

ОТЗЫВ
официального оппонента
о диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук Сачковой Анастасии Александровны на
тему «Дизайн и синтез потенциальных противоопухолевых конъюгатов
PROTAC для протеасомального расщепления киназ c-Met и ALK5» по
специальности 1.4.3. Органическая химия

Диссертационное исследование Сачковой Анастасии Александровны посвящено дизайну и получению гетеробифункциональных молекул, относящихся к классам PROTAC и SNIPER, и изучению биологической активности этих конъюгатов, а также их активных компонентов. В качестве мишеней автором выбраны онкогенные белки c-Met (рецептор фактора роста гепатоцитов) и ALK5 (активин-подобная рецепторная киназа 5). Возникшее относительно недавно направление направленной деградации белков, основанное на использовании естественных клеточных механизмов устранения белков «неправильной» структуры, имеет ряд значительных преимуществ перед классическим ингибированием мишени при действии низкомолекулярных агентов. Эта область медицинской химии претерпевает в настоящее время бурное развитие, занимая умы исследователей всего мира как в академической среде, так и в сфере фарминдустрии. Результаты этих исследований находят отражение в многочисленных статьях и патентах и привели к разработке десятков перспективных молекул, находящихся на различных стадиях клинических испытаний. В связи с этим, актуальность и практическая значимость данной диссертационной работы не вызывают сомнений и обусловлены перспективами потенциального использования полученных результатов для разработки новых высокоэффективных противораковых препаратов.

Диссертация изложена на 225 страницах и состоит из введения, литературного обзора, обсуждения полученных результатов, экспериментальной части, выводов, а также внушительного списка литературы из 403 наименования. Представленный в работе литературный обзор включает рассмотрение различных подходов, основанных на использовании направленного протеасомального расщепления белков. Подробно рассмотрены принципы дизайна молекул PROTAC, представлены сведения о применяемых E3-лигазах и об использовании белков-ингибиторов апоптоза (IAP) при разработке белковых деградаторов класса SNIPER. Большое внимание уделяется анализу природы и выбору линкера. Рассмотрены некоторые новые типы молекул PROTAC, а также подходы к направленному расщеплению белков с участием лизосом. Обзор хорошо структурирован и демонстрирует значительный прогресс и высокий потенциал в области технологий направленной белковой деградации. Автором отмечаются как очевидные плюсы и преимущества рассмотренных подходов, так и некоторые их недостатки и ограничения. Одной из ключевых проблем выступает задача правильного подбора длины, природы и центра конъюгации линкера, соединяющего активные части молекулы для эффективного формирования тройного комплекса.

Выполненное диссертантом обширное исследование носит ярко выраженный междисциплинарный характер, свойственный работам в области медицинской химии. На основе анализа литературных данных автором сформулирована основная гипотеза,

выбраны белковые мишени, подобраны действующие на них компоненты и осуществлен дизайн целевых конъюгатов: молекул PROTAC с лигандами к субстрат-распознающим белкам E3-лигаз VHL и CRBN, и молекул SNIPER с новыми лигандами к белкам-ингибиторам апоптоза (IAP) на основе пептидомиметиков. В ходе работы подробно обсуждаются и анализируются результаты биологических тестирований, а также применяются методы молекулярного моделирования для оценки типа и эффективности связывания полученных и модельных соединений с белковой мишенью ALK5.

Исследование включает в себя значительный объем проделанной экспериментальной работы в области тонкого органического синтеза. Автором синтезировано и полностью охарактеризовано более сотни различных соединений, многие из которых отличаются значительной структурной сложностью. При дизайне молекул PROTAC предложен и синтезирован набор линкеров, различающихся и по природе (химической структуре и, соответственно, жесткости и липофильности) и по длине. Важно отметить проводимую автором в отдельных случаях тщательную оптимизацию условий проведения синтеза, позволяющую существенно повысить выход целевого продукта. Также из описания раздела «Обсуждение результатов» можно увидеть, как диссертант, сталкиваясь с неудачами на отдельных этапах синтеза, не опускает руки и преодолевает возникающие синтетические трудности. Это очень ценная черта исследователя, говорящая о его высокой мотивированности и трудоспособности.

