

Отзыв

на автореферат диссертационной работы

Киселевой Марины Петровны

«Новые N-гликозиды индоло[2,3-а]пирроло[3,4-с]карбазолов: противоопухолевые свойства и механизм действия», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.12 – Онкология

Рецензируемая работа посвящена исследованию противоопухолевых свойств и изучению механизма действия новых соединений из класса биологически активных производных N-гликозид замещенных индолокарбазолов, синтезированных в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Целесообразность и перспективность диссертационной работы М.П. Киселевой направлена на решение актуальной задачи - создание оригинального отечественного противоопухолевого препарата.

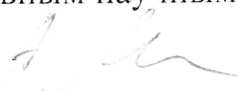
Автореферат отражает продуманное изложение научного исследования, соответствующего критериям актуальности, обоснованности, достоверности, научной и практической новизны. Исследование проводилось с использованием методов оценки цитотоксического эффекта препаратов *in vitro*, химиотерапевтических исследований на животных *in vivo*. Применялись современные методы исследования молекулярных механизмов действия препаратов, связанных с антипролиферативным эффектом и индукцией апоптоза. Использовались биотехнологии для разработки лекарственных форм препаратов. Среди наиболее важных результатов следует отметить:

- проведение скрининга среди производных индолокарбазолов позволило обнаружить лидирующее соединение ЛХС-1208;
- изучение механизма действия показало полное ингибирование под влиянием ЛХС-1208 активности топоизомеразы I и интеркаляцию препарата в двухцепочечную ДНК;
- разработана оптимально устойчивая лекарственная форма ЛХС-1208 для доклинического изучения.

В ходе анализа связи «структура - активность» автор предлагает объективный подход к синтезу перспективных производных индолокарбазолов с большей избирательностью действия и меньшей токсичностью. На основании исследований прототипов лекарственных форм ЛХС-1208 в эксперименте, автор рекомендует использовать лекарственные формы для новых биологически активных препаратов или их аналогов с улучшенными по сравнению с исходными прототипами свойствами. Автор предполагает эффективность ЛХС-1208 в клинике при злокачественных опухолях толстой кишки, учитывая, что разработанный препарат является ингибитором активности топоизомеразы I, обладает высокой цитотоксической активностью на клетках рака толстой кишки человека НСТ-116 и LS174Т, а также более активен, чем его функциональный аналог иринотекан.

Основные положения работы обсуждались на ряде конференций. По материалам диссертации опубликовано 7 статей в изданиях из списка ВАК, получено 2 патента на изобретение.

Представленная на основании автореферата диссертационная работа Киселевой Марины Петровны отвечает требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024 и от 01 октября 2018 г. № 1168), а ее автор заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.12 – онкология.

Заместитель генерального директора по перспективным научным разработкам
ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России, проф.д.м.н.  Максимов А.Ю.

344 037. Ростов-на-Дону, 14-линия, 63,
Телефон/факс (863) 300-30-05, тел. 253-81-90, почта: rnioi@list.ru

Подпись профессора Максимова А.Ю. удостоверяю.
Ученый секретарь ФГБУ «РНИОИ»
Минздрава России д.б.н., доцент

 Дженкова Е.А.

О Т З Ы В

на автореферат диссертации Киселёвой Марины Петровны
**“Новые N-гликозиды индоло[2,3-а]пирроло[3,4-с]карбазолов:
противоопухолевые свойства и механизм действия”**,
представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук
по специальности 14.01.12 — онкология.

Диссертация Киселёвой Марины Петровны посвящена актуальной проблеме фундаментального естествознания на стыке биоорганической химии, медицинской химии, химии природных соединений, фармакологии, клеточной биологии и онкологии — созданию и изучению механизма действия противоопухолевых лекарственных соединений нового поколения, отвечающих требованиям современной медицинской науки.

В последние годы большое внимание уделяется развитию, так называемой «мишень-направленной» (таргетной) терапии, которая предусматривает выбор и изучение действия перспективных соединений в отношении внутриклеточных мишеней, воздействие на которые приводит к необратимому нарушению жизнедеятельности опухолевых клеток при минимальном повреждении неопухолевых. Важнейшая задача такого направленного противоопухолевого воздействия — создание новых молекул-прототипов лекарств и исследование механизмов их цитотоксичности.

