

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента доктора медицинских наук, доцента М.В. КОРОКИНА на диссертацию Дудиной Марины Олеговны на тему «Антибластомная активность и безопасность 4-алкил-замещенного производного аминохромена», представленную в диссертационный совет Д 208.072.01 на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология**

**Актуальность избранной темы.** Несмотря на то, что химиотерапевтические методы лечения чрезвычайно широко используются в онкологии, фармакологическое лечение рака легкого имеет ряд сдерживающих факторов, ведущим среди которых является трудность создания высоких действующих концентраций препарата в легочной ткани, даже при введении в высоких дозах. В последние годы в связи с успехами в области молекулярной фармакологии, генетике, иммунологии были вскрыты разнообразные молекулярные изменения – мутации и генные трансформации, отвечающие за процесс развития опухолевой ткани, и, следовательно, определяющих прогноз заболевания.

Так, идентифицирован ряд внутриклеточных сигнальных путей, которые могут играть определяющую роль в лечении рака легких. Фармакотерапевтические подходы, базирующиеся на направленном воздействии на ключевые сигнальные внутри- или внеклеточные механизмы развития опухоли, определяют сущность современной персонализированной терапии. Подобные химиотерапевтические протоколы воздействуют на конкретные биологические мишени и существенно повышают продолжительность жизни, особенно у пациентов, которым не показано хирургическое лечение. В исследованиях на культурах опухолевых клеток, а также на целостных организмах, была показана перспективность использования производных аминохромена – соединений для химиотерапии

ряда злокачественных новообразований эпителиального и соединительнотканного происхождения. При этом, указанной группе веществ присущ особый, уникальный механизм действия, позволяющий нарушать процессы клеточного деления опухолевых клеток без затрагивания нормально делящихся соматических клеток.

В этой связи диссертационное исследование М.О. Дудиной, посвященное изысканию нового перспективного антибластомного лекарственного средства в ряду замещенных 2-аминохроменов, представляется своевременным и актуальным.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

Обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в работе диссертанта, не вызывает сомнений и обусловлена, во-первых, использованием современных, апробированных и международно-признанных методов исследования – методов определения острой токсичности при внутрибрюшинном и внутривентральном введении, методов культуральных исследований с использованием опухолевых штаммов человеческого рака легкого и опухоли легкого животного, методов определения антибластомной активности АХ-554 с применением сингенных опухолевых систем, методов изучения хронической токсичности и безопасности соединения в соответствие с требованиями национального регулятора; во-вторых, применением линейных лабораторных животных – мышей С<sub>57</sub>В16 – и клеточных культур из банка опухолевых штаммов; в-третьих, использованием современного лабораторного оборудования; в-четвертых, использованием адекватных решаемым задачам методов вариационной статистики с применением параметрических и непараметрических критериев, методов прогнозирования, сравнения и оценки продолжительности жизни животных, а также лицензионного программного обеспечения.

**Научная новизна и теоретическая значимость работы** Марины Олеговны Дудиной проистекают из совокупности полученных диссертантом

оригинальных научных результатов фармако-токсикологического исследования впервые синтезированного, ранее неизвестного соединения – 2-аминия-7-(диэтиламино)-4-(4-метоксибензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-4Н-хромен-3-карбо-нитрила N-ацетил-аминоэтаноата. Диссертант дала полную токсикологическую характеристику изученного соединения в остром опыте на мышах и крысах при внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении и в хроническом опыте на крысах и морских свинках. Диссертантом убедительно показано, что соединение АХ-554 является малоопасным (4 класс) по ГОСТ 12.1.007-76, явления интоксикации нарастают дозозависимо и включают угнетение двигательной активности, миорелаксацию, нарушение внешнего дыхания, нарушения гемокоагуляции и снижение амплитуды зубца Т на ЭКГ.

М.О. Дудина обнаружила, что в культуре клеток немелкоклеточного рака легкого А549/АТСС исследуемое вещество в диапазоне концентраций от  $10^{-9}$  до  $10^{-4}$  М вызывает гибель до 90% опухолевых клеток, что в опытах на животных нашло подтверждение при внутрижелудочном введении соединения в диапазоне доз от 21,2 до 384,0 мг/кг. В опытах на животных – носителях сингенной опухолевой системы – карциномы Льюиса – курсовое внутрижелудочное введение АХ-554 в средне-терапевтической и высшей терапевтической дозах продемонстрировало противоопухолевое и антиметастатическое действие, показало способность увеличивать продолжительность жизни грызунов, сопоставимую с референтными противоопухолевыми агентами из групп антрациклиновых антибиотиков и препаратов платины.

В рамках экспериментального изучения хронической токсичности диссертант показала, что при курсовом внутрижелудочном введении в терапевтической и субтоксических дозах соединение 2-аминохромена АХ-554 не оказывало анафилактического действия и не приводило к формированию гиперчувствительности замедленного типа у морских свинок, не влияло на формирование гемагглютининов и гемолизинов у мышей, не влияло на фагоцитарную активность нейтрофилов, не индуцировало хромосомные

аберрации клеток костного мозга животных, не вызывало генные мутации на микробных штаммах патогенных сальмонелл и, следовательно, не обладало аллергизирующим, иммунотоксическим, мутагенным и канцерогенным действием. Кроме того, в опытах на крысах М.О. Дудина обосновала отсутствие у АХ-554 свойств нарушения репродуктивной функции и эмбриотоксического действия.

