

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук
Антонец Анастасии Александровны
на тему: **«Комплексы платины и рутения с лекарственными препаратами
дибуфелон и абиратерон в качестве противоопухолевых агентов»**
по специальности 1.4.16. Медицинская химия

Диссертационная работа Анастасии Александровны Антонец посвящена разработке новых гибридных соединений – комплексов платины и рутения, дополнительно содержащих в своем составе известные лекарственные препараты. Данное направление исследований связано с тем, что несмотря на большие успехи в развитии противоопухолевых препаратов, для исследователей остается обширное поле деятельности по увеличению их эффективности, селективности и снижению побочных токсических эффектов.

Диссертация А.А. Антонец состоит из следующих частей: Введение, Обзор литературы, Обсуждение результатов, Экспериментальная часть, Заключение, Список обозначений и сокращений и Список литературы. Работа изложена на 181 странице, содержит 154 рисунка, 14 таблиц, список литературы включает 202 наименования. Во **Введении** автор дает общую характеристику работы, подчеркивая, что различные проблемы, связанные с использованием комплексов Pt(II), в первую очередь, многочисленные побочные явления и резистентность, требуют разработки иных подходов – использования соединений Pt(IV) и Ru(II), Ru(III). Кроме того, современным направлением является также разработка молекул, сочетающих в своем составе комплексы платины или рутения с органическими фрагментами, обладающих собственной активностью, что может позволить улучшить фармакокинетические характеристики и расширить терапевтический потенциал получаемых соединений. Автор подчеркивает, что в настоящее время мало изученными остаются молекулы, в которых в качестве лигандов использованы

соединения, проявляющие антиоксидантные свойства, а также редки примеры получения комплексов платины и рутения, содержащих стероидные фрагменты, представляющие собой известные лекарственные препараты. В связи с этим автор поставил следующую цель собственной работы: получить новые комплексы платины и рутения с органическими лигандами фенольного и стероидного типа – структурными фрагментами лекарственных препаратов дибуфелон и абиратерон, исследовать их антиоксидантную и цитотоксическую активности *in vitro* и выявить зависимости «структура – активность». Исходя из вышесказанного, диссертационное исследование А.А. Антонец является, бесспорно, важным и **актуальным**.

Обзор литературы диссертации посвящен нескольким взаимосвязанным темам. В самом начале дается краткая характеристика причин возникновения злокачественных образований и роли окислительного стресса в этом процессе, показывает действие препаратов, продуцирующих активные формы кислорода, для борьбы с раковыми заболеваниями. Автор останавливает свое внимание на механизме действия активных метаболитов кислорода (АМК). Вторая часть Обзора рассматривает известные к настоящему времени комплексы Pt(II) (цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин), вошедшие в медицинскую практику, механизм их действия на раковые клетки и побочные эффекты. Далее автор уделяет внимание менее токсичным и более коммерчески доступным комплексам Ru(III) (BOLD100, NAMI-A) и Ru(II) (RAPTA-C). Подчеркивается другой механизм терапевтического действия этих препаратов, указывается на их мультитаргетный характер. В Обзоре литературы А.А. Антонец также показывает основные принципы создания гибридных биологически активных структур, методы объединения в одной молекуле известных биологически активных фрагментов. Это позволяет получать соединения, способные взаимодействовать с различными биологическими мишенями, улучшать фармакокинетические характеристики и повышать селективность действия, уменьшая, таким образом, токсичность. Различают прямое соединение фрагментов, которые объединяют в одну молекулу без использования дополнительных линкеров,

при этом различаются два типа получающихся соединений: с перекрывающимися и неперекрывающимися фрагментами. В случае непрямого связывания используют гибкие или жесткие линкеры. Первые обеспечивают высокую конформационную подвижность молекулы, что благоприятствует взаимодействию с различными мишенями. Использование жестких линкеров позволяет зафиксировать определенную ориентацию исходных фрагментов в пространстве, что увеличивает селективность связывания с определенными мишенями.

