

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук Кузьминой Натальи Сергеевны на тему: «Конъюгаты порфириновых и бор-дипиррометеновых фотосенсибилизаторов с цитостатиками: Синтез и фотофизические свойства» по специальностям 1.4.3. Органическая химия.

Фотодинамическая терапия (ФДТ) представляет собой метод лечения, основанный на комбинированном применении фотосенсибилизаторов и лазерного излучения с определенной длиной волны. По данным многочисленных клинических исследований, проведенных в ведущих научно-практических центрах стран Европы, Азии и США, данный метод лечения продемонстрировал хорошую переносимость и высокую противоопухолевую эффективность в лечении ряда предопухолевых заболеваний и злокачественных новообразований. Имея весомые преимущества, такие как незначительная токсичность для окружающих нормальных тканей, минимальный риск возникновения выраженного болевого синдрома, отсутствие механизмов первичной и приобретенной резистентности, возможность амбулаторного проведения и комбинации с другими методами лечебного воздействия, отсутствие лимитирующих кумулятивных доз ФС и лазерного излучения, удобство применения при множественном характере поражения, хорошие косметические результаты и возможность реализации органосохраняющих методов лечения, ФДТ является актуальным и перспективным направлением дальнейших научных исследований.

Диссертационная работа Кузьминой Натальи Сергеевны посвящена созданию конъюгированных соединений на основе фотосенсибилизаторов и различных цитотоксических агентов. Фотосенсибилизатор и химиотерапевтический агент в таких конъюгатах ингибируют клеточную пролиферацию по различным механизмам, обеспечивая высокую

эффективность препарата. Поставленная в диссертационной работе задача является **актуальной фундаментальной задачей**, решение которой имеет **большое значение для практических целей**, ведущее к разработке инновационных противоопухолевых препаратов.

Диссертационная работа Кузьминой Натальи Сергеевны содержит все необходимые разделы: введение, обзор литературы, обсуждение результатов, экспериментальную часть, выводы, список литературы. Обзор литературы включает 247 ссылок современной литературы и посвящён описанию конъюгатов фотосенсибилизаторов и химиотерапевтических агентов, активируемых с помощью активных форм кислорода, рассмотрению препаратов для реализации фотоактивируемой химиотерапии и фотодинамической терапии. В выводах по литературному обзору отмечается, что концепция конъюгированных агентов, состоящих из фотосенсибилизатора и химиотерапевтического фрагмента, высвобождаемого при помощи облучения, является современным и активно разрабатываемым направлением в области ФДТ. Достоинством данного обзора является интересный подбор материала, обоснованное обобщение и систематизация данных, а также хорошее оформление материала.

Результаты, представленные в диссертационной работе, получены по двум основным направлениям: 1) синтез фоторасщепляемых конъюгатов на основе синтетического порфирина и комбретастина А-4, соединённых фоторасщепляемым о-нитробензильным линкером; 2) синтез фоторасщепляемых конъюгатов на основе мезо-метил-BODIPY и цитостатика Вос-seco-CBI, активируемых зеленым светом. В качестве химиотерапевтических агентов были выбраны: антимитотик цис-комбретастин А-4, алкилирующее ДНК производное дуокармина (Вос-seco-CBI) и ингибитор тирозинкиназ кабозантиниб. В качестве фотосенсибилизаторов использовали синтетический порфирин АЗВ типа и BODIPY с «обычной» и «расширенной» π -системой.

Целью синтетической части диссертационной работы по первому направлению явилось получение конъюгатов тетра-мезо-(4-гидроксифенил)порфирина, связанного через о-нитробензильный линкер с комбретастатином *транс*-СА-4 (СА-4) с суммарным выходом 2% в расчете на 10 стадий. Можно отметить две особенности предложенной системы – ряд важных функциональных фрагментов молекулы связаны в одну сопряженную систему, а также - для такой системы можно предполагать возможность использования фотоактивации не только для изомеризации *транс*-СА-4 2 в терапевтическую *цис*-форму 3, но и для активации ФДТ (порфириновое ядро) одним источником света. Показано, что конъюгаты тетра-мезо-(4-гидроксифенил)порфирина не высвобождают *транс*-комбретастатин СА-4 при фотолизе с использованием источников света с длинами волн $\lambda=254, 311, 365$ и 450 нм.

