

УТВЕРЖДАЮ:

Первый проректор

Федерального государственного бюджетного

образовательного учреждения высшего

образования «МИРЭА – Российский

технологический университет»

 Н.И. Прокопов

«15» октября 2021 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет» по диссертации Алпатовой Виктории Михайловны «Карборановые конъюгаты с мезо-арилпорфиринами: синтез и свойства» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.8. – Химия элементоорганических соединений и 1.4.9. – Биоорганическая химия.

Диссертация Алпатовой Виктории Михайловны выполнена в Лаборатории тонкого органического синтеза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН) и на кафедре Химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии имени Н.А. Преображенского Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет».

В 2016 году Алпатова В.М. окончила с отличием Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего

образования «Московский технологический университет» по направлению подготовки 04.04.01 «Химия» (присвоенная квалификация – Магистр). В 2020 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет» (с 2015 г. по 2018 г. – Московский технологический университет) по программе подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по направлению подготовки 04.06.01 «Химические науки» (присвоенная квалификация – Исследователь. Преподаватель-исследователь).

В период подготовки диссертации Алпатова Виктория Михайловна являлась очным аспирантом кафедры Химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии имени Н.А. Преображенского Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет». С 2019 по 2021 г. Алпатова В.М. работала в Лаборатории тонкого органического синтеза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук в должности инженера-исследователя, в настоящее время - в должности младшего научного сотрудника.

Научные руководители: кандидат химических наук, старший научный сотрудник Лаборатории тонкого органического синтеза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук Ольшевская Валентина Антоновна; доктор химических наук, доцент, профессор кафедры химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии имени Н.А. Преображенского Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет» Брагина Наталья Александровна.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2021 году Федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет».

Диссертационная работа Алпатовой В.М. была рассмотрена на заседании кафедры Химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии имени Н.А. Преображенского (выписка из протокола №2 от 30 сентября 2021 г.).

ПРИСУТСТВОВАЛИ: сотрудники и аспиранты кафедры Химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии имени Н.А. Преображенского: зав. кафедрой, д.х.н. Грин М.А., проф., д.х.н. Брагина Н.А., проф., д.х.н. Себякин Ю.Л., проф., д.х.н. Борисова Е.Я., проф., д.х.н. Каплун А.П., проф., д.х.н. Маслов М.А., проф., д.х.н. Иванов И.В., доц., к.х.н. Гроза Н.В., доц., к.х.н. Ларкина Е.А., доц., к.х.н. Коновалова Н.В., доц. Асилова Н.Ю., доц., к.х.н. Зубин Е.М., доц., к.х.н. Буданова У.А., доц., к.б.н. Крашенинников М.Е., доц., к.х.н. Шмендель Е.В., доц., к.х.н. Ежов А.В., асс., к.х.н. Суворов Н.В., асс., к.х.н. Пучков П.А., доц., к.х.н. Яркова Т.А., к.х.н., доц. Морозова Н.Г., ст. преп., к.ф.-м.н. Чешков Д.А., ст. пр. Сивова Н.В., асс. Кирин Н.С., асс. Островерхов П.В., асс. Тихонов С.И., асс. Погорилый В.А., асс. Иванова А.И., асс. Притьмов Д.А., д.м.н. Штиль А.А. (НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина).

Всего присутствовало 29 человек.

Председатель заседания: зав. каф., д.х.н. Грин М.А.

Секретарь заседания: асс. Кирин Н.С.

ПОВЕСТКА ДНЯ: доклад Алпатовой В.М. по диссертационной работе на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.8. – Химия элементоорганических соединений, 1.4.9. – Биоорганическая химия.

СЛУШАЛИ: доклад по выполненной диссертационной работе Алпатовой Виктории Михайловны на тему «Карборановые конъюгаты с мезо-арилпорфиринами: синтез и свойства».

В своем докладе Алпатова В.М. изложила основные результаты работы, подчеркнула актуальность исследования, теоретическую и практическую значимость работы.

В ходе обсуждения были заданы следующие вопросы:

д.х.н., проф. Каплун А.П.

Вопрос: Каково обоснование наличие сульфонида?

Ответ: Сульфонамидные производные проявляют широкий спектр биологической активности, в том числе противоопухолевую: действуют как ингибиторы карбоангидразы CAIX (фермента, сверхэкспрессируемого раковыми клетками).

