

ОТЗЫВ

официального оппонента Зефировой Ольги Николаевны
на диссертационную работу **Петрова Станислава Александровича**

«Полипептидные молекулы и их конъюгаты с диагностическими и терапевтическими агентами для адресной доставки в раковые клетки предстательной железы».

представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук

по специальности 02.00.03. – Органическая химия

Представленное исследование посвящено разработке методов синтеза новых полипептидных векторных молекул и их конъюгатов с фрагментами таксанов, хелатирующих агентов и флуоресцентных меток, предназначенных для направленной доставки в опухолевые клетки некоторых видов рака простаты, и первичной оценке антипролиферативной активности и селективности полученных соединений. Следует отметить, что в современном мире химиотерапия широко используется во всем мире для лечения раковых заболеваний. Однако ее успех во многом ограничен высокой общей токсичностью соответствующих препаратов. Это делает важной и неизменно актуальной попытку получения противоопухолевых агентов с улучшенным токсикологическим профилем, а также совершенствование подходов к синтезу таких соединений. В русле подобных исследований и находится представленная работа, в рамках которой для обеспечения направленной доставки доцетакселя в клетки некоторых видов рака простаты выбран подход присоединения векторных фрагментов к исходной молекуле и изучены разнообразные подходы к синтезу предложенных конъюгатов.

Диссертационная работа представлена на 215 страницах текста и состоит из шести разделов: введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка литературы (209 ссылок).

В предваряющем описании собственных исследований автора **Литературном обзоре** систематизированы данные об известных подходах к созданию диагностических и терапевтических конъюгатов для направленной доставки к простатическому специфическому мембранному антигену (ПСМА). Литературный обзор написан очень подробно, автором представлены ссылки как на обзорную литературу, так и на многочисленные работы последних лет по указанной тематике. Приведены примеры успешного применения ПСМА-направленных конъюгатов для направленной доставки в опухолевые клетки. Литературный обзор отличает ярко выраженная аналитическая направленность: автором представлены таблицы со сравнительными характеристиками различных векторных платформ, линкерных группировок и проч., а также

проанализированы соотношения структура – активность для ряда ПСМА-направленных тераностиков. Отдельная глава посвящена анализу различных аспектов синтеза бимодальных ПСМА-направленных конъюгатов. Актуальность литературного обзора и его связь с практической частью работы не вызывают сомнений, обзор дает полное представление о месте данной работы среди близких по тематике исследований, в том числе, последних пяти лет.

В главе **Обсуждение результатов** автором последовательно представлена разработка стратегии синтеза ПСМА-направленных векторных фрагментов на основе (((S)-5-амино-1-карбоксипентил)карбамоил)-L-глутаминовой кислоты с трипептидным линкером, содержащим амидную и азидную терминальные группировки. Важно отметить, что автором не только определены условия стереоселективного проведения синтеза, но проведено сравнение препаративного удобства методик получения целевых молекул с использованием жидкофазной и твердофазной сборки полиамидных последовательностей. Специально были изучены органогелирующие свойства полученных в работе векторных пептидов, что позволило автору подобрать условия их выделения и очистки. Дополнительно было проведено изучение морфологии гидрогелей, представляющее самостоятельный интерес, хотя и слегка выбивающееся из общей логики исследования. Несомненным достоинством работы является реализация нескольких многостадийных синтетических схем, включающих в себя от тринадцати до шестнадцати последовательных стадий, что свидетельствует о нетривиальных профессиональных навыках соискателя как химика-синтетика.

В главе **Обсуждение результатов** автором представлен синтез моно- и бимодальных конъюгатов полученных векторных молекул с хелатирующими лигандами DOTA и биспидином, с противоопухолевым агентом доцетакселем и флуоресцентным красителем Sulfo-Cy5. При оценке этого раздела работы также следует отметить как большой объем проведенной синтетической работы, так и ее трудоемкость, связанную с необходимостью подбора условий протекания реакций с приемлемыми выходами, разделения смесей продуктов, определения строения полученных конъюгатов и др. Важно, что в работе проведен первичный скрининг нескольких конъюгатов и продемонстрирована их селективность в отношении ПСМА-положительных клеточных линий. Автором представлен краткий анализ полученных соотношений структура – активность.