Следующая часть Обзора литературы рассматривает известные к настоящему времени гибридные структуры – производные комплексов платины. Подчеркивается, что наиболее распространённым подходом является использование двух аксиальных лигандов для функционализации соединений платины с образованием комплексов Pt(IV), которые, высвобождая указанные лиганды внутри клетки, образуют активные формы двухвалентной платины. При этом наибольший интерес представляют комплексы Pt(IV), в которых один или оба аксиальных лиганда являются терапевтическими агентами, например, с салициловой кислотой, аспирином, напроксеном, диклофенаком, сальсаламом, карпрофеном, этодолаком и сулиндаком. Такой подход позволяет получать лекарства двойного и даже тройного действия. Для всех анализируемых соединений приводится краткая характеристика механизма их биологического действия. Рассмотрены два комплекса Pt(IV) со стероидными структурными фрагментами – с холестерином и эстрадиолом, что важно для собственных исследований автора диссертации.

Аналогичный подход использован А.А. Антонец и для описания известных гибридных комплексов двух- и трехвалентного рутения. Схематически представлены разные структуры такого рода соединений, среди которых комплексы с летрозолом и анастрозолом, никотиновой кислотой и изониазидом. Моносахариды, гликозиды, фрагменты жирных кислот, производные хинолона также встречаются в составе такого рода комплексных соединений. Важным для собственных исследований автора являются комплексы со стероидными лигандами, в том числе, с

лекарственным препаратом абиратероном. В целом, можно заметить, что разнообразие гибридных соединений на основе рутения заметно превышает таковое на основе комплексов платины. В качестве основного вывода из анализа свойств гибридных соединений автор делает вывод о том, что данный подход позволяет уменьшать токсичность по отношению к нормальным клеткам, увеличивать липофильность, создавать мультитаргетные соединения, а увеличение разнообразия лигандного окружения металлов модифицирует их терапевтические характеристики. В целом, комплексы Pt и Ru с биологически активными лигандами представляют собой гибкую платформу для рационального конструирования новых противоопухолевых препаратов, что подтверждает актуальность выбранной тематики.

Последний раздел Обсуждения результатов затрагивает такие аспекты, как терапевтические стратегии с модуляцией состояния окислительного стресса при использовании комплексов платины и рутения. Рассматривается индукция окислительного стресса соединениями рутения, действие комплексов Pt и Ru на митохондрии, антиоксидантная защита при терапии препаратами платины и рутения. Большой интерес представляют комплексы металлов с лигандами, проявляющими антиоксидантную активность, что важно для защиты нормальных клеток от избытка АМК, хотя таких примеров совсем немного. В конце данной главы приводятся обобщения и выводы, позволяющие обозначить лакуны в известных подходах и, таким образом, более убедительно обосновать тематику собственных исследований в этой области. Таким образом, Обзор полностью соответствует тематике собственного диссертационного исследования А.А. Антонец, содержит необходимую информацию для оценки степени новизны и значимости полученных автором результатов. В Обзоре приведены данные по более чем 140 источникам, в основном опубликованных в последнее десятилетие и, более того, зачастую в последние несколько лет, что указывает на современность и востребованность данного направления исследований.