Одной из заявленных задач проведённых исследований было изучение механизма противоопухолевого действия отобранного, лидерного препарата. В данной работе в качестве такого объекта исследования рассматривается противоопухолевый эффект и механизм действия соединения ЛХС-1208 — нового лекарственного препарата на основе углеводсодержащего производного индоло[2,3-а] пирроло[3,4-с]карбазола. Ранее уже неоднократно отмечалось мишень-направленное действие целого ряда индолокарбазолов в отношении ферментов топоизомераз I и II, а также дуплекса ДНК (Shchekotikhin A.E. et al., 2014; Деженкова Л.Г. и др., 2008). Таким образом, автор только подтверждает наличие в клетке тех же мишеней направленного действия у выбранного им соединения, как и у других производных индолокарбазолов.

Для изучения влияния соединения ЛХС-1208 на активность топоизомеразы I автор приводит методику проведения реакции релаксации суперскрученной плазмидной ДНК под действием этого фермента. Однако необходимо заметить, что этот эксперимент проводился *in vitro*, что, к сожалению, не может служить доказательством того, что механизм ингибирующего действия тестируемого соединения сохранится в клетке. К тому же надо принять во внимание, что проведённый эксперимент может показать только наличие или отсутствие эффекта ингибирования активности топоизомеразы I. При этом он

не отвечает на вопрос, по какому именно механизму действует соединение ЛХС-1208, ингибируя эту активность: специфически с образованием тройного, ковалентного комплекса, подобно камптотецину и его производным или неспецифически, являясь косвенной причиной замедления биологического цикла действия изучаемого фермента. Тогда насколько правомерен выбор в качестве препарата сравнения в экспериментах *in vivo* именно иринотекана – известного специфического ингибитора топоизомеразы I? При этом автор называет соединение ЛХС-1208 или его «клиническим прототипом» (см. вывод 8, стр.21), или «функциональным аналогом» (см.стр.22), голословно утверждая, что механизм его действия в клетке в отношении топоизомеразы I соответствует механизму действия иринотекана.

На стр. 16 Киселева М.П. делает вывод, что «ЛХС-1208 в микромолярных концентрациях ингибирует ядерный белковый фермент топоизомеразу I, **необходимую для образования комплекса с разорванной спиралью опухолевой ДНК во время процесса репликации**». Во-первых, так как в данном случае речь идёт именно о топоизомеразе I, то она вносит разрывы только одной из цепей дуплекса ДНК без затрат энергии в форме АТФ, и при этом никакого «комплекса с разорванной спиралью ДНК» не образуется. Во-вторых, сам процесс репликации молекулы ДНК не подразумевает образования комплекса между этой молекулой, тем более с разорванной спиралью, и ферментом топоизомеразой I. Основная задача этого фермента – изменение топологии ДНК, необходимое для облегчения расплетания цепей двойной спирали молекулы ДНК в процессах репликации и транскрипции. Возможно, автор имел в виду образование тройного, ковалентного комплекса «ДНК-ингибитор-фермент» при специфическом ингибировании топоизомеразы I противоопухолевым агентом, при котором соединение-ингибитор фиксирует временно образованный разрез, произведённый топоизомеразой I, препятствуя лигированию цепи ДНК. Однако, как указывалось выше, проведённый эксперимент с окрашиванием геля бромистым этидием после проведения электрофореза продуктов реакции релаксации суперскрученной ДНК, к сожалению, не может служить доказательством наличия у исследуемого соединения именно этого механизма ингибирования, так как по нему нельзя судить о наличии или отсутствии разрывов кольцевой формы ДНК, произведённых в присутствии соединения ЛХС-1208.

Также не понятно, кем именно были проведены эксперименты по изучению механизма противоопухолевого действия ЛХС-1208? Почему в отличие от изучения цитотоксической активности *in vitro* и изучения эффективности препарата ЛХС-1208 на подкожных ксенографтах рака ободочной кишки человека SW620 *in vivo*, где указаны конкретные исполнители данных исследований, при изучении механизма

