ОТЗЫВ

члена диссертационного совета Карцовой Людмилы Алексеевны на диссертацию Миколайчук Ольги Владиславовны на тему «Синтез и изучение свойств новых материалов с противоопухолевой активностью на основе полиазотистых гетероциклов», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.16. Медицинская химия.

.

В последнее время появилось значительное количество публикаций, посвященных синтезу и изучению биологической активности азотсодержащих гетероциклов. Это обусловлено, в первую очередь, тем, что введение гетероциклов (тетразола, триазола) в молекулу органического субстрата может привести как к повышению эффективности, так и к пролонгированию действия лекарственного средства без повышения токсичности.

Целью диссертационного исследования Миколайчук О.В. явилось создание новых перспективных материалов на основе 1,3,5-триазинов и тетразолов, а также оксида графена для уменьшения системной токсичности и регулирования биоактивности. Ранее при создании противоопухолевых препаратов введение в структуру 1,3,5-триазина тетразольного цикла и изучение наноконъюгатов 1,3,5-триазинов практически не применялось, и до настоящего времени не были установлены ни молекулярно-клеточные механизмы действия, ни биосовместимость таких лекарственных средств. Сказанное обуславливает **актуальность** данного исследования.

Соответствие паспорту специальности

Диссертация Миколайчук О.В. соответствует паспорту специальности 1.4.16. Медицинская химия по ряду позиций: синтез соединений-лидеров – потенциальных физиологически активных (лекарственных) веществ; синтез и биологическое тестирование широкого разнообразия химических соединений; решаемые задачи в данной диссертационной работе полностью соответствуют специальности 1.4.16. Медицинская химия.

Структура диссертационной работы

Диссертационная работа Миколайчук О.В. содержит введение, обзор литературных данных (две главы), обсуждение результатов, экспериментальную часть, выводы, список литературы (всего 133 наименования). Диссертационная работа изложена на 144 страницах. В литературном обзоре рассмотрены методы синтеза тризамещенных 1,3,5-триазинов с противоопухолевой активностью и наноформы лекарственных препаратов. Отмечено, что идеальный наноноситель должен удовлетворять требованиям стабильности, биосовместимости *in vivo* и обладать способностью высвобождать лекарственное средство в зависимости от внешних условий, не оказывая вредного воздействия на здоровые клетки. Диссертант делает акцент на перспективном направлением в области создания таргетных препаратов - использовании углеродных наноструктур, имеющих большой потенциал в противовирусной терапии, обращая внимание при этом на то, что главным недостатком химиотерапии является отсутствие специфичности цитостатиков к опухолевым клеткам. На основании данных, представленных в обзоре литературы, автор диссертационного исследования заключает, что 2,4,6-тризамещённые 1,3,5-триазины могут проявлять различные виды биологической активности, включая противоопухолевую.

Для реализации поставленной цели диссертантом были запланированы и успешно решены следующие задачи: синтез новых биологически активных соединений 1,3,5-триазинового ряда, обладающих противоопухолевой активностью, и наноформ соединения-лидера с оксидом графена с подтверждением снимками СЭМ функционализации поверхности; проведение тестирования *in vitro* синтезированных соединений и конъюгата.

Диссертантом исследованы физико-химические характеристики водных растворов соединения 5-[[4,6-*бис*(азиридин-1-ил)-1,3,5-триазин-2-ил]-амино]-2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил] метанол (**1.57**) (плотность, вязкость, растворимость, липофильность) для прогнозирования таких свойств, например, как проницаемость вещества через тканевые и клеточные барьеры с применением широкого арсенала методов: ЯМР, рамановская и ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия, спектроскопия комбинационного рассеяния, кругового дихроизма, рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия, рентгенофазовый и элементный анализ и др.

Так, методом ЯМР в различные временные промежутки и при различных значениях pH исследована стабильность соединения **1.57** в щелочной и нейтральной средах, показана его гемолитическая неактивность и наличие антикоагулянтных свойств в диапазоне концентраций 50-200 мкМ. Для оценки гемосовместимости соединения **1.57** изучено его влияние на спонтанный гемолиз путём спектрофотометрического измерения высвобожденного гемоглобина, а также получена информация относительно взаимодействия соединения **1.57** с сывороточным альбумином человека (ЧСА) - основным плазменным белком, что позволяет лучше понять процессы, лежащие в основе распределения и выведения биологически активных веществ. Обнаружено снижение оптической плотности Радахлорина в присутствии **1.57** и установлено что данное соединение имеет более широкое терапевтическое окно, чем доксорубицин и цисплатин. Методами калориметрии диссертантом выявлена способность **1.57** связываться с ДНК и сывороточным альбумином человека и рассчитаны с использованием термодинамической модели независимого связывания параметры такого взаимодействия. Для изучения механизма действия соединения **1.54** диссертантом проведено компьютерное моделирование его взаимодействия с дигидрофолатредуктазой человека методом молекулярного докинга и установлено, что соединение **1.57** имеет практически одинаковое сродство к водной и органической системам, следовательно пригодно для перорального применения.

