

## ОТЗЫВ

### официального оппонента

на диссертационную работу Крыловой Любови Владимировны «Конъюгаты металлокомплексов хлорина еб с ингибиторами тирозинкиназ как агенты для комбинированной фотодинамической терапии», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук в специализированный диссертационный Совет 24.2.340.06 при Национальном исследовательском Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского по специальности 1.5.2 — Биофизика

Диссертационная работа Любови Владимировны Крыловой посвящена решению *актуальной* задачи создания новых комбинированных фотодинамических агентов порфиринового ряда для повышения избирательности действия фотосенсибилизаторов в отношении опухолевых клеток и усиления общей противоопухолевой эффективности ФДТ за счет реализации сочетанного действия. Для решения данной задачи впервые проведено исследование фотофизических и биологических свойств конъюгатов металлокомплексов хлорина еб с различными ингибиторами тирозинкиназ — вандетанибом и кабозантинибом — для комбинированной фотодинамической терапии EGFR- и HGFR-положительных опухолей.

Совокупность полученных результатов определяют как *научную новизну*, так и *практическую значимость* работы. Автором показано, что комбинация хлоринового фотосенсибилизатора с ингибиторами тирозинкиназ позволяет достичь синергетического терапевтического эффекта, предположительно, за счет подавления адаптивных молекулярных процессов, запускаемых при ФДТ; при этом природа линкера между фотоактивным и ингибирующим компонентами определяет синергизм полученных комбинированных препаратов. Показано, что высокая противоопухолевая активность наблюдается

не только для двух- и трехмерных культур клеток *in vitro*, но и для животных опухоленосителей. Полученные данные могут быть использованы для создания новых мультимодальных противоопухолевых препаратов для комбинированной фотодинамической терапии.

*Структура диссертационной работы* является общепринятой и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов, заключения, выводов и списка литературы.

Во *введении* автором убедительно и аргументировано обоснована актуальность проблемы и обозначены основные направления, требующие проведения научных исследований.

В *главе 1* представлен анализ имеющихся на сегодняшний день данных литературы по теме исследования. Крыловой Л.В. рассмотрено более 400 источников, значительная часть которых опубликована в течение последних лет. Диссертантом рассмотрены основные физико-химические свойства фотосенсибилизаторов, принцип и механизм их действия, описаны современные тенденции в области разработок новых фотосенсибилизаторов, в том числе в области комбинированной ФДТ; что позволило сформулировать задачи диссертационного исследования. Обзор литературы логично структурирован, широко используется иллюстративный материал. Достоинством данной главы являются детальность и тщательность изложения материала.

*Глава 2* дает представление о наборе методов, использованных при выполнении работы. Методы исследования довольно разнообразны и включают как набор фотофизических и аналитических методов, так и работу с биологическими объектами разного уровня организации, от монослойной культуры эукариотических клеток и коллагеновых гидрогелей до животных-опухоленосителей. Диссертантом показано владение спектрометрическими методами, методами анализа жизнеспособности опухолевых клеток, ингибиторным анализом, конфокальной микроскопией. В целом, методический

аспект работы производит очень хорошее впечатление и позволяет говорить как о высоком техническом уровне, так и о *достоверности* проведенного научного исследования.

В *главе 3* подробно изложены полученные автором результаты и приведено их обсуждение. В разделе 3.1 приведены сведения о комплексном анализе фотофизических и биологических свойств *in vitro* конъюгата InChl-Vnd. Представленные данные стали убедительным основанием для дальнейшего исследования соединения в экспериментах *in vivo*, которые представлены в разделе 3.2. Экспериментальные данные подтверждают противоопухолевую эффективность и безопасность соединения InChl-Vnd, что дает возможность рассматривать его в качестве потенциального агента для комбинированной ФДТ. В разделе 3.3 приведены результаты исследования другого конъюгата, ZnChl-Cbz, представляющего собой пролекарственную форму мультимодального фотосенсибилизатора. Продемонстрирована его активация под действием  $\beta$ -глюкуронидазы, в результате чего высвобождаются активные фрагменты конъюгата и увеличивается синергизм их действия. Также подтверждена эффективность конъюгата ZnChl-Cbz в отношении трехмерной модели опухолевого роста *in vitro* в коллагеновом гидрогеле (раздел 3.4). Многообразие использованных подходов и согласие результатов с опубликованными работами других исследовательских групп позволяют рассматривать полученные данные как достоверные и обладающие высокой научной значимостью.

В *Заключении* диссертантом обсуждены возможные механизмы, объясняющие совместное действие фотосенсибилизатора и низкомолекулярного ингибитора. Попытка формирования целостной картины с использованием собственных данных и данных литературы, несомненно, повышает научную ценность диссертационной работы и имеет важное фундаментальное значение.

**Выводы и научные положения, выносимые на защиту**, полностью соответствуют поставленным цели и задачам и сформулированы диссертантом на основе собственных данных. Результаты получены с использованием современных высокотехнологичных научных методов и подходов, с применением релевантных методов статистического анализа, что позволяет говорить об их достоверности. Обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнения.

Работа *апробирована* на международных и всероссийских конференциях. Основные положения диссертационной работы представлены в 34 публикациях, в том числе в 7 статьях в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК. Получен патент РФ на изобретение.

При прочтении диссертации не обнаружено принципиальных возражений, затрагивающих научную составляющую настоящей работы. Вместе с тем, хотелось бы сформулировать замечания и задать ряд уточняющих вопросов:

1. Автором проведено исследование стабильного в биологической среде конъюгата InChl-Vnd и фермент-расщепляемого конъюгата ZnChl-Cbz, содержащего разные по своей активности ингибиторы тиразинкиназ – вандетаниб и кабозантиниб. Было бы методологически более правильно рассмотреть активность конъюгатов, содержащих одинаковые фотоактивные части и ингибиторы, связанные стабильными или расщепляемыми линкерами.
2. Из рисунка 28 не понятно, каким образом  $\beta$ -глюкуронидаза расщепляет карбаматную группу, приводя к высвобождению производного кабозантиниба. Насколько биологическая активность полученного производного с 2-гидроксиэтоксильной группой в 7-м положении хинолинового ядра тождественна активности самого кабозантиниба, содержащего в данном положении метокси-группу?

3. В разделе 1.4.3 приведены литературные данные по исследованию примеров комбинированных препаратов на основе тетрапиррольных фотосенсибилизаторов и низкомолекулярных ингибиторов. Было бы интересно сравнить количественные показатели активности данных препаратов с активностью InChl-Vnd и ZnChl-Cbz.
4. Рисунок 1 и подпись к нему представляются неудачными как с точки зрения концепции сопряжения в тетрапиррольном макроцикле, так и с точки зрения представленных формулировок, таких как «энергетические конформации тетрапиррольного макроцикла», «электронное пространство внутри макроцикла». Но, справедливости ради, надо сказать, что такое же неудачное графическое и терминологическое представление имеется в работе [49], откуда и было адаптировано представленное в работе изображение.
5. В работе имеется минимальное количество опечаток и неудачных выражений.

Сформулированные вопросы предполагают дальнейшую дискуссию, а замечания по оформлению носят частный характер и не снижают общего положительного впечатления от работы, заслуживающей высокой оценки.

Актуальность и новизна полученных данных, высокий методический уровень работы, ее научная значимость позволяют сделать заключение о том, что диссертационная работа Крыловой Любови Владимировны является *законченной научно-квалификационной работой*. Основные полученные результаты в должной мере отражены в публикациях в рецензируемых изданиях. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации.

Диссертационная работа Крыловой Л.В. соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а

её автор *заслуживает* присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика.

Ведущий научный сотрудник  
Лаборатории новых физико-химических  
проблем ФГБУН Института физической  
химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина  
Российской академии наук (ИФХЭ РАН),  
д.х.н., профессор РАН



Мартынов Александр Германович

3 июня 2025 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт  
физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина Российской академии  
наук (ИФХЭ РАН)

Адрес: 119071, Москва, Ленинский проспект 31, корп. 4

Телефон: +7 (903) 174-26-45

E-mail: martynov.alexandre@gmail.com

Подпись Мартынова А.Г. заверяю

Секретарь Ученого совета ИФХЭ РАН,

к.х.н.



Варшавская Ираида Германовна