

УТВЕРЖДАЮ

И.о. первого проректора —
проректора по научной
работе РУДН,

А.С. Борисова



2025г.

ОТЗЫВ

ведущей организации - Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» о научно-практической значимости диссертации Карут Рауды на тему «Цитотоксические свойства производных дегидрозингерона и доксорубина, содержащих фрагмент пиридоксина», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Актуальность темы диссертации

В настоящее время фундаментальными проблемами в разработке эффективных противоопухолевых препаратов и использовании препаратов, уже вошедших в клинику, являются высокая токсичность, низкая избирательность действия и быстрое формирование лекарственной устойчивости к ним опухолевых клеток. Диссертационная работа Карут Рауды посвящена поиску фундаментальных основ разработки нового поколения малотоксичных и эффективных противоопухолевых средств на основе витамина B6 (пиридоксина). Диссертантом исследованы цитотоксические свойства новых гибридных структур на основе пиридоксина и природного алкалоида дегидрозингерона, обладающего противоопухолевыми свойствами, а также свойства конъюгатов известного противоопухолевого агента доксорубина с фрагментом молекулы пиридоксина. Тема данного исследования, связанная с поиском новых, более эффективных и безопасных кандидатов в противоопухолевые лекарственные средства, несомненно, является актуальной.

Связь работы с планами соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ НОЦ фармацевтики ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

Работа поддержана грантами РФФИ 20-33-70175 «Фундаментальные основы разработки высокоэффективных противоопухолевых средств на основе витамина В6 для терапии опухолей с множественной лекарственной устойчивостью» (2019-2020), субсидиями, выделенными Казанскому федеральному университету для выполнения проектной части государственного задания в сфере научной деятельности, № 0671-2020-0053 (2021-2022) и № FZSM-2023-0010 (2023-2024).

Научная новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Новизна работы связана с выбором объекта исследования – новых пиридоксинсодержащих аналогов дегидрозингерона и производных доксорубина и полученными данными об их действии на клетки человека. Автором предложены подходы к химической модификации доксорубина и дегидрозингерона с получением их пиридоксинсодержащих производных.

В настоящем исследовании впервые изучены цитотоксические свойства производных доксорубина и структурных аналогов дегидрозингерона, содержащих фрагмент пиридоксина, в экспериментах на опухолевых и условно-нормальных клетках, установлен профиль цитотоксичности и безопасности, получены количественные данные о цитотоксических концентрациях и индексах селективности.

Впервые показано, что дегидрозингерон и его структурные аналоги DZG-1 и DZG-2, содержащие фрагмент пиридоксина, обладают мембраномодулирующей активностью, изменяют трансмембранный потенциал и микровязкость цитоплазматической мембраны клеток человека, способствуя внутриклеточному накоплению цитостатиков. Выявленный *in vitro* синергетический эффект позволил автору предложить схемы комбинирования DZG-1 и DZG-2 с доксорубином и винбластином для усиления их цитотоксической активности.

Установлено, что цитотоксическое действие аналогов дегидрозингерона DZG-1 и DZG-2 *in vitro* сопровождается генерацией активных форм кислорода в опухолевых клетках и снижением трансмембранного потенциала митохондрий,

что способствует запуску апоптоза преимущественно по митохондриальному пути.

Для новых производных доксорубина DOX-1 и DOX-2, содержащих фрагмент пиридоксина, автором установлено, что в отличие от доксорубина, эти соединения не проникают в ядра опухолевых клеток и не взаимодействуют с ДНК, но активируют преимущественно митохондриальный путь апоптоза. Показано, что природа линкера между молекулой доксорубина и фрагментом пиридоксина влияет на избирательность цитотоксического действия соединений

Значимость результатов диссертации для медицинской науки и практики

Результаты проведенного исследования имеют несомненную практическую значимость и представляют интерес для биохимии, молекулярной биологии и фармакологии. Полученные в диссертационной работе Карут Р. результаты позволяют заключить, что новые конъюгаты доксорубина и пиридоксина могут стать более безопасной альтернативой традиционной химиотерапии, сохраняя при этом антипролиферативную активность и потенциально способствуя программируемой гибели опухолевых клеток. Также автором показано, что аналоги дегидрозингерона на основе пиридоксина могут с успехом применяться для усиления антипролиферативной активности широкого круга известных лекарственных средств, в частности, доксорубина и винбластина.