**Практическая значимость** выполненного диссертантом исследования заключается в изыскании нового перспективного вещества, соединения алкилзамещенного 2-аминохромена, обладающего противоопухолевым действием. Проведенное автором токсикологическое исследование вещества в виде фармацевтической субстанции выполнено в объеме, достаточном для доклинических исследований. Полученные результаты об антибластомной активности, спектре эффективных концентраций и доз соединения могут быть использованы при проведении доклинического исследования специфической фармакологической активности субстанции и ключевых механизмов противоопухолевого действия вещества.

**Общая характеристика работы.** Диссертация выполнена по традиционному плану, структура работы включает введение, литературный обзор, описание материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, изложенных в четырех главах. Общий объем работы составляет 143 страницы компьютерного текста, диссертация иллюстрирована двадцатью рисунками и тридцатью пятью таблицами.

Во введении М.О. Дудина формулирует актуальность, новизну и практическую значимость работы, цель и задачи исследования, ключевые положения, выносимые на защиту. Глава 1, включающая обзор 140 литературных источников, из которых 15 работ отечественных и 125 – зарубежных авторов, - посвящен изложению основных сигнальных путей, принимающих участие в опухолевой прогрессии при раке легкого, а также анализу возможных точек приложения для потенциально эффективных химиотерапевтических средств. Обзор изложен хорошим литературным

языком, читается интересно, однако, с моей точки зрения, несколько перегружен информацией эпидемиологического характера.

Во второй главе автор детально описывает исследуемое химическое вещество, дает подробную характеристику объекту исследования – культуре опухолевых клеток, животным – носителям опухолевых штаммов и животным, участвующим в проведении токсикологического фрагмента работы. Обращает особое внимание подробная проработка диссертантом вопросов дозирования исследуемого вещества и референтных препаратов, а также методологических аспектов постановки экспериментов *in vivo* и *in vitro*.

Третью главу М.О. Дудина посвятила описанию результатов изучения острой токсичности вещества АХ-554 при внутрибрюшинном и внутривентриальном введении на двух видах животных – мышах и лабораторных крысах. Дизайн раздела выполнен в строгом соответствии с требованиями национального регулятора, в связи с чем достоверность полученных результатов не вызывает никаких сомнений.

В четвертой главе диссертант обосновывает эффективные дозы и концентрации АХ-554, причем, использует для этого как эксперименты на штаммах опухолевых клеток в культуре, так и опыты на животных – носителях сингенного рака легкого Льюис. Объектом исследования в обоих случаях являются злокачественные новообразования легких. В дальнейшем в рамках главы дается описание фармакологического эффекта вещества при курсовом введении в трех эффективных дозах в сравнительном исследовании. Автор объективно продемонстрировала как преимущества соединения, так и его недостатки по сравнению с препаратами цисплатином и доксорубицином.

В пятой главе автор описала результаты изучения хронической токсичности АХ-554 на известных и общепризнанных моделях, показав, при этом, что в терапевтических дозах соединение лишено серьезных токсических свойств. Заключение обобщает и систематизирует полученные результаты в сравнительном аспекте с привлечением литературного материала.

Автореферат по структуре и содержанию полностью соответствует

рукописи диссертации. Результаты работы широко обсуждались в рамках всероссийских научных мероприятий.

По теме работы М.О. Дудина опубликовала в соавторстве 8 научных работ: 3 статьи опубликованы в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, причем 1 статья издана в журнале, индексируемом системой цитирования Scopus (квартиль Q2). Также по теме диссертационного исследования получен 1 патент на изобретение РФ.

**Замечания и вопросы.** В целом работа оставляет благоприятное впечатление, она выполнена на хорошем методическом уровне, а имеющиеся отдельные недочеты и неточности носят, скорее технический и несущественный характер.

Вместе с тем, для продолжения дискуссии, мне бы хотелось поднять ряд вопросов:

1. Чем Вы объясняете низкую острую токсичность соединения АХ-554 и отсутствие токсического действия вещества в хроническом эксперименте?
2. Может ли невысокая токсичность вещества АХ-554 быть связана с низкой его биодоступностью при исследованных путях введения?

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертация Марины Олеговны Дудиной на тему «Антибластомная активность и безопасность 4-алкил-замещенного производного аминохромена» является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, содержащей решение научной задачи – обоснование новых безопасных фармакологических подходов к лечению злокачественных новообразований путем изыскания нового лекарственного вещества с антибластомной активностью, имеющей важное значение для фармакологии, клинической фармакологии.

По своей актуальности, новизне, практической и теоретической значимости, методическому уровню и объему выполненных исследований,

работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842 (в редакциях Постановлений Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г. и №748 от 02.08.2016 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Дудина М.О., заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент

Профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», доктор медицинских наук (14.03.06), доцент

Михаил Викторович Корокин

Адрес: 308015 г. Белгород, ул. Победы, д. 85. Тел: (4722) 30-12-11

Электронная почта – info@bsu.edu.ru

Подпись д.м.н., доцента М.В. Корокина заверяю:

