

О Т З Ы В

официального оппонента на диссертацию Латышевой Александры Степановны
«Исследование противоопухолевой активности оксазолиновых производных
андрост-16-ена и 21-норпрегн-17(20)-ена», представленную на соискание
ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4. -

биохимия

Одним из популярных и востребованных направлений современной биохимии является изучение биологической активности новых стероидных производных, обладающих фармакологическим потенциалом, в частности – противоопухолевой активностью. Среди таких производных значительный интерес представляют производные [17(20)E]-прегнена и 16-андростена, содержащих оксазолиновый заместитель. Работа А.С. Латышевой является успешным примером исследования противоопухолевой активности и фармакологического потенциала наиболее перспективных соединений из новой серии азотсодержащих стероидов, что представляется **важным и актуальным**. А учитывая недостаточную разработанность данного научного направления, можно считать, что представленные в диссертации данные характеризуются значительной **научной новизной**.

Во “ВВЕДЕНИИ” автором обоснована актуальность темы диссертации, сформулирована ее общая цель и поставлены конкретные задачи исследования, которые были последовательно решены в ходе выполнения работы.

Раздел “ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ” посвящен современному состоянию исследований в области азотсодержащих стероидных гибридов – потенциальных противоопухолевых агентов, имеющих перспективу использования для лечения РПЖ. Наиболее изученными представителями этих азотсодержащих стероидных гибридов являются абиратерон и галетерон. В обзоре обсуждаются работы, опубликованные за последнее десятилетие, в которых исследовались эффекты абиратерона, галетерона, их

метаболитов, структурных аналогов и производных на стероидогенез, функцию андрогенового рецептора (AR), а также на AR-зависимые и AR-независимые сигнальные пути клетки, измененные при РПЖ. В обзоре также приведены структуры новых азотсодержащих стероидных гибридов с высокой антипролиферативной активностью в клетках карциномы простаты, которые, однако, нуждаются в дальнейшем изучении.

Обзор свидетельствует о широкой эрудии и свободной ориентировке автора в море научной литературы, посвященной этой проблеме. В отличие от ранее опубликованных обзоров по сходной тематике ([8 – 15, 17 – 23]), в данном обзоре структура и функция основных мишней для абираперона и галетерона – CYP17A1 и AR – обсуждаются очень кратко; вместе с тем подробно цитируются новые работы, в которых исследованы эффекты галетерона и его производных на сигнальные и регуляторные пути клетки, измененные при онкотрансформации. В обзоре явно прослеживается желание автора подчеркнуть полифункциональность азотсодержащих стероидных гибридов, важность поиска их новых биомишней и выяснения механизмов, ответственных за их противораковую активность.

При цитировании работ, посвященных влиянию азотсодержащих стероидных гибридов на сигнальные и регуляторные пути клетки, упоминается большое количество различных регуляторных белков, что затрудняет чтение обзора. Однако наименования этих белков внесены в список сокращений, а при наличии необходимой справочной литературы, читатель должен согласиться с логикой изложения основных положений обзора.

В целом обзор производит хорошее впечатление и вводит читателя в круг проблем, которым посвящена основная часть диссертации.

В разделе “МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ” приведены характеристики реагентов и материалов, использованных в работе; экспериментальные методики синтеза соединений 190, 217, 223 – 227; условия регистрации спектров поглощения, ЯМР и МСВР; компьютерные методы расчета

молекулярных моделей; условия проведения хроматографии (КЖХ, ТСХ, ВЭЖХ); методика оценки активности CYP17A1; характеристики клеточных культур; методы проведения экспериментов в культуре клеток; протоколы работы с лабораторными животными; методы статистической обработки данных.

Данные этого раздела диссертации позволяют заключить, что все эксперименты проведены на высоком методическом уровне, а полученные результаты достоверны.

В первой главе раздела “РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ” приведены результаты первичного скрининга антитрополиферативной активности 38 новых азотсодержащих стероидных гибридов в клетках карциномы простаты. Эти гибиды, различающиеся структурой стероидного фрагмента и азотсодержащего гетероцикла, были синтезированы с целью поиска новых потенциальных противораковых агентов. Автором была проведена большая экспериментальная работа, в результате которой: 1) для всех соединений были получены значения IC₅₀ (в клетках LNCaP и PC-3 в условиях 96 ч инкубации); 2) установлена корреляция структура-антитрополиферативная активность в ряду исследованных соединений; 3) на основании проведенных экспериментов для дальнейших исследований были выбраны два наиболее перспективных соединения – производные 21-норпрегн-17(20)-ена и андрост-16-ена, содержащие 2'-оксазолиновый фрагмент (**190** и **217**).

