

Директору Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки
Институт органической химии
им. Н.Д. Зелинского РАН
академику М.П. Егорову

Я, Зефирова Ольга Николаевна, д.х.н., доцент, профессор кафедры Медицинской химии и тонкого органического синтеза Химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова, согласна быть официальным оппонентом диссертационной работы Сильяновой Евгении Алексеевны «Синтез аналогов природных противоопухолевых веществ с 3,4-диарилпиррольным фрагментом в ряду комбретастатинов и ламелларинов», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 – органическая химия в диссертационный совет 24.1.092.01 при ИОХ им. Н.Д. Зелинского РАН.

д.х.н., доцент, профессор кафедры
Медицинской химии и тонкого
органического синтеза Химического
факультета МГУ имени М.В.Ломоносова

Зефир

О.Н.Зефирова



Сведения об официальных оппонентах

1. ФИО оппонента: Зефирова Ольга Николаевна

2. Ученая степень и наименование отрасли науки, по которым им защищена диссертация: доктор химических наук, 02.00.16 – медицинская химия

3. Список публикаций оппонента:

1. Зефиров Н. А., Мамаева А. В., Радченко Е. В., Милаева Е. Р., Кузнецов С. А., Зефирова О. Н. Конъюгат подофиллотоксина с хлорамбуцилом: синтез, биотестирование и молекулярное моделирование // 2021. – *Биомедицинская химия* – Т. 67, № 3. – С. 289-294.

2. Evdokimova A. V., Alexeev A. A., Nurieva E. V., Milaeva E. R., Kuznetsov S. A., Zefirova O. N. N-(4-Methoxyphenyl)-substituted bicyclic isothioureas: effect on morphology of cancer cells // 2021. – *Mendeleev Commun.* – Т. 31, № 3. – С. 288-290.

3. Zefirov N. A., Mamaeva A. V., Krasnoperova A. I., Evteeva Yu. A., Milaeva E. R., Kuznetsov S. A., Zefirova O. N. Novel analogs of 5-hydroxymethyl-2-methoxyphenyl adamantane-1-acetate: synthesis, biotesting, and molecular modeling // 2021. – *Russ. Chem. Bull.* – Т. 70, № 3. – С. 549-554.

4. Proshin A.N., Trofimova T.P., Zefirova O.N., Zhirkina I.V., Skvortsov D.A., Bachurin S.O. Screening of a series of 3,5-disubstituted 1,2,4-thiadiazoles for selectivity of cytotoxic action to cancer cells // 2021. – *Russ. Chem. Bull.* – Т. 70, № 3. – С. 510-514.

5. Nurieva E.V., Zefirov N.A., Temnyakova N.S., Kuznetsov S.A., Zefirova O.N. C(7)-Derivatives of colchicine with guanosine and biphenyl moieties: molecular modeling, synthesis, and tubulin clustering effect in cancer cells // 2020. – *Russ. Chem. Bull.* – Т. 69, № 11 – С. 2222-2227.

6. Nurieva E.V., Zefirov N.A., Fritsch N., Milaeva E.R., Kuznetsov S.A., Zefirova O.N. Molecular design and synthesis of new heterobivalent compounds based on

chlorambucil and colchicines // 2020. – Mendeleev Commun. – T. 30, № 6. – C. 706-708.

7. Nurieva E. V., Alexeev A. A., Grishin Y. K., Tafeenko V. A., Zefirova O. N. New compounds with 4-azatricyclo[4.3.1.1^{3,8}]undecane framework // 2020. – Mendeleev Commun. – T. 30, № 2. – C. 145-146.

8. Zefirova O. N., Nurieva E. V., Wobith B., Schulz S., Zefirov N. A., Kuznetsov S. A. Novel colchicine conjugate with unusual effect on the microtubules of cancer cells // 2020. – Pure Appl. Chem. – T. 92, № 8. – C. 1217-1226.

9. Lozinskaya N. A., Maximova N. A., Bazanov D. R., Sosonyuk S. E., Birgit W., Zefirov N. A., Kharitonashvili E. V., Zefirova O. N., Kuznetsov S. A., Proskurnina M. V. Synthesis and biotesting of novel carrier-prodrugs of 2-methoxyestradiol // 2020. – Mendeleev Commun. – T. 30, № 1. – C. 7-9.

