

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Красновской Ольги Олеговны

на тему “Синтез и физико-химическое исследование координационных соединений Co(II) , Cu(II) , Cu(I) на основе имидазолин-4-онов для биомедицинского применения”,

представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.03 – органическая химия и 02.00.16 – медицинская химия.

Целью кандидатской диссертации Красновской О.О. является разработка новых и оптимизация уже известных методов синтеза полидентатных лигандов на основе имидазол- и имидазолин-4-онов, получение на основе этих лигандов координационных соединений с катионами Cu(II) , Cu(I) , Co(II) и исследование биологической активности как исходных лигандов, так и их комплексов с упомянутыми металлами. Перечисленные координационные соединения рассматривались автором, как дальние аналоги противоопухолевого препарата цисплатина и испытывались на противоопухолевую активность. В ходе исследований выявлялось влияние природы металла и его лигандного окружения на величину цитотоксической активности. Помимо этого, ставилась отдельная задача по созданию лигандов, содержащих векторные группы, облегчающие селективную доставку цитотоксических агентов в клетки карциномы.

По оценке ВОЗ смертность от онкологических заболеваний занимает третье место в мире, уступая только заболеваниями сердечно-сосудистой и дыхательной систем. При этом старение населения в развитых странах приводит к ежегодному росту числа заболеваний раком. Введение в широкую медицинскую практику в начале 80-х годов прошлого века хлорид-аммиаката двухвалентной платины привело к бурному росту исследований, направленных на разработку металлосодержащих цитотоксических препаратов. В этой парадигме полученные в настоящей работе данные по противоопухолевой активности

медь- и кобальтсодержащих комплексов на основе имидазолин-4-онов несомненно злободневны и актуальны.

При этом Красновская О. О. исходила из предположения, что координационные соединения на основе эндогенных металлов (Cu и Co) будут менее ядовиты для реципиента по сравнению, например, с их платиновыми аналогами. В качестве лигандов были выбраны практически не исследованные ранее в подобных трансформациях производные 2-тиоксотетрагидро-4*H*-имидазол-4-онов, 2-алкилтиоимидазолин-4-онов и 2-аминоимидазолин-4-онов которые сами могут проявлять полезную биологическую активность.

Научная новизна диссертационного исследования в области органической химии заключается в следующем.

Во-первых, сравнительно оригинальными являются методы, использованные Красновской О. О. для конструирования лигандов, содержащих 2-аминоимидазолин-4-оновый фрагмент. Во-вторых, упоминания заслуживает успешное осуществление click-реакций, приводящих к производным 2-тиогидантоинов, 2-алкилтиогидантоинов, 2-аминоимидазолин-4-онов, содержащих векторные группировки - структурные единицы биотина, D-глюкопиранозы и D-галактопиранозы (62, 66-70). Предполагается, что эти лиганды должны будут отвечать за направленную доставку препаратов к клеткам опухоли. В-третьих, были детально исследованы реакции комплексообразования синтезированных лигандов с катионами меди и кобальта, а также изучены свойства самих комплексов.

В области медицинской химии.

Впервые продемонстрирована противоопухолевая активность медных комплексов на основе 2-алкилтиоимидазолин-4-онов и 2-аминоимидазолин-4-онов. Определена зависимость строения комплекса – цитотоксическая активность для синтезированных молекул. Впервые исследовано внутриклеточное распределение координационных соединений 35a, 40a, 41a,b и лигандов, входящих в их состав.

Практическая значимость исследования в области органического синтеза заключатся в демонстрации возможностей использования click-реакции для

синтеза сложнофункционализированных лигандов ряда 2-алкилтио-5-(пиридилметил)-3,5-дигидро-4*H*-имидазол-4-онов. Предложен метод синтеза 2-аминоимидазолин-4-онов реакцией 2-алкилтио-5-пиридилметиленимидазол-4-онов со вторичными аминами в присутствии каталитических количеств трифлата иттербия (III).

В области биохимии.

