

ОТЗЫВ официального оппонента

на диссертацию на соискание ученой степени

кандидата химических наук **Каретникова Георгия Леонидовича** на тему:

«Синтез галогенаризоксазолов и их функционализация: разработка подходов к новым тубулин-ингибирующим противоопухолевым агентам» по специальностям

1.4.3. – Органическая химия и 1.4.16. – Медицинская химия

Представленное исследование посвящено разработке препаративно удобных методов синтеза изоксазол-содержащих аналогов природного противоопухолевого агента – Комбретастатина и изучению соотношений *структура – антипролиферативная активность* для полученных соединений. Актуальность выбранной тематики обусловлена как необходимостью получения новых эффективных противораковых препаратов с несложной структурой (позволяющей в перспективе сделать противоопухолевую терапию доступной широкому кругу лиц), так и неизменной потребностью совершенствования подходов к синтезу потенциальных лекарственных веществ. Новые, удобные в препаративном плане, синтетические методы для получения соединений с интересными фармакологическими свойствами, очень важны для расширенного изучения соотношений *структура – активность* для аналогов таких веществ. В русле подобных исследований и находится представленная работа.

Предваряющий описание собственных исследований автора **Литературный обзор** состоит из трех глав и отличается продуманной логикой изложения. Сначала дается краткое описание молекулярной мишени действия Комбретастатина А-4 и направлений оптимизации его структуры. Далее главы обзора посвящены подробному описанию подходов к синтезу различных гетероциклических аналогов Комбретастатина А-4, введение гетероциклов в которые обусловлено, главным образом, попытками фиксации *цис*-конфигурации природной молекулы (легко изомеризующейся в неактивный *транс*-изомер *in vivo*). Литературный обзор отличает аналитическая направленность: автором представлены сравнительные характеристики различных синтетических методов в плане их эффективности и препаративного удобства, а также представлены значения цитотоксичности (и некоторые другие данные об активности) многих описываемых производных Комбретастатина А-4. В целом, литературный обзор дает достаточно полное представление о месте данной работы среди близких по тематике исследований, в том числе, последних лет. Актуальность литературного обзора и его связь с практической частью работы не вызывают сомнений.

Глава **Обсуждение результатов** также включает в себя шесть разделов, пять из которых посвящены выполненным соискателем синтетическим исследованиям и компьютерному молекулярному моделированию. В ходе этих исследований был разработан отличающийся высокой региоселективностью двухстадийный подход к получению несимметричных 3,5-диарилизоксазолов из 2-арил-1,1-дибромциклопропанов путем комбинирования реакций нитрозирования/кросс-сочетания Сузуки. Это позволило получить большую серию 3,5-диарилизоксазолов несимметричного строения в качестве аналогов Комбретастина А-4. В рамках этих исследований соискателем предложена новая универсальная система для галогенирования изоксазолов, пиразолов и т.п. на основе нитрозилсерной кислоты и тетраметиламмоний галогенидов, что является несомненным достоинством работы.

Для предсказания перспективных структур серии аналогов Комбретастина А-4 на основе 5-замещенных 3,4-диарилизоксазолов автором самостоятельно проведено компьютерное молекулярное моделирование и отобрано несколько соединений. В рамках этих исследований обращает на себя внимание удачная разработка эффективного подхода к синтезу 5-замещенных 3,4-диарилизоксазолов путем нитрозирования 2-арил-1,1-дигалогенциклопропанов с последующим иодированием и арилированием изоксазольного цикла. Региоселективно и с высокими выходами получены такие аналоги Комбретастина А-4, как 3,4-диарил-5-хлоризоксазолы, 3,4-диарил-5-метилизоксазолы и 3,4-диарил-5-дифторметоксиизоксазолы. Синтетическая часть работы завершается получением серии 4-триазилилизоксазолов путем азид-алкинового циклоприсоединения 3,4,5-триметоксифенил- и -бензилазидов к тройной связи 4-этилизоксазолов. Особо следует отметить тщательность, проявленную автором в ходе подбора условий всех описанных выше реакций, включающее в себя последовательное систематическое изучение роли различных факторов на протекание реакций. Важно указать также на большой объем проведенной синтетической работы и ее трудоемкость, которые вызывают искреннее восхищение и, безусловно, свидетельствуют об **очень высокой квалификации диссертанта как химика-синтетика.**

Завершающий раздел главы «Обсуждение результатов» посвящен изучению и, что важно, **анализу соотношений структура – активность** для полученных серий соединений на основе данных тестирования на цитотоксичность на линиях клеток человека опухолевой и неопухолевой этиологии. Для некоторых веществ продемонстрирована цитотоксичность в наномолярном интервале концентраций. Автором выявлено два соединения, для которых дополнительно продемонстрировано эффективное

противоопухолевое действие на моделях мышинного лейкоза *in vivo* и на модели подкожных ксенотрансплантантов с использованием аденокарциномы SW620 *in vivo*.