к.х.н., доц. Гроза Н.В.

Вопрос: Насколько стабильны соединения с малеимидной связью?

Ответ: Полученные нами соединения стабильны в течение года.

д.х.н., зав. каф. Грин М.А.

Вопрос: Для БНЗТ нужен изотоп ^{10}B , как вы собираетесь проводить БНЗТ с помощью синтезированных соединений.

Ответ: Природный бор состоит из двух стабильных изотопов: ^{10}B с концентрацией около 20 ат.% и остальное — изотоп ^{11}B . Этого количества достаточно для предварительных испытаний.

к.б.н., доц. Крашенинников М.Е.

Вопрос: Как были проведены биологические испытания по времени или по дозе? Какие типы клеток? Были ли использованы нормальные клетки. Меняли ли режим облучения?

Ответ: Биологические испытания были проведены по дозе порфиринов, использовали клетки рака толстой кишки человека НСТ116. Сравнение с нормальными клетками не проводили. Использовали 2 режима облучения: лазер длиной волны 420 нм, мощностью дозы 1.5 Дж/см² и 650 нм, 5 Дж/см².

к.х.н., доц. Шмендель Е.В.

Вопрос: У Вас был зафиксирован некроз клеток – это хорошо или нет?

Ответ: В ФДТ гибель раковых клеток обычно происходит по механизму некроза.

д.х.н., проф. Маслов М.А.

Вопрос: Каким образом доказывали, что гибель клеток происходит за счет некроза.

Ответ: Для одновременного мониторинга повреждения митохондрий и гибели клеток в культуру клеток перед освещением добавляли интеркалирующий агент - йодид пропидия (PI). Окрашивание ядер PI является признаком нарушения целостности плазматической мембраны. Мембранный электропотенциал митохондрий резко снижался в первые 1-2 минут после освещения. Этот эффект сопровождался повышением проницаемости клеток для PI. Уже через 5 минут после освещения PI проникал в отдельные клетки; через 10 мин краситель стал отчетливо обнаруживаться в ядрах и околоядерных областях. Таким образом, генерация активных форм кислорода, совпадающая с падением потенциала митохондрий, предшествовала входу PI в освещенные клетки. Хотя карборанилпорфирин **63** не имеет специфического митохондриального накопления, внутриклеточный окислительный “взрыв” при световой активации может повредить митохондрии и, возможно, другие органеллы. Наиболее важно, что проницаемость плазматической мембраны для PI указывает на необратимое фотоповреждение клетки (первичный некроз).

д.х.н., проф. Маслов М.А.

Вопрос: На основании чего выбирали лидерное соединение?

Ответ: Карборанилпорфирин **63** был выбран на основе выраженной фототоксичности, отсутствия темновой цитотоксичности, хорошей проницаемости клеток и хорошей генерации синглетного кислорода в бесклеточной системе.

к.х.н., доц. Гроза Н.В.

Вопрос: Какими методами изучали связывание с альбумином?

Ответ: Растворы порфиринов и человеческого сывороточного альбумина

смешивали и давали уравновеситься перед анализом. Регистрировали спектры поглощения порфиринов в отсутствие или в присутствии ЧСА. Значения константы связывания для комплексов порфирин-ЧСА рассчитывали на основе измерений поглощения при 425 нм с помощью GraphPad Prism 6.

Выступали: д.х.н., проф. Маслов М.А., д.х.н., зав. каф. Грин М.А., д.м.н. Штиль А.А., д.х.н., проф. Брагина Н.А. Отметим большой объем проведенных исследований, их актуальность и практическую ориентированность работы. Рекомендовали работу к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук в диссертационном совете 24.1.161.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН).

По итогам обсуждения работы принято заключение:

Актуальность темы. Тетрапиррольные макрогетероциклы, к числу которых относятся порфирины и металлопорфирины, распространены в природе и находят широкое применение для решения целого ряда задач в технологии, фармакологии и медицине. В последние годы эти соединения активно исследуются в качестве противоопухолевых препаратов, обладающих различным механизмом действия. Прежде всего, это фотосенсибилизаторы (ФС) для фотодинамической терапии (ФДТ) онкологических заболеваний. Метод ФДТ основан на способности ФС селективно накапливаться в ткани опухолей вследствие особенностей биохимии злокачественной клетки и при локальном воздействии лазерного облучения определенной длины волны генерировать синглетный кислород и другие активные радикалы, оказывающие токсический эффект на опухолевые клетки. Преимуществами ФДТ являются многократное применение при необходимости и возможность использовать методику, как в качестве самостоятельного способа лечения, так и в комплексе с другими методами противоопухолевой терапии. Кроме фотосенсибилизирующего действия порфирины могут проявлять и радиосенсибилизирующее действие на злокачественные опухоли. Так,