Методом конфокальной микроскопии исследовано распределение координационного соединения **40a** в клеточном объёме, показано, что препарат локализуется в клеточном ядре, что обычно не характерно для комплексных соединений. Обнаружено, что конъюгат координационного соединения Co(II) (**41b**) с меченым флуоресцентной меткой олигонуклеотидом, способен проникать через клеточную мембрану, что делает его потенциально-перспективным средством доставки терапевтических олигонуклеотидов в клетку. Среди синтезированных комплексов, тормозящих рост опухолей, выявлено соединение-лидер (**35a**), которое можно рекомендовать как модельное для дальнейших исследований.

Структура диссертации традиционная.

Первая глава обобщает данные 138 литературных источников по биологической активности координационных соединений меди. В целом хорошо предваряет обсуждение результатов и даёт представление об актуальности предпринятого автором исследования. Описан как синтез комплексов меди с гетероциклическими лигандами, так и их ингибирующая активность по отношению к некоторым компонентам опухолевой клетки. Замечаний по этой части работы нет.

Обсуждение результатов диссертации состоит из трёх логических частей: синтез исходных лигандов, синтез комплексов на их основе, и исследование биологической активности объектов, полученных в первых двух разделах.

Легкодоступные 2-тиогидантионы **1-8** в две стадии были превращены в 2-замещённые S-алкилтиоимидазолин-4-оны **21-31**, в том числе и в оригинальные, содержащие S,S-линкеры, производные **32-42**. На следующем этапе модификации структуры гидантионов S-алкильная группа подвергалась нуклеофильному

замещению, с образованием 2-аминопроизводных **43-50** и **51-54**. Здесь автором были опробованы различные методики от простого кипячения исходного тиоэфира в избытке амина, до использования кислот Льюиса в качестве катализатора. Применение трифлата иттербия позволило получать целевые 2-аминоимидазолин-4-оны **43-50** с выходами до 80%.

Наиболее интересный с точки зрения органической химии раздел диссертации (стр. 49 и далее) посвящён синтезу 2-тиогидантионов, содержащих векторный фрагмент. В отличие от предыдущих частей, выбор заместителей (фрагмент витамина Н и производные природных гексоз) в этом случае прекрасно обоснован диссертантом. Введение векторной группировки осуществлялось методами click-химии, через [3+2]-циклоприсоединение азидосодержащих тиогидантионов к пропаргилгликозидам или пропаргилловому эфиру биотина. Лёгкий обмен полуацетальной гидроксильной группы в пиранозах на бром, а затем на азидную функцию, делает возможным и обратный подход (см. синтез триазола **62**, стр. 55). Целевые вектор-содержащие лиганды **62-70** были выделены с низкими выходами (5-20 %), что, по мнению оппонента, не украшает диссертацию (низка хемоселективность), однако и не снижает привлекательности этих превращений. В реакции вводятся достаточно сложные, “тяжёлые” молекулы со множеством реакционных центров.

Во второй части обсуждения результатов описан синтез комплексов с катионами меди и кобальта, исследована их кристаллическая структура, записаны электронные спектры, выполнено электрохимическое исследование некоторых лигандов и комплексов (определены окислительно-восстановительные потенциалы, построены вольтамперограммы).

В третьей части была изучена цитотоксическая активность синтезированных молекул на культурах клеток НЕК293, SiHa, MCF-7 по сравнению с используемыми в клинической практике препаратами доксорубицином и цисплатином. Установлено, что координационные соединения меди обладают по сравнению с кобальтовыми аналогами большей цитотоксичностью. А лидером, является комплекс **35a**, на котором проводилось дальнейшее изучение механизмов противоопухолевой активности. В частности, была изучена способность со-

единения **35a** вызывать деградацию и интеркалировать ДНК, а также связываться с БСА. Были выполнены доклинические испытания соединения **35a** на мышцах. Показан ингибирующий эффект препарата на серии мышей с привитой аденокарциномой молочной железы Ca755 в миллиграммовых концентрациях. Комплекс обладает LD₅₀ в районе 50 мг/кг, а его терапевтическое окно достаточно широко (~2).

Достоверность результатов, описанных во второй главе диссертации, подтверждают материалы третьего раздела - экспериментальной части. Следует отметить, что пространственное строение 11 комплексов, которое могло бы вызывать вопросы, доказано методом РСА.

По тесту автореферата и диссертации имеется ряд замечаний.

