



«УТВЕРЖДАЮ»

Зам. ВРИО Директора ИФАВ РАН

Лермонтов Сергей Андреевич

12 июля 2021 года

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Солдатовой Юлии Валериевны «Физико-химические механизмы действия водорастворимых пентааминокислотных производных фуллерена C_{60} на экспериментальные мишени сахарного диабета 2 типа», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика

Актуальность темы

Диссертационная работа Солдатовой Ю.В. посвящена исследованию физико-химических механизмов действия водорастворимых пентааминокислотных производных фуллерена C_{60} на экспериментальные мишени сахарного диабета 2 типа (СД2).

В настоящее время сахарный диабет является одной из важнейших проблем здравоохранения. Несмотря на то, что существует целый ряд препаратов для фармакотерапии диабета, лечение как данного заболевания, так и его осложнений зачастую не приводит к желаемым результатам. Поэтому поиск и создание новых потенциальных препаратов для лечения сахарного диабета является актуальной задачей. Хроническая гипергликемия при диабете вызывает активацию ряда путей, связанных с развитием диабета и его осложнений: повышение окислительного стресса, усиление неферментативного гликирования белков, а также смещение в сторону полиольного пути метаболизма глюкозы. Очевидно, что перспективным подходом к проблеме разработки эффективных лекарственных препаратов для терапии диабета является направленный поиск и создание биологически активных соединений, селективных к ряду мишеней патогенеза диабета и его осложнений.

На основании анализа биологической активности производных фуллерена автор делает вывод о том, что водорастворимые производные фуллерена C_{60} являются перспективными соединениями для исследования их антидиабетических свойств.

Таким образом, актуальность диссертационной работы Солдатовой Ю.В., посвященной исследованию физико-химических механизмов действия водорастворимых

пентааминокислотных производных фуллерена C₆₀ (ППФ) на экспериментальные мишени сахарного диабета, не вызывает сомнений.

Научная новизна и оценка достоверности результатов и выводов исследования.

Диссертационная работа Солдатовой Ю.В. базируется на экспериментальных данных, полученных с использованием современных биофизических и биохимических методов исследования.

Диссертационная работа обладает новизной, которая определяется полученными в ней новыми результатами. В качестве основных следует отметить следующие:

- показано, что исследуемые ППФ проникают в область полярных головок и жирнокислотных остатков фосфолипидов мембраны фосфатидилхолиновых липосом, вызывая при этом дезактивацию синглетного возбужденного состояния флуоресцентных зондов за счет образования комплексов зонд-ППФ.

- установлено, что ППФ действуют одновременно на несколько экспериментальных мишеней диабета *in vitro*: эффективно ингибируют процессы перекисного окисления липидов и неферментативного гликирования белков, а также каталитическую активность ферментов полиольного пути метаболизма глюкозы - альдозоредуктазы и сорбитолдегидрогеназы.

- по результатам эксперимента *in vivo* показано, что ППФ-VI проявляет антигипергликемическую активность на крысах с экспериментальным СД2.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов, рекомендаций и заключений, полученных в диссертации, подтверждается подробным изложением экспериментального материала диссертационной работы, корректным обобщением и анализом полученных результатов. Достоверность полученных результатов подтверждается также публикациями материалов исследований в 3 научных статьях в журналах, рецензируемых в базах данных Web of Science и Scopus, патенте РФ, а также представлением в виде 10 устных и стендовых докладов на российских и международных конференциях.

Значимость результатов для соответствующей области науки и рекомендации по использованию результатов и выводов.

В целом диссертация Солдатовой Ю.В. представляет собой завершённую квалификационную научно-исследовательскую работу на актуальную тему. Результаты диссертационной работы позволяют сделать заключение, что соединения из класса пентааминокислотных производных фуллерена C₆₀ могут оказывать влияние одновременно на несколько мишеней, связанных с патологическими проявлениями СД2, а именно на процессы перекисного окисления липидов и неферментативного

гликирования белков, на каталитическую активность ферментов полиольного пути метаболизма глюкозы. В работе было выбрано соединение-лидер из класса изучаемых ППФ, для которого показана *in vivo* антигипергликемическая активность на крысах линии Вистар с экспериментальным СД2 по методу высокожировая диета в комбинации с инъекцией стрептозотоцина.

