

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Ван Мэйлин «Разработка борсодержащих мультифункциональных наноконструкций на основе модифицированных форм альбумина для тераностики злокачественных опухолей», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 - Биоорганическая химия

Диссертационная работа Ван Мэйлин посвящена конструированию на платформе человеческого сывороточного альбумина (HSA) тераностиков, содержащих химиотерапевтические агенты (ауристатины, гемцитабин), атомы бора (в составе кластеров *клозо*-додекаборана, или *бис*(дикарболида) кобальта) и сигнальные метки (флуоресцентные остатки и атомы фтора).

Проблема онкологии в XXI веке является приоритетным направлением современной медицины. Современная биотехнология, которая сделала доступными методы ранней диагностики онкологических заболеваний путём выявления специфических иммунобиологических маркеров опухолевого роста, привела к тому, что численность пациентов на ранних стадиях развития злокачественных опухолей резко возросла. При этом, как более 50 лет назад, так и сейчас доминирующим способом лечения, независимо от стадии, злокачественных опухолей является химиолучевая терапия, осуществляющая токсическое воздействие в том числе и на здоровые ткани. Использование таргетных препаратов снижает токсическую нагрузку на организм и снижает возможность проявления побочных эффектов при лечении. Также перспективным современным подходом является создание препаратов, одновременно с противоопухолевым действием и нацеленных на визуализацию опухоли, так называемых тераностиков. Тераностические конструкции совмещают как возможность одновременной терапии и диагностики раковых опухолей, так и возможность совмещения химиотерапии и бор-нейтронозахватной терапии. Поэтому, безусловно разработка подходов к синтезу таких агентов комбинированного действия на основе человеческого альбумина является **актуальной** и поддерживает существующую тенденцию к индивидуализации или персонализации лекарственной терапии.

Новизна работы заключается в том, что автором впервые сконструирована серия тераностиков на основе альбумина, сочетающих элементы структуры, необходимые для проведения бор-нейтронозахватной терапии и химиотерапии, а также содержащие флуоресцентную метку и позволяющие визуализировать полученные конъюгаты *in vitro* и *in vivo*. Полученные конструкции и охарактеризованы физико-химическими методами. Специфичность цитотоксичности полученных конъюгатов подтверждена в экспериментах на клеточных культурах.

Теоретическая значимость работы отражена в разработке универсального подхода к синтезу тераностиков, который может быть персонализирован путём вариации отдельных компонентов для широкого ряда специфичных для каждого типа рака конъюгатов.

Практическая значимость работы очевидна, поскольку полученные в данной работе конъюгаты на основе альбумина представляют собой терапевтические агенты двойной природы, которые потенциально могут быть использованы в качестве тераностиков при терапии раковых опухолей на практике, в том числе при терапии глиом.

Диссертационная работа написана и оформлена в традиционном стиле. Во **введении** автором обосновывается актуальность работы, освещается степень разработанности темы, формулируется цель и задачи исследования. В **литературном обзоре** автор рассматривает известные способы присоединения к белковым носителям ауристатинов (используются в химиотерапии раковых опухолей) и соединений, содержащих атомы бора (используются в бор-нейтронозахватной терапии раковых опухолей). Литературный обзор очень объёмный и подробный, отражает практически все области исследований, которых касается данная диссертационная работа, и, на мой взгляд, мог бы быть разделён на два отдельных вполне самостоятельных обзора (про конъюгаты ауристатина с альбуминами и про основы бор-нейтроно захватной терапии), каждого из которых вполне бы хватило для литобзора кандидатской диссертации. С другой стороны такой объёмный подход к анализу тематической литературы хорошо обосновывает выбор основных подходов в предложенном далее автором дизайне конъюгатов.

В начале следующей главы (**Экспериментальная часть**) перечислены использованные в работе материалы и оборудование. Затем приведены методики проведенных синтезов и подробные физико-химические характеристики, однозначно подтверждающие строение полученных соединений. Для доказательства строения синтезированных соединений автор использует методы ЯМР и УФ-спектроскопии, а также MALDI TOF масс-спектроскопии. Достоверность полученных данных не вызывает сомнений и показывает высокую квалификацию автора, как химика-синтетика.

Раздел 3 **Результаты и обсуждения** состоит из 5 подразделов, деление на которые хорошо согласуется с проделанной работой. Описание начинается с обсуждения стратегии синтеза и логично переходит на основные этапы синтеза конъюгатов. В этом же разделе обсуждаются вопросы установления строения соединений и проводится анализ данных о цитотоксичности конъюгатов.

Завершают диссертационную работу **выводы**. Данный раздел полно отражает результаты работы.

Основные результаты работы в полной мере отражены в трёх статьях в рецензируемых журналах, индексируемых Scopus и WoS, независимая экспертиза в которых свидетельствует о достоверности полученных результатов.

Автореферат диссертации полностью отражает содержание работы.