10. Zefirov N. A., Evteeva Y. A., Krasnoperova A. I., Mamaeva A. V., Milaeva E. R., Kuznetsov S. A., Zefirova O. N. Tubulin targeted antimetabolic agents based on adamantane lead compound: synthesis, SAR and molecular modeling // 2020. – Mendeleev Commun. – T. 30, № 4. – C. 421-423.

11. Zefirov N. A., Gadert L., Fatkulin A. R., Shibilev V. M., Butov G. M., Mokhov V. M., Kuznetsov S. A., Zefirova O. N. Tubuloclastin analogues with ether moiety: synthesis and evaluation of tubulin clustering and antimetabolic activity in cancer cells // 2020. – Mendeleev Commun. – T. 30, № 1. – C. 106-108.

12. Davydova I.B., Senyavin V.M., Zefirova O.N., Kuramshina G.M. Vibrational Spectra and Stable Conformations of Methyl 6-Methoxy-2,3,4,9-Tetrahydro-1H-1,4-Ethancarbazole-3-Carboxylate // 2020. – Russ. J. Phys. Chem. A. – T. 94, № 11. – C. 2255-2264.

13. Lavrushkina E.A., Shibilev V.M., Zefirov N.A., Shevtsova E.F., Shevtsov P.N., Kuznetsov S.A., Zefirova O.N. “Triple” mutual prodrug based on 2-methoxyestradiol: synthesis and biotesting in vitro // 2020. – Russ. Chem. Bull. – T. 69, № 3. – C. 558-562.

14. Zefirov N. A., Evteeva Y. A., Wobith B., Kuznetsov S. A., Zefirova O. N. Adamantyl-substituted ligands of colchicine binding site in tubulin: different effects

on microtubule network in cancer cells // 2019. – Structural Chem. – Т. 30, № 2. – С. 465-471.

15. Alexeev A. A., Nurieva E. V., Trofimova T. P., Chesnakova E. A., Grishin Y. K., Lyssenko K. A., Filimonova M. V., Zefirova O. N. Bicyclic bridged isothiourreas: synthesis and evaluation of activity in a model of lipopolysaccharide-induced septic shock // 2019. – Mendeleev Commun. – Т. 29, № 1. – С. 14-16.

4. Полное наименование организации, являющееся основным местом работы на момент написания отзыва: Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

5. Занимаемая должность: профессор кафедры Медицинской химии и тонкого органического синтеза химического факультета

д.х.н., доцент, профессор кафедры
Медицинской химии и тонкого
органического синтеза Химического
факультета МГУ имени М.В.Ломоносова

О.Н. Зефирова

О.Н. Зефирова



ОТЗЫВ

официального оппонента Зефириной Ольги Николаевны
на диссертационную работу **Сильяновой Евгении Алексеевны**
«Синтез аналогов природных противоопухолевых веществ с 3,4- диарилпиррольным
фрагментом в ряду комбретастатинов и ламелларинов» представленной на соискание
ученой степени кандидата химических наук по специальности

1.4.3. – Органическая химия

Представленное исследование посвящено разработке препаративно удобных методов синтеза аналогов природных противоопухолевых агентов – комбретастатинов и ламелларинов – и оценке антипролиферативной активности полученных соединений. Актуальность выбранной тематики обусловлена как необходимостью получения новых эффективных противораковых препаратов, так и постоянной потребностью совершенствования подходов к синтезу потенциальных лекарственных веществ. Новые, удобные в препаративном плане, синтетические методы особенно важны для получения сложных скелетов природных соединений с интересными фармакологическими свойствами, так как отсутствие таких подходов существенно задерживает изучение соотношений структура – активность для аналогов таких веществ. В русле подобных исследований и находится представленная работа.

Предваряющий описание собственных исследований автора **Литературный обзор** состоит из двух частей, первая из которых носит название *«Биологической части»* и посвящена краткому описанию молекулярных мишеней действия комбретастатинов и ламелларинов, и представлению некоторых корреляций структура – активность для их производных. Хотя эта часть написана сжато, она дает достаточно полное представление о месте данной работы среди близких по тематике исследований, в том числе, последних пяти лет.

В основной (*«Синтетической»*) части литературного обзора систематизированы данные об известных методах синтеза замещенных пирролов, и дано подробное описание подходов к получению полициклического структурного шаблона ламелларинов. Эту часть литературного обзора отличает аналитическая направленность: автором представлены сравнительные характеристики различных синтетических методов, а также примеры их использования для синтеза ламелларинов, их аналогов и других биологически активных веществ. Актуальность литературного обзора и его связь с практической частью работы не вызывают сомнений.