Научная новизна работы заключается в разработке и получении новых химерных молекул PROTAC на основе кабозантиниба для направленного расщепления белка c-Met. Автором осуществлен синтез новых лигандов для белков IAP, на основе которых разработан подход к получению конъюгатов SNIPER, нацеленных на белок c-Met, и показано, что соединение-лидер вызывает расщепление целевого белка c-Met при концентрациях 1 мкМ. С применением молекулярного докинга осуществлен дизайн и синтез новых потенциальных ингибиторов белка ALK5 на основе 2-аминопиримидина. Проведено исследование биологической активности полученных соединений, включая антипролиферативный эффект, способность взаимодействовать с целевым белком и его фосфорилированной формой, а также влияние на клеточный цикл. Полученные результаты создают основу для разработки перспективных противоопухолевых препаратов, что дополнительно подтверждается данными по индукции апоптоза в раковых клетках.

Экспериментальная часть диссертации содержит подробное описание используемых автором методик проведения реакций, выделения и очистки полученных соединений. Их структуры надежно доказаны с использованием методов спектроскопии ЯМР, масс-спектрометрии и элементного анализа. Чистота образцов для биологических испытаний дополнительно подтверждалась методом аналитической ВЭЖХ. Необходимо отдельно отметить высокий уровень проведения эксперимента, тщательность при выделении и подробной характеристике всех полученных новых соединений, особенно с учетом сложности структуры молекул-конъюгатов. Автору зачастую приходилось работать с малыми количествами вещества, что требует большой аккуратности.

На основе изучения текста работы и публикаций автора можно уверенно заключить, что поставленные в работе цели достигнуты, а сформулированные выводы обоснованы и отражают новизну и практическую значимость полученных результатов. Достоверность полученных данных подтверждают публикации автора (2 статьи в журналах *Pharmaceutics*

(Q1) и *Russ. J. Org. Chem.* (Q4), а также 1 патент). Результаты работы были представлены для обсуждения на 6 международных и всероссийских конференциях, при чем трижды автор удостоивалась приза за лучший доклад.

В целом работа производит очень хорошее впечатление, написана хорошим языком, читается легко и содержит лишь незначительное количество опечаток и неточностей. В ходе ознакомления с текстом диссертации у меня возникли следующие вопросы:

- 1) С чем связан столь невысокий выход в столь, казалось бы, простой реакции при получении кабозантиниба (схема 19)?
- 2) В связи с возникшими трудностями при проведении ацетилирования *альфа*-нафтола (получение **155**) не рассматривалась ли возможность первоначального *O*-бензилирования с последующим ацилированием? Возможно ли применение при ацилировании хлорацетилхлорида или бромацетилбромида для избежания стадии галогенирования метилкетона?
- 3) При рассмотрении синтеза алкилирующих агентов **170-172** не обсуждается, для чего понадобилось получать сразу три реагента с различными уходящими группами. Возможно ли, по мнению автора, при получении конъюгатов SNIPERs (схема 28) применение реакции Мицунобу для проведения алкилирования фенольного гидроксила непосредственно спиртом **169**?
- 4) Если кетон **204** (с тиофеновым заместителем) был получен гидратацией интернального ацетилен, то насколько можно быть уверенным, что региоселективность реакции в этом случае такая же, как и в случае с субстратами, содержащими пиридиновый цикл?
- 5) Нисколько не умаляя большого объема экспериментальной работы, следует, однако, отметить, что длина линкеров в целевых молекулах PROTAC варьируется не всегда инкрементально. Чем определялся выбор конкретного набора линкеров при дизайне структур на основе леналидомида (6 соединений **121a-d**, **122a,b**) и лиганда VHL (4 соединения **123a-d**)?
- 6) Согласно результатам, представленным в таблице 7, молекулы PROTAC на основе лиганда к белку VHL оказались более активными. С чем это может быть связано?
- 7) Показано, что соединения **123a** и **123c** влияют на степень фосфорилирования белка *c*-Met. Способен ли сам препарат к подобному действию или это свойство именно полученных конъюгатов?
- 8) Следует отметить, что аминогруппа в 2-аминопиримидинах обладает достаточно низкой реакционной способностью (что демонстрируется и в самой работе) и не очень подходит в качестве центра конъюгирования. На мой взгляд, в развитие этой части работы имеет смысл заранее предусмотреть подходящий заместитель в исходном гуанидине.
- 9) В работе не проводится оценка физико-химических свойств конъюгатов (ни на стадии дизайна, ни для полученных соединений). Между тем, сочетание физико-химические параметров может оказывать значительное влияние на работу молекул в моделях. На мой взгляд, следовало бы оценить такие параметры как растворимость и стабильность по крайней мере для наиболее активных соединений.

