

**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».

**Актуальность работы.** Диссертационная работа Иванова В.Н. посвящена поиску принципиально новых, селективных ингибиторов матриксных металлопротеиназ (ММП) на основе производных 5-арилизатинов как потенциальных противораковых препаратов. В рамках данной диссертационной работы соискателем проводился виртуальный поиск перспективных структур, разработка оригинальных методов и подходов к синтезу данного класса соединений и их первичный скрининг как ингибиторов ряда изоформ ММП, что полностью соответствует специальности «медицинская химия».

Особое внимание в работе уделено поиску селективных ингибиторов желатиназ (ММП -2 и ММП-9), а также коллагеназ (ММП -8 и 13).

ММП-2 и 9 — одни из самых сложных ММП, принадлежащих к семейству желатиназ. Они вызывают деградацию желатина и коллагенов типов IV, V, XI и XVI во время ремоделирования тканей, что необходимо для инвазии и метастазирования опухоли. Металлопротеиназы высоко экспрессируются при различных типах раковых заболеваний человека и связаны с каждой стадией развития рака. Идентифицирована роль ММП-2, 9 в ангиогенезе, метастазировании и инвазии рака, выживании и распространении раковых клеток. Кроме того, экспрессия металлопротеиназ имеет прямую корреляцию с плохим прогнозом при опухолях, в частности, при раке молочной железы.

ММП, в том числе и ММП-9 и ММП-13, в значительной степени

способствуют прогрессированию цереброваскулярных заболеваний и нейродегенерации, клинически они способствуют повреждению головного мозга за счет изменений функций ГЭБ у пациентов, перенесших инсульт. ММП-9 обнаруживается в гиппокампе, мозжечке и коре головного мозга и играет важную роль в патофизиологическом механизме различных неврологических и нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона.

К настоящему моменту не известно ни одного селективного ингибитора ММП, одобренного в качестве лекарственного препарата. Основная причина данной проблемы заключается в том, что достаточно трудно добиться высокого уровня селективности по отношению к заданной мишени, что способно приводить к критическим побочным эффектам. Хелаторы цинка были первыми низкомолекулярными ингибиторами, разработанными против ММП. Эти ингибиторы связываются с каталитическим цинком в активном центре ММП, который высоко консервативен среди всех членов семейства ММП, а также других подобных ферментов. Из-за своей низкой специфичности связывания они проявляли высокую токсичность и не использовались в качестве терапевтических средств.

Поэтому создание ингибиторов отдельных форм ММП, для которых не хелатирование цинка, а связывание со специфическими участками нужной формы ММП является основным механизмом действия остается проблемой. Решению этой проблемы в значительной степени посвящена и данная работа.

В качестве базовой структуры для модификации выбрана молекула изатина, которая является одной из “привилегированных структур” в медицинской и органической химии, по причине её сравнительно лёгкой модификации для введения различных фармакофорных групп, с широким и разнообразным спектром биологической активности, а также хорошо изученными методами синтеза данного класса соединений. В частности, изатины хорошо поддаются реакциям нуклеофильного замещения по атому

азота, реакциям конденсации и нуклеофильного присоединения по 3-ему положению молекулы, а также различным реакциям циклоприсоединения.

Таким образом, производные изатина, являются очень удачным решением проблемы, связанной с гиперфункцией ферментов семейства ММП, благодаря их сравнительно лёгкой модификации, а также наличию функциональных групп, способных взаимодействовать с поверхностью белка и приводить к повышенной селективности, в отношении необходимых ферментов.

В связи с вышеизложенным, **актуальность** диссертационного исследования не вызывает сомнений.

**Общая структура работы.** Диссертационная работа Иванова В.Н. изложена на 214 страницах машинописного текста, содержит 95 схем, 30 рисунков и 16 таблиц. Библиография насчитывает 211 наименований цитируемой литературы.

Диссертационная работа состоит из шести разделов: введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, заключения и списка цитируемой литературы.

Во **введении** автор обосновывает актуальность темы исследования, обозначает цель и задачи диссертационной работы, формулирует научную новизну и практическую значимость работы.

В **литературном обзоре** обобщены и систематизированы данные по различным ферментам семейств ММП, а также способам синтеза молекул изатина и его производных.

Литературный обзор построен традиционным образом и разделён на две части.

Первая часть литературного обзора посвящена различным ферментам семейства ММП, их структурам, роли в организме, а также последствиями

регулируемой и патологической экспрессии данных ферментов и регуляции их активности нативными тканевыми белками - ингибиторами ММП.

Вторая часть литературного обзора посвящена как классическим, проверенным временем, методам синтеза производных изатинов, так и принципиально новым методам синтеза, которые представляют собой реакции окисления, металлокатализ, направленную С-Н функционализацию и др.

**Обсуждение результатов** построено очень логично и в полном соответствии с основными принципами медицинской химии. Прежде всего проведён молекулярный докинг для моделей ММП, создана фармакофорная модель потенциальных ингибиторов ММП-2 и ММП-13. Далее, после каждого этапа синтетической работы, следует определение биологической активности синтезированных соединений, выбираются соединения для дальнейшей оптимизации, в том числе и учитывая выбранное направление поиска нехелатирующих ингибиторов. Достаточно подробно проанализирована связь биологической активности со структурными характеристиками новых соединений, что позволяет соискателю сделать определённые выводы, существенные для осуществления дальнейшего синтеза соединений, с увеличением активности и/или селективности синтезированных молекул.