Личный вклад автора

Личный вклад Карут Рауды состоит в непосредственном участии во всех этапах выполнения диссертационного исследования.

Автором разработан дизайн исследования, определены цель и задачи, сформирован перечень необходимых методов исследования и проведены все этапы экспериментального выполнения работы. Автором лично выполнен статистический анализ полученных результатов и формулирование выводов.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Полученные диссертантом результаты и выводы рекомендуется учитывать в практике разработки кандидатов в противоопухолевые лекарственные средства, оценке их безопасности и эффективности. Полученные диссертантом результаты можно рекомендовать к использованию в ходе реализации НИР в области разработки лекарств в следующих организациях: ФГБУН «Казанский институт биохимии и биофизики - обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, ФГБУ «Государственный научный центр Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России», ФГБУ

«НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, ФГБУН «Институт физиологически активных веществ Российской академии наук», ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий». Результаты, полученные диссертантом, могут также быть использованы при подготовке лекционных и практических курсов для студентов-биологов.

Достоверность результатов работы, обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

Диссертационное исследование построено согласно четко разработанному дизайну, позволяющему достичь поставленную цель при реализации поставленных задач. Научные положения, выносимые на защиту, выводы, сделанные в работе, основаны на большом объеме экспериментальных данных, полученных с привлечением современных методов биохимии и клеточной биологии. Полученные автором результаты достоверны, подкреплены соответствующим статистическим анализом и сопоставлены с имеющимися в литературе сведениями, выводы и заключения обоснованы и соответствуют поставленным задачам. Содержание автореферата отражает основные положения диссертации.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению

Диссертация Карут Рауды изложена на 203 страницах, состоит из введения, обзора литературы, главы материалы и методы исследования, двух глав описания результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Диссертация содержит 15 таблиц и 54 рисунков. Список литературы представлен 216 источниками, преимущественно опубликованных за последние 5 лет, из них 30 отечественных и 186 иностранных авторов.

Во введении автор обосновывает актуальность выбранной темы, формулирует цели и задачи, обозначает научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, положения, выносимые на защиту, степень достоверности, указывает личный вклад в проведении исследования и апробацию результатов исследования.

В первой главе Карут Рауда анализирует литературные данные, раскрывая проблему зависимости «структура-функция» для куркумина, его структурного аналога дегидрозингерона, доксорубина и пиридоксина (потенциальной основе для разработки гибридных лекарств), обсуждает их достоинства и недостатки для противоопухолевого действия и для создания оптимальных

аналогов с такими свойствами, демонстрируя актуальность выбранной темы исследования.

В главе «Материалы и методы» представлены методы проточной цитофлуориметрии (оценка клеточного цикла и типа гибели клеток; оценка трансмембранного потенциала и внутриклеточного уровня активных форм кислорода; оценка накопления доксорубина), конфокальной (анализ внутриклеточной локализации производных доксорубина) и флуоресцентной (оценка генотоксичности с помощью анализа ДНК-комет) микроскопии, флуоресцентный (оценка микровязкости мембран, активности глутаматпируват-трансаминазы, ГАМК-трансаминазы), спектрофотометрический (MTT/MTS тест, оценка гемолиза эритроцитов, АТФ-азной активности мембранного Р-гликопротеина и глутатионпероксидазы), вестерн-блоттинга (оценка экспрессии маркеров апоптоза и молекул адгезии), методы статистической обработки полученного материала.

Диссертационная работа Карут Рауды устанавливает зависимости химической структуры исследуемых пиридоксинсодержащих соединений с их биологическими эффектами на биохимических и клеточных моделях. Диссертантом показано, что замена в структуре дегидрозингерона ванилинового фрагмента на биоизостерный фрагмент пиридоксина позволила значительно усилить его антипролиферативные свойства в отношении опухолевых клеток человека. Показано, что конъюгация фрагмента пиридоксина с доксорубином посредством образования амидной связи значительно изменяет биологические свойства доксорубина. Конъюгат доксорубина, в котором линкер содержит алкенильную и амидную группы, продемонстрировал избирательное цитотоксическое действие против определенных типов опухолевых клеток и высокую безопасность для условно-нормальных клеток.