Глава **Обсуждение результатов** также включает в себя шесть разделов, пять из которых посвящены выполненным соискателем синтетическим исследованиям. В ходе

этих исследований были разработаны схемы синтеза 3,4-диарилпирролов, пирролокумаринов и ламелларинов из нитростильбенов, которые в свою очередь получали по реакции Анри из полиметоксibenзальдегидов, доступных из недорогого отечественного природного сырья. Важно отметить, что предложенный путь синтеза нитростильбенов удобен в плане выделения целевых продуктов (требует только отфильтровывания осадка продукта и его промывки). Несомненным достоинством работы является достигнутая автором оптимизация условий проведения реакции Бартона–Зарда для синтеза 3,4-диарилпиррол-2-карбоксилатов: выходы некоторых пирролов удалось увеличить более чем в пять раз по сравнению с таковыми для реакций, проведенных с использованием классической методики. Автором впервые установлено образование в указанной реакции изоксазолин-N-оксидов в качестве побочных продуктов. Дальнейшая отработка методов синтеза различных производных 3,4-диарилпиррол-2-карбоновых кислот позволила расширить серию аналогов комбретастина А-4 с 3,4-диарилпиррольным фрагментом.

В рамках исследований, посвященных реализации полного синтеза Ламелларина Q (метил 3,4-бис(4-гидроксифенил)-1*H*-пиррол-2-карбоксилата), соискателем была показана селективность O-деметилирования в полиметоксизамещенных 3,4-диарилпиррол-2-карбоксилатах в присутствии трибромида бора, что позволило получить пирролокумариновый фрагмент ламелларинов и с метоксильными, и с гидроксильными заместителями. Особо следует отметить удачную разработку автором очень эффективной в препаративном плане методики одностадийного синтеза труднодоступного пентазамещенного пиррольного цикла с помощью реакции 3+2-диполярного циклоприсоединения нитростильбенов к изохинолиниевым илидам. Этот процесс, а также последующие реакции, приводящие к целевому пентациклическому ламеллариновому остову, протекают в мягких условиях с доступными реагентами и не требуют применения дорогостоящих катализаторов. Особо следует отметить тщательность, проявленную автором в ходе подбора условий протекания ключевой реакции циклоприсоединения, а именно последовательное систематическое изучение роли окислителя, растворителя, времени и температуры. В результате удалось добиться протекания реакции с хорошими выходами, а суммарный выход Ламелларина Q в ходе трехстадийного полного синтеза составил 35%. В целом, 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 примесных веществ и др.

Завершающий раздел главы «Обсуждение результатов» посвящен первичному скринингу нескольких серий полученных соединений на антипролиферативную активность в тестах на зародышах морских ежей и шестидесяти линиях опухолевых клеток человека. Для некоторых веществ продемонстрировано заметное антипролиферативное действие. Автором представлен краткий анализ полученных соотношений структура – активность и выявлено соединение, интересное для дальнейшего биотестирования *in vitro* и *in vivo*.

В **Экспериментальной части** работы автором приведены методики получения соединений, их спектральные и физико-химические характеристики. Все соединения, впервые полученные в настоящей работе, охарактеризованы спектрами ЯМР ^1H и (за исключением веществ 18d, 18m, 24h и 24p) – спектрами ЯМР ^{13}C с подробным и достоверным отнесением сигналов; для большинства соединений представлены данные масс-спектрометрии и элементного анализа; для всех кристаллических веществ приведены данные температуры плавления, для ряда веществ выполнен рентгеноструктурный анализ. Экспериментальная часть полностью подтверждает обоснованность и достоверность положений и заключений, приведенных в работе. Подтверждением высокого качества проделанной работы являются публикации автора в ведущих отечественных и международных научных журналах.

Проведенные исследования и полученные соискателем результаты, несомненно, обладают **новизной и теоретической значимостью**, которая заключается 1) в разработке эффективных способов синтеза 3,4-диарилпирролов, пирролокумаринов и ламелларинов из доступных исходных веществ; 2) в оптимизации условий проведения реакции Бартона–Зарда для синтеза 3,4-диарилпиррол-2-карбоксилатов с высокими выходами и в улучшенном (в препаративном плане) формате; 3) в разработке простого и эффективного способа селективного O-деметилирования полиметоксизамещенных 3,4-диарилпиррол-2-карбоксилатов в мягких условиях; 4) в выявлении высокоэффективной препаративной стратегии синтеза пентациклического каркаса ламелларинов с использованием в качестве ключевой стадии реакции 3+2 диполярного циклоприсоединения изохинолиниевых илидов и нитростильбенов. Предложенные соискателем оптимизированные методики имеют не только теоретическую, но и **практическую значимость** для целей органического синтеза. Важной в практическом плане является также реализация синтеза серий новых 3,4-диарилпирролов и 3,4-диарилпиррол-2-карбоксамидов в качестве аналогов антимиотического агента комбретастина А4 и обнаружение для некоторых соединений антипролиферативной активности в наномолярном и субмикромольном диапазонах концентраций. Выявленные в ходе биотестирования данные об эффективном, хотя и

