

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата химических наук Зыка Николая Юрьевича
на тему: «Синтез двойных конъюгатов терапевтических препаратов с
лигандами простатического специфического мембранного антигена»
по специальностям 1.4.3. Органическая химия
и 1.4.16. Медицинская химия

Дизайн, разработка и реализация синтетических подходов получения конъюгатов противоопухолевых препаратов, способных к адресной доставки диагностических и терапевтических агентов, направленных на биологические мишени, характеризующиеся высокой экспрессией в опухолевых тканях – одно из важнейших направлений современной органической и медицинской химии. Получение и биологическое исследование таких конъюгатов является актуальной задачей. Ранее установлено, что наиболее перспективной мишенью для адресной доставки лекарственных препаратов в клетки опухолей предстательной железы является простатический специфический мембранный антиген (ПСМА). При этом выяснено, что перспективными лигандами данной белковой мишени для создания конъюгатов являются производные мочевины на основе двух фрагментов аминокислот.

Актуальность избранной темы. К началу исследований, проведенных в данной диссертационной работе, несмотря на отдельные примеры синтетических подходов к получению тераностических и диагностических низкомолекулярных конъюгатов для совместной доставки двух различных функциональных фрагментов, разработанных для адресной терапии рака предстательной железы, потенциал использования комбинации низкомолекулярных терапевтических платформ не был реализован. Известные примеры в основном представляли высокомолекулярные соединения, которые в сравнении с низкомолекулярными обладают явными недостатками, в частности с высокой вероятностью возникновения иммунного ответа. Причем,

среди известных результатов важным ориентиром для дальнейших синтетических модификаций являлось установление существенной роли структуры линкера, соединяющего вектор и терапевтический агент, а также новая тенденция одновременного введения различных функциональных фрагментов.

Именно здесь на пути трансформации известных биологически активных лигандов ПСМА, введения бимодальных низкомолекулярных терапевтических фрагментов, где можно использовать научный багаж в области органического синтеза, Зыку удалось разработать получение целого ряда новых, в значительной мере оригинальных и перспективных, веществ. синтезировать новые эффективные низкомолекулярные бисконъюгаты.

Цель работы и их реализация. Таким образом, вполне логично была выбрана основная цель работы - реализация методов синтеза и тестирования ингибирующей и противоопухолевой активности новых лигандов простатического специфического мембранного антигена и бимодальных терапевтических конъюгатов на их основе.

Диссертационная работа изложена на 250 страницах машинописного текста, содержит 26 таблиц и 130 рисунков и состоит из введения, трех частей (литературный обзор, обсуждение результатов, экспериментальная часть) и выводов. Список цитируемой литературы включает более 175 наименований.

Литературный обзор диссертации предваряет глава с рассмотрением основных сведений о простатическом специфическом мембранном антигене, его строении и лигандах, которые разделены на аналоги субстрата (в основном, амиды и мочевины) и аналоги переходного состояния (производные фосфоновой и фосфиновой кислот и тиолы), получении на их основе конъюгатов и их использовании. Анализ известных данных привел автора к выводу о перспективности использования производных мочевины. Далее наиболее подробно рассмотрено получение производных цитостатических препаратов, которые в дальнейшем и исследовались автором. Рассмотрены основные подходы к созданию мочевинового DCL фрагмента, синтезу

лигандов ПСМА на их основе, способы введения ароматического фрагмента к ε -атому азота лизина, способы введения линкера в структуру, твердофазная стратегия синтеза лигандов, комбинационная терапия рака и терапевтические конъюгаты лигандов – моно- и бимодальные и подходы к их получению.

Ощущается хорошее знание автором текущей литературы в данной области, что позволило логично сгруппировать материал обзора. Он, возможно, излишне подробен и охватывает в сумме около 150 ссылок на оригинальные работы, однако критичен и, несомненно, отвечает своему назначению. Квинтэссенцией обзора является резюме всех частей, демонстрирующее оригинальность выбранного диссертантом подхода и перспективность использования новых бимодальных конъюгатов ПСМА с низкомолекулярными соединениями на основе производных мочевины с фрагментами двух молекул аминокислот.

В разделе «**Обсуждение результатов**» представлены результаты собственной работы Николая Юрьевича над поставленной задачей. Следует сразу подчеркнуть достаточную, несмотря на чрезмерный объем экспериментальных результатов, рассмотренных в диссертации, стройность работы. Вначале осуществлялся синтез ПСМА - векторного фрагмента. Причем ряд лигандов с замещёнными бензильными фрагментами при ε -аминогруппе лизина получены методом жидкофазного пептидного синтеза. Затем были синтезированы конъюгаты сравнения с одним терапевтическим агентом и ряд бимодальных конъюгатов присоединением к лиганду ПСМА функциональных фрагментов клик-реакцией с использованием азидной группы и ацилирования амина. В результате были синтезированы конъюгаты с парами препаратов доцетаксел-абиратерон, ММАЕ-абиратерон, ММАЕ-энзалутамид, ММАЕ-испенесиб. Все они демонстрировали селективность и цитотоксичность в отношении ПСМА положительных клеточных линий *in vitro*, а ряд из них противоопухолевую активность и селективность *in vivo*.

Экспериментальная часть содержит методики синтеза полупродуктов, конечных соединений, проведения новых реакций. Указаны используемые

инструментальные, а также методы определения биологической активности. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнения. Данный раздел диссертации, занимающий более 80 страниц, показывает большой объем работы, проведенной автором, его аккуратность и тщательность исполнения химического эксперимента. Стоит отметить привлечение комплекса современных инструментальных методов анализа для установления строения полученных соединений и обоснования сделанных выводов. Выводы в полной мере отражают результаты, полученные в рамках выполнения диссертационной работы.

Научная новизна диссертационной работы Н. Ю. Зыка не вызывает сомнений. В данной работе впервые осуществлён синтез двенадцати новых лигандов ПСМА с варьируемыми функциональными группами при аминогруппе лизина и проведены исследования их ингибирующей активности. Разработан и реализован на практике новый подход к синтезу защищённых соединений – предшественников лигандов ПСМА с концевой аминогруппой, основанный на иммобилизации остатка 1,3-диаминопропана на твердофазном носителе. Получено четыре ранее не описанных лиганда ПСМА, пригодных для создания на их основе бимодальных конъюгатов, оценена ингибирующая активность *in vitro*. Проведен дизайн и разработка синтетических методик получения десяти новых бимодальных конъюгатов лигандов ПСМА с терапевтическими агентами, обладающими различными механизмами действия. При получении данных соединений впервые осуществлён синтез модифицированных форм ряда терапевтических агентов. Проведены исследования противоопухолевой активности полученных соединений *in vitro* и *in vivo*.

Практическая значимость работы также несомненна и существенна. Успешная игра с защитными группами, творческое отношение к синтетическим приемам, позволяющая в ряде случаев избежать рацемизации промежуточных соединений, строгий анализ полученных реакционных смесей, позволила автору получить для дальнейших исследований широкий

набор хиральных соединений преимущественно в виде одного стереомера, что важно для исследования веществ на биологическую активность. Структура всех полученных новых веществ была полностью подтверждена методами ^1H , ^{13}C , ЯМР спектроскопии, в том числе с привлечением корреляционных методик и масс-спектрометрии высокого разрешения.

Исключительно важен в научном плане раздел диссертации, посвященный биологическим свойствам полученных соединений. Испытания показали существенные положительные изменения фармакологических свойств ряда конъюгатов по сравнению с исходными физиологически активными веществами. Это показывает перспективу создания на их основе новых лекарственных многофункциональных препаратов.

Принципиальных недостатков в диссертационной работе Николая Юрьевича нет, можно высказать лишь несколько пожеланий и отметить перспективы дальнейшего развития данной диссертационной работы. Так, кроме необходимости очевидной проверки отсутствия рацемизации продуктов на разных возможных стадиях процесса, например, при создании пептидной связи, достаточно интересно использовать современные подходы к улучшению условий проведения реакций, повышению выходов целевых продуктов и сокращению времени процессов, заключающееся в использовании технологичного и экологичного микрофлюидного метода. Последний получил широкое распространение во всем мире в получении небольших количеств физиологически активных веществ.

При этом следует отметить, что выходы продуктов целого ряда реакций пептидного синтеза, восстановительного аминирования, ацилирования и даже снятия БОК-защиты сравнительно низки (30-70%). Объяснения данным результатам в диссертации нет. Необходимо было также указать суммарный выход какого-либо эффективного конъюгата по всем многочисленным стадиям процесса синтеза.

Итак, поскольку оппонент не имеет серьезных претензий к выполненной работе, хотел бы ограничиться указанием на некоторые

недостатки письменного представления материала в диссертационной работе.

1) К сожалению, в диссертации практически полностью отсутствуют результаты измерения удельного вращения (необходимой характеристики для вновь полученных хиральных веществ) для всех как промежуточных, так и целевых соединений, впервые полученных диссертантом. В тех же случаях, когда они есть (соединения 24) отсутствует используемая концентрация и не указан растворитель.

2) Список используемых сокращений в диссертации отсутствует, имеется двойное их обозначение в английской и русской транскрипции (ТФУ и TFA на стр 98) и небольшое количество не выправленных опечаток (стр. 47, 51, 64). На стр. 43 перепутаны номера конъюгатов 58 а-j вместо 60 а-j.

3) Автор отмечает (рис.3.16), на основании появления группы сигналов при 7.0 и 6.6 м.д. в спектре ЯМР, частичное удаление защитной группы при атоме кислорода остатка тирозина, однако это может обуславливаться и частичной эпитмеризацией фрагмента тирозина в результате гидролиза кислотой и появлением соответствующего диастереомера указанного пептида с соответствующим набором сигналов.

4) Для увеличения наблюдаемых выходов при реакции восстановительного аминирования следовало увеличить количество используемого восстановителя, поскольку реакция проводится в присутствии метанола, реагирующего с восстановителем (стр. 149). Другая возможность увеличения выхода связана с использованием новых методов восстановительного аминирования – применение пентакарбонила железа, рутениевых катализаторов с СО или гипофосфита натрия с ДМФА.

Сделанные выше замечания не могут в целом повлиять на общую положительную оценку представленной к защите диссертационной работы. **Работа является законченным исследованием, а ее результаты и выводы не вызывают сомнений.**

Поставленная перед автором цель работы была полностью выполнена. Результаты данного исследования оцениваются как достойный вклад в область получения биологически ориентированных соединений с противоопухолевой активностью, а также подтверждение высокого уровня работ химического факультета МГУ. **Основные положения диссертации обоснованы, научная новизна работы также установлена. Автореферат и научные публикации автора отражают основное содержание диссертации.**

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 наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова. Таким образом, соискатель Зык Николай Юрьевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.3. Органическая химия и 1.4.16. Медицинская химия.

Официальный оппонент:

доктор химических наук, заведующий лабораторией № 128 гомолитических реакций элементоорганических соединений (ЛГРЭОС), отдел элементоорганических соединений ФГБУН Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН)

Кочетков Константин Александрович

Подпись д.х.н. К.А. Кочеткова удостоверяю:

Ученый секретарь ИНЭОС РАН

кандидат химических наук

Е. Н. Гулакова

Контактные данные: Тел. _____ ; E-mail: _____

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

Адрес места работы:

119334, Москва, ул. Вавилова, д. 28, стр. 1.

Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова

Российской академии наук (ИНЭОС РАН)

Тел.: _____ ; e-mail: _____

13 октября 2025