Важно отметить, что автору удалось создать достаточно селективные ингибиторы именно ММП-13 или ММП-2 в сравнении с остальными ферментами семейства ММП. Проведены также исследования потенциальной противораковой активности ряда соединений. Однако эти исследования требуют продолжения для обоснованного анализа обусловленности цитотоксичности по отношению к раковым клеткам ингибированием активности ММП.

Обсуждение результатов проведено на высоком научном уровне с привлечением данных современных методов физико-химического анализа и методологиях биологического тестирования синтезированных соединений.

Хотелось бы также отметить, что, упоминая и о роли ММП в развитии целого ряда патологий, в данном исследовании автор сосредоточился на противораковой активности найденных ингибиторов ММП. Но именно для селективных ингибиторов форм ММП 2, 9 и 13 может быть крайне интересным исследование их потенциальной нейропротекторной активности.

**В экспериментальной части** диссертации приведены все использованные автором, в том числе и совместно с коллегами, методики виртуального скрининга, *in vitro* скрининга по оценке ингибирующей активности новых соединений по отношению к ряду форм ММП, определения цитотоксичности соединений. Но особенно детально описаны методики синтеза различных производных 5-ариизатинов. Приводится вся необходимая информация о химических и физико-химических методах исследования.

**Научная новизна** работы Иванова В.Н. следует из анализа данных биологической активности синтезированных им новых производных 5-арилизатинов, заключается в выявлении новых структурных факторов, определяющих эффективность и селективность влияния на металлопротеиназы и в этом отношении не вызывает сомнений.

Показана роль различных заместителей ароматического кольца, находящегося в 5-ом положении молекулы изатина, приводящих либо к увеличению активности, либо к существенному увеличению селективности к ММП-13 в сравнении с другими ферментами семейства ММП.

Установлено, что замена карбонильной группы в 3-ьем положении молекулы изатина, также приводит к повышению активности и селективности к ММП-13 в сравнении с другими ферментами семейства ММП.

Установлено, что введение бензо[d][1,3]диоксольного заместителя в 5-ое положение молекулы изатина, а также введение бензокарбометоксильного заместителя в первое положение молекулы изатина приводит к повышению цитотоксичности в отношении клеток НСТ116.

Но особенно следует отметить, что автору удалось создать селективные ингибиторы ММП-2 и 13, что открывает путь к созданию не только

противораковых потенциальных лекарственных препаратов, но и с другой терапевтической направленностью, включая, в частности, нейропротекторные препараты.

Таким образом, **практическая значимость** проведенного исследования заключается в возможности практического использования производных 5-ариллизатина как универсальной платформы для создания селективных ингибиторов ММП. Найдены соединения-лидеры, перспективные как в отношении оптимизации и получения новых эффективных ингибиторов, так и в разработке потенциальных лекарственных препаратов.

**Достоверность и новизна** выдвинутых научных положений логично проистекает из полученных результатов и определяется набором независимых биологических и физико-химических методов исследования, которые были использованы при выполнении работы.

По материалам диссертационной работы опубликовано 3 статьи в международных рецензируемых научных изданиях, индексируемых международными базами данных Web of Science и Scopus (в том числе в журналах первого квартиля).

Автореферат и публикации автора полностью отражают основное содержание диссертации.

**Замечания.** Работа выполнена на высоком экспериментальном и теоретическом уровне, однако на некоторые критические замечания следует обратить внимание:

- наличие опечаток и излишне краткие подписи рисунков и таблиц, что затрудняет оценку результатов;
- недостаточно описаны и проанализированы вопросы биологической активности спиросочленённых производных 5-ариллизатина;
- в целом, учитывая имеющиеся в работе данные по цитотоксичности к раковым клеткам, было бы интересно получить для всех соединений, включая соединение-лидер **133**, данные по цитотоксичности не только для клеток

НСТ116, но и для других раковых и в качестве контроля для нормальных (условно) клеток, а также оценить возможность корреляции ингибирования определённого типа ММП и цитотоксичности;

- для подтверждения стереохимии синтезированных спиросочленённых производных 5-арилзатина не хватает данных рентгеноструктурного анализа;

- учитывая достаточно подробно описанные результаты анализа зависимости активности и селективности от структуры было бы полезно привести в заключении рисунок, обобщающий эти результаты.

Отмеченные замечания не снижают ни в малейшей степени научной значимости и не влияют на достоверность, а также на основные выводы, сделанные в работе.

**Заключение по диссертационной работе.** Указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует 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, 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 **Иванов Владимир Николаевич** заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.16 – «Медицинская химия».

**Официальный оппонент:**

доктор химических наук, главный научный сотрудник,

и.о.заведующей лабораторией биомолекулярного скрининга

Института физиологически активных веществ Федерального государственного

