

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Алпатовой Виктории Михайловны на тему «КАРБОРАНОВЫЕ КОНЬЮГАТЫ С МЕЗО-АРИЛПОРФИРИНАМИ: СИНТЕЗ И СВОЙСТВА», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.8 – Химия элементоорганических соединений и 1.4.9 – Биоорганическая химия

В развитии современных методов лечения опухолевых заболеваний колоссальную роль играют тетрапиррольные соединения – порфирины и их аналоги, прежде всего, как агенты для фотодинамической терапии. При этом широчайшие возможности модификации тетрапиррольного макроцикла определяют возможность оптимизации свойств фотосенсибилизаторов, в том числе, за счет получения гибридных агентов, используемых либо для терапии и диагностики – тераностики, либо для комбинирования различных методов физико-химического воздействия на клетки злокачественных опухолей.

Эти факторы определяют **актуальность** диссертационного исследования Алпатовой Виктории Михайловны, **целью** которого стала разработка новых подходов к получению бимодальных противоопухолевых препаратов – конъюгатов мезо-амино-арил и  $\beta$ -амино-порфиринов с карборанами, которые могут проявлять фотодинамическую или борнейтронзахватную терапевтическую активность – ФДТ и БНЗТ.

В качестве **задач** исследования были выбраны (1) разработка методов синтеза amino-замещенных порфиринов, соединенных с карборанами через сульфаниламидные, малеимидные и фторфенильные спейсерные группы; (2) физико-химическая характеристика синтезированных соединений и (3) первичные биологические тесты, определяющие способность конъюгатов связываться с клетками, изучение клеточной локализации и определение возможных механизмов фотодинамического воздействия.

Для решения поставленных задач автором были использованы современные подходы к синтезу и исследованию тетрапирролов и борорганических соединений, фотофизические методы исследования, а также методы цитологии и молекулярной биологии.

Постановка задачи исследования и выбор синтетических подходов базировались на проведенном обзоре современных литературных данных как по синтезу amino-замещенных порфиринов, так и по получению конъюгатов различных порфиринов и хлоринов с карборанами. Выбор спейсерных групп был основан на их фармакофорных характеристиках.

Собственно, диссертационное исследование включало несколько направлений, базирующихся на получении и модификации amino-замещенных порфиринов.

В рамках первого направления предложен подход к получению порфирина, содержащего ацетамидную спейсерную группу.

Вторым направлением было получение конъюгатов порфиринов с карборанами с использованием реакции образования сульфонамидов.

Третье направление включало получение фтор-содержащих производных с использованием реакций восстановительного аминирования и ароматического нуклеофильного замещения. Были предложены подходы к получению конъюгатов, содержащих один или четыре карборанильных фрагмента.

В рамках четвертого направления разработаны методы синтеза  $\beta$ -малеимид-замещенных порфиринов, как синтонов для получения карборанилпорфиринов с использованием реакции присоединения меркапто-замещенных карборанов к активированной двойной связи по Михаэлю. Показано, что с использованием аналогичной реакции также были получены конъюгаты с цистеином. Для получения мезо-малеимид-замещенных конъюгатов была предложена альтернативная стратегия, заключающаяся в получении 3-броммалеимид-карборанов и их взаимодействии с amino-замещенными порфиринами. В данном случае наблюдалось нуклеофильное замещение атома брома аминогруппой вместо присоединения по Михаэлю.

Полученные соединения были охарактеризованы необходимым набором физико-химических методов, включавших масс-спектрометрию, спектроскопию ЯМР, в том числе на гетероядрах, ИК-спектроскопию, электронную спектроскопию поглощения. Для ряда конъюгатов проведено детальное фотофизическое исследование, включающее измерения квантовых выходов и времен жизни флуоресценции, исследование триплетных состояний и генерации синглетного кислорода. Также проведено изучение комплексообразования ряда соединений с

человеческим сывороточным альбумином, как основным переносчиком ксенобиотиков в организме. Наконец, было проведено измерение темновой и световой токсичности конъюгатов и исследована их локализация в клетках, что позволило установить механизм их фотофизического воздействия.

В совокупности, проведенное фотобиологическое исследование позволило продемонстрировать усиление фототоксичности карборанил-замещенных порфиринов по сравнению с не содержащим бора предшественником, и в целом, полученные результаты определяют **практическую значимость** работы. **Перспективы работы** включают дальнейшее исследование синтезированных конъюгатов в качестве препаратов двойного действия для ФДТ и БНЗТ.