Не менее важен и интересен раздел диссертационной работы, в котором представлены результаты синтеза производного соединения **1.57** ацилированием гидроксиметильной группы галогенангидридами тетразолилуксусных кислот с получением соединения, содержащего у 2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил-метила вместо гидроксильной группы фрагмент 5-фенилтетразол-2-ил-ацетата (**3.6),** цитотоксичность которого оказалась сопоставимой с цисплатином**.** Проведено тщательное исследование физико-химических характеристик водных растворов и этого соединения.

В работе также синтезирован нековалентный конъюгат оксида графена (**GO**) с **1.57** и показано, что такая нековалентная конъюгация **GO** снижает его антирадикальную активность в реакции с радикалом NO. Установлено, что **GO-1.57** обладает значительно меньшей цитотоксичностью в отношении клеточной линии HEK 293 по сравнению с доксорубицином, а также по сравнению с соединением **1.57** (более, чем в 1,5 раза).

Научная новизна и практическая значимость

Разработаны синтетические подходы к получению новых полиазотистых

гетероциклов на основе 1,3,5-триазинов, являющихся потенциальными цитостатическим препаратами. Впервые синтезирован и охарактеризован нековалентный конъюгат, содержащий оксид графена, обогащённый кислородсодержащими функциональными группами и цитостатический препарат на основе 1,3,5-триазина. Предложен метод синтеза нековалентного конъюгата на основе оксида графена с повышенном содержанием кислородсодержащих функциональных групп (до 85 %).

Полученные результаты позволяют оценить возможность использования синтезированных веществ для реализации фотодинамической терапии, активно применяемой в онкологии и лечении неопухолевых заболеваний. Показано, что соединения **1.57**, **3.6** и **GO-1.57** являются гемосовместимыми и проявляют цитотоксическое действие на клеточных линиях A549, HeLa, PANC-1,SK-HEP-1 и T98G, сопоставимое или по своему эффекту превышающее действие таких цитостатических препаратов как цисплатин и доксорубицин. Соединения-лидеры обладают высокой антиоксидантной активностью и, как следствие, могут оказывать влияние на антиксидантно-прооксидантное равновесие в опухолевых клетках.

Разработан метод синтеза нековалентного конъюгата на основе оксида графена с повышенном содержанием кислородсодержащих функциональных групп (до 85 %)

По работе возникло несколько вопросов.

- В тексте диссертации отмечено, что в присутствии ингибитора эндоцитоза амилорида увеличивается выживаемость клеток линии HeLa при добавлении конъюгата GO-1.57 (Рис. 3.58). А каковы данные при использовании амилорида в отсутствии GO-1.57**?**

- Как определялась степень модификации (процент загрузки) оксида графена соединением 1.57?

- Диссертантом отмечено, что *...описание экспериментальных методик, а также метрологические характеристики представлены в работах [118–129]*. Но в указанных ссылках речь идет не о коньюгате GO-1.57**,** а о фуллеренах C60, C70. Как это соотносится с метрологическими характеристиками GO-1.57?

- Чем объяснить небольшой выход соединения 3.3a. Только стерическим фактором? Как разделяли эфиры 3.3a и 3.3 b? Каковы условия очистки и выделения соединения 3.6?

- Положения, выносимые на защиту, в ряде случаев носят декларативный характер без пояснения, какой конкретно результат защищается.

- Есть замечания стилистического характера: не все используемые в тексте диссертационной работы сокращения приведены в Списке сокращений; ссылка [35] не соответствует указанному цитированию; непонятно, о каком соединении **2.6** на стр. 41 идет речь?

Возникшие по работе вопросы и замечания не снизили самого благоприятного впечатления от выполненного диссертационного исследования. Работа глубоко продумана, отличается тщательностью, логической обоснованностью и последовательностью всех проведенных экспериментов, что и обеспечило успешное решение важнейших медико-биологических задач.

Заключение

Диссертация Дмитриевой Е.В. является цельной и завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему, связанную с приоритетными направлениями и программами развития отечественной фундаментальной и прикладной науки с использованием современных концепций и экспериментальных методологий и содержит решение важной задачи: Синтез и изучение свойств новых материалов с противоопухолевой активностью на основе полиазотистых гетероциклов.

По результатам проведенных исследований опубликовано 6 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ и индексируемых в Web of Science и Scopus, а также 6 тезисов докладов в материалах всероссийских и международных научных конференций.

Положения, выносимые на защиту, выводы, сформулированные в диссертации, строго аргументированы и соответствуют экспериментальным данным. Диссертация и автореферат оформлены согласно требованиям действующих нормативных документов. Результаты работы доложены на представительных научных конференциях. Содержание автореферата и опубликованных трудов диссертанта полностью отвечает содержанию диссертации.

Диссертация Миколайчук Ольги Владиславовны на тему: «Синтез и изучение свойств новых материалов с противоопухолевой активностью на основе полиазотистых гетероциклов» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», соискатель Миколайчук Ольга Владиславовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.16. Медицинская химия. Нарушения пунктов 9 и 11 указанного Порядка в диссертации не обнаружены.

Член диссертационного совета

Доктор химических наук, профессор,
профессор, Институт химии СПбГУ / Карцова Л.А./

13.10. 2023