

ОТЗЫВ официального оппонента

на диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук
Берсеновой Дарьи Артемовны на тему: **«Комплексы оловоорганических соединений с фрагментами стероидов как антипролиферативные агенты»**
по специальности 1.4.16. Медицинская химия

Диссертационная работа Берсеновой Дарьи Артемовны посвящена получению оригинальных оловоорганических комплексов с карбоксилатными стероидными лигандами, а также гетероциклическими тиолами, изучению их антипролиферативного действия *in vitro*, установлению предполагаемого механизма противоопухолевой активности, а также определению взаимосвязи «структура-активность».

Актуальность изучения противоопухолевой активности оловоорганических соединений обусловлена их большей доступностью, высокой цитотоксичностью в отношении различных типов опухолей, превышающей данные для препаратов платины, способностью ингибировать рост резистентных раковых клеток. Множество факторов определяет разнообразие свойств оловоорганических комплексов: способность образовывать комплексные соединения с различными координационными числами, возможность варьирования количества и липофильности углеводородных групп при атоме металла, модулирование лигандного окружения также вносит значительный вклад. Карбоксильная, тиольная (тионовая) группы входят в состав многих биологически активных соединений и лекарств, что делает их удобным связующим блоком для конструирования металлокомплексов. Карбоксилатные, тиолатные комплексы олова(IV) характеризуются широким спектром биологической активности, такой как антибактериальная, противовоспалительная, противовирусная и противоопухолевая.

В настоящее время получено большое количество соединений олова с антибиотиками, бронходилататорами, противовоспалительными,

антигистаминными, противосудорожными и противовирусными препаратами. Тем не менее, разработка новых подходов к синтезу и получение оригинальных молекул с заданными свойствами остается актуальной проблемой медицинской химии. В данной работе в качестве фармакологически активных молекулярных блоков, способных координировать оловоорганический фрагмент, были выбраны желчные кислоты стероидной природы (холевая, дезоксихолевая, литохолевая), 2-меркаптопроизводные бензоксазола, бензотиазола, бензимидазола, а также препарат абиратерон. Соискателем в работе систематизированы основные подходы к получению комплексных соединений олова(IV) с лигандами на основе стероидных кислот, детально изучена антипролиферативная активность *in vitro*, стабильность в растворах. Впервые синтезированы и всесторонне охарактеризованы комплексы Sn(IV) с абиратероном и ацетатом абиратерона. Обнаружена противоопухолевая активность полученных соединений *in vitro* на серии клеточных линий рака человека, проведено сравнение их эффективности с неопухолевыми клетками, по результатам скрининга отобраны наиболее перспективные соединения-хиты, пригодные для дальнейших доклинических исследований. С привлечением различных тест-систем предложен механизм противоопухолевого действия для ряда комплексов олова(IV) *in vitro*. С фундаментальной точки зрения **актуальность и научная новизна** диссертационной работы Берсеновой Дарьи Артемовны не вызывают сомнений.

Теоретическая значимость работы заключается в установлении фундаментальных закономерностей «структура-активность» в ряду изученных соединений. В частности, соискателем обнаружено, что ключевыми факторами, определяющими антипролиферативную активность, являются не только углеводородные группы у атома олова, но и природа лиганда и тип донорного атома (S или O), связанного с металлом. Теоретически обосновано и экспериментально подтверждено, что новые комплексы олова(IV) способны воздействовать на процесс полимеризации тубулина, индуцировать апоптоз по

внутреннему (митохондриальному) пути, ингибировать работу фермента СУР17А1.

Диссертация Берсеновой Д.А. представляет интерес с точки зрения **практического применения** полученных экспериментальных данных для создания основы для доклинических исследований. В результате скрининга отобраны конкретные соединения-хиты с высокой активностью, которые могут быть рекомендованы для углубленных *in vivo* исследований. Использование модели сокультивирования (раковые + условно нормальные клетки) позволило экспериментально доказать избирательность действия некоторых комплексов олова(IV). Показана эффективность блочной сборки целевых комплексов на примере сочетания противоопухолевого препарата абиратерона с оловоорганическими фрагментами. Полученные конъюгаты не только сохранили способность взаимодействовать с исходной мишенью (СУР17А1), но и приобрели новые свойства.