Опечатки и неточности:

- 1) На стр. 14: (TDP – Targeted Protein Degradation).

- 2) На стр. 35: «...соединение DT2216 (**43**)», структура **43** на схемах отсутствует.
- 3) На схеме 4 некорректно используется «ретросинтетическая» стрелка.
- 4) В названии схемы 9 перепутан номер соединения «**49**».
- 5) На схеме 17 превращения, соответствующие условиям реакции, обозначенным буквами e) и f), отсутствуют.
- 6) На схеме 21 в конечной структуре при концевом атоме азота должен быть указан заместитель, подразумевающий защитную группу ($R' = \text{Woc}$ и после i $R' = \text{H}$).
- 7) На схеме 23 в структуре **155** присутствует лишний атом H; в комментариях в схеме вместо буквы i) должна быть g).
- 8) На стр. 91 пропущено обсуждение стадии получения соединения **157**, номер которого на схеме к таблице 9 указан неверно.
- 9) На схеме к таблице 10 номер субстрата (**101**) указан неверно.
- 10) На схеме 33 цвета структурных фрагментов в продукте перепутаны.
- 11) На стр. 120 под «таблицей 15», по всей видимости, имеется в виду таблица 19 в приложении.
- 12) В экспериментальной части при описании многих общих процедур синтеза не указан его масштаб, а только соотношение реагентов; в таких случаях следует указывать какой загрузке реагентов соответствует приведенный объем растворителя. В большинстве случаев не приводится масса полученного вещества, что также не позволяет оценить масштаб синтеза.
- 13) В данных элементного анализа продукта **112a**. по-видимому, опечатка.
- 14) На стр. 158 указано, что получена смесь диастереомеров, а описание спектров ЯМР приведено для смеси ротамеров 1:1 (то же на стр. 161 и 177). Неясно, а) каково соотношение диастереомеров, б) чему все-таки соответствует двойной набор сигналов, в) почему ротамеры фигурируют только для смесей диастереомеров.
- 15) Для соединения **158** в приведенном протонном спектре количество атомов водорода не соответствует структуре (должно быть 15, а указано 17; указаны два сигнала с мультиплетностью ддд и с интегралами 2H и 4H); при этом не хватает сигнала для одной из двух метиленовых групп; непонятно, чему соответствует сигнал при 31.03 м.д. в углеродном спектре.
- 16) В таблице 19, пункт 4 – недописанное значение "-8. ".

Указанные замечания несколько не умаляют высокого качества, достоверности и очевидной значимости представленной к защите работы, которая является цельным, хорошо продуманным и успешно выполненным научным исследованием по актуальной тематике. Полученные автором результаты по степени новизны и практической значимости вносят весомый вклад в развитие как фундаментальной, так и прикладной областей органической и медицинской химии.

Содержание диссертации соответствует специальности 1.4.3. - Органическая химия (химические науки), а именно направлениям: 1 – Выделение и очистка новых соединений, 3 – Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул, и 7 – Выявление закономерностей типа «структура – свойство».

Представленная работа соответствует требованиям пунктам 9-14 «Положения о порядке

присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 № 842 в текущей редакции, а ее автор – Сачкова Анастасия Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. – Органическая химия.

Официальный оппонент:

Доктор химических наук (02.00.03 – Органическая химия),
профессор кафедры медицинской химии, Институт химии
Санкт-Петербургского государственного университета, г. Санкт-Петербург

Дарьин Дмитрий Викторович



27.03.2026

Контактные данные:

тел.: 7(981)7871252, e-mail: d.dariin@spbu.ru

Адрес места работы:

198504, г. Санкт-Петербург, Университетский пр, д. 26,
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»,
Институт химии
Тел.: 8 (812) 363-67-22; e-mail: d.dariin@spbu.ru

Подпись сотрудника

Института химии СПбГУ Д.В. Дарьина удостоверяю:

И.о. начальника
отдела кадров № 3
И.И. Константинова

Конст
27.03.2026