Во второй главе проведено сравнение способности соединений **190**, **217**, **223** – **227** и абиатерона **1** ингибировать активность CYP17A1 и построены компьютерные модели соответствующих фермент-ингибиторных комплексов. Показано, что оксазолины **190** и **217** ингибируют активность CYP17A1 так же эффективно, как абиатерон **1**, а введение метильного или фенильного заместителя в положение 4'- оксазолинового цикла резко снижает ингибиторную активность. Модели фермент-ингибиторных комплексов для соединений **217**, **223** – **227**, построенные методом молекулярного докинга, хорошо согласуются с полученными

экспериментальными данными. Для фермент-ингибиторного комплекса CYP17A1-**190** были предложены две альтернативные модели. Первая модель (построенная методом молекулярного докинга) предусматривает превращение 17(20)*E*-изомера **190** в соответствующий виртуальный 17(20)*Z*-изомер **190a**, реализуемое при связывании **190** в активном центре фермента; вторая модель (построенная методом равновесной молекулярной динамики) предусматривает образование фермент-ингибиторного комплекса CYP17A1-**190**, в стабилизации которого участвует молекула воды.

В третьей главе проведено сравнение эффектов оксазолинов **190**, **217** и абиатерона **1** на жизнеспособность и апоптоз гормон-независимых клеток карциномы простаты PC-3 и DU-145 в различных условиях. Данные проточной цитофлуориметрии свидетельствуют что оксазолины **190** и **217** эффективно подавляют рост и пролиферацию клеток и являются более сильными цитотоксическими и про-апоптотическими агентами чем абиатерон **1**. Полученные данные позволяют предположить, что основной причиной цитотоксичности оксазолинов **190** и **217** является их про-апоптотический эффект.

В четвертой главе проводилось сравнительное исследование оксазолина **190** и абиатерона **1** в экспериментах *in vivo*. При пероральном введении мышам C57BL/6 биодоступность оксазолина **190** превышала биодоступность абиатерона более чем в 20 раз; при пероральном введении мышам C57BL/6 оксазолин **190** снижал уровень тестостерона не менее эффективно, чем абиатерон **1**; при пероральном введении оксазолин **1** (в концентрации 300 мг/кг) подавлял рост ксеногraftов (полученных подкожным введением мышам Balb/c nude клеток карциномы простаты человека DU-145 и 22Rv1), а абиатерон **1** оказался неэффективным.

На основании анализа текста работы и публикаций автора можно заключить, что цель работы, сформулированная в постановочной части, автором достигнута, а сопутствующие ей задачи выполнены. Представленные в работе научные положения, выводы и рекомендации

являются обоснованными. Имеющиеся публикации **полностью отражают** содержание диссертации.

Работа практически лишена методических, синтетических и серьезных оформительских недостатков. Тем не менее, по диссертации имеются некоторые вопросы и частные замечания:

1. Рисунок 31 (стр. 51), на котором представлена схема синтеза соединений **223 – 227** представляет собой копию рисунка из статьи [Latysheva et al., JSBMB, 2023] (что само по себе нормально), однако обозначения соединений (соответствующие таковым в статье) не были изменены в соответствии с обозначениями тех же соединений в диссертации.
2. В тексте диссертации на рисунках 43 – 47 обозначение осей приведено на английском языке, а в автореферате на соответствующих рисунках (12 – 16) – на русском.
3. На рисунке 47 (стр. 89) не проставлены обозначения А и В, хотя в подписи к этому рисунку они присутствуют.
4. Содержание оксазолина **190** и абиатерона **1** в плазме крови мышей, а также эффекты оксазолина **190** и абиатерона **1** на уровень тестостерона в плазме крови мышей представлены на графиках (рис.52, стр. 92 и рис.53, стр. 93). Представленные данные не вызывают сомнения, однако в текст следовало бы вставить соответствующие экспериментально полученные численные значения).

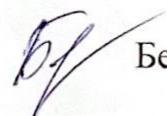
В целом, несмотря на отмеченные замечания, диссертационное исследование А.С. Латышевой ««Исследование противоопухолевой активности оксазолиновых производных андрост-16-ена и 21-норпрегн-17(20)-ена» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой исследована противоопухолевая активность и оценен фармакологический потенциал новых азотсодержащих стероидных производных и выявлены новые перспективные соединения-кандидаты для предклинических и клинических испытаний. Работа удовлетворяет всем

требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям «Положением о присуждении учёных 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; от 11.09.2021 г. № 1539), а её автор – Латышева Александра Степановна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – биохимия.

Официальный оппонент:

профессор, заведующая лабораторией биологически активных органических соединений химического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», доктор химических наук по специальности 1.4.3 (02.00.03) - Органическая химия

15 апреля 2024 г.



Белоглазкина Елена Кимовна

Контактные данные: Раб. тел.: +7(495)9391234; e-mail: bel@org.chem.msu.ru

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

Подпись Белоглазкиной Е.К. заверяю
И.о. декана химического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова
профессор РАН

Карлов С.С.

