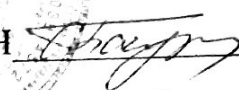


«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института физиологически активных веществ
Российской академии наук (ИФВ РАН)
чл.-корр. РАН  С.О. Бачурин
« 21 » мая 2016 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу **Красновской Ольги Олеговны**
«СИНТЕЗ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ Co(II), Cu(II), Cu(I) НА ОСНОВЕ
ИМИДАЗОЛИН-4-ОНОВ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ»,
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по
специальностям 02.00.03 – органическая химия, 02.00.16 – медицинская химия

Поиск и оптимизация структуры новых соединений с противоопухолевой активностью являются одной из важных задач современной синтетической органической и медицинской химии. Металлсодержащие, прежде всего платинасодержащие, противоопухолевые препараты известны в течение более чем 50 лет, однако их существенным недостатком является высокая общая токсичность. Предполагается, что координационные соединения на основе эндогенных металлов, таких как медь или кобальт, должны обладать меньшей токсичностью. Таким образом, поставленная в диссертационной работе Красновской Ольги Олеговны проблема синтеза координационных соединений меди и кобальта на основе функционализированных 2-тиоксотетрагидро-4*H*-имидазол-4-онов (2-тиогидантоинов), 2-алкилтиоимидазолин-4-онов (2-алкилтиогидантоинов) и 2-аминоимидазолин-4-онов, а также изучение их физико-химических свойств и биологической активности является достаточно актуальной и своевременной.

Цели и задачи работы О.О.Красновской четко сформулированы и показывают конкретные типы исследуемых органических лигандов и комплексов металлов. В диссертации были поставлены и успешно решены задачи разработки эффективных методов синтеза производных 2-тиоксо-тетрагидро-4*H*-имидазол-4-онов, 2-алкилтиоимидазолин-4-онов и 2-аминоимидазолин-4-онов и 2-аминоимидазолин-4-онов. На основе предложенного подхода получен широкий

набор органических лигандов, объединяющих в своем составе имидазолоновый и пиридиновый фрагменты. Синтезирована серия координационных соединений Cu(II), Cu(I), Co(II) с такими лигандами и изучена их биологическая активность *in vitro* и *in vivo*. Предложен механизм цитотоксического действия препаратов на основе медьсодержащих производных 2-тиогидантоинов.

Исходя из поставленной цели, в диссертационной работе логично сформулированы научная новизна и практическая значимость. Предложены новые и оптимизированы известные методы синтеза 2-тиокситетрагидро-4Н-имидазол-4-онов, 2-аминоимидазолин-4-онов. Синтезированы перспективные лиганды на основе этих соединений, в том числе содержащих векторные группировки, которые отвечают за направленную доставку препарата к опухолевым тканям - фрагменты биотина и углеводов. Исследованы координационные свойства 2-алкилтиоимидазолин-4-онов и 2-аминоимидазолин-4-онов и показано, что ряд координационных соединений на их основе проявляют биологическую активность. Впервые исследовано внутриклеточное распределение координационных соединений Cu(II),(I) и Co(II) с лигандами ряда 2-тиогидантоинов. Впервые изучено биораспределение координационных соединений Co(II) на основе 2-алкилтиоимидазолин-4-онов. Установлена способность Cu(II),(I)-комплексов 2-алкилтиоимидазолин-4-оном проникать сквозь клеточную мембрану и накапливаться в клеточном ядре.

Положения, выносимые на защиту, полностью соответствуют содержанию работы.

Результаты исследований О. О. Красновской изложены в виде рукописи объемом 153 страницы. Работа состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов собственных исследований, экспериментальной части, выводов и списка цитируемой литературы, насчитывающего 196 наименований.

Во введении автором представлено обоснование выбора тематики исследования, в том числе выбора меди и кобальта в качестве металлов-комплексобразователей для введения в реакции с указанными органическими лигандами.

Литературный обзор посвящен координационным соединениям меди как противоопухолевым терапевтическим агентам, интерес к которым значительно

возрос в последние годы. В этой главе представлены и проанализированы сведения об описанных на настоящий момент времени координационных соединениях меди(II) с противоопухолевой активностью, сгруппированные в соответствии с типом лигандов, а также о механизмах их действия и предполагаемых биомишенях. По результатам литературного обзора О.О.Красновской можно сделать вывод о том, что важную роль для способности координационного соединения меди связываться с ДНК играют такие его свойства, как планарность, гидрофобность и размер лиганда, а также геометрия координационного окружения металла.