введение карборанового полиэдра в тетрапиррольные макроциклы дает возможность получать препараты с двойным терапевтическим эффектом, позволяющим воздействовать на опухоль как при облучении светом (ФДТ), так и тепловыми нейтронами (борнейтронозахватная терапия, БНЗТ). Метод БНЗТ основан на избирательном поражении клеток злокачественных опухолей путём накопления в них стабильного изотопа бора-10, который при облучении тепловыми нейтронами образует высокоэнергетические частицы, которые разрушают клетки с борсодержащим веществом. Кроме того известно, что введение борных полиэдров в структуру тетрапиррольных ФС повышает их фотодинамическую активность по сравнению с неборированными аналогами. В связи с вышеизложенным, важное значение приобретает создание новых методологий и подходов к синтезу карборанилпорфиринов и изыскание на их основе новых биологически активных соединений двойного терапевтического действия для ФДТ и БНЗТ. В этом отношении особое внимание привлекают оригинальные методы синтеза, открывающие новые пути функционализации порфиринов по периферии макроцикла структурными фрагментами заданного строения, обладающими способностью к модификации с карборановыми полиэдрами. Кроме того, периферийные заместители могут определять избирательность накопления и другие свойства ФС.

В связи с этим разработка препаратов двойного терапевтического действия для ФДТ и БНЗТ является актуальной задачей не только по причине востребованности подобных систем для практического применения, но и с научной точки зрения.

Степень разработанности темы исследования. Накоплен обширный материал по химии, свойствам и биологической активности в области карборанилпорфиринов в виде публикаций, научных (диссертационных) работ и обзоров в научных журналах. За годы изучения этих соединений было показано, что структурная модификация порфиринового макроцикла позволяет широко варьировать физико-химические свойства порфиринов, что

во многих случаях определяет их биологическую активность. В настоящее время широко изучаются синтетические *мезо*-арилзамещенные порфирины, обладающие большим потенциалом структурных трансформаций. Поэтому приоритетная задача данного исследования состояла в разработке препаративных методов функционализации периферии макроцикла фрагментами заданного строения с целью синтеза новых карборанилпорфиринов, обладающих биологической активностью.

Научная новизна включает следующие основные научные результаты:

— В настоящей работе предложен одностадийный метод синтеза не описанных ранее сульфонамидных карборанилпорфиринов функционализацией аминогруппы 5-(*n*-аминофенил)-10,15,20-трифенилпорфирина карборанилсульфонилхлоридами, полученными *in situ* окислительным хлорированием соответствующих меркаптокарборанов трихлоризоциануровой кислотой.

— Впервые получены фторсодержащие порфирины путем конденсации моно- и тетрааминопроизводных *мезо*-арилпорфиринов с пентафторбензальдегидом и последующим восстановлением полученных оснований Шиффа боргидридом натрия. Показана эффективность полученных соединений в синтезе карборановых конъюгатов при нуклеофильном замещении атома фтора в *пара*-положении *мезо*-арильных групп порфирина соответствующими меркаптокарборанами.

— Разработан метод синтеза 4-(*o*-карборан-1'-ил)тио-2,3,5,6-тетрафторбензальдегида, перспективного синтона для одновременного введения атомов бора и фтора в аминзамещенные порфирины.

— На основе β -аминозамещенных *мезо*-арилпорфиринов (Ar = Ph, C₆F₅, 4-CF₃-C₆H₄) впервые получена и исследована серия β -малеимидзамещенных порфиринов, и изучена их реакционная способность с меркаптокарборанами в условиях реакции Михаэля. Показано, что образующиеся карборанилтиосукцинимидные производные проявляют высокую фотодинамическую активность *in vitro*, которая превышает активность их

неборированных аналогов.

— На основании спектральных исследований показано, что β -малеимидзамещенные и β -карборанилтиосукцинимидзамещенные порфирины имеют высокие константы связывания с альбумином и демонстрируют высокий выход генерации синглетного кислорода, что делает их перспективными ФС для ФДТ рака.