Обоснованность положений, выносимых на защиту, достигается успешностью применения предложенного подхода на примере трех классов лигандов (желчные кислоты, абиратерон, N,S-гетероциклы). Для каждой из рассмотренных серий комплексов выявлены соединения с активностью, превосходящей цисплатин, что доказывает эффективность заявленного метода. Двумя независимыми методами экспериментально доказано, что включение в состав оловоорганических комплексов абиратерона обеспечивает их селективную антипролиферативную активность против клеток рака простаты РС-3. Исследование с СУР17А1 подтвердило, что механизм действия соединений заключается в высвобождении лиганда (абиратерона) и взаимодействии оловоорганического фрагмента с ферментом, что может быть интерпретировано как «комбинированный эффект». Положение о цитотоксической активности комплексов олова(IV) зависимой от типа органических заместителей при атоме олова и структуры лигандов подтверждается многочисленными данными МТТ-теста, представленными во всех разделах работы. Для ранее не описанных оловоорганических комплексов

каждый из предложенных механизмов подтверждается конкретным экспериментом: проточной цитофлуориметрией, цитометрией, прямыми измерениями процесса полимеризации тубулина.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений и обеспечивается современным методическим подходом, включающим несколько основных моментов. Характеризация синтезированных соединений проведена с использованием совокупности данных ИК-, ^1H , ^{13}C , ^{119}Sn ЯМР-спектроскопии, элементного анализа, в некоторых случаях (соединения 35,36,38) рентгеноструктурного анализа. Для первичного скрининга цитотоксичности целевых веществ использован известный МТТ-тест на широкой панели линий рака человека (MCF-7, HCT-116, A549, PC-3). Механизмы действия соединений изучены на современном оборудовании с помощью проточной цитофлуориметрии (анализ апоптоза и клеточного цикла), а также с привлечением специализированных методов: анализ полимеризации тубулина *in vitro* и дифференциальное спектрофотометрическое титрование с CYP17A1. В работе реализован корректный план биологических экспериментов на панели клеточных линий в сравнении с действием на нормальные/условно нормальные клетки (WI-38, MRC-5, VA13), что позволило определить как противоопухолевый потенциал комплексов, так и селективность их действия.

Объём и структура диссертации.

Диссертация изложена на 136 страницах машинописного текста, содержит 87 рисунков, 26 таблиц, список литературы включает 149 ссылок на работы отечественных и зарубежных авторов.

Во **введении** автор обосновывает актуальность выбранного направления исследований, приводит информацию о степени разработанности темы исследования, формулирует цель и задачи работы, обозначает научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, разъясняет методологию и методы исследования, выдвигает выносимые на защиту

положения, сообщает о своём личном вкладе, апробации работы и публикациях.

В литературном обзоре представлен анализ по основным аспектам антипролиферативной активности оловоорганических соединений, комплексов на их основе. Более 60% используемых литературных источников опубликованы за последние 10 лет. Обобщены основные биологические мишени и механизмы действия комплексов олова, включающие взаимодействие с молекулами ДНК, модулирование митохондриальной функции, ингибирование активности ряда ферментов антиоксидантной защиты, индукцию активных форм кислорода и развитие окислительного стресса. Обсуждаются моно- и полиядерные карбоксилатные комплексы олова(IV), соединения с N,S-лигандами (дитиокарбаматы, тиолы, тионы), в частности, с координированными гетероциклическими тиолами, а также N-донорными лигандами. Основное внимание уделено особенностям строения и показателям цитотоксичности. Материал литературного обзора подчёркивает обоснованность и актуальность выбора тематики исследования автора диссертации.