Автором проделана огромная синтетическая работа, при оформлении которой в диссертацию практически неизбежно возникают некоторые недочёты в оформлении. Помимо ошибок и опечаток, связанных, скорее всего, с тем фактом, что русский язык не является родным для соискателя, отмечу следующие недочёты:

Вопросы и замечания к разделу Обзор литературы:

1. Отсутствует название темы обзора
2. не все аббревиатуры расшифрованы, например GDP и GTP не расшифрованы ни в тексте, ни в списке сокращений.
3. рис 2. На рисунке IC50, в подписи GI50
4. табл 1. «Расщепление карбонильной связи в кислых условиях» - по-видимому, речь идёт о сложноэфирной связи
5. Рис. 4 – общая структура некорректно отображает частные

6. стр. 28 . «Авторы использовали именно бром-замещенный малеимид, так как бром, действуя как уходящая группа во время конъюгации с тиолом, способствует образованию более стабильных тиомалеимидов, тем самым предотвращая обратную реакцию Михаэля.» - уходящая группа не может оказывать влияния на стабильность конечных веществ
7. стр. 39 «доза пролекарств 5 нМ не вносила изменений» - у дозы не может быть размерности концентрации
8. стр. 58 макропипоз – это что?

Вопросы и замечания к разделу Экспериментальная часть:

1. на стр. 8 указаны ИК-спектры в качестве методов подтверждения структуры, а в шапке экспериментальной части нет описания инструментария, с использованием которого регистрировались эти спектры, да и данных спектров нет.
2. Материалы и методы: процедуры очистки растворителей, даже стандартные, разнообразны. Обязательно следует прописать какими конкретно методами пользовались авторы
3. «Химические сдвиги в спектре ^{13}C ЯМР оценены относительно ацетонитрила 1,94 м.д., 1.32 м.д.» – что это за значения?
4. Стр. 57 относительно ДМСО 2,5 м.д. – не ДМСО, а ДМСО-d₅
5. Нет характеристики пластинок ТСХ – какие, какой производитель
6. Почему спектры ЯМР ^1H и ^{13}C регистрировались в разных растворителях

Вопросы и замечания к разделу Результаты и Обсуждение:

1. Стр. 78 В фразе «Альбумин имеет 35 остатков лизина, 34 из которых спарены в 17 дисульфидных связях, и только Cys-34 можно использовать для сайт-модификации. Однако лишь около 30% остатков лизина альбумина существует в свободной форме, а остальные связаны с такими молекулами, как цистеин и глутатион, посредством дисульфидных связей, а также могут подвергаться окислению». - путаница между названиями аминокислотных остатков
2. На рис. 26 изображена NH_3 группа

3. Раздел 3.3.2 – проводилось ли исследование цитотоксичности конъюгатов на неопухолевых линиях клеток
4. Стр. 91 – рис. 27, упоминаемый в тексте, на самом деле рисунок 34
5. Стр. 96–97, объясните, пожалуйста, на основании каких данных сделан вывод о наличии синергического эффекта между гемцитабином и клозо-додекаборатом.

Все перечисленные замечания и вопросы не влияют на общее положительное впечатление от представленной Ван Мэйлин работы. В ходе выполнения исследований соискатель получил обширный экспериментальный материал, который по своему объёму, достоверности, качеству выполнения и новизне является более чем достаточным для кандидатской диссертации.

Диссертация представляет собой логически завершённую самостоятельную научно-исследовательскую работу с ярким практическим значением, выполненную на высоком уровне с использованием современных методов исследований. Совокупность полученных результатов можно квалифицировать как научное достижение в области биоорганической химии, имеющее важное практическое значение для разработки новых подходов к синтезу персонализированных таргетных противоопухолевых агентов.

Содержание диссертации соответствует профилю специальности 1.4.9 - Биоорганическая химия в п. 1. Структурно-функциональные и синтетические исследования биологически значимых высокомолекулярных соединений (белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов и смешанных биополимеров любых типов) и п. 4. Выделение и синтез молекулярных ансамблей, моделирующих функции природных живых систем (например, фотосинтез, передача нервного импульса, лиганд-рецепторные взаимодействия и др).

Представленная диссертация полностью соответствует требованиям пунктов 2.1–2.5 «Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», предъявляемым к кандидатским

диссертациям. На основании вышеизложенного считаю, что автор диссертации Ван Мэйлин достойна присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 - Биоорганическая химия.

Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник лаборатории физиологически активных веществ Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, д.х.н.

Лузина О.А..

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН)

пр. Лаврентьева, 9, Новосибирск, 630090,

тел. +79139878752; e-mail: luzina@nioch.nsc.ru

«_30_» января 2025 г.

Подпись Лузиной О.А. удостоверяю:

Ученый секретарь НИОХ СО РАН к.х.н., н.с.



Р.А. Бредихин