— Разработан метод синтеза 3-бром-1-[*N*-(*o*-карборан-3'-ил)]малеимида, перспективного синтона для одновременного введения карборанового полиэдра и малеимидного фрагмента в аминокпорфирины.

Теоретическая и практическая значимость работы определяется широким практическим потенциалом синтезированных карборановых конъюгатов *мезо*-арилпорфиринов для биомедицинского использования в качестве фото/радиосенсибилизаторов для ФДТ и БНЗТ, а также диагностических агентов.

— Предложены эффективные синтетические стратегии получения карборанилпорфиринов, синтезированных на основе доступных аминзамещенных *мезо*-арилпорфиринов и карборанов с использованием удобных методик.

— Показана эффективность полученных конъюгатов в качестве ФС для ФДТ на биологических объектах *in vitro*.

— Установлено, что конъюгаты *мезо*-арилпорфиринов с карборанами образуют стабильные комплексы с альбумином, основным переносчиком лекарств в организме, что может служить для адресной доставки молекул лекарственных препаратов.

— Выявлены наиболее активные соединения, полученные в настоящей работе, которые перспективны для создания фото/радиосенсибилизаторов для лечения онкологических заболеваний.

Совокупность результатов исследования вносит фундаментальный и практический вклад в решение актуальной проблемы поиска новых

соединений для бинарных противоопухолевых стратегий, таких как ФДТ и БНЗТ.

Личное участие соискателя состоит в непосредственном участии во всех этапах диссертационного исследования: от постановки задач и разработки методов синтеза до выполнения синтетической работы, анализа и публикации результатов.

Достоверность полученных результатов обеспечивалась использованием совокупности современных физико-химических методов установления строения и исследования свойств полученных соединений (ИК-, ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия) на сертифицированном оборудовании. Достоверность фотофизических и биологических исследований подтверждалась сходимостью и воспроизводимостью полученных данных в повторяемых опытах и тестах и использованием точных и надежных методик определения.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем (в соавторстве)

По материалам диссертационной работы опубликовано 18 работ, в том числе 5 статей в научных журналах, включенных в перечень рецензируемых научных журналов ВАК и в международные базы цитирования Scopus и/или Web of Science, 1 статья – в журнале, включенном в РИНЦ, а также 12 тезисов докладов.

Апробация работы

Основные результаты данной работы прошли апробацию на всероссийских и международных конференциях: Юбилейные научные чтения, посвященных 120-летию со дня рождения проф. Н.А. Преображенского (Москва, Россия, 2016); XII, XIII Международная конференция «Синтез и применение порфиринов и их аналогов» (Иваново, Россия, 2016, 2019); XXII, XXIII Всероссийской конференции молодых учёных-химиков (с международным участием) (Нижний Новгород, Россия, 2019, 2020); VI Научная конференция армянского химического сообщества (с

международным участием) «Вызовы XXI века» (Ереван, Армения, 2019); Всероссийская конференция с международным участием «Химия элементоорганических соединений и полимеров 2019» (Москва, Россия, 2019); VIII Международная конференция по физической химии краун-соединений, порфиринов и фталоцианинов (Туапсе, Россия, 2020); Всероссийская конференция с международным участием «Современные проблемы органической химии (СПОХ-2021)», посвященная 90-й годовщине со дня рождения академика В. А. Коптюга (Новосибирск, Россия, 2021); The 45th FEBS CONGRESS (Любляна, Словения, 2021); III Школа-конференция для молодых ученых «Супрамолекулярные стратегии в химии, биологии и медицине: фундаментальные проблемы и перспективы» (Казань, Россия, 2021).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа Алпатовой Виктории Михайловны соответствует паспорту научной специальности 1.4.8. – Химия элементоорганических соединений, в частности, пунктам 1, 2, 5, 7 и паспорту научной специальности 1.4.9. – Биоорганическая химия, в частности, пунктам 4 и 5.

Соответствие диссертации требованиям, установленным п.14 Положения о присуждении ученых степеней

Диссертация и автореферат прошли оценку на наличие неправомерных заимствований в системе «РУКОНТЕКСТ» (www.text.rucont.ru).

