

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук

Иванова Владимира Николаевича на тему:

*«Ингибиторы матриксных металлопротеиназ на основе производных
5-арилизатинов: синтез и изучение взаимосвязи структура-активность»*

по специальности 1.4.16. Медицинская химия

Согласно распространенным и доступным данным, *матриксные металлопротеиназы (ММП)* – это семейство внеклеточных цинк-зависимых эндопептидаз, способны разрушать пептидную связь между аминокислотами в белках внеклеточного матрикса, в том числе коллагена, эластина, желатина, матричных гликопротеинов и протеогликанов. Играют роль в remodelировании тканей, ангиогенезе, пролиферации, миграции и дифференциации клеток, апоптозе, сдерживании роста опухолей. Задействованы в расщеплении мембранных рецепторов, выбросе апоптозных лигандов, таких как FAS, а также в активации и деактивации хемокинов и цитокинов. Хорошо установлена и активно изучается связь между экспрессией ММП и различными видами онкологических заболеваний. Возможность селективного ингибирования ферментов семейства ММП позволяет существенно снизить риск метастазирования опухолевых заболеваний и приводит к прекращению ангиогенеза, что позволяет рассматривать ингибиторы ММП как перспективные лекарственные препараты для лечения онкологических заболеваний на ранних стадиях заболевания.

Важно отметить, что к настоящему моменту не известно ни одного полностью синтетического селективного ингибитора ММП, одобренного в качестве лекарственного препарата. Причина этого кроется в том, что, с одной стороны, идет активный поиск и синтез новых селективных ингибиторов ММП, содержащих в своей структуре различные фармакофорные фрагменты (остатки гидроксамовой кислоты, гидроксильных групп и фосфорных кислот,

производные гетероциклов и др.), позволяющие заполнять полости в структуре фермента и хелатировать ион цинка. С другой стороны, наличие способных к хелатированию или даже просто координации к иону металла групп значительно снижает селективность препарата, так как в организме человека насчитываются десятки ферментов, использующих ионы металлов в активных сайтах. Таким образом, должен проводиться поиск молекул, не обладающих сильными комплексообразующими свойствами, но при этом максимально комплементарных (стерически и электронно) активным сайтам ММП. Сочетание в структуре лиганда фармакофорных групп, которые способны осуществлять взаимодействие с поверхностью белка (образование водородных связей или использование структурных особенностей белка) и структурного фрагмента гетероцикла может усилить биологическую активность и увеличить селективность. Таким образом, принципиально важным условием, для селективного ингибирования ММП, является отсутствие хелатирующего действия на ион цинка, входящего в состав ММП.

Представленная на рассмотрение работа, направленная на получение новых производных азотсодержащих гетероциклов, сочетающих в себе остатки фармакофорных групп (изатиновый цикл) и различные по своей природе функциональные заместители, изучение их в качестве потенциальных ингибиторов матриксных металлопротеиназ, может быть, без сомнения, отнесена к **актуальным**.

Структура и объем работы. Работа состоит из шести разделов: введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, заключения и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 214 листах машинописного текста, содержит 95 схем, 30 рисунков, 16 таблиц. Список литературы включает 211 наименований.

В *литературном обзоре* автор рассматривает белки семейства ММП, их сходство и различие, механизмы действия. Во второй части обзора, не менее важной для понимания сути проделанной работы рассматриваются методы синтеза различных производных изатина.

На основании анализа литературы и с учетом наработок в лаборатории, где работал соискатель, **цели работы** были сформулированы следующим образом: синтез и изучение ингибирующей активности по отношению к белкам семейства ММП производных изатина, построение на их основе библиотеки малых молекул, поиск соединения лидера и построение на его основе сфокусированной библиотеки малых молекул и анализ взаимосвязи структура-активность (SAR).

Для достижения поставленных целей решались следующие **задачи**:

- синтез ряда производных 5-арилизатина;
- синтез ряда 5-арил-3-аминоиндолин-2-онов;
- синтез ряда замещенных производных антраниловой кислоты;
- анализ ингибирующей активности полученных азотсодержащих гетероциклических соединений по отношению к различным по своему строению ММП;
- синтез различных производных спиро[индолин-3,3'-пиридин]-2-она;
- синтез бензо[d][1,3]диоксоловых производных изатина и изучение их цитотоксичности;
- оценка перспективности использования полученных соединений в качестве потенциальных лекарственных препаратов;
- построение сфокусированных библиотек малых молекул и анализ взаимосвязи структура-активность (SAR).

Тщательный анализ текста диссертации, автореферата и публикаций автора позволяет однозначно заявить, что поставленные цели и задачи полностью выполнены. **Степень обоснованности** научных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, можно назвать высокой; действительно, все экспериментальные результаты являются воспроизводимыми, данные биологических исследований соответствуют теоретическим положениям; в исследовании использовались основные приемы медицинской химии, включая направленный синтез гетероциклических соединений, поиск молекул-хитов,

