

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента**

**д.б.н., гл.н.с. ИБХФ РАН Островской Ларисы Анатольевны  
на диссертационную работу 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»**

Диссертация М.П.Киселёвой посвящена исследованию противоопухолевых свойств и механизма действия новых препаратов, относящихся к классу биологически активных соединений N-гликозид замещенных индолокарбазолов.

### **АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Выбор объекта исследования определил несомненную актуальность диссертационной работы М.П.Киселёвой, направленной на решение важнейшей медико-биологической проблемы создания нового оригинального отечественного противоопухолевого препарата.

К настоящему времени известны многочисленные исследования соединений класса N-гликозид замещенных индоло[2,3-а]пирроло[3,4-с]карбазолов, свидетельствующие о перспективности изучения этих веществ в качестве потенциальных противоопухолевых препаратов.

Интерес к препаратам этого ряда обусловлен, прежде всего, предполагаемым мультитаргетным механизмом их противоопухолевого эффекта. Показано, что производные индолкарбазолов вызывают повреждения структуры ДНК путём интеркаляции, являются ингибиторами топоизомераз, контролирующими процессы репликации, транскрипции и репарации ДНК, а также ингибиторами киназ, в частности, киназы CDK-1 и протеинкиназы C, участвующих в передаче внутриклеточных пролиферативных сигналов.

В развитие данного направления исследований автором впервые проведен скрининг 10 новых производных N-гликозидов индоло[2,3-а]пирроло[3,4-с]карбазолов, полученных в лаборатории химического синтеза

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, отобрано лидирующее соединение ЛХС-1208, проведено его углублённое доклиническое изучение на широкой панели перевиваемых опухолей животных и на ксенографтах опухоли человека *in vivo*, определена цитотоксическая активность препарата *in vitro*. Наряду с этим автором разработана оптимальная лекарственная форма соединения ЛХС-1208, изучены важные аспекты механизма действия препарата.

#### **ОБОСНОВАННОСТЬ НАУЧНЫХ ПОЛОЖЕНИЙ, ВЫВОДОВ И РЕКОМЕНДАЦИЙ, СФОРМУЛИРОВАННЫХ В ДИССЕРТАЦИИ**

Всё вышеизложенное свидетельствует о том, что диссертацию М.П.Киселёвой наряду с актуальностью избранной темы исследования отличает разносторонний подход к решению поставленных задач, высокий теоретический и экспериментальный уровень работы, несомненная новизна и научно-практическая значимость полученных автором результатов.

Диссертационная работа М.П.Киселёвой изложена на 176 страницах машинописного текста, состоит из 8 глав, включающих введение, обзор литературы, методическую часть, 6 глав, содержащих описание результатов собственных исследований и их обсуждение, а также выводы и библиографический указатель. Библиография работы весьма обширна, включает 200 публикаций отечественных и иностранных исследователей. Диссертация проиллюстрирована 40 рисунками и 48 таблицами. Основные положения диссертации сформулированы в виде 8 выводов. Выводы диссертации вытекают из результатов работы, соответствуют цели и задачам исследования, являются научно обоснованными и практически значимыми.

Необходимо подчеркнуть, что все научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, базируются на экспериментальном материале, выполненном на современном методическом уровне с исключительной тщательностью, и являются обоснованными.

Все представленные в диссертации исследования выполнены лично диссертантом или при непосредственном участии автора.

Рассматривая работу М.П.Киселёвой, следует, прежде всего, отметить исключительно содержательный обзор литературы, представляющий самостоятельный научный интерес. Автором обобщён и критически проанализирован обширный литературный материал, связанный с описанием строения и физико-химических свойств соединений группы индолокарбазолов, характеристикой природных источников получения индолокарбазолов и их биологических свойств. В обзоре приводятся также данные экспериментального и клинического исследования антипролиферативной активности производных индолокарбазолов, рассматриваются возможные механизмы противоопухолевого действия препаратов и рациональные подходы к созданию новых лекарственных средств на основе производных индолокарбазолов.

Глубокий теоретический анализ имеющихся литературных данных по производным индолокарбазолов позволил М.П.Киселёвой чётко сформулировать задачи собственных исследований и привлечь адекватные современные методические приёмы для их реализации, что является несомненным достоинством диссертации.

Диссертантом продемонстрировано профессиональное владение широким спектром современных методов онкобиологии. В работе использованы разнообразные приёмы фармакотерапевтических и химиотерапевтических исследований на животных *in vivo*, методы изучения цитотоксического эффекта препаратов *in vitro*, молекулярных механизмов действия препаратов, связанных, в частности, с их антипролиферативным эффектом и индукцией апоптоза, и, наконец, технологии, применяемые при разработке лекарственных форм препаратов.