В **Экспериментальной части** работы автором приведены методики получения соединений, их спектральные и физико-химические характеристики. Соединения, впервые полученные в настоящей работе, охарактеризованы спектрами ЯМР ^1H и ЯМР ^{13}C с подробным и достоверным отнесением сигналов; данными масс-спектрометрии и элементного анализа; для всех кристаллических веществ приведены данные температуры плавления, для 5-бром-3-(3-трифторметилфенил)изоксазола, 3-(3-нитро-4-дифторметоксифенил)-4-(3,4,5-триметоксифенил)-5-хлоризоксазола и 3-(3-нитро-4-трифторметоксифенил)-4-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазола выполнен рентгеноструктурный анализ. Экспериментальная часть полностью подтверждает обоснованность и достоверность положений и заключений, приведенных в работе. Подтверждением высокого качества проделанной работы являются публикации автора в ведущих отечественных и международных научных журналах.

Проведенные исследования и полученные соискателем результаты, несомненно, обладают **новизной и теоретической значимостью**, которая заключается в разработке новой методологии региоселективного двухстадийного синтеза 3,5-диарилизоксазолов и в разработке новой системы для галогенирования изоксазолов и пиразолов, а также в иллюстрации возможности синтеза гибридных 4-триазилизоксазолов. **Важной в практическом плане** является реализация синтеза нескольких серий новых аналогов антимитотического агента комбретастина А4 и обнаружение для некоторых соединений антипролиферативной активности в наномолярном диапазоне концентраций, а также выявление двух веществ, эффективных на мышинных моделях некоторых опухолей *in vivo*.

Диссертационная работа Г.Л. Каретникова выполнена на высоком уровне, выводы автора являются обоснованными, а достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. К работе имеются, однако, некоторые замечания.

1) В литературном обзоре есть данные о получении аналогов Комбретастина А-4 на основе 3,5-диарил-замещенных пятичленных гетероциклов. Из литературных данных следует, что такие аналоги обычно малоактивны. Это требует дополнительного обоснования синтеза очень большой серии 3,5-диарилизоксазолов (активность которых, как и следовало ожидать, оказалась низкой).

2) Представленные в таблице 5 значения, обозначенные как «Аффинность», на самом деле представляют собой оценочные значения энергии межмолекулярных взаимодействий (выраженные в ккал/моль).

3) При обсуждении закономерностей структура – цитотоксичность *in vitro* полученные значения сравниваются с таковыми для Комбретастина А-4 (положительный контроль), что абсолютно корректно, а также с таковыми для цисплатина, что не удачно, учитывая другой механизм действия цисплатина.

4) Если на рисунке 9 представлены турбидиметрические кривые, то это следовало бы указать, пояснив, что изображено на оси ординат на графиках. Стоило упомянуть, какой тубулин использовали для эксперимента.

5) Следовало бы более «осторожно» писать о селективности полученных соединений в паре клеточных линий А549/VA13 как в обсуждении, так и в выводе 5 («Выявлены два наиболее активных соединения ряда 3,4-диариллизоксазолов, показавшие цитотоксичность к опухолевым клеткам в наномолярном диапазоне и высокую селективность к ним»). Селективность в 2–4 раза высокой не считается.

6) Следовало бы пояснить выбор моделей мышинового лейкоза для ряда тестов *in vivo*, учитывая, что сам Комбретастин А-4 фосфат (учитывая также его ангиогенное действие) эффективен скорее для солидных опухолей.

7) В заключении при описании результатов тестирования *in vivo* было бы уместно сравнить показатели регрессии опухолей для изоксазолов **122** и **143** (66% и 74%) не только с Комбретастином А4-фосфатом, но и с описанными в литературе близкими по структуре и обсуждаемыми диссертантом в литературном обзоре тиазольными и тетразольными аналогами КА-4 (Ref 51: BMCL, 1998, – регрессия 75% и 89%) и имидазольными аналогами КА-4 (Ref 48: JMC, 2002, – полная регрессия при пероральном введении *in vivo*).

8) В работе встречаются опечатки и неудачные выражения, например:

- термин «тубулин-ингибирующие» (так как речь идет об ингибиторах сборки построенных из тубулина микротрубочек),
- «отсутствие селективности к опухолевым клеткам говорит об ином механизме действия, который может быть связан с токсифорным эффектом нитро-группы» (лиганды тубулина сами по себе не очень селективны),
- «мы исследовали динамику микротрубочек *in vitro* путем измерения полимеризации тубулина в клетках с помощью микроскопического исследования цитоскелета» (стилистически не удачно).

Важно подчеркнуть, что высказанные замечания не снижают общего очень благоприятного впечатления от представленной работы и не ставят под сомнение высокое качество проведенного исследования. Поставленная диссертантом цель работы выполнена

полностью, а результаты работы вносят заметный вклад в современную методологию синтеза физиологически активных веществ.

В целом, я считаю, что диссертационная работа Каретникова Георгия Леонидовича отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспортам специальности 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 наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова, а соискатель Каретников Георгий Леонидович заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.3. – Органическая химия и 1.4.16. – Медицинская химия. Автореферат и публикации правильно отражают содержание диссертации.

Официальный оппонент:

Профессор кафедры медицинской химии и тонкого

органического синтеза химического факультета

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет

имени М.В.Ломоносова», д.х.н., доцент _____ **Зефирова Ольга Николаевна**

Почтовый адрес места работы: 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3

Телефон: 8-495-939-12-43

Адрес электронной почты: olgaz@med.chem.msu.ru

Наименование организации (полное/сокращенное): Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»/ МГУ имени М.В.Ломоносова

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 02.00.16 «Медицинская химия».

_____ октября 2023 г.