

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Филатова Вадима Евгеньевича «*Спиро- и диспиро-индолинон- β -лактамы: синтез и исследование биологической активности*», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 - Органическая химия

Диссертационная работа Филатова В. Е. посвящена дизайну и разработке эффективных методов синтеза ингибиторов белка MDM2 на основе структуры спирооксиндоло- β -лактамов, изучению зависимости цитотоксической активности от структуры полученных спиросоединений.

Смертность от онкологических заболеваний занимает второе место в мире после сердечно-сосудистых заболеваний по оценке ВОЗ. В виду того, что стандартный и наиболее распространенный метод терапии опухолевых заболеваний – химиотерапия, которая приводит к ряду серьезных побочных эффектов из-за малой селективности, исследования, связанные с поиском молекулярных мишеней, отвечающих за рост и развитие опухолей, и разработка терапевтических агентов, воздействующих на эти мишени, являются важными задачами. Одним из подходов позволяющих эффективно бороться со злокачественными образованиями с минимальным токсическим воздействием на здоровые клетки является ингибирование клеточного белка MDM2, в результате чего происходит высвобождение белка p53, который способствует подавлению развития опухолевых клеток. Таким образом актуальность диссертационной работы соискателя, а именно разработка новых эффективных ингибиторов онкобелка MDM2, не вызывает сомнений.

Степень обоснованности, достоверности и новизны научных положений, выводов, рекомендаций и заключений. Так как одним из эффективных ингибиторов MDM2 являются соединения класса спироиндолин-2-онов, то выбор спиро-оксиндоло- β -лактамов и диспиро-оксиндоло- β -

лактамов, обладающих значительным потенциалом в качестве противоопухолевых агентов, полностью обоснован.

Научная новизна представленного исследования связана с созданием методологии синтеза новых классов моно-спирооксиндоло- β -лактамов и диспирооксиндоло- β -лактамов на основе индолин-2-онов, осуществлен дизайн и исследована цитотоксическая активность полученных соединений.

Достоверность полученных результатов подтверждается применением комплекса современных физико-химических методов исследования, получением воспроизводимых экспериментальных данных, не противоречащих современным научным представлениям и закономерностям.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сделанных в работе, подтверждается публикациями соискателя в рецензируемых научных журналах и докладами на международных и всероссийских научных конференциях. Основные положения и выводы, представленные в диссертационной работе, не вызывают сомнений.

Значимость результатов диссертационной работы для науки и практики. Научная значимость работы Филатова В. Е. заключается в разработке оригинальных подходов к синтезу бис-арил-спиро[азетидин-2,3'-индолин]-2',4'-диононов и диспиро[индолин-3,2'-азетидин-3',3"-пирролидин]-2,2",4'-триононов, являющихся перспективными ингибиторами MDM2. Автором изучена зависимость диастереоселективности реакции кетен-иминового циклоприсоединения по Штаудингеру между арилкетенами и изатиниминами, показана цитотоксическая активность полученных спиро- и диспиросоединений *in vitro* и установлена ее зависимость от структуры.

Общая характеристика диссертационной работы. Диссертационная работа Филатова В. Е. оформлена в соответствии со стандартными требованиями к кандидатским диссертациям. Она построена традиционным образом и состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка литературы, включающего 213 источ-

ников. Материал диссертационной работы изложен на 173 страницах, содержит 77 схем, 28 рисунков и 23 таблицы.

Во введении обоснованы актуальность и степень разработанности темы, сформулированы цель и задачи работы, показана научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы.

Собственным результатам автора предшествует обстоятельный литературный обзор, состоящий из четырех разделов. В первом разделе представлены современные тенденции и направления таргетной терапии онкологических заболеваний, подробно рассмотрены биохимические процессы, структуры белковых комплексов и известные синтетические ингибиторы MDM2, относящиеся к различным классам гетероциклических соединений. Следующие разделы посвящены синтетическим методам синтеза индолин-2-онов, спироочлененных с различными карбо- и гетероциклами, рассмотрена стереохимия кетен-иминового циклоприсоединения по Штаудингеру и представлены подходы к получению синтетических предшественников спирооксиндоло- β -лактамов. В целом, в литературном обзоре четко прослеживается логика дальнейшего выбора автором объектов исследования, оптимальных методов синтеза как исходных, так и целевых соединений.

Результаты диссертационной работы также представлены в четырех разделах. В первом разделе для определения оптимальной основной структуры ингибитора MDM2 на основе спирооксиндоло- β -лактамов автором было проведено компьютерное моделирование серии бис-арилспиро[азетидин-2,3'-индолин]-2',4-дионов и моно-арилспиро[азетидин-2,3'-индолин]-2',4-дионов, состоящих из всех возможных стереоизомеров, осуществлен молекулярный докинг в сайт белка MDM2 и определены энергии сродства каждого стереоизомера к мишени. Во втором разделе представлен синтез *N*-арил-3-иминоиндолин-2-онов, представляющих собой смеси *E*- и *Z*-изомеров, для получения которых была использована как классическая конденсация изатина с замещенными анилинами, так и оригинальная разработанная автором