С использованием комплекса независимых методов автором исследовано влияние аналогов дегидрозингерона на физико-химические и биологические параметры плазматической мембраны клеток человека, включая ее микровязкость, трансмембранный потенциал и проницаемость для молекул. Автором выявлено, что дегидрозингерон и его пиридоксинсодержащие производные обладают мембраномодулирующей активностью и способствуют внутриклеточному накоплению таких цитостатиков, как доксорубин и винбластин. Карут Раудой предложены схемы комбинирования новых аналогов дегидрозингерона с доксорубином или винбластином для достижения синергетического цитотоксического воздействия на опухолевые клетки.

С использованием проточной цитофлуориметрии автором показано, что цитотоксическое действие аналогов дегидрозингерона на основе пиридоксина

связано с их способностью нарушать трансмембранный потенциал митохондрий и стимулировать выработку активных форм кислорода в опухолевых клетках. На основании полученных данных Карут Рауда предполагает инициацию апоптоза по митохондриальному пути при действии аналогов дегидрозингерона, что сопровождается ингибированием миграционной активности и снижением инвазивности опухолевых клеток. Автор демонстрирует, что лидерное пиридоксинсодержащее производное доксорубина препятствует прогрессированию клеточного цикла, снижает трансмембранный потенциал митохондрий и индуцирует апоптоз опухолевых клеток. Модификация доксорубина фрагментом пиридоксина, по мнению диссертанта, затрудняет его проникновение в ядра клеток и взаимодействие с ДНК, что сопровождается ожидаемым уменьшением генотоксичности в тесте ДНК-комет.

В заключении Карут Рауда обсуждает полученные результаты собственного исследования. Выводы корректны, логично вытекают из результатов исследования и полностью отвечают на поставленные задачи, решение которых приводит автора к достижению искомой цели.

Принципиальных замечаний к основным разделам диссертации и изложенным в них положениям нет.

Подтверждения опубликованных основных результатов диссертации в научной печати

По результатам исследования автором опубликовано 14 печатных работ, в том числе 4 научные статьи в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации и индексируемых в базах Scopus или Web of Science.

Заключение

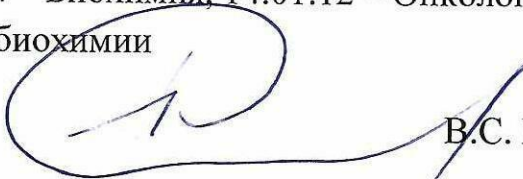
Таким образом, диссертационная работа Карут Рауды на тему «Цитотоксические свойства производных дегидрозингерона и доксорубина, содержащих фрагмент пиридоксина», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная задача - исследование цитотоксических свойств и потенциальной противоопухолевой активности новых производных доксорубина и структурных аналогов дегидрозингерона, содержащих фрагмент пиридоксина.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и реализации результатов диссертационная работа Карут Рауды соответствует критериям, установленным п.2 Порядка присуждения ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет», а ее автор, Карут Рауда, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Настоящий отзыв подготовлен заведующим кафедрой биохимии имени академика Т.Т. Березова Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», доктором медицинских наук, профессором Покровским Вадимом Сергеевичем и профессором кафедры биохимии имени академика Т.Т. Березова Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», доктором биологических наук, профессором Калининой Еленой Валентиновной, заслушан и утвержден на заседании кафедры биохимии имени академика Т.Т. Березова Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», протокол № 0300-06-04/9 от 30 апреля 2025 года.

Отзыв составили:

Доктор медицинских наук (03.01.04 – Биохимия, 14.01.12 – Онкология),
профессор, заведующий кафедрой биохимии
имени академика Т.Т. Березова
медицинского института РУДН



В.С. Покровский

Доктор биологических наук (03.01.04 – Биохимия),
профессор, профессор кафедры биохимии
имени академика Т.Т. Березова
медицинского института РУДН

Е.В. Калинина

Директор медицинского института РУДН,
доктор медицинских наук, профессор



А.Ю. Абрамов

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»

117198, г. Москва ул. Миклухо-Маклая, д.6.

Тел. (495) 787-38-03, (495) 434-42-12, (495) 434-66-82