Собственные достижения А.А. Антонец как в части синтеза новых комплексных соединений платины и рутения, так и исследования их биологической активности подробно изложены в **Обсуждении результатов**. В начале данной главы автор подчеркивается перспективность выбранного метода «гибридизации»: в части получения комплексов, несущих в качестве лигандов известный антиоксидантный препарат дибуфелон и его аналоги возможно ожидать различное поведение получаемых гибридов в нормальных и раковых клетках для снижения уровня АМК в первых и повышения селективности препаратов; в части синтеза комплексов со стероидным лигандом абиратероном (известным противоопухолевым средством) это определяется возможностью направленной доставки препаратов в опухолевые клетки, что повышает селективность действия, а также открывает путь для получения мультитаргетных противораковых препаратов. Вначале автор описывает двухстадийный синтез 7 лигандов – производных фенозановой кислоты и ее аналогов, отличающихся степенью удаленности карбоксамидной группы от фенольного кольца и имидазольного фрагмента. Далее, в ходе проведения реакций лигандного обмена с комплексами Ru(II), синтезировано несколько серий комплексов, в которых имидазольный фрагмент координирован к атому металла. В качестве других лигандов в полученных комплексах присутствуют, кроме *n*-цимена, также хлорид-ион (комплексы **9**), оксалат (комплексы **10**); также синтезировано 6 комплексов Ru(III) типа **11**. Комплексы в основном получены с выходами от хороших до высоких, основным методом их выделения является хроматография на силикагеле. Автор обсуждает особенности их спектров ЯМР ^1H , приводит масс-спектры ИЭР, подтверждающие получение целевых комплексов. Для получения комплексов Pt(IV) предварительно осуществлялось окисление доступных соединений Pt(II) – цисплатина и оксалиплатина до гидроксокомплексов Pt(IV), которые в дальнейшем вводились в реакции с хлорангидридами фенозановой кислоты и ее аналогов с образованием серий комплексов **13** и **14**, строение и состав

которых также обсуждаются с привлечением данных спектроскопии ЯМР и масс-спектрометрии.

Значительный пласт исследований связан с изучением электрохимического поведения лигандов **8** и комплексов **9-11** методом ЦВА в ацетонитриле с использованием платинового и стеклоуглеродного (СУ) электродов, в результате чего сделаны важные выводы о стадиях и механизмах электрохимического окисления органических лигандов и комплексов, при этом электрохимическое поведение соединений Ru(III) на СУ-электроде носит более сложный характер, чем комплексов двухвалентного рутения. Для соединений **12a**, **13a-d** были получены данные по липофильности ($\log P$) с использованием метода ВЭЖХ по времени удерживания исследуемых соединений в подвижной фазе. Сделан вывод об увеличении липофильности с ростом длины линейного фрагмента линкера.

С использованием методов DPPH и CUPRAC диссертант оценил антиоксидантную активность полученных комплексов рутения, содержащих фрагмент дибуфелона. Обнаружено, что комплексы Ru(II) **9a-9g** и Ru(III) **11a-11f** обладают выраженным антиоксидантным действием, причем оказалось, что способность взаимодействовать со стабильным радикалом в условиях метода DPPH в большей степени определяется координационным окружением и степенью окисления рутения, а не антиоксидантными свойствами координированного органического лиганда, в то время как в методе CUPRAC активность комплексов в значительной степени зависит от присутствия фенольных антиоксидантных лигандов. Что касается исследованных комплексов платины **12-14**, они продемонстрировали возможность действовать в качестве сильных антиоксидантов в реакции с участием свободного радикала. Важным является наличие органического лиганда, способного участвовать в редокс-процессах, в аксиальных положениях комплексов Pt(IV), при этом природа экваториальных лигандов существенно не влияет на данный вид активности. В связи с данными экспериментами было исследовано антигликирующее действие комплексов. Показано, что комплексы **12a**,

13b, 14a, 14b, 14d проявляют антигликирующую активность в системе с глюкозой, при этом основным фактором наличия такой активности является присутствие в комплексах фенолсодержащих лигандов. В рамках изучения антиоксидантных свойств проведены эксперименты, выявляющие способность комплексов Ru и Pt ингибировать перекисное окисление липидов гомогената мозга крыс, индуцированное как H_2O_2 , так и Fe(II). Установлено, что среди комплексов рутения в наибольшей степени ингибирование перекисного окисления липидов характерно для комплексов Ru(III) **11a-11f**, для которых обнаружена также высокая активность в экспериментах DPPH и CUPRAC; также все соединения Pt(IV) **12a, 13a-b, 14a-c** продемонстрировали высокую способность к ингибированию перекисного окисления липидов.

Оценку цитотоксичности синтезированных комплексов *in vitro* производили с использованием МТТ-теста на клеточных линиях рака легкого A549, рака толстой кишки HCT116, рака молочной железы MCF7, на клеточной линии фибробластов легкого WI38, а также для ряда соединений оценивали цитотоксичность *ex vivo* по отношению к первичным фибробластам кожи крыс RDF. В результате проведенных экспериментов было установлено, что активными являются только комплексы Ru(II), все соединения продемонстрировали в 2-4 раза более низкую токсичность по отношению к нормальным клеткам по сравнению с раковыми, для соединений Ru(II) **9e,f, 10e,f**, обладающих сопоставимой с цисплатином активностью, показана способность вызывать гибель раковых клеток по апоптотическому пути. Все новые комплексы Pt(IV) продемонстрировали высокую цитотоксическую активность по отношению ко всем раковым клеточным линиям, в большинстве случаев они оказались примерно на порядок активнее цисплатина и оксалиплатина, при этом наблюдается выраженная зависимость между активностью комплексов и их липофильностью. Исследования цитотоксичности на нормальной клеточной линии RDF показали, что все новые комплексы платины не оказывают существенного цитотоксического действия на нераковые клетки.

Во второй части работы А.А. Антонец синтезировала ряд гибридных комплексов платины и рутения, содержащих в качестве лиганда абиратерон. Для этого вначале ею разработан метод модификации абиратерона остатком янтарной кислоты, и полученное соединение было использовано в реакциях с аналогами оксалиплатина и сатраплатином для получения целевых комплексов Pt(IV). С использованием ацетата абиратерона получены комплексы Ru(II) и Ru(III), в которых осуществляется координация металла по пиридиновому атому азота. Диссертант обсуждает особенности их спектров ЯМР ^1H , приводит масс-спектры ИЭР, свидетельствующие об образовании целевых комплексов. Методом ЦВА было изучено электрохимическое поведение рутениевых комплексов абиратерона. В качестве вывода из полученных данных указывается, что одним из возможных механизмов антипролиферативного эффекта комплексов Ru(III) является механизм «активации путем восстановления». Ввиду этого, увеличение легкости восстановления должно оказывать положительное влияние на антипролиферативную активность этих комплексов.

С использованием МТТ-тестов показано, что комплекс платины **23** на основе сатраплатина оказался самым активным, на всех клеточных линиях его показатели заметно превышали активность исходного абиратерона, цисплатина и сатраплатина. Что касается комплексов рутения, то не наблюдается существенных различий между значениями IC_{50} для них и исходного ацетата абиратерона, тем не менее, подробное исследование механизма действия гибридного комплекса **25a** показало, что профиль активности комплекса рутения и лиганда существенно отличаются. Исследована возможность связывания с ферментом цитохром P450 17A1 (CYP17A1) комплексов платины **22** и **23** в результате дифференциального спектрофотометрического титрования *in vitro* обнаружено, что оба комплекса способны взаимодействовать с активным центром фермента, однако их сродство ниже, чем у немодифицированного абиратерона.

В **Экспериментальной части** приводятся подробные методы синтеза как описанных ранее, так и новых комплексных соединений, полученных в ходе выполнения диссертации. Синтезированные комплексы полно охарактеризованы современными аналитическими методами, такими как спектры ЯМР ^1H и ^{13}C , масс-спектры ИЭР, элементный анализ. В данном разделе также приведены методики проведения многочисленных исследований полученных комплексов: циклическая вольтамперометрия, исследование липофильности методом ВЭЖХ, изучение антиоксидантной активности (двумя методами), исследование ингибирования окисления липидов гомогената мозга крыс, исследование антигликирующей активности, исследование цитотоксичной активности (три метода). Из представленных данных следует, что комплексные соединения получены в индивидуальном состоянии, в достаточных количествах для проведения биологических испытаний, их строение однозначно установлено, методики хорошо воспроизводимы, что свидетельствует об полной **достоверности** полученных результатов и об экспериментальном мастерстве диссертанта. В разделе **Закключение** сделаны обоснованные выводы и показаны перспективы развития данной работы. **Список литературы** содержит 202 наименования и оформлен по правилам.

Приведенные данные о получении новых разнообразных комплексных соединений, объединяющие в своем составе центральные катионы рутения и платины с известными фармакологическими препаратами, обладающих уникальным фармакологическим профилем, однозначно свидетельствуют о **научной новизне** проведенного исследования, а также о **теоретической и практической значимости** полученных результатов. В целом диссертационное исследование характеризуется законченностью и внутренним единством, непротиворечивостью имеющихся литературных данных, теоретическими предпосылками исследования, полученными экспериментальными данными и выводами, сделанными на их основе. Материалы исследования опубликованы в 3 научных статьях и апробированы на 11 российских и международных конференциях.

Диссертационное исследование А.А. Антонец удовлетворяет пунктам 1, 4, 5 и 6 паспорта научной специальности 1.4.16. «Медицинская химия».

По работе можно сделать некоторые замечания и задать следующие вопросы:

- 1) В Обзоре литературы недостаточно четки некоторые формулировки, касающиеся терапии онкологических заболеваний с использованием окислительного стресса. Из Рис. 1.3 непонятно, почему именно таким образом выбрано терапевтическое окно, и в целом рисунок следовало бы модифицировать для лучшего понимания влияния окислительного стресса на клетки и его применения для лечения. Известно ли, в какие продукты могут превращаться описываемые комплексы платины и рутения в ходе окислительно-восстановительных реакций, в результате которых образуются АМК?
- 2) Связанный с предыдущим вопрос: в диссертации неоднократно подчеркивается, что антиоксидантные препараты (протекторы) позволяют сгладить воздействие Pt и Ru комплексов на нормальные клетки в части выработки избыточного количества АМК, т.е. чтобы их губительное действие по возможности ограничивалось опухолевыми клетками. Однако остается не до конца понятным, каким образом антиоксидантные препараты могут оказывать избирательное действие на нормальные клетки?
- 3) В Обсуждении результатов можно было бы более в ряде случаев более подробно обсудить некоторые аспекты синтезов лигандов и комплексов. Например, с чем связан довольно заметный разброс в выходах лигандов **8**, комплексов **13** и **14**, **21-23**? Является ли это результатом трудностей при хроматографической очистке или реакция лигандного обмена не доходит до конца? Также следовало бы более четко указать, что практически все комплексные соединения, полученные в работе, являются новыми.

4) Из текста и Рис. 2.12 не совсем понятно, каким количеством ДМСО обрабатывали комплексы **9**, сколько новых комплексов образовывалось в результате лигандного обмена?

5) Как можно объяснить присутствие остаточного дихлорметана в комплексах **10b,d,e,g**? В методике не указано использование данного растворителя при синтезе указанных комплексов. Аналогичный вопрос касается и комплексов **11c,e, 21-23**.

Совершенно очевидно, что указанные замечания ни в малейшей степени не снижают общей высокой оценки выполненной диссертационной работы.

Диссертация Антонец Анастасии Александровны является законченной научно-квалификационной работой, а задачи, связанные с синтезом новых комплексов рутения и платины с лекарственными препаратами дибуфелон и абиратерон, изучением их физико-химических характеристик и биологической активности в качестве противоопухолевых соединений, которые были решены в ходе проведенного исследования, несомненно, имеют важное значение для развития медицинской химии.

Диссертация «Комплексы платины и рутения с лекарственными препаратами дибуфелон и абиратерон в качестве противоопухолевых агентов» Антонец Анастасии Александровны отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 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. Диссертационное исследование оформлено 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 Антонец Анастасия Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.16. Медицинская химия.

Официальный оппонент:

доктор химических наук,

ведущий научный сотрудник кафедры органической химии химического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Аверин Алексей Дмитриевич

подпись

04.09.2026 г.

Контактные данные:

Рабочий тел. +7 (495) 939-11-39; рабочий e-mail: averin@org.chem.msu.ru;

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

02.00.03 - Органическая химия.

Адрес места работы: 119991, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3;

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, химический факультет.

Тел. +7 (495) 939-11-39; e-mail: averin@org.chem.msu.ru

Личную подпись *Аверин А.Д.*

ЗАВЕРЯЮ: *подпись*, *печать*

Самошина Д.Х.

Нач. отдела делопроизводства
химического факультета МГУ