Обсуждение результатов собственных исследований автора начинается с раздела, посвященного синтезу лигандов - производных 2-тиогидантоинов. О.О.Красновской разработан оригинальный подход к 5-арилиден-2-тиогидантоинам с алкильными и арильными заместителями в положении 3, основанный на первоначальном получении замещенных тиомочевин, которые далее вводят в реакции конденсации с ароматическими альдегидами с последующей циклизацией в целевые продукты. Данный подход значительно уменьшает продолжительность процесса по сравнению с классическим методом синтеза из ароматических альдегидов и тиогидантоинов, упрощает проведение реакции, а также открывает путь к синтезу 5-(Z)-пиридилметиленазамещенных 2-тиогидантоинов, содержащих в положении 3 тиогидантоинового фрагмента чувствительные к действию кислот функциональные группировки. Возможно использование коммерчески доступных аминов в качестве исходных соединений для синтеза таких лигандов. Во всех случаях автором были получены исключительно Z-изомеры целевых пиридилметиленазамещенных 2-тиогидантоинов, что позволяет рекомендовать пиридилметиленимидазолы как хелатирующие лиганды в реакциях комплексообразования.

Во втором разделе описано получение производных 2-аминоимидазолин-4-онов из соответствующих 2-алкилтиоимидазолонов. Аминоимидазолин-4-оновый цикл представляет собой фармакофорный фрагмент, присутствующий в ряде алкалоидов и биологически активных органических соединений. К началу настоящих исследований в литературе отсутствовали данные о синтезе 2-аминоимидазолин-4-онов из S-алкилированных 2-тиогидантоинов в присутствии кислот Льюиса. В рамках диссертационной работы О.О.Красновской впервые была

показана возможность катализа реакции нуклеофильного замещения тиоалкильной группы аминогруппой в 2-алкилтиоимидазолин-4-онах действием трифлата иттербия. Данная методика не требует длительного кипячения реагентов, а полученные аминоимидазолы могут быть выделены с препаративными выходами в чистом виде без хроматографической очистки.

Третий раздел посвящен синтезу производных 2-тиогидантоинов, содержащих векторный фрагмент. Конъюгация производных 2-тиогидантоинов с остатками галактозы или N-ацетилгалактозы должна увеличивать его аффинность к асиалогликопротеиновому рецептору, что в перспективе может позволить использовать препараты на их основе для терапии гепатокарциномы. Введение в молекулу цитотоксичного агента на основе производных 2-тиогидантоинов остатка биотина должно увеличивать аффинность молекулы к SMVT-рецептору, экспрессия которого повышена на поверхности большинства опухолей, что делает возможным в перспективе использовать данный препарат для терапии злокачественных новообразований. В рамках диссертационной работы были получены соединения на основе производных 2-тиогидантоинов, в состав которых входит векторный фрагмент. Для введения векторной группировки использовали «клик»-реакцию между азидом и алкином, приводящую к образованию триазольного цикла. Таким способом была синтезирована серия лигандов на основе 2-алкилтиоимидазолин-4-онов, содержащих векторные группировки. Следующим этапом работы стало изучение таких лигандов в реакциях комплексообразования с солями Cu(II) и Co(II). В результате были получены координационные соединения трех структурных типов: биядерные комплексы состава $(L-N)_2M_2Cl$, моноядерные комплексы состава $LMCl_2$ и биядерные комплексы состава LM_2Cl_3 или LM_2Cl_4 . Большая часть координационных соединений была охарактеризована данными рентгеноструктурного анализа, позволившими установить их структуру в кристаллическом состоянии. Электрохимическое исследование свободных лигандов и координационных соединений позволило оценить редокс-свойства полученных комплексов и сделать предположения о возможном механизме противоопухолевого действия.

На заключительном этапе исследования проводили изучение биологической активности синтезированных координационных соединений.

Оценка цитотоксичности полученных лигандов и комплексов с металлами была проведена с использованием стандартного МТТ-метод определения жизнеспособности клеточных культур. На основании полученных данных был сделан вывод о том, что координационные соединения кобальта обладают меньшей цитотоксичностью по сравнению с координационными соединениями меди. В результате было выявлено соединение-лидер, которое далее исследовали на предмет установления механизма цитотоксичности. Локализация исследованных соединений в клеточном ядре позволила утверждать, что мишенью данного класса соединений являются ДНК- и РНК-оперирующие ферменты. Также было показано, что деградация ДНК под действием соединения-лидера -- Cu-комплекса (шифр 35a) происходит без участия активных форм кислорода. Подтверждена способность этого координационного соединения образовывать устойчивые комплексы с бычьим сывороточным альбумином. При исследовании *in vivo* для анализа распределения препарата в организме использовали метод меченых атомов. В качестве радиоактивной метки был выбран ^{57}Co . Доклинические испытания соединения-лидера позволили определить его максимально переносимую дозу и оценить острую токсичность.