В результате проведенных исследований, диссертантом установлен ряд новых научных фактов, характеризующих действие N-гликозид замещенных индолокарбазолов и имеющих принципиальное значение для создания на их основе нового лекарственного средства.

Проведенный автором скрининг в ряду новых производных N-гликозидов индоло[2,3-а]карбазолов позволил обнаружить противоопухолевую активность некоторых из них в отношении перевиваемых опухолей мышей - лимфолейкоз Р388 (Р388), карцинома лёгких Льюис (LLC), меланома В16 (В16), выявить зависимость эффекта от дозы препаратов и отобрать для дальнейшего изучения *in vivo* наиболее эффективное соединение ЛХС-1208.

Дальнейшее углублённое исследование ЛХС-1208 позволило выявить высокую чувствительность к препарату аденокарциномы Акатол мышей, показать эффективность соединения на модели ксенографтов опухоли человека SW620 (на мышах Balb/c/nude), установить высокую цитотоксическую активность препарата на клеточных линиях рака толстой кишки человека НСТ-116 и LS174Т.

Существенное значение для понимания механизма действия производных индолокарбазолов имеет проведенное автором исследование молекулярных механизмов противоопухолевого действия ЛХС-1208.

Определены мишени действия препарата. Показано полное ингибирование под влиянием ЛХС-1208 активности топоизомеразы I и интеркаляция препарата в двухцепочечную ДНК, причём установлено, что одна молекула ЛХС-1208 занимает участок в дуплексе ДНК, соответствующий 4-5 нуклеотидным остаткам.

Одним из важнейших результатов диссертации М.П.Киселёвой является разработка состава и технологии получения лекарственной формы препарата ЛХС-1208 в виде лиофилизата для внутривенного применения («ЛХС-1208, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций 9 мг»). Этот раздел работы представляет самостоятельный интерес с точки зрения перспектив клинического изучения препарата и его фармацевтического производства.

Несомненным достоинством работы является выявление автором оптимальной схемы применения разработанной инъекционной лекарственной формы ЛХС-1208.

Получены убедительные экспериментальные доказательства высокой противоопухолевой активности предложенной лекарственной формы препарата на моделях гемобластозов (лейкоз Р388, лимфоденоз L5178Y) и солидных опухолей мышей (аденокарцинома Акатол, карцинома лёгких Льюис, меланома В16, рак шейки матки РШМ5).

Более того, на модели ксенографтов опухоли человека SW620 показано, что препарат ЛХС-1208 превосходит по уровню и длительности эффекта клинический прототип, препарат сравнения - иринотекан, являющийся ингибитором топоизомеразы I.

#### **ДОСТОВЕРНОСТЬ И НОВИЗНА РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Диссертация М.П.Киселёвой содержит большой экспериментальный материал, глубокий анализ имеющихся в литературе и полученных в работе данных, выполнена на современном методическом уровне. Результаты исследования М.П.Киселёвой обладают несомненной достоверностью и новизной.

В целом, диссертационная работа М.П.Киселёвой представляет собой самостоятельное законченное научное исследование, обладающее несомненной актуальностью, имеет неоспоримую научную и практическую ценность и заслуживает высокой оценки.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, диссертация Киселевой Марины Петровны «Новые N-гликозиды индоло[2,3-а]пирроло[3,4-с]карбазолов : противоопухолевые свойства и механизм действия» », представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием, которое содержит решение актуальной задачи в области онкологии - создания нового оригинального отечественного противоопухолевого препарата.

По материалам диссертации опубликовано 17 научных работ, в том числе 7 научных статей в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, получено 2 патента на изобретения РФ.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

По новизне, научной и практической ценности полученных результатов диссертация соответствует п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335 и от 28 августа 2017 года №1024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, М.П. Киселева, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.12 – Онкология.

Главный научный сотрудник  
Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки РАН  
Института биохимической физики  
им. Н.М.Эмануэля РАН (ИБХФ РАН)  
Доктор биологических наук

Л.А.Островская

Подпись главного научного сотрудника,  
доктора биологических наук Л.А.Островской  
заверяю

Учёный секретарь ИБХФ РАН  
Кандидат химических наук



С.И.Скалацкая

Москва, 119334, ул. Косыгина, дом 4  
Телефон: (499) 137-64-20  
E-mail:ibcp@sky.chph.ras.ru