

## ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук Спектора Даниила Викторовича на тему:**

**«Синтез новых органических производных платины(IV) с противоопухолевым действием» по специальностям 1.4.3. -**

**Органическая химия и 1.4.16 – Медицинская химия**

Создание новых химиотерапевтических агентов и препаратов комбинированного действия для лечения онкологических заболеваний неоспоримо является одной из наиболее важных и, вместе с тем, сложных задач современной медицинской химии. Диссертационная работа Даниила Викторовича Спектора посвящена развитию оригинального подхода к решению данной задачи, связанному с созданием пролекарств на основе относительно нетоксичных комплексов Pt(IV), претерпевающих в биологических средах восстановление до цитотоксичных производных Pt(II), прежде всего, цисплатина. **Актуальными задачами** развития данного направления являются повышение терапевтической эффективности пролекарств Pt(IV), в том числе, в условиях гипоксии, а также создание препаратов с контролируемым высвобождением комплексов Pt(II).

**Научная новизна** рассматриваемой диссертационной работы определяется синтезом обширного набора функционализированных симметричных и несимметричных O-ацилированных производных оксоплатина и его аналогов, содержащих фрагменты ряда фармацевтических препаратов, прежде всего, относящихся к семейству НСПВП, а также фотоактивные группы – тетраацетилрибофлавин (ТАРФ) и различные производные BODIPY. Автором изучено влияние структурных факторов на динамику накопления в тканях и разложения комплексов Pt(IV) с образованием цисплатина и свободных физиологически-активных лигандов, а также на цитотоксичность полученных комбинированных препаратов. Получены данные об эффективности накопления ряда препаратов в

модельных опухолевых сфероидах и опухолях *in vivo*, свидетельствующие о превосходстве терапевтической эффективности этих препаратов по сравнению с цисплатином.

**Материал диссертации** изложен на 249 страницах машинописного текста и состоит из шести разделов, включая введение, обзор литературы, обсуждение результатов, экспериментальную часть, заключение, список аббревиатур и клеточных линий, и список цитируемой литературы. Диссертационная работа содержит 69 схем, 81 рисунок, 22 таблицы. Список литературы включает 250 наименований. Представленные в диссертационной работе результаты в полной мере отражены и в автореферате.

**Обзор литературных данных**, проведенный автором, однозначно свидетельствует о значительном интересе к созданию пролекарств Pt(IV). В обзоре систематизированы подходы к получению комплексов Pt(IV), содержащих функциональные аксиальные лиганды различной природы, рассмотрены механизмы их действия в биологических средах с учетом особенностей биохимии и физиологии опухолевых клеток, в том числе, позволяющие преодолеть развитие резистентности к цисплатину. Анализ литературных данных позволил сформулировать **цели и задачи** диссертационного исследования. Следует отметить, что по результатам систематизации литературных данных опубликована статья в журнале *Успехи химии* (Q1).

В разделе 3.1 **Обсуждения результатов** описаны подходы к получению новых пролекарств Pt(IV), включающих (1) комплексы Pt(IV) с биоактивными лигандами с повышенной липофильностью, (2) комплексы Pt(IV) с лигандами, проявляющими чувствительность к гипоксии и (3) комплексы Pt(IV) с фотоактивными лигандами, способными к контролируемому высвобождению комплексов Pt(II).

Аналогия реакционной способности ОН-групп оксоплатина с химическим поведением алифатических спиртов позволила автору использовать классические подходы органической химии для проведения

реакций ацилирования с широкими возможностями последующей модификации полученных производных, в том числе, методами клик-химии. Для расширения применимости методов клик-химии для синтеза производных Pt(IV), способных к восстановлению солями Cu(I), был найден стабилизирующий лиганд – трис(бензилтриазолил)амин, ТБТА. В результате были получены три ряда новых комплексов Pt(IV), включающих симметричные и несимметричные карбоксилатные и карбаматные производные с лигандами на основе НСПВП, биотина и стеариновой кислоты, азопроизводных и нитроимидазолов, а также ТАРФ и BODIPY.

В разделе 3.2 приведены результаты исследования электрохимического восстановления, изучения стабильности в водных растворах и определения липофильности комплексов Pt(IV).

Раздел 3.3 посвящен исследованию биологической активности пролекарств Pt(IV) и установлению корреляций между структурными и физико-химическими особенностями комплексов и их антипролиферативной активностью по отношению к различным линиям опухолевых клеток. Показано, что липофильность комплексов является важным, но не определяющим параметром антипролиферативной активности, которая в значительной степени зависит от природы аксиального лиганда. Проведено сравнение активности препаратов на цисплатин-чувствительной и резистентной линиях аденокарциномы яичников. Для пролекарств, содержащих азогруппы и фрагменты нитроимидазолов изучена активность в условиях гипоксии и нормоксии. Совокупность полученных результатов позволила выявить соединения-лидеры, превосходящие по активности цисплатин и способные преодолевать резистентность к данному препарату.

Исследование фототоксичности пролекарств Pt(IV), способных контролируемо высвободить координационные соединения Pt(II), позволило продемонстрировать заметное увеличение  $IC_{50}$  при фотооблучении клеток, инкубированных с комплексами. Фототоксичность, характерная для ТАРФ и BODIPY, как в индивидуальном виде, так и в составе комплексов, позволяет

рассматривать полученные соединения как препараты для комбинированной химио- и фотодинамической терапии.