Экспериментальная часть представленного исследования содержит подробные методики синтеза и физико-химические характеристики синтезированных соединений.

Выводы диссертационной работы О.О.Красновской грамотно сформулированы, они соответствуют поставленным целям и полностью отражают полученные результаты.

Достоверность научных положений работы, выводов, рекомендаций и заключений не вызывает сомнений. Состав и строение полученных продуктов надежно доказаны данными физико-химических методов исследования и элементного анализа, в ряде случаев подтверждены рентгеноструктурными исследованиями.

По результатам работы опубликованы 3 статьи в рецензируемых журналах, внесенных в Перечень журналов и изданий, утвержденных Высшей аттестационной комиссией; а также 11 тезисов докладов на научных конференциях, содержание которых отражает содержание диссертации.

Автореферат соответствует основным положениям диссертации, в нем отражены главные идеи исследования и представлены научные выводы.

В качестве замечаний можно отметить следующее:

1. Описанные в работе 5-пиридилметилзамещенные 2-тиогидантоины и их производные выделены в виде единственного геометрического изомера, однако в работе не обсуждаются причины такой стереоселективности и не приводится строгое доказательство геометрии полученного изомера (например, с использованием ядерного эффекта Оверхаузера).

2. Электрохимическое исследование синтезированных лигандов и комплексов проведено для ограниченного числа соединений; следовало бы привести в разделе 2.5 сравнительные редокс-характеристики координационных соединений с различным окислительным состоянием ионов меди.

3. Выходы продуктов «клик»-реакций при получении лигандов с векторными фрагментами представляются недостаточно высокими; следовало провести оптимизацию методики синтеза.

4. В разделе 2.4 обсуждения результатов желательно было бы сформулировать выводы о влиянии структурных факторов лиганда и условий реакции на тип образующегося металлокомплекса.

5. Биологические исследования по распределению координационных соединений в клеточном объеме выполнены для лиганда **40** и координационного соединения **40a**; более показательным было бы провести такое исследование для соединения-лидера **35a** и соответствующего лиганда **35**.

Приведенные выше замечания носят непринципиальный характер и не снижают ценности полученных автором результатов. Диссертация О.О.Красновской представляет собой цельное, логичное, методологически новое завершённое исследование, имеющее дальнейшие перспективы практического использования.

Диссертационная работа оформлена в соответствии с требованиями ГОСТ Р 7.0.11-2011 «Диссертация и автореферат диссертации. Структура и правила оформления». Ее результаты представляют интерес для специалистов в области органической и медицинской химии и могут быть использованы в таких научных

учреждениях, как ИОХ РАН, ИНЭОС РАН, ИФАВ РАН, МГУ, СПбГУ, УрФУ, НИОХ СО РАН, ИОС УрО РАН и др.


Представленная работа соответствует паспортам специальностей 02.00.03 – органическая химия (пункты: 3. Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул; 7. Выявление закономерностей типа "структура-свойство") и 02.00.16 – медицинская химия (пункты: 1. Поиск, структурный дизайн и синтез соединений-лидеров - потенциальных физиологически активных (лекарственных) веществ. 6. Биологическое и физиологическое (*in vitro* и *in vivo*) тестирование сконструированных и синтезированных соединений на предмет изучения особенностей их взаимодействия с молекулярными мишенями организма)

Таким образом, диссертационная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2014 г., № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, поскольку является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение новой практически важной задачи, имеющей существенное значение для развития органической и медицинской химии, а ее автор – Красновская Ольга Олеговна – заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.03 – органическая химия, 02.00.16 – медицинская химия.


Отзыв заслушан и утвержден на заседании Отдела фундаментальной органической химии и Отдела биологической и медицинской химии ИФАВ РАН. Присутствовало на заседании 14 чел. Результаты голосования: «за» – 14 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел., протокол № 6 от 25 мая 2016 г.

Отзыв подготовил зам. директора ИФАВ РАН по научной работе, и.о. зав. лабораторией новых синтетических методов доктор химических наук, профессор Лермонтов Сергей Андреевич.

Телефон (49652)42-587, e-mail lermontov52@yandex.ru

 (С.А.Лермонтов)

Подпись Сергея Андреевича Лермонтова заверяю.

Ученый секретарь ИФАВ РАН, канд. хим. наук  (Т.Н.Великохатко)



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
**ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

Россия 142432 г. Черноголовка Московская обл. Северный проезд, д.1. ИФАВ РАН
Тел: (496) 524-95-08 • Факс:(496) 524-95-08

27.05.2016 № 12321-9311/280

В Диссертационный совет Д
501.001.69 по защите диссертаций на
соискание ученой степени кандидата
наук, на соискание ученой степени
доктора наук при МГУ им.
М.В.Ломоносова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологически активных веществ Российской академии наук (ИФАВ РАН) направляет отзыв ведущей организации на диссертацию Красновской Ольги Олеговны «СИНТЕЗ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ Co(II), Cu(II), Cu(I) НА ОСНОВЕ ИМИДАЗОЛИН-4-ОНОВ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.03 – органическая химия, 02.00.16 – медицинская химия.