различном действии 3-(4-метоксифенил)-4-(3,4,5-триметоксифенил)пиррола и 3-(3,4,5-триметоксифенил)-4-фенил-1*H*-пиррол-2-карбоксамид на зародыши морских ежей, делают указанные соединения интересными для дальнейших биологических исследований.

Диссертационная работа Е.А. Сильяновой выполнена на высоком уровне, выводы автора являются обоснованными, а достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. К работе имеются, однако, некоторые замечания.

1) В первой части литературного обзора автор, сравнивая активности аналогов комбретастина, не конкретизирует, идет ли речь о цитотоксичности или о влиянии соединения на сборку микротрубочек. Это приводит к неточностям: например, оба вещества, представленные на Схеме 4 в качестве примеров «Синтетических модификаций СА4 с сохранением активности», на несколько порядков менее цитотоксичны, чем СА-4, хотя второе близко ему по тубулин-деполимеризующей способности (а первое, по-видимому, имеет отличный механизм действия на тубулин).

2) С моей точки зрения, четкое описание основных проблем, стимулирующих модификации структуры комбретастина – изомеризации *in vivo* и низкой водорастворимости – было бы лучше дать и в литературном обзоре, а не только в обсуждении результатов.

3) Странным выглядит отсутствие в списке литературы к лит. обзору ссылки на обзор D. Imbri, J. Tauber, T. Opatz. Synthetic Approaches to the Lamellarins. A comprehensive Review. *Mar. Drugs*, 2014, 12, 6142–6177 (doi:10.3390/md12126142), хотя работы авторов этого обзора в диссертации обсуждаются.

4) В финале литературного обзора было бы хорошо его подытожить, кратко сформулировав рекомендации для последующего выполнения диссертационной работы.

5) В некоторых схемах главы Обсуждение результатов (см., например, схему 6, схему 10) при изображении механизмов реакций неточно указано расположение стрелок и/или отсутствуют дополнительные стрелки.

6) В экспериментальной части следовало бы привести данные спектров ЯМР ^{13}C для соединений 18d и 18m.

7) В экспериментальной части в общей методике синтеза 3,4-диарил-1*H*-пирролов следовало бы указать, какую конкретно щелочь использовали для проведения реакции (в обсуждении результатов только в схеме 5 есть указание на то, что это NaOH).

8) Было бы желательно представить данные биотестирования наиболее активных соединений с пиррольным фрагментом в тестах на клетках неопухолевого этиологии (чтобы оценить возможность образования токсичных метаболитов) и на резистентных к комбретастатину А4 линиях опухолевых клеток.

9) В работе встречаются опечатки и неудачные выражения (например, «он является структурной частью биохимии живой природы»; «заменой методики с цинком»; «реакцию проводили медленным добавлением»; «за время развития реакции Ганча»; «Присутствие двух взаимодействий в каждом из спектров»; «масло» вместо традиционного *бесцветная маслянистая жидкость* и др.), и формулировки (например, в выводе 7).

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

В целом, я считаю, что диссертационная работа Сильяновой Евгении Алексеевны по поставленным задачам, уровню их решения, актуальности и научной новизне безусловно удовлетворяет всем требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. №426), а ее автор – Сильянова Евгения Алексеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. – Органическая химия.

Профессор кафедры медицинской химии
и тонкого органического синтеза химического
факультета МГУ имени М.В.Ломоносова,
д.х.н., доцент

Зефирова Ольга Николаевна

Почтовый адрес: 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3

Телефон: 8-495-939-12-43

Адрес электронной почты: olgaz@org.chem.msu.ru

Наименование организации (полное/сокращенное): Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»/ МГУ имени М.В.Ломоносова

Декан химического факультета МГУ
имени М.В.Ломоносова,
чл.-корр. РАН, профессор



Калмыков Степан Николаевич

17 ноября 2021 г.