Раздел **«Обсуждение результатов»** структурирован в виде пяти подразделов второй главы диссертации. В работе Берсеновой Д.А. рассмотрены три основные группы оловоорганических комплексов: производные желчных кислот (холевой, дезоксихолевой, литохолевой), комплексы с противоопухолевым препаратом абиратероном (и его ацетатом) и соединения с N,S-донорными лигандами (на основе меркаптобензоксазола, бензотиазола, бензимидазола и 2,6-ди-*трет*-бутил-4-меркаптофенола). В ряду синтезированных соединений наиболее активными оказались производные трифенилолова, характеризующиеся значениями показателя (IC_{50}) цитотоксичности, находящимися в наномолярном диапазоне концентраций. Соединения, содержащие две или три алкильные группы при атоме олова(IV) значительно уступали по своим показателям производным трифенилолова. Можно выделить несколько ключевых механизмов действия синтезированных

веществ: индукция апоптоза (преимущественно по внутреннему митохондриальному пути), остановка клеточного цикла в фазах S или G2/M, а также ингибирование полимеризации тубулина. Последний эффект наиболее выражен для ди-*трет*-бутилзамещенного комплекса олова(IV) (35) с двумя 2-меркаптобензоксазольными лигандами. Для комплексов с абиратероном дополнительно доказано взаимодействие с активным центром цитохрома P450 17A1 (CYP17A1) после высвобождения лиганда. Селективность действия карбоксилатных комплексов олова(IV) на основе желчных кислот по отношению к раковым клеткам впервые подтверждена методом сокультивирования, например, комплекс **4** оказался в 13 раз токсичнее для клеток MCF-7, чем для нормальных MCF-10A. Таким образом, решающую роль в проявлении высокой активности играет углеводородная группа при атоме олова ($\text{Ph}_3\text{Sn} > \text{Bu}_3\text{Sn} > \text{Me}_3\text{Sn}$), а также способность лиганда (стероидный остов, гетероцикл) обеспечивать дополнительное связывание с биомолекулами.

В экспериментальной части диссертационной работы приведены методики получения 38 соединений, большая часть которых ранее не была описана; представлена информация о методах исследования и научном оборудовании, использованных в работе. Возможность воспроизведения синтетических процедур по представленным методикам не вызывает сомнений. Продукты обменных реакций, как правило, выделялись с хорошим выходом, их строение доказано при помощи методов ИК-, ^1H , ^{13}C , ^{119}Sn ЯМР-спектроскопией, данными элементного анализа и РСА. Стоит отметить значительную проработку диссертантом полученных экспериментальных результатов. В экспериментальной части диссертации подробно описаны методы биологических испытаний, включающие стандартный МТТ-тест, проточную цитофлуориметрию. Дополнительно применены специализированные биохимические тесты: спектрофотометрическая оценка ингибирования полимеризации тубулина, CUPRAC-тест для определения антиоксидантной/прооксидантной активности и метод дифференциального

спектрофотометрического титрования. Для подтверждения селективности действия комплексов олова(IV) использована оригинальная модель сокультивирования раковых и условно нормальных клеток, меченных флуоресцентными белками GFP и Katushka. Наглядный материал, представленный в обсуждении результатов, служит убедительным доказательством достоверности результатов, полученных в рамках квалификационной работы.

Выводы логично вытекают из результатов экспериментов и полностью соответствуют поставленным задачам. Для оценки вклада каждого молекулярного блока в общую активность комплекса всегда приводятся данные для исходных лигандов, оловоорганических соединений и препарата сравнения, что является преимуществом данной работы. С учетом того, что ряд соединений был синтезирован ранее, **обоснованность выводов** диссертации базируется как на оригинальной синтетической составляющей, так и на новых биологических данных, полученных соискателем. Научные положения и рекомендации, сформулированные в диссертации, обладают **высокой степенью обоснованности и достоверности**. Это достигается благодаря применению современных и взаимодополняющих методов исследования, хорошо продуманному плану экспериментов и четкой интерпретации полученных данных, значительная часть которых получена лично автором.

При прочтении диссертационной работы и автореферата возникли следующие **замечания и комментарии**:

- 1) На рисунке 4 приведены спектры ЯМР ^1H и ^{13}C для ранее опубликованного и полностью охарактеризованного комплекса **6**. Чем обусловлена целесообразность повторного представления этих данных?
- 2) Чем обоснован выбор концентрации $100\mu\text{M}$ при проведении эксперимента по сокультивированию клеток A 549/ VA13 в присутствии соединений **1-4**?
- 3) На рисунке 11 представлены данные по оценке апоптотического профиля клеток A549 после 24-часовой инкубации с соединениями **4** и **5**, но не

приведены данные для цисплатина. Подобное упущение не дает объективной картины происходящего. Аналогичное замечание и по рисунку 13. Кроме того, чем объясняется низкая доля клеток, находящихся на стадии позднего апоптоза, в обоих случаях и каковы данные для цисплатина в идентичных условиях?