1. Автореферат диссертации содержит описки и опечатки.

стр. 4 - лигадом, осуществлены; стр. 5 - 5(Z), "синтезирова реакцией"; стр. 6 - **21**, R = Me%, также, "фармакофор, присутствующих во многих"; стр. 8 - "мы исследовал возможность"; стр. 10 - "был синтезировано", N-ацетилгалактозы **59**; стр. 14 - координирован; стр. 21 - классическм, свидетельствующее; стр. 22 - флуоресцении, бычим, возрастающих, "Используя уравнение уравнение" и ряд других. При этом ошибки в формулах фактически отсутствуют.

2. Текст диссертации также не лишён неточностей, которые мы перечислять не станем (см. стр. 4 "основныхя зада", стр. 16 трудно разобрать подписи на цветном рисунке, стр. 24 на рис. 22 отсутствуют донорно-акцепторные связи лиганда с центральным атомом, ...).

3. Не совсем аккуратно оформлена экспериментальная часть, присутствуют описки и неточности, наиболее существенные из которых перечислены ниже.

3.1. На стр. 55 написано, что соединения **62-65** были охарактеризованы данными масс-спектрометрии высокого разрешения. В экспериментальной части нет сведений об использовании этого метода. Для структур **62-65** приведены данные "обычного" масс-спектра.

3.2. Стр. 86 - дважды повторяется название прибора для записи ИК-спектров.

3.3. Полностью отсутствуют данные ¹³C ЯМР для впервые синтезированных лигандов.

3.4. Температуры плавления всех соединения четкие (т.е. 98 °С, 101 °С, ...). Ни у одного образца не встречается интервал температуры плавления. Особенно странно это выглядит в случае комплексных соединений.

3.5. В избытке в тексте экспериментальной части замечены обозначения типа NMR (стр. 114, 136, ...), 1H, J₁, Hz (стр. 114), 4Å, m/2z (стр. 121) и т.д.

3.6. Отсутствует единообразие в описании данных физико-химических методов анализа. Например, КССВ в протонных спектрах приводятся то с точностью до сотых, то до десятых. Навески веществ приводятся то с точностью до граммов, то до десятых, то до сотых грамма, в рамках одного эксперимента (например, **18**, стр. 94, **29**, стр. 99 и др.).

3.7. Из спектров ГХ-МС с ионизацией ЭУ в тексте работы присутствуют только моль-пики, фрагментация не приводится. Местами данных масс-спектров для лигандов вообще нет.

3.8. Игнорируются какие-либо подробности данных РСА монокристаллов. Указано только, что измерения проводились на дифрактометре ДРОН-4, который предназначен для проведения рентгеноструктурных исследований поликристаллических материалов (порошков), но не монокристаллов.

3.9. Данные вычисленного элементного состава лигандов и их комплексов с металлами (основное доказательство состава) иногда расходятся с вычисленными (см. соединения **10**, **19**, **31**, **54**, **34a**, **35b**, ...). Где-то, автор вообще не считает нужным делиться с читателем этими сведениями – стр. 96, 98, 101, 102, 103, 119, 121 и др. Кажется не лишним подтвердить индивидуальность комплексных соединений данными, например, рентгенофазового анализа.

4. Из данных таблицы 3 можно предположить, что металлокомплексы на основе лигандов **62-65**, **68** и **66**, **67**, **69**, **70** были получены, так как определён даже тип строения образующегося координационного соединения. При этом, как в экспериментальной части, так и в остальном тексте диссертации нет никаких упоминаний об этих комплексах. Так были ли на основе лигандов **62-70** действительно получены координационные соединения с медью и кобальтом?

5. Какова роль кислоты Льюиса в механизме образования 2-аминоимидазолин-4-онов (**43-50**). Почему трифлат иттербия оказывается наиболее эффективным?

Некоторые из этих ремарок существенны, тем не менее, не снижают достоинств работы. В целом диссертация Красновской О. О. является законченным научным исследованием и по объёму проделанной работы, глубине анализа результатов, доказательству строения полученных структур, значимости биохимических данных, не оставляет сомнения в высокой квалификации её автора.