В **Экспериментальной части** работы диссертантом приведены методики получения соединений, их спектральные и физико-химические характеристики. Все полученные соединения охарактеризованы комплексом физико-химических методов анализа; для трех

целевых соединений *LLLLD-29*, *LLLLL-29* и *LLLLD-20* проведено полное соотнесение сигналов в ЯМР ^1H и ^{13}C спектров с использованием 2D ЯМР; на основании этих данных дано полное отнесение сигналов в ЯМР спектрах всех конечных соединений. Экспериментальная часть подтверждает обоснованность и достоверность положений и заключений, приведенных в работе.

Проведенные исследования и полученные соискателем результаты обладают новизной и **теоретической значимостью**, которая состоит в разработке оптимальной стратегии стереоселективного синтеза молекулярных ПСМА-направленных платформ, включающей в себя твердофазную сборку пептидного линкера, его конъюгацию с векторным фрагментом и модификацию полученных конъюгатов для последующего присоединения терапевтических и/или диагностических агентов. Синтезированные в работе моно- и бимодальные конъюгаты векторных молекул с доцетакселем и диагностическими агентами представляют собой новый пример систем направленной доставки в опухоли предстательной железы. Предложенные соискателем оптимизированные методики имеют не только теоретическую, но и **практическую значимость** для целей органического синтеза супрамолекулярных систем.

К работе имеются некоторые **замечания**.

1) С моей точки зрения, фрагменты литературного обзора, связанные с описанием «хирургических» подробностей (стр. 23) можно было бы опустить, в то же время следовало бы включить хотя бы краткое упоминание об известной модели фрагмента ПСМА рецептора из банка данных белковых структур.

2) На стр. 11 литературного обзора следовало бы подчеркнуть, что комплекс лиганда с белком, изображенный на рисунке 1, представляет собой результат компьютерного докинга, проведенного авторами статьи [48].

3) При описании в литературном обзоре ПСМА-лигандов на основе мочевины с фрагментом Glu-urea-Lys (в пользу которого сделан выбор в данной диссертационной работе) указано, что соединения «проходят сейчас клинические испытания фазы 0-I⁴⁴⁻⁴⁶». Однако две из данных ссылок датируются 2016-м, а одна – 2017-м гг. Было бы хорошо представить более поздние данные о результатах проведенных клинических испытаний.

4) Краткое описание закономерностей из работ [176] и [177] было бы уместнее представить в литературном обзоре, а не только в обсуждении результатов.

5) Постулирование увеличения аффинности к ПСМА при введении полипептидного линкера (стр. 62, глава «Обсуждение результатов») нужно было бы аргументировать (оно не следует из данных литературного обзора, данных о строении белка и данных моделирования, представленных на рисунке 1).

6) В некоторых схемах главы Обсуждение результатов (см., например, схемы 9 и 23) при изображении механизмов реакций неточно указано расположение стрелок и/или отсутствуют дополнительные стрелки; есть неточности и на рис. 12.

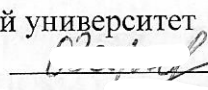
7) В экспериментальной части указано, что анализ MTS выявил 100% гибель клеток после инкубации с 20% ДМСО. Эти данные требуют каких-то комментариев относительно активности другого положительного контроля – свободного доцетакселя, цитотоксическое действие которого к клеткам LNCaP в диапазоне концентраций 2–200 нМ (рис. 30, а) неизменно остается на уровне 40% выживших клеток.

8) В работе встречаются опечатки, неудачное использование некоторых терминов (например, термина «фармакофорная группировка» на стр. 11, «холодный» вместо «нерadioактивный» на стр. 43), комбинации русскоязычных и англоязычных аббревиатур, а также неудачное форматирование текста.

Важно подчеркнуть, что высказанные замечания не снижают общего благоприятного впечатления от представленной работы и не ставят под сомнение хорошее качество проведенного исследования.

В целом, я считаю, что диссертационная работа С.А. Петрова отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 02.00.03. – «Органическая химия» (по химическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова. Диссертация оформлена согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова, а соискатель Петров Станислав Александрович заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03. – Органическая химия.

Профессор кафедры медицинской химии и тонкого
органического синтеза химического факультета
ФГБОУ ВО «Московский государственный университет
имени М.В.Ломоносова», д.х.н., доцент

 **Зефирова Ольга Николаевна**

Адрес места работы: 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3

03 декабря 2021 г.

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация: 02.00.16 «Медицинская химия».