По второму направлению конъюгатов на основе фотосенсибилизатора BODIPY (4,4-дифтор-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена) и пропролекарственной формы терапевтического алкилирующего агента дуокармицина (Вос-*seco*-CBI) или ингибитора киназ кабозантинибом, посредством карбонатного линкера. Суммарные выходы конъюгатов мезо-метил-BODIPY и Вос-*seco*-CBI в расчете на BODIPY составили 5 - 9% (5-6 стадий), а конъюгат мезо-метил-BODIPY и производного кабозантиниба получен с суммарным выходом 4% (6 стадий). Разработка конъюгатов этого типа включала многостадийный синтез аналога дуокармицина, были опробованы различные варианты синтеза мезо-арил-BODIPY, введения карбонатной связи и фрагмент Вос-*seco*-CBI. В диссертационной работе предприняты попытки введения стриловых фрагментов с различными по природе заместителями с целью варьирования таких характеристик как липофильность, растворимость в водных растворах, однако, они оказались безуспешными. При облучении конъюгатов зеленым светом происходит разрушение карбонатной связи с высвобождением пролекарства Вос-*seco*-CBI, который в физиологических условиях

подвергается самопроизвольной циклизации Винштейна с образованием активного алкилирующего агента. Таким образом, активация зеленым светом запускает механизм цитоксического действия синтезированных конъюгатов.

В результате была получена большая серия известных и новых прекурсоров, а также конечных продуктов – конъюгаты на основе синтетического металлопорфирина и транс-комбретастатина А-4, соединенные между собой фоторасщепляемым о-нитробензильным линкером, а также конъюгаты фотосенсибилизаторов мезо-метил-BODIPY, связанных с цитостатиком Вос-сесо-CBI или ингибитором киназ кабозантинибом, посредством карбонатного линкера. Структурные исследования синтезированных соединений проводились с использованием методов ^1H , ^{13}C ЯМР- спектроскопии, MS (MALDI-TOF), доказательство структуры новых полученных соединений выглядит надежным и убедительным.

Большой и обстоятельной по объему является часть диссертации, посвященная оптическим, фотофизическим и фотохимическим исследованиям синтезированных конъюгатов соединений. Были зарегистрированы спектры поглощения и люминесценции новых конъюгатов порфиринов и мезо-метил-BODIPY, рассчитаны коэффициенты поглощения, измерены квантовые выходы фотолюминесценции, измерены квантовые выходы генерации синглетного кислорода. По направлению фотохимических исследований был проведен анализ фотолиза самого комбретастатина А-4, отмечена быстрая изомеризация *транс*-формы в *цис*-форму с последующей фотоциклизацией до производного фенантрена. Отдельным достаточно большим исследованием был анализ фотоиндуцированного расщепления конъюгатов с выделением цитотоксичных фрагментов молекул. Экспериментальные работы по этому направлению проводились с использованием методов УФ-спектроскопии и ВЭЖХ для регистрации распада соединений и накопления продуктов распада. Также были оценены квантовые выходы распада конъюгатов мезо-метил-BODIPY, связанных с цитостатиком Вос-сесо-CBI или ингибитором киназ

кабозантинибом. Поскольку соединения будут использоваться в экспериментах по облучению светом, были измерены и проанализированы квантовые выходы фотовыцветания, которые показали, что не все синтезированные производные стабильны в условиях фотооблучения.

В качестве достоинства данной работы следует отметить использование квантово-химических расчетов геометрии и молекулярных орбиталей конъюгатов модельных соединений методом TDDFT для изучения влияния типа связывания между порфирином и о-нитробензильным линкером на процесс фотораспада. Так, вполне логично выглядит полученное в результате проведения расчетов объяснение, что отсутствие процесса расщепления конъюгата и высвобождение о-нитробензильного линкера зависит от того, как фрагменты конъюгата соединены между собой – через сопряжение или не сопрягающимися линкерами.

Следует отметить, что при выполнении диссертационной работы на всех этапах исследовательской работы были, в основном, решены поставленные задачи, а также получены **новые оригинальные результаты**.

Таким образом, Кузьминой Натальи Сергеевны выполнено очень большое по объему, интересное и обстоятельное исследование. Впервые были получены новые фоторасщепляемые конъюгированные соединения на основе порфириновых фотосенсибилизаторов и BODIPY, связанных с цитостатиками посредством фоточувствительной группы о-нитробензильного фрагмента или карбонатной связи. При выполнении диссертационного исследования были использованы современные методы тонкого органического синтеза, идентификация и подтверждение строения полученных соединений проводилось с применением комплекса физико-химических методов, для синтезированных соединений измерены оптические, фотохимические и фотофизические характеристики. Основные положения и выводы диссертации **обоснованы и не вызывают сомнений**.

