

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01

на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 23 мая 2018 г. № 8

О присуждении **Алексеевой Анне Сергеевне**, гражданке РФ, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Механизмы взаимодействия с клетками противоопухолевых липосом с липофильными пролекарствами» по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия принята к защите 16.03.2018, протокол №6 диссертационным советом Д 002.019.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН), 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, действующего на основании Приказа Минобрнауки России № 75/нк от 15.02.2013 г.

Соискатель Алексеева Анна Сергеевна, 1988 года рождения, в 2011 году окончила ГОУ ВПО Московскую государственную академию тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова (МИТХТ), с 2013 года работает младшим научным сотрудником в лаборатории химии липидов ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории химии липидов ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН.

Научный руководитель - доктор химических наук Водовозова Елена Львовна, заведующая лабораторией химии липидов ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН.

Официальные оппоненты:

**Ярославов Александр Анатольевич**, доктор химических наук, проф., член-корр. РАН, заведующий кафедрой высокомолекулярных соединений химического

факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова

**Сури́н Александр Михайлович**, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории фундаментальных и прикладных проблем боли Федерального государственного бюджетного научного учреждения Научно-исследовательского института общей патологии и патофизиологии дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский технологический университет», г. Москва, в своем положительном заключении, подписанном д.х.н., проф., заведующим кафедрой химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии им. Н.А. Преображенского Института тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова Михаилом Александровичем Грином, а также м.н.с. кафедры Еленой Викторовной Шмендель, и утвержденном первым проректором Панковым Владимиром Львовичем, указала, что диссертационная работа Анны Сергеевны Алексеевой соответствует критериям, установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650), а сам автор заслуживает присвоения степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 - биоорганическая химия.

Соискатель имеет 8 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 3 статьи общим объемом 3,5 печ. листа в рецензируемых научных изданиях, входящих в перечень изданий, рекомендованных Минобрнауки РФ для опубликования результатов диссертаций, и индексируемых базами данных Scopus и Web of Science, в которые автор внес основной или существенный вклад:

1. **Alekseeva A.S.**, Moiseeva E.V., Onishchenko N.R., Boldyrev I.A., Singin A.S., Budko A.P., Shprakh Z.S., Molotkovsky J.G., Vodovozova E.L. (2017). Liposomal formulation of a methotrexate lipophilic prodrug: assessment in tumor cells and mouse T-cell leukemic lymphoma. *Int J Nanomedicine*, 12, 3735–3749.

2. **Alekseeva A.S.**, Kapkaeva M.R., Shcheglovitova O.N., Boldyrev I.A., Pazynina G.V., Bovin N.V., Vodovozova E.L. (2015). Interactions of antitumour Sialyl Lewis X

liposomes with vascular endothelial cells. *Biochim. Biophys. Acta (BBA — Biomembranes.)*, 1848 (5), 1099–1110.

3. Власенко Ю.В., Алексеева А.С., Водовозова Е.Л. (2014). Синтез флуоресцентного аналога липофильного пролекарства метотрексата. *Биоорг. Хим.*, 40 (1), 114–117

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах.

На диссертацию поступили отзывы:

Отзыв официального оппонента д.х.н., проф., член-корр. РАН Ярославова Александра Анатольевича. Отзыв положительный, содержит следующие замечания: 1) В работе встречаются повторы. Например, описание структуры и функций селектинов, механизма действия метотрексата, перечисление задачи исследования. 2) Не приведены соображения о распределении производных мелфалана и метотрексата между липидными монослоями. 3) Следует обсудить стабильность производных мелфалана и метотрексата, встроенных в липосомальную мембрану, в биологическом окружении (в присутствии ферментов).

Отзыв официального оппонента д.х.н. Сурина Александра Михайловича. Отзыв положительный, содержит следующие замечания: 1) Не указано насколько достоверны отличия относительных изменений параметров, представленных в ряде рисунков и таблиц. 2) Нет разъяснений причин отличий в накоплении липосом с пролекарством метотрексата и пустых липосом для графиков панели А и Б на Рис. 16. 3) При анализе причин эффективного ингибирования хлорпромазином накопления клетками липосом с пролекарством метотрексата рассматривается влияние этого ингибитора только на клатрин-опосредованный эндоцитоз, но не учитывается его ингибирующее действие на целый ряд метаболитных рецепторов, представленных на плазматической мембране. 4) Не приведен количественный анализ колокализации флуоресцентно-меченых липосом с внутриклеточными структурами, среди которых не хватает рассмотрения колокализации липосом и митохондрий. Остальные замечания относятся к помаркам в оформлении.

Отзыв ведущей организации. Отзыв положительный, содержит следующие замечания: 1) Не приведены значения поверхностного потенциала для липосом с различным количеством SiaLe<sup>x</sup>-лиганда. Не указаны причины 2-кратного снижения индекса полидисперсности для липосом после инкубации с культуральной средой.

2) Не указана причина, по которой изучение взаимодействия липосом, нагруженных липофильным производным метотрексата, проводили на клетках, культивируемых на среде со стандартной концентрацией фолиевой кислоты, а не на фолат-дефицитной среде. Остальные замечания относятся к опечаткам, рекомендациям к оформлению и неудачным формулировкам.