Полученные в диссертационной работе результаты показывают перспективность дальнейшего углубленного изучения класса пентааминокислотных производных фуллерена C₆₀ с целью создания потенциальных препаратов для терапии патологических процессов, связанных с развитием СД2. Результаты работы имеют теоретическую и практическую ценность.

Оценка содержания выполненной работы в соответствии с требованиями ВАК.

Диссертационная работа Солдатовой Ю.В. оформлена в соответствии с правилами ВАК и включает в себя все необходимые разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и их обсуждение, заключение, выводы и список цитированной литературы. Рукопись изложена на 118 страницах, содержит 26 рисунков и 7 таблиц. Список литературы состоит из 245 источников отечественной и зарубежной литературы.

Следует отметить значительный по объему и подробный по научному содержанию литературный обзор (Глава 1), в котором отражены современные представления о проблеме сахарного диабета 2 типа, рассмотрены роль окислительного стресса, полиольного пути метаболизма глюкозы и неферментативного гликирования белков в развитии СД2 и его осложнений. Изложены основные сведения о водорастворимых производных фуллерена и их биологических свойствах.

Глава 2 «Материалы и методы исследования» содержит подробное описание использованных экспериментальных методов и аппаратуры. В работе использовано большое количество современных биофизических методов, позволивших решить поставленные в диссертационной работе задачи.

Глава 3 «Результаты и их обсуждение», состоит из 5 подразделов, хорошо проиллюстрирован. В разделе отражена большая экспериментальная работа, проделанная диссертантом и представляющая несомненный фундаментальный интерес. В данной главе проведен анализ экспериментальных данных. Заключение и выводы обоснованы, достоверны, логично вытекают из результатов проведенного исследования и полноценно отражают содержание диссертации.

Оформление диссертации удовлетворяет требованиям ВАК РФ. **Автореферат**

полностью соответствует содержанию диссертации.

При анализе работы возникли следующие вопросы и замечания:

- 1 В литературном обзоре нет сравнительной характеристики двух типов диабета и описания специфических для каждого мишеней, что было бы полезно.
- 2 В работе использована методика, формирующая диабет второго типа. Однако измерение только уровня глюкозы не позволяет дифференцировать 1 и 2 тип диабета. Было бы крайне полезно оценить наличие инсулинорезистентности.
- 3 Эффективность соединения-лидера оценивалась только по стабилизации уровня глюкозы при продолжающемся введении стрептозотоцина, что позволяет предположить защиту β -клеток от стрептозотин-вызванной дегенерации, характерной как для диабета 1 типа, так и как следствие инсулинорезистентности для диабета 2 типа. В связи с этим возникает вопрос – предполагаете ли вы специфический терапевтический эффект ваших соединений по отношению именно ко 2 типу диабета или к обоим типам этого заболевания?
- 4 В работе большое внимание уделено исследованию мембранотропных свойств ППФ. Хотелось бы более четко обозначить для чего это надо и отразить в выводах значимость полученных результатов.
- 5 Автореферат: таблицы 1, 3, 4 (последняя колонка); а также Диссертация: таблицы 3.1, 3.3, 3.5 (последняя колонка) не приведены результаты статистической обработки эксперимента и ошибок определения величин IC_{50} .
- 6 Для определения механизма ингибирования и констант ингибирования обычно используют 2-3 возрастающих концентрации ингибитора. Эксперимент проводится в трипликате. Результаты представляются как среднее \pm ошибка среднего. В работе использована одна концентрация ингибитора и нет статистической обработки результатов. Как проводился кинетический эксперимент?
- 7 В автореферате на стр. 16-17 отмечено: «Исследуемые ППФ в качестве ингибиторов процесса гликирования альбумина имеют значения IC_{50} , во много раз превышающие действие аминуганидина ($IC_{50} = 1294,4$) – известного ингибитора гликирования (таблица 4).» Более правильно сформулировать этот вывод следующим образом: Исследуемые ППФ в качестве ингибиторов процесса гликирования альбумина во много раз превышают активность аминуганидина, что хорошо иллюстрируют полученные величины IC_{50} (таблица 4).
- 8 В таблицу 4 было бы хорошо внести для сравнения IC_{50} аминуганидина.