По материалам диссертационной работы опубликовано 3 статьи в международных рецензируемых научных изданиях, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus, RSCI) рекомендованных ВАК для публикации результатов диссертационных работ по специальностям 1.4.3 – «органическая химия». Основные результаты работы представлены на 6 российских и международных научных конференциях.

Можно отметить, что при прочтении диссертации не обнаружено принципиальных замечаний, затрагивающих существо настоящей работы. Однако по работе можно сделать следующие замечания.

1. На стр. 76 как объяснение низких значений квантовых выходов флуоресценции конъюгата **117** написано, что «низкие значения могут быть вызваны процессами тушения флуоресценции, включая фотоиндуцированный перенос электрона с донорного порфиринового фрагмента на акцепторный нитробензильный фрагмент». Представляется маловероятным перенос электрона с металлокомплекса порфирина с цинком(II), это больше характерно для комплексов порфиринов с рутением(II). Фрагменты углеводов - β -D-галактоза и β -D-мальтоза не сопряжены с хромофором и также вряд ли могут участвовать в фотоиндуцированных процессах.

2. Важно понять, почему конъюгат **117** поглощая свет не демонстрирует участие в процессах флуоресценции, генерации синглетного кислорода, гидролизе с выделением нитробензильного производного. Вероятно, следовало бы изучить эффективность протекания в соединении внутримолекулярной конверсии в триплетное состояние. Может, это и есть основной процесс релаксации возбужденного состояния?

3. Фрагмент *транс*-комбретастатина поглощает видимый свет при 365нм и изомеризуется в *цис*-форму. Не означает ли это, что при дневном свете в конъюгате фрагмент комбретастатина всегда существует в виде фотостационарной смеси *транс*- и *цис*- изомеров?

4. Видимо, как и в случае конъюгатов **117**, для соединений **217** и **222** следовало бы проанализировать внутримолекулярный переход в триплетное состояние.

5. В диссертации предполагается, что конъюгат **222** подвергается фотодеградации и эта причина низкого выхода расщепления. Однако на графике на рис. 28 фотолиз в течении 80 минут не приводит к изменению концентрации **222**, т.е. конъюгат достаточно устойчив.

6. Для соединений 128, 170, 180, 181, 184, 195, 197, 206, 207, 208, 211, 213 приведены только ^1H ЯМР-спектры. Если это новые соединения, то такого доказательства получения нового соединения недостаточно.

7. Хотя бы для сложных конечных конъюгатов хорошо бы иметь масс-спектры высокого разрешения как надежное доказательство состава продукта.

Сделанные замечания не снижают общей высокой оценки работы и никак не касаются новизны и достоверности полученных результатов.

Автореферат диссертации и опубликованные работы отражают основное содержание работы. Публикации автора подтверждают его высокий профессиональный уровень.

Полученные результаты и разработанные на их основе методы, соединения и материалы могут быть использованы в ИОХ РАН, ИНЭОС РАН, ФИЦ ПХФ и МХ РАН, ИОНХ РАН, ФИЦ ХФ РАН, РХТУ им. Д. И. Менделеева, НИФХИ им. Л. Я. Карпова, ИНХС РАН, ИОФХ КазНЦ РАН а также других научных организациях и коллективах.

Диссертационная работа по новизне, практической значимости, достоверности результатов и обоснованности выводов удовлетворяет всем требованиям пунктов 9 - 14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 в действующей редакции), а её автор Кузьмина Наталья Сергеевна

заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 – Органическая химия.

Официальный оппонент:

Доктор химических наук,

Заместитель директора ИНЭОС РАН

Заведующий лабораторией фотоактивных супрамолекулярных систем

Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук»

Фёдорова Ольга Анатольевна



26.02.2025г.

Контактные данные:

тел.: 8-499-135-80-98, e-mail: fedorova@ineos.ac.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

02.00.03 – Органическая химия (хим. науки)

Адрес места работы:

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

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук»

Тел.: 8-499-135-80-98; e-mail: fedorova@ineos.ac.ru

Подпись д.х.н. Федоровой О.А. заверяю,

Ученый секретарь ИНЭОС РАН

К.х.н. Гулакова Е.Н.



26.02.2025г.