Отзыв обсужден на заседании Отдела фундаментальной органической химии и Отдела медицинской и биологической химии ИФАВ РАН 25 мая 2016 года.

Сообщаем следующие сведения, направляемые в Министерство образования и науки Российской Федерации:

Полное наименование организации в соответствии с Уставом	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологически активных веществ Российской академии наук
Сокращенное наименование организации в соответствии с Уставом	ИФАВ РАН
Почтовый индекс, адрес организации	142432, Российская Федерация, г. Черноголовка Московской обл., Северный проезд, д.1
Телефон	Тел. (496)5249508
Адрес электронной почты	ipac@ipac.ac.ru
Веб-сайт	http://www.ipac.ac.ru

Список основных публикаций по теме диссертации соискателя
в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет:

1. Perlovich G.L., Proshin A.N., Volkova T.V., Petrova L.N., Bachurin S.O. Novel 1,2,4-thiadiazole derivatives as potent neuroprotectors: approach to creation of bioavailable drugs // Molecular Pharmaceutics, 2012. – V. 9 (8). – P. 2156–2167.
2. Прошин А.Н., Серков И.В., Бачурин С.О. Новые бинарные соединения на основе 1,2,4-тиадиазола // Доклады Академии наук, 2012. – Т. 446. – №1. – С. 48–50.

3. Серков И.В., Прошин А.Н., Петрова Л.Н., Грецкая Н.М., Безуглов В.В., Бачурин С.О. Новые гибридные производные на основе аминопроизводных 1,2,4-тиадиазола и докозогексаеновой кислоты. Доклады Академии наук, 2012. – Т. 447. – № 1. – С. 49–52.
4. Лавров М.И., Лаптева В.Л., Григорьев В.В., Палюлин В.А., Бачурин С.О., Зефиоров Н.С. Синтез и фармакологическое изучение производных энзодиоксанкарбоновой и пиперониловой кислот // Химико-фармацевтический журнал, 2012. – № 3. – С. 27–30.
5. Бачурин С.О., Виноградова Д.В., Шевцова Е.Ф., Горева Т.В., Елишина Т.А., Аксиненко А.Ю., Соколов В.Б. Модификация гамма-карболинов N-замещенными пропионамидами - новый подход к созданию митопротекторных препаратов // Известия Академии наук. Серия химическая, 2013. – № 3. – С. 815–819.
6. Серков И.В., Чугунова Е. А., Бурилов А. Р., Бачурин С. О. Синтез аминокислотных производных бензофураксана // Доклады Академии наук, 2013. – Т. 450. – № 4. – С. 417–419.
7. Sokolova N.V., Nenajdenko V.G., Sokolov V.B., Vinogradova D.V., Shevtsova E.F., Dubova L.G., Bachurin S.O. Synthesis and biological activity of N-substituted tetrahydro- γ -carbolines containing peptide residues // Beilstein Journal of Organic Chemistry, 2014. – V. 10. – P. 155–162.
8. Прошин А.Н., Серков И.В., Петрова Л.Н., Бачурин С.О. 5-Амино-3-(2-аминопропил)-1,2,4-тиадиазолы как основа гибридных многофункциональных соединений // Известия Академии наук. Серия химическая, 2014. – № 5. – С. 1148.
9. Соколов В.Б., Аксиненко А.Ю., Елишина Т.А., Горева Т.В., Григорьев В.В., Габрельян А.В., Бачурин С.О. Синтез и биологическая активность N-замещенных тетрагидро- γ -карболинов, содержащих бис(диметилламино)фенотиазиновый фрагмент // Известия Академии наук. Серия химическая, 2015. – № 3. – С. 718–722.
10. Серков И.В., Серова Т. М., Прошин А.Н., Бачурин С.О. Синтез селеномочевин и гетероциклов на их основе // Журнал органической химии, 2015. – Т.51. – № 4. – С. 471–490.
11. Lermontov S. A., Sipyagina N. A., Malkova A. N., Baranchikov A. E., Sidorov A. A., Efimov N. N., Ugolkova E. A., Minin V. V, Ivanov V. K.. New aerogels chemically modified with amino complexes of bivalent copper // Russian Journal of Inorganic Chemistry, 2015. – V. 60. – № 12. – P. 1459–1463.

Директор ИФАВ РАН,
член-корреспондент РАН



С.О. Бачурин