Структура диссертационной работы является общепринятой и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов, выводов, списка литературы, содержащего 168 ссылок. Обзор литературы содержит сведения, необходимые для постановки задачи, выбора объектов исследования. Экспериментальная часть и обсуждение результатов содержат подробное описание и обсуждение итогов проведенного исследования. В выводах четко сформулированы полученные результаты. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

При прочтении диссертации не обнаружено принципиальных возражений, затрагивающих научную составляющую настоящей работы. Вместе с тем, хотелось бы сформулировать замечания и задать ряд уточняющих вопросов:

- Для использования синтезированных соединений в медицине в качестве агентов для ФДТ важно, чтобы они могли быть солюбилизированы в биологических средах и при этом сохраняли свою фотофизическую активность. Автор практически ничего не говорит о растворимости и синтезированных порфиринов и конъюгатов в водных средах и способности к генерации  $^1\text{O}_2$  в таких условиях. Подчеркну, что в работе все фотофизические измерения проведены в ДМСО.

- Не ясен смысл проведенных квантово-химических расчетов. Основным выводом по их итогу является утверждение, что карборанил-порфирины "должны быть стабильными как в газовой фазе, так и в растворе, поэтому ожидается, что они будут успешно использоваться в различных областях, включая противоопухолевую терапию". Здесь следует отметить, что сама по себе стабильность в газовой фазе не говорит ни о каких перспективах применения, особенно для комплекса никеля, не

проявляющего никаких практически значимых фотофизических свойств. Стабильность комплексов в растворе в гораздо большей степени подтверждается эмпирически – на основе полученных автором экспериментальных данных по синтезу и успешному выделению соединений.

- На стр. 75 обсуждается спектр  $^{19}\text{F}$ -ЯМР порфирина **43**, где сказано, что о замещении атома фтора в *para*-положении пентафторфенильной группы свидетельствует наличие двух сигналов – dd и уширенного s, хотя можно было бы ожидать появление двух сигналов dd с одинаковыми КССВ. Чем может быть объяснено уширение одного из сигналов и почему сохраняется селективное *para*-замещение при отсутствии ориентирующего действия акцепторного заместителя в продуктах восстановления оснований Шиффа?

- На стр. 84, рис. 3.3 приведен спектр  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY глутатион-замещенного карборана. Следовало бы привести на рисунке отнесение сигналов и отметить наиболее характеристичные кросс-пики.

- На стр. 95 сказано, что "Измерения квантовых выходов синглетного кислорода проводились при высоких концентрациях кислорода в растворах". Каким образом создавалась и контролировалась высокая концентрация кислорода в растворах?

- Представляется некорректным противопоставление периферии порфиринового макроцикла и его  $\beta$ - и мезо-положений (стр. 13).

- Дискуссионный вопрос – насколько корректно по мнению автора использование термина *радиосенсибилизатор* в контексте БНЗТ? Под этим термином чаще понимают агенты, способные образовывать цитотоксичные продукты химических реакций радиолиза, а не продукты ядерных реакций (*Chem. Rev.* **1999**, 99, 2379–2450).

- Из замечаний к оформлению можно отметить некоторые стилистические погрешности, например "...катализ соединениями меди ...не была успешной" (стр. 37); "...приводило к быстрой некротической гибели клеток к быстрому некрозу" (стр. 56); "в пределах малых миллисекунд" (стр. 95), порфирин "**53** был несколько активен" (стр. 100).

Сделанные замечания не умаляют значимости результатов, полученных в диссертационной работе, являющейся законченным исследованием и отличающейся научной **новизной, теоретической и практической значимостью.**

Результаты работы опубликованы в шести статьях в рецензируемых журналах, в том числе и первого квартала, а также представлены на двенадцати профильных конференциях.

Таким образом, диссертационная работа Алпатовой Виктории Михайловны соответствует критериям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук в соответствии с пунктами 9-11, 13, 14 Положения о присуждении ученых степеней (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 в действующей редакции), поскольку в ней **решена научная задача** получения новых карборанил-замещенных порфиринов в качестве потенциальных бимодальных агентов для ФДТ и БНЗТ. Автор работы заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.8 – Химия элементоорганических соединений и 1.4.9 – Биоорганическая химия.

Ведущий научный сотрудник лаборатории  
новых физико-химических проблем  
Федеральное государственное бюджетное  
Учреждение науки Институт физической  
химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН,  
доктор химических наук



Мартынов А.Г.  
15 марта 2022 г.

119071, Москва, Ленинский проспект 31, корп. 4  
E-mail: [Martynov.Alexandre@gmail.com](mailto:Martynov.Alexandre@gmail.com)  
Тел. +7 (495) 955-48-74

Подпись руки

Мартынова Александра Германовича заверяю  
Начальник отдела кадров ИФХЭ РАН



Медведева Е.С.