4) Исходя из литературных данных, комплекс **2** представляет собой координационный полимер (CCDC 996466). Его родственные производные с фенильными, бутильными группами при атоме олова и аналогичным лигандом имеют близкое строение. В экспериментальной части работы и обсуждении результатов данное соединение фигурирует как мооядерный комплекс. Чем продиктована такая трактовка структуры?

5) В экспериментальной части для комплекса **19** в ^{13}C ЯМР спектре фиксируется ограниченное число сигналов по сравнению с комплексом **21**. Этот факт связан с ограниченной растворимостью комплекса **19** в CDCl_3 ? Поскольку для биологических испытаний в качестве растворителя использовали ДМСО, какова вероятность сохранения структуры комплексов **21** и **22** в этом растворителе?

6) Чем обусловлен выбор концентрации $0,8 \mu\text{M}$ для комплексов **19-21** на линии клеток MCF-7 при исследовании апоптотического профиля, если их показатели IC_{50} варьируются от $0,002$ до $4,7 \mu\text{M}$?

7) Для более убедительной оценки эффективности комплекса **35** как ингибитора полимеризации тубулина целесообразно было бы привести сравнительные данные с известным стандартным ингибитором, например, колхицином.

Таким образом, сделанные замечания носят дискуссионный характер и не влияют на общую в положительную оценку работы Берсеновой Д.А.

Диссертация Берсеновой Дарьи Артемовны является законченной научно-квалификационной работой. Задачи, связанные с проблемой поиска новых оловоорганических комплексов, обладающих антипролиферативным эффектом *in vitro*, изучением механизма их действия и определением

взаимосвязи «структура-активность» в ряду полученных соединений, которые были решены в ходе проводимого исследования, несомненно, имеют важное значение для развития медицинской химии.

Материал диссертации достаточно полно отражен в автореферате и опубликованных статьях. По теме диссертации опубликовано 5 работ в рецензируемых журналах, включая рейтинговые отечественные и зарубежные издания (Journal of Organometallic Chemistry, Pure and Applied Chemistry, Mendeleev Communications, Russian Journal of Coordination Chemistry). Работа хорошо апробирована. Ее результаты представлялись на российских и международных конференциях. Автореферат диссертации соответствует ее содержанию.

Результаты исследований Берсеновой Д.А. могут быть рекомендованы к изучению и практической реализации в научных коллективах, занимающихся исследованиями в области металлоорганической и медицинской химии: Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН (Москва), Институт металлоорганической химии им. Г. А. Разуваева РАН (Н. Новгород), Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского (Н. Новгород), Новосибирский государственный университет (Новосибирск), Российский университет дружбы народов (Москва), Институте органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН (Казань), Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН (Москва) и других.

Диссертация «Комплексы оловоорганических соединений с фрагментами стероидов как антипролиферативные агенты» Берсеновой Дарьи Артемовны 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 Берсенева Дарья Артемовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.16. Медицинская химия.

Официальный оппонент:

доктор химических наук,

ведущий научный сотрудник Научно-технологического центра по изучению благородных металлов и созданию материалов на их основе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук (ИОНХ РАН)

Смолянинов Иван Владимирович

17.03.2026

Контактные данные:

Рабочий тел.: +7 (495) 775-65-85 (доб.4-27); рабочий e-mail: [@gmail.com](mailto:>@gmail.com)

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

Адрес места работы: 119991, г. Москва, Ленинский проспект, д. 31;

ИОНХ РАН, Научно-технологический центр по изучению благородных металлов и созданию материалов на их основе. Тел. +7 (495) 775-65-85 (доб.4-27); рабочий e-mail: [@gmail.com](mailto:>@gmail.com)

Подпись