Оценка оригинальности:

Диссертация – 95%

Автореферат – 91%

Публикации по теме диссертации:

Статьи, опубликованные в рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК, и индексируемых в базах Scopus и/или Web of Science:

1. Ol'shevskaya V.A. Synthesis of sulfonamide derivatives of carboranyl porphyrins based on 5-(4-aminophenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin and mercapto carboranes / V.A. Ol'shevskaya, V.M. Alpatova, N.V. Konovalova, E.G. Kononova, Y.A. Borisov, E.G. Rys,

E.S. Kolotova, A.A. Shtil // *Macroheterocycles* – 2018. – Vol. 11, № 3. – P. 251–256. (BAK, Scopus, WoS)

2. Ol'shevskaya V.A. Fluorinated derivatives of *meso*-(aminophenyl)porphyrins: Synthesis and some transformation / V.A. Ol'shevskaya, V.M. Alpatova, N.V. Konovalova, E.G. Kononova, E.G. Rys, N.A. Bragina // *J. Porphyr. Phthalocyanine* – 2018. – Vol. 22, № 11. – P. 989–996. (BAK, Scopus)

3. Ol'shevskaya V.A. β -Maleimide substituted *meso*-arylporphyrins: Synthesis, transformations, physico-chemical and antitumor properties / V.A. Ol'shevskaya, V.M. Alpatova, A.S. Radchenko, A.A. Ramonova, A.S. Petrova, V.V. Tatarskiy, A.V. Zaitsev, E.G. Kononova, N.S. Ikonnikov, A.A. Kostyukov, A.E. Egorov, M.M. Moisenovich, V.A. Kuzmin, N.A. Bragina, A.A. Shtil // *Dyes Pigments* – 2019. – Vol. 171. – P. 107760. (BAK, Scopus, WoS)

4. Егоров А.Е. Взаимодействие триплетного состояния модифицированного порфиринового красителя с нитроксильным радикалом / А.Е. Егоров, А.А. Костюков, В.М. Алпатова, В.А. Ольшевская, В.А. Кузьмин // *Хим. Выс. Энергий* – 2021. – Т. 55, № 1. – С. 98–100. (BAK, Scopus)

5. Ol'shevskaya V.A. Synthesis of maleimide-functionalized carboranes and their utility in Michael addition reactions / V.A. Ol'shevskaya, V.M. Alpatova, A.V. Makarenkov, E.G. Kononova, A.F. Smol'yakov, A.S. Peregudov, E.G. Rys // *New J. Chem.* – 2021. – Vol. 45. – P. 12159-12167. (BAK, Scopus, WoS)

Статьи, опубликованные в рецензируемых журналах, входящих в перечень РИНЦ

1. Zaitsev A.V. Photosensitizers based on carborane conjugates of *meso*-arylporphyrins/chlorines and dipyrromethenes for photodynamic and boron neutron capture therapy / A.V. Zaitsev, V.M. Alpatova, V.A. Ol'shevskaya // *INEOS OPEN* – 2020. – Vol. 3, № 6. – P. 188–199.

Постановили:

1. Считать, что диссертационная работа Алпатовой В.М. выполнена на актуальную тему и является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена задача разработки эффективных подходов к синтезу конъюгатов *мезо*-аминоарилпорфиринов и β -аминозамещенных порфиринов с карборанами и изучение их свойств в качестве ФС для терапии

злокачественных новообразований. Полученные данные обладают практической значимостью для разработки новых фотосенсибилизаторов.

Диссертация соответствует требованиям, установленным п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 (с изменениями, внесенными Постановлением Правительства РФ № 426 от 20.03.2021 г. и № 1539 от 11.09.2021 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям.

2. Диссертационная работа Алпатовой В.М. на тему «Карборановые конъюгаты с мезо-арилпорфиринами: синтез и свойства» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.8. – Химия элементоорганических соединений и 1.4.9. – Биоорганическая химия.

Заключение принято на заседании кафедры Химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии имени Н.А. Преображенского ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет».

Присутствовало 29 человек, кандидатов и докторов наук – 21 человек. В процедуре голосования приняли участие 21 человек.

Результаты голосования: «За» - 21 чел., «против» - 0 чел., «воздержалось» - 0 чел., протокол №2 от 30 сентября 2021 г.


Заведующий кафедрой ХТБАС МиОХ

д.х.н.


Грин М.А.

Ученый секретарь кафедры

асс.


Кири́н Н.С.

    
Начальник управления
Управление
13