На автореферат поступили отзывы:

1. Салминой Аллы Борисовны, д.м.н., проф., проректора по инновационному развитию и международной деятельности Красноярского государственного медицинского университета им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава РФ, Красноярск. Отзыв положительный, содержит замечания о нехватке схемы, интегрирующей обнаруженные механизмы взаимодействия липосом с клетками-мишенями, а также включения в автореферат положений, выносимых на защиту.

2. Бобылёвой Полины Ивановны, к.б.н., научного сотрудника лаборатории клеточной физиологии Института медико-биологических проблем РАН, г. Москва. Отзыв положительный, замечаний нет.

3. Черняева Андрея Львовича, д.м.н., проф., заведующего отделом фундаментальной пульмонологии ФГБУ «НИИ пульмонологии», г. Москва. Отзыв положительный, рекомендовано в дальнейшей работе рассмотреть возможность использования липосом с пролекарством метотрексата в малых дозах для лечения эндогенной бронхиальной астмы.

4. Жданова Андрея Петровича, к.х.н., научного сотрудника ФГБУН Института общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, г. Москва. Отзыв положительный, замечаний нет.

5. Малахова Михаила Валентиновича, к.б.н., ведущего научного сотрудника отдела медицинской химии и токсикологии ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва. Отзыв положительный, содержит следующие замечания. 1) Спектрофотометрические данные о накоплении 15000 SiaLe<sup>X</sup>-липосом за 1 ч инкубации кажутся заниженными в сравнении с изображениями конфокальной микроскопии. 2) На Рис.6В следовало привести изображения конфокальной микроскопии, соответствующие точке «20 мин», вместо «40 мин».

6. Торховской Татьяны Ивановны, д.б.н., ведущего научного сотрудника

лаборатории фосфолипидных транспортных систем и нанолечарств ФГБНУ "НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича". Отзыв положительный, замечаний нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их достижениями в научных областях, имеющих непосредственное отношение к теме диссертации, в частности, в разработке липосомальных систем доставки лекарств, химии липидов, внутриклеточной сигнализации и клеточной биологии и, что подтверждается большим количеством научных публикаций в ведущих научных журналах по тематикам схожим с диссертацией. Их высокая квалификация позволяет объективно оценить научное и практическое значение диссертационной работы.

Диссертационный совет отмечает, что в своей работе Алексеева А.С. показала, что взаимодействия с клетками-мишенями противоопухолевых наноразмерных липосом, несущих в жидкофазном липидном бислое липофильные пролекарства, осуществляются посредством различных механизмов, которые зависят от структуры лекарства и наличия на поверхности липосом специфического лиганда.

Впервые исследовано на внутриклеточном уровне влияние SiaLe<sup>X</sup>-лиганда в липосомах на их взаимодействие с эндотелиальными клетками. Показано, что включение липофильного конъюгата SiaLe<sup>X</sup> в состав липосом с липофильным пролекарством мелфалана обеспечивает специфическое связывание с эндотелиальными клетками, активированными провоспалительным цитокином. Такая селективность SiaLe<sup>X</sup>-липосом, нагруженных цитостатическим препаратом, в отношении активированных эндотелиальных клеток открывает перспективу разработки эффективных противоопухолевых средств, так как для микроокружения опухоли характерен хронический воспалительный процесс.

Получены новые данные о взаимодействии с опухолевыми клетками липосом с липофильным производным метотрексата. Показано, что при переходе к супрамолекулярной липосомальной системе изменяется механизм проникновения в клетку пролекарства метотрексата, по сравнению с метотрексатом как таковым.

Теоретическая значимость работы определяется полученными автором новыми данными о механизмах взаимодействия липосом с клетками,

разработанными методическими подходами к регистрации эффектов взаимодействия, внутриклеточной динамики отдельных компонентов липосом.

Значение полученных соискателем результатов для практики заключается в возможности использования их для разработки новых систем доставки лекарств.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что работа выполнена на высоком экспериментальном и теоретическом уровне с подробным описанием всех методик исследования, приведением корректно полученных аналитических данных и их обработки. Теоретические предположения построены на основе современных литературных данных. В ходе работы были использованы современные методы биоорганической химии и физико-химической биологии. Автор предоставляет все необходимые аналитические данные, подтверждающие корректность полученных результатов и представленных выводов.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в проведении всех научных экспериментов. Основные результаты получены автором лично, за исключением выделения первичной культуры эндотелиальных клеток человека HUVEC (м.н.с. Капкаева М.Р., НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи), синтеза липофильных пролекарств и углеводного конъюгата SiaLe<sup>x</sup> (с.н.с. Болдырев И.А., н.с. Онищенко Н.Р., с.н.с. Пазынина Г.В., ИБХ РАН).

На заседании 23 мая 2018 г. диссертационный совет принял решение присудить Алексеевой А.С. ученую степень кандидата химических наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человека, из них 6 докторов наук профилю представленной диссертации (специальность 02.00.10 — биоорганическая химия), участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 21, против - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Заместитель председателя  
диссертационного совета

д.физ.-мат.н. Ефремов Р.Г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

д.физ.-мат.н. Олейников В.А.