установление взаимосвязи структура-активность (SAR), основные подходы к оптимизации новых биологически активных молекул. **Достоверность** научных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, обоснованы применением современных методов исследования и сертифицированного оборудования: для выделения и очистки полученных соединений использовались методы препаративной хроматографии и перекристаллизации; структуру и чистоту полученных соединений устанавливали с помощью комплекса физико-химических методов: ^1H , ^{13}C ЯМР и ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения и рентгеноструктурного анализа, ВЭЖХ-МС. **Новизна** научных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, может быть кратко охарактеризована следующим образом: впервые проведен анализ данных молекулярного моделирования и составлены фармакофорные модели ингибиторов ММП на основе азотсодержащих гетероциклов ряда 5-арилизатинов; производные изатина и оксоиндолина с ароматическими и гетерсароматическими заместителями в 5-м положении гетероциклического кольца предложены в качестве новых структурных типов селективных ингибиторов ММП-2, ММП-8 и ММП-13; найдены перспективные азотсодержащие гетероциклические соединения, проявляющие активность в микромолярном диапазоне концентраций с высокой селективностью к ММП-2 и ММП-13; установлена противоопухолевая цитотоксичность на культуре опухолевых клеток НСТ116 для ряда производных изатина, содержащих в своей структуре 1,2-метилendioксибензольный фрагмент. **Положения, выносимые на защиту**, полностью соответствуют проведенным исследованиям и полученным результатам. Дополнительным подтверждением научной обоснованности полученных результатов являются публикации авторами – три статьи и четыре тезиса докладов на профильных конференциях. Крайне важным для понимания сути работы оппонент считает Схему 11 (лучше было бы ее назвать, конечно, рисунком) и её обсуждение. Действительно, в очень краткой, но крайне информативной графической форме автор показал направления модификации каркаса целевых молекул.

По работе можно высказать некоторые замечания, вопросы и пожелания:

- Обзор литературы – имело бы смысл дать пояснения к Рис. 1, особенно, ввиду обширного описания структурных компонентов ферментов группы ММП, данного ранее (то же замечание и для Рис. 6, Рис. 8., Рис. 10, Рис. 12);
- Обзор литературы – Рис. 9 и Рис. 15 требуют пояснения в тексте; к тому же, надписи на них на английском языке;
- Обсуждение результатов, стр. 65 – не очень понятно неожиданное возникновение аминокислоты His201 и её важность именно в контексте п-п-стекинга;
- Странно звучит название Таблиц 1, 5, 6, 8, 12, 13 – «Результаты ферментативного анализа синтезированных соединений»;
- При сравнении результатов молекулярного докинга на Рис. 4 и 5 возникает вопрос: откуда на Рис. 5 появляются три молекулы воды? Почему их нет в других экспериментах?
- Рис. 10 – одна АВ-система, очевидно, действительно принадлежит вновь образованному пятичленному циклу, но вторая пара сигналов, исходя из структуры соединения **140**, должна принадлежать CH_2 -группе бензильного заместителя; поэтому её не следовало выделять зелёным цветом;
- Раздел 2.2.7. выглядит незаконченным;
- Экспериментальная часть – химические сдвиги для протонов обычно приводят до сотых; в протонном спектре соединения **37** КССВ обоих протонов совпадают; в спектре соединения **43** сигнал при 2.5 м.д. должен иметь интегральную интенсивность 3 протона, а не 2; соединение **108** – для сигнала при 7.04 м.д. не приведено значение КССВ; не для всех новых соединений приведены данные масс-спектров высокого разрешения;

- Выводы – последнюю фразу вывода №8 можно было бы безболезненно убрать;
- *редакторские*: во вводной части повтор фраз в разделах Научная новизна и Теоретическая и практическая значимость; «*in vivo*» и «*in vitro*» пишутся наклонным шрифтом; «*орто-*», «*мета-*», «*пара-*» также пишутся наклонным шрифтом; замечен ряд излишних запятых, а также их отсутствие в некоторых нужных местах; «плотные комплексы» (стр. 35); «модифицированный вариант этой,» (пропущено *реакции*); странно видеть в качестве защитной группы атом водорода (Схема 16); «содержащего ионом цинка»; «при сохранении структурного целевых соединений к изатину»; «дифенилтераразол» (должно быть *дифенилтетразол*); если частота прибора для записи спектров ¹H ЯМР равна 400 МГц, то для спектров ¹³C должно быть 100; «трёх-горлую»;
- *рекомендации*: в будущем хотелось бы увидеть в такого рода работах не только *качественную* оценку влияния структуры на свойство (SAR), но и *количественную* (QSAR), что поможет в создании действительно важных препаратов.

Диссертация Иванова Владимира Николаевича является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена важная задача создания селективных агентов – ингибиторов ММП; в целом, все задачи, которые были решены в ходе проводимого исследования, несомненно, имеют важное значение для развития медицинской химии.

Диссертация «Ингибиторы матриксных металлопротеиназ на основе производных 5-арилизатинов: синтез и изучение взаимосвязи структура-активность» Иванова Владимира Николаевича отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.4.16. Медицинская химия (химические

науки), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, и оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Иванов Владимир Николаевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.16. Медицинская химия.

Официальный оппонент:

доктор химических, профессор, профессор РАН,
заведующий лабораторией супрамолекулярной химии (№2) Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук

Вацадзе Сергей Зурабович

«04» апреля 2024 г.

Контактные данные:

Рабочий тел.: +7(903) 748-78-92, рабочий e-mail: vatsadze@ioc.ac.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:
02.00.03 – Органическая химия

Адрес места работы: 119991, г. Москва, Ленинский пр-т., д. 47; Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук, Лаборатория супрамолекулярной химии (№2);

Тел.: +7(903) 748-78-92, e-mail: vatsadze@ioc.ac.ru

Подпись сотрудника ФГБУН ИОХ РАН Вацадзе С.З. удостоверяю:

ученый секретарь ФГБУН ИОХ РАН,

к.х.н.

И.К. Коршевец