9 В работе присутствует ряд опечаток, стилистических погрешностей и несовпадения нумерации ППФ в рисунках и тексте автореферата: Рис.3 и 7.

Вместе с тем, сделанные замечания не снижают положительное впечатление от работы Солдатовой Ю.В.

Заключение

Диссертационная работа «Физико-химические механизмы действия водорастворимых пентааминокислотных производных фуллерена C_{60} на экспериментальные мишени сахарного диабета 2 типа» по своей актуальности, объему выполненных исследований, научной новизне и научно-практической значимости несомненно удовлетворяет требованиям (п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842), предъявляемым ВАК к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Солдатова Юлия Валериевна, заслуживает присвоения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биопластика

Диссертация и отзыв обсуждены и утверждены на расширенном семинаре Отдела медицинской и биологической химии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологически активных веществ Российской академии наук (ИФАВ РАН) 8 июля 2021 года.

Главный научный сотрудник
лаборатории биомолекулярного скрининга ИФАВ РАН,

к.х.н.

12 июля 2021 г.

Заведующий отделом медицинской и биологической химии

Главный научный сотрудник ИФАВ РАН,

член-корреспондент РАН, д.х.н.

12 июля 2021 г.

Шевцова Е.Ф.

Бачурин С.О.

Подписи гл.н.с. ИФАВ РАН Бачурина С.О. и гл.н.с. ИФАВ РАН Шевцовой Е.Ф. удостоверяю.

Ученый секретарь ИФАВ РАН, к.х.н.



Великохатко Т.Н.

Сведения о ведущей организации:

Адрес: Северный проезд, 1, г. Черноголовка, Московская область, 142432, Россия

Телефон: +7(496)5249508

Эл. почта: ipac@ipac.ac.ru

Сайт: <http://www.ipac.ac.ru>

Список публикаций сотрудников ведущей организации по теме диссертации (2016 – 2021 гг.) Солдатовой Ю.В.

1. Maksimov M., Svistunov A., Tarasov V., Chubarev N., Barreto G., Dralova O., Aliev G. Approaches for the development of drugs for treatment of obesity and metabolic syndrome // *Current pharmaceutical design*. – 2016. – Т. 22. – № 7. – С. 895-903.
2. Neganova M.E., Proshin A.N., Redkozubova O.M., Serkov I.V., Serkova T.P., Dubova L.G., Shevtsova E.F. N,N'-substituted selenoureas as polyfunctional antioxidants // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2016. – Т. 160, № 3. – С. 340-342.
3. Averina E.B., Vasilenko D.A., Gracheva Y.A., Grishin Y.K., Radchenko E.V., Shevtsova E.F., Milaeva E.R., Kuznetsova T.S., Zefirov N.S., Neganova M.E., Serkova T.P., Redkozubova O.M., Burmistrov V.V., Butov G.M. Synthesis and biological evaluation of novel 5-hydroxylaminoisoxazole derivatives as lipoxygenase inhibitors and metabolism enhancing agents. // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. – 2016. Т. 24, № 4. – С. 712-720.
4. Dzyurkevich, M.S., Babkov, D.A., Shtyrlin, N.V. et al. Pyridoxine dipharmacophore derivatives as potent glucokinase activators for the treatment of type 2 diabetes mellitus. // *Scientific Reports*. 2017. - V. 7, 16072.
5. Antonenko T.A., Shpakovsky D.B., Vorobyov M.A., Gracheva Yu A., Kharitonashvili E.V., Dubova L.G., Shevtsova E.F., Tafeenko V.A., Aslanov L.A., Iksanova A.G., Shtyrlin Yu G., Milaeva E.R. Antioxidative vs cytotoxic activities of organotin complexes bearing 2,6-di-tert-butylphenol moieties // *Applied Organometallic Chemistry*. – 2018. Т. 32, № 7. – С. e4381.
6. Милаева Е.Р., Шпаковский Д.Б., Маклакова И.А., Руфанов К.А., Неганова М.Е., Шевцова Е.Ф., Чураков А.В., Бабкова В.А., Бабков Д.А., Косолапов В.А., Спасов А.А. Новые антиоксиданты на основе дифенилсульфимида, содержащие фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола. // *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2018. – № 11. – С. 2025-2034
7. Неганова М.Е., Клочков С.Г., Шевцