 5. – P. 547; DOI: 10.3390/biomedicines9050547

9. A.V. **Semakov**, L.V. Anikina, S.G. Klochkov. Synthesis and Cytotoxic Activity of the Products of Addition of Thiophenol to Sesquiterpene Lactones // *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. – 2021. - Vol. 47, No. 4. – P. 906–917; DOI: 10.1134/S106816202104018X

10. S.A. Pukhov, A.V. **Semakov**, A.A. Globa, L.V. Anikina, S.V. Afanasyeva, E.Y. Yandulova, Yu.R. Aleksandrova, M. Neganova, S.G. Klochkov. New Conjugates of Daunorubicin with Sesquiterpene Lactones and Their Biological Activity // *ChemistrySelect*. – 2021. – Is. 6. – P. 8446 –8451; DOI: 10.1002/slct.202102244

11. A.V. **Semakov**, V.K. Brel. Molecular Iodine as an Optimal Catalyst of Alkene Migration in Sesquiterpene Lactones to a Hindered endo-Position // *Russian Journal of General Chemistry*. – 2022. – Vol. 92, Is. 8. – P. 1392–1400; DOI: 10.1134/S1070363222080059

Все статьи, выполненные в соавторстве, процитированы в диссертации в соответствии с п. 14 критериев «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. с учетом всех последующих изменений. Результаты, описанные в диссертации, являются оригинальными, отсутствуют заимствованные материалы без ссылки на источник заимствования.

В опубликованных материалах довольно полно изложены основные результаты исследования. В работе [1] приведены данные по выделению стартовых сесквитерпеновых лактонов из природных источников, обсуждаемые в разделе 1 главы «Результаты и обсуждения диссертации; статьи [2], [6], [9] и [11] содержат результаты по химической модификации природных лактонов, приведенные в разделе 2 диссертации; работы [1], [4], [5] и [8] представляют синтез конъюгатов антрациклинов из раздела 3 диссертации, в работах [1], [3], [5], [8] и [10] показаны результаты первичного скрининга соединений на цитотоксическую активность, приведенные в разделе 4. Экспериментальные данные, включая описание спектральных данных в статьях [1], [3]-[10] и результатов биологического тестирования в статьях [1], [3]-[5], [8] и [10], приведены в главе «Экспериментальная часть».

Ценность научных работ соискателя для специальности «Медицинская химия» обусловлена их теоретической и практической значимостью для развития данной области химической науки, а именно – разработкой методов получения новых биологически

активных органических соединений на основе антрациклинов и сесквитерпеновых лактонов, среди которых обнаружены конъюгаты с эффективным противоопухолевым действием. Проведенный соискателем поиск источников сесквитерпеновых лактонов позволяет использовать диссертацию в качестве практического справочника по выделению соединений этого класса в препаративных количествах из доступного в России растительного сырья, а также по созданию полусинтетических производных посредством химических трансформаций.

Личный вклад автора

заключается в планировании и выполнении экспериментальной работы, поиске и систематизации литературы, написании литературного обзора, интерпретации и описании спектров полученных соединений, выращивании растений-источников сесквитерпеновых лактонов. Первоначальная идея диссертационной работы, определение ее целей и задач, сформулирована первым научным руководителем С.Г. Клочковым. Вся экспериментальная работа (выделение лактонов из растительного сырья, модификация антрациклинов и химические трансформации сесквитерпеновых лактонов) выполнена автором лично, как и очистка полученных веществ. Оформление результатов в виде научных публикаций и докладов проведены автором лично либо при непосредственном участии автора. Спектры ЯМР получены в аналитическом центре коллективного пользования, биологическое тестирование выполнено сотрудниками ИФАВ РАН Л.В.Аникиной, С.В.Пуховым, А.А.Глоба, Е.С.Дубровской, М.Е.Негановой, Ю.А.Александровой и Е.Ю.Яндуловой, что отражено в виде соавторства в публикациях [1], [3] -[5], [9] и [10].

Соответствие диссертации научным специальностям, отрасли науки

Диссертация Семакова А.В. на тему: «Модификация антрациклиновых антибиотиков природными сесквитерпеновыми лактонами» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена задача получения высокоактивных конъюгатов антрациклиновых антибиотиков с сесквитерпеновыми лактонами и изучения их активности *in vitro* на ряде опухолевых клеточных линий. Работа соответствует паспорту специальности 1.4.19. Медицинская химия (химические науки) в п. 1 (Поиск, структурный дизайн и синтез соединений-лидеров - потенциальных физиологически активных (лекарственных) веществ, на основе: а) знания структурных параметров биомишени или особенностей патогенеза; б) анализа и модификации структур известных активных соединений; в) синтеза и биологического тестирования широкого разнообразия

химических соединений), 3 (Оптимизация структуры соединения-лидера с целью повышения его активности и селективности и использование для этих целей таких приемов, как изменение конформационной подвижности исходной молекулы, биоизостерическая замена, создание аналогов по принципу трехмерного фармакофорного подобия и др.) и 5 (Рациональное создание физиологически активных соединений, действующих на две и более молекулярные мишени (в т. ч. двойных, двоякодействующих, гибридных, мультитаргетных лекарств).

Решение о рекомендации работы к защите

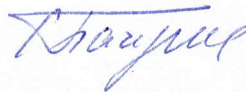
Диссертация Семакова Алексея Владимировича «Модификация антрациклиновых антибиотиков природными сесквитерпеновыми лактонами» соответствует всем критериям Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. с учетом всех последующих изменений, применительно к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук и рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.16. Медицинская химия (химические науки) на Диссертационном совете 24.1.108.03.

Заключение принято на заседании семинара Отдела медицинской и биологической химии ИФАВ ФИЦ ПХФ и МХ РАН (протокол № 15 от 20 февраля 2024 г.).

Присутствовало на заседании 29 сотрудников отдела.

Результаты голосования: «за» 29, «против» 0, «воздержались» 0.

Председатель семинара
Отдела медицинской и биологической
химии ИФАВ ФИЦ ПХФ и МХ РАН



академик С.О. Бачурин

Секретарь семинара
Отдела медицинской и биологической
химии ИФАВ ФИЦ ПХФ и МХ РАН



канд. биол. наук Н.П. Болтнева