В разделах 3.4-3.7 описаны результаты, полученные в ходе элегантных экспериментов, нацеленных на исследование накопления и внутриклеточного метаболизма пролекарств Pt(IV). Так, для фотоактивируемых комплексов было изучено распределения в цитоплазме, митохондриях и ядрах клеток линии MCF-7. На примере комплекса **Pt-22** установлено четырехкратное повышение содержания платины в клетках после облучения синим светом, при этом количество платины в ядрах возрастает более чем в семь раз. С использованием времязрешенных спектроскопических методов проведено комплексное физико-химическое исследование фотофизических свойств и механизмов фотовосстановления TAPF- и BODIPY-содержащих пролекарств. С использованием спектроскопии XANES исследована кинетика разложения пролекарств Pt(IV) и накопления комплексов Pt(II) в клетках. Внутриклеточный метаболизм пролекарств в модельных трехмерных клеточных культурах был изучен с использованием платинированного наноэлектрода, и эта же методика была использована для детектирования цисплатина, образующегося из пролекарств **Pt-4** и **Pt-7** в опухолях *in vivo*.

**Экспериментальная часть** содержит описание использованных инструментальных и биологических исследований, а также подробные методики синтеза и аналитические характеристики полученных в работе органических полупродуктов, лигандов и комплексов Pt(IV).

По результатам сформулированы заключения, отражающие суть проведенной работы и определяющие ее **теоретическую и практическую значимость**.

**Обоснованность положений, выносимых на защиту**, обусловлена тем, что результаты получены с применением комплексного систематического подхода к характеристике синтезированных комплексов, изучению их поведения в клеточных культурах и живых организмах с использованием

мультидисциплинарного подхода, включающего как физико-химические, так и биологические методы исследования.

Содержание диссертации **соответствует специальностям 1.4.3 – Органическая химия по направлениям (1) Выделение и очистка новых соединений, (7) Выявление закономерностей типа «структура – свойство», а также 1.4.16 – Медицинская химия по направлениям (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, (6) Биологическое и физиологическое (*in vitro* и *in vivo*) тестирование сконструированных и синтезированных соединений на предмет изучения особенностей их взаимодействия с молекулярными мишенями организма.**

Представленная в Диссертационный совет МГУ.014.1 при МГУ им. М.В. Ломоносова диссертационная работа Спектора Даниила Викторовича на соискание ученой степени кандидата химических наук в полном соответствии с её названием отражает разработку подходов к созданию новых мультимодальных пролекарств на основе комплексов Pt(IV) с фото- и биологически-активными лигандами. Работу можно классифицировать как законченное научное исследование, результаты которого составили предмет восьми статей в ведущих профильных журналах первого квартала по WOS.

К работе можно высказать следующие замечания и пожелания для дальнейшего развития, несомненно, важного направления.

(1) Мне показалось несколько избыточным использование термина «пролекарство», поскольку полученные соединения являются, в первую очередь, комплексами или координационными соединениями Pt(IV), термин «пролекарство» правильнее использовать в связке с медицинским применением, учитывающим механизм действия. Тем не менее, в контексте

представленной диссертации это замечание не критично, поскольку именно этот механизм действия обоснован с применением широкого набора методов.

(2) Результаты анализа стабильности комплексов Pt(IV) в водных растворах, представленные в разделе 3.2.2 могут не в полной мере соотноситься с поведением в биологических средах, описанном в последующих частях работы. Методологически правильнее было бы провести такое исследование в средах, имитирующих реальное биологическое окружение, например, в плазме крови, поскольку первым этапом терапии является внутривенное введение препарата (см. стр. 148).

(3) Было бы интересно рассмотреть возможность использования фотоактивных препаратов, содержащих фрагменты BODIPY, для флуоресцентной диагностики распределения препаратов в организме. Ряд работ, связанных с получением флуорофор-содержащих пролекарств приведен в литературном обзоре, но такой аспект их применения рассмотрен не был.

(4) В работе приведены только положения максимумов наиболее интенсивных полос поглощения и эмиссии соответствующих фотоактивных лигандов и комплексов, однако для полноты характеристики необходимо приводить все полосы поглощения соединений с коэффициентами экстинкции. В целом, в работе следовало привести внешний вид наиболее характеристичных спектров поглощения и флуоресценции для различных производных ТАРФ и BODIPY.

(5) В работе имеется определенное количество опечаток и пропущенных пробелов, в автореферате на стр. 16 имеется незаконченное предложение «Таким образом, цитотоксичность пролекарств Pt(IV).» В заголовке раздела 3.1.3 не согласованы слова.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации

соответствует специальностям 1.4.3 – Органическая химия и 1.4.16 – Медицинская химия (по химическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата химических наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, **соискатель Спектор Даниил Викторович заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.3. – «Органическая химия» и 1.4.16 – «Медицинская химия».**

Официальный оппонент:

Доктор химических наук, профессор РАН

Ведущий научный сотрудник Лаборатории новых физико-химических проблем ФГБУН Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН

**МАРТЫНОВ Александр Германович**

21.10.2023 г.

Контактные данные:

E-mail: [martynov@phychе.ac.ru](mailto:martynov@phychе.ac.ru)

Специальности, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

02.00.04 - Физическая химия, 02.00.01 - Неорганическая химия.

Адрес места работы:

119991, Москва, Ленинский проспект, д. 31, корп. 4

ФГБУН Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН

Подпись руки Мартынова А.Г. заверяю

Секретарь Ученого совета ИФХЭ РАН, к.х.н.

Варшавская И.Г.