методика, основанная на применении аза-реакции Виттига, что позволило получить субстраты с более широким спектром заместителей. В этом же разделе представлен синтез фенилуксусных кислот с различными заместителями в бензольном фрагменте, основанный на окислительной перегруппировке ацетофенонов. В следующем разделе автором приведены методы синтеза целевых спирооксиндоло- β -лактамов реакциями кетен-иминового циклоприсоединения по Штаудингеру, показана возможность регулирования диастереоселективности данной реакции путем варьирования температурного режима и полярности растворителя. Представлены результаты цитотоксической активности полученных соединений на клеточных линиях рака предстательной железы и колоректального рака. Установив, что цис-диастереомеры проявляют более высокую цитотоксическую активность по сравнению с транс-диастереомерами, что подтверждает результаты компьютерного моделирования, дополнительно было проведено тестирование цис-диастереомеров на клеточных линиях VA13 (нераковые эпителиальные фибробласты легких), HEK293t (производная линия эмбриональных клеток человека, экспрессирующая мутантную версию большого Т-антигена SV40), A549 (аденокарцинома легкого) и MCF7 (аденокарцинома молочной железы). Предварительный анализ показал высокие показатели цитотоксичности отдельных представителей данного класса соединений, сопоставимые с известным ингибитором MDM2 – соединением Nutlin-3a. В последнем четвертом разделе описано получение нового класса соединений – диспирооксиндоло- β -лактамов в результате реакции циклоприсоединения по Штаудингеру, где в качестве источника дополнительного спиросочлененного цикла были использованы 2-оксопирролидин-3-карбоновые кислоты. Показано, что реакция кетен-иминового циклоприсоединения в данном случае протекает диастереоселективно с образованием транс-диастереомерных диспирооксиндоло- β -лактамов. Был проведен *in vitro* анализ цитотоксической активности диспироиндолин-2-онов на клеточных линиях MCF7 (аденокарцинома молочной железы),

A549 (рак легкого), HEK293t (производная линия эмбриональных клеток человека, экспрессирующая мутантную версию большого Т-антигена SV40) и VA13 (нераковые эпителиальные фибробласты легких). При сравнении полученных данных по цитотоксичности с моно-спиро[азетидин-2,3'-индолин]-2',4-дионами можно сделать вывод, что введение дополнительного спиро-сочлененного пирролидинового цикла в молекулы оксиндоло- β -лактамов позволяет увеличить их цитотоксичность.

Следует отметить, что наличие β -лактамного кольца в целевых соединениях вполне обосновано сподвигло автора проверить спиро- и диспирооксиндоло- β -лактамы на антибактериальную активность. Оказалось, что спирооксиндоло- β -лактамы практически не обладают данным видом активности в отличие от диспирооксиндоло- β -лактамов. Соединение 115 из данной серии, проявившее достаточно высокую антипролиферативную активность, также показало наибольшую активность в отношении штамма кишечной палочки LPTD в минимальной концентрации, при которой не проявляются цитотоксические свойства.

В экспериментальной части описаны методы, использованные для достижения поставленной цели. Приведены физико-химические и спектральные данные для полученных соединений. Для подтверждения строения некоторых продуктов были выполнены двухмерные корреляционные эксперименты ЯМР (gCOSY, ROESYAD, gHSQCAD и gHMBCAD), для целого ряда соединений осуществлен рентгеноструктурный анализ.

В целом, работа представляет собой завершенное оригинальное научное исследование, тематика и полученные результаты которого соответствуют заявленной специальности 1.4.3 - Органическая химия. По материалам диссертационного исследования опубликовано 11 печатных работ: 4 статьи в рецензируемых научных журналах, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus) и 7 тезисов докладов на международных и

российских конференциях. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Замечания и вопросы по диссертационной работе не носят принципиального характера, а относятся, скорее, к редакторской правке:

1. Из литературных данных следует, что для противоопухолевых агентов, механизм действия которых основан на реактивации белка p53 важно проявлять способность к ингибированию не только белка MDM2, но и белка MDM4. Однако автором был проведен молекулярный докинг в сайт связывания MDM2 стереоизомеров спиро- и диспиро[азетидин-2,3'-индолин]-2',4-дионов (порядка 36 структур), но нет ни одного примера молекулярного докинга в сайт связывания MDM4.
2. В методике синтеза алкоксифенилазидов (стр.115) отсутствует описание выделения продуктов.
3. Ни для одного нового кристаллического соединения, приведенного в экспериментальной части, не указана температура плавления.
4. В экспериментальной части указано, что масс-спектры высокого разрешения с ионизацией электрораспылением получались в режиме регистрации положительных ионов, однако для ряда соединений в экспериментальной части указан отрицательно заряженный молекулярный ион [M]. Более того, не вполне понятен генезис этих ионов: речь идет об электронном захвате?
5. В диссертации наличествуют различные технические огрехи. Например, в литературном обзоре отсутствуют номера соединений на схемах, что затрудняет ознакомление с работой. Так же есть некоторое количество опечаток: например, на стр. 28 (схема 13) “пипередин”; стр. 60 “изатинамив рамках”; на стр. 70 “назкий выход”; стр. 72 “рамена растворителя”, “приводикf” и др. На стр. 69 в таблице 12 приведены условия оптимизации на примере получения соединения 55, однако в тексте фигурирует соединение 54.

Высказанные замечания не затрагивают сути проведенного исследования и не противоречат сделанным в работе выводам и выносимым на защиту положениям.

Таким образом, можно заключить, что по объему теоретических и экспериментальных исследований, их актуальности, научной новизне и практической значимости диссертация Филатова В. Е. полностью соответствует требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М. В. Ломоносова к работе подобного рода. Кроме того, работа соответствует критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственным университетом имени М.В. Ломоносова, оформлена согласно положениям №5,6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, а её автор, Филатов Вадим Евгеньевич, заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 - Органическая химия.

Доцент кафедры органической
химии факультета ФМ и ЕН РУДН,

к.х.н.



Куликова Лариса Николаевна

Дата __ октября 2022 г.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Российский университет дружбы народов» (РУДН)

117198 Москва, улица Миклухо-Маклая, д. 6

тел. (495)955-0865

e-mail: kulikova-ln@rudn.ru

Подпись Куликовой Л.Н. удостоверяю:

Ученый секретарь Ученого совета РУДН,

д.ф.-м.н., проф.

Савчин Владимир Михайлович