Содержание трёх научных публикаций Красновской О. О. по материалам диссертации, реферирующихся на сегодняшний день наукометрической базой данных Scopus, полностью отвечает основной тематике исследования – синтез и биологическая активность координационных соединений меди и кобальта. Проверка диссертации при помощи сервиса «Антиплагиат» (<http://www.antiplagiat.ru/>) показала практически полное отсутствие заимствований, степень оригинальности текста более 80%.

Таким образом, обсуждаемая диссертация по своей актуальности, научной новизне и практической значимости полученных результатов, соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор, **Красновская Ольга Олеговна**, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.03 – органическая химия и 02.00.16 – медицинская химия.

Отзыв составлен:

доцентом кафедры органической химии
Российского университета дружбы народов,
кандидатом химических наук

Зубковым Фёдором Ивановичем



Доцент, кандидат химических наук
по специальности 02.00.03 – органическая химия

Почтовый адрес: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6.

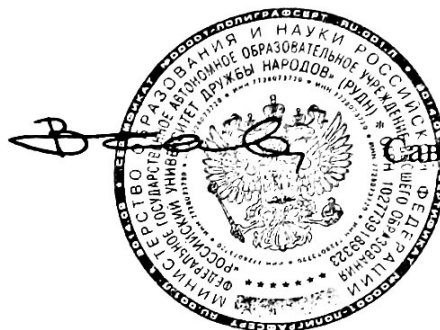
Телефон: +7 916 142 03 86

Адрес электронной почты: fzubkov@sci.pfu.edu.ru

Наименование организации полное (сокращенное): Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» (ФГАОУВО «РУДН»)

24 мая 2016 года

Подпись Зубкова Ф.И. заверяю,
Учёный секретарь Учёного совета
Университета, профессор



Савнин В.М.

В Диссертационный Совет
Д 501.001.69 по химическим наукам
при МГУ им. М.В. Ломоносова

Я, Зубков Федор Иванович, доцент кафедры органической химии факультета физико-математических и естественных наук Российского Университета дружбы народов, даю свое согласие выступить в качестве официального оппонента по диссертации Красновской Ольги Олеговны на тему "Синтез, физико-химическое исследование координационных соединений Co(II), Cu(II), Cu(I) на основе имидазолин-4-онов для биомедицинского применения" на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.03 - органическая химия, 02.00.16 - медицинская химия.

По теме рассматриваемой диссертации имею достаточное число публикаций в рецензируемых научных изданиях, в частности:

1. Mikhail Krasavin, Andrey V. Sosnov, Ruben Karapetia, Igor Konstantinov, Olga Soldatkina, Elena Godovykh, Fedor Zubkov, Ruoli Bai, Ernest Hamel, Andrei A. Gakh. Antiproliferative 4-(1,2,4-oxadiazol-5-yl)piperidine-1-carboxamides, a new tubulin inhibitor chemotype // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters – 2014 – 24 – p.4477–4481.

2. Yuriy I. Horak, Roman Z. Lytvyn, Yuriy V. Homza, Vladimir P. Zaytsev, Dmitriy F. Mertsalov, Maria N. Babkina, Eugenia V. Nikitina, Tadeusz Lis, Vasyl Kinzhybalov, Vasyl S. Matychuk, Fedor I. Zubkov, Alexey V. Varlamov, Mykola D. Obushak. The intramolecular Diels–Alder vinylfuran (IMDAV) reaction: a short approach to aza-analogues of pinguicane-type sesquiterpenes // Tetrahedron Letters – 2015 - 56 – p.4499–4501.

3. Ramo'n Soto-Otero, Estefani'a Me'ndez-A'lvarez, Sofi'a Sa'nchez-Iglesias, Fedor I. Zubkov, Leonid G. Voskressensky, Alexey V. Varlamov, Modesto de Candia, Cosimo Altomare. Inhibition of 6-hydroxydopamine-induced oxidative damage by 4,5-dihydro-3H-2-benzazepine N-oxides // Biochemical pharmacology – 2008 – 75 – p.1526–1537.

Не являюсь членом экспертного совета ВАКа.

Дата 12.04.15


Подпись

Подпись Зубкова Ф.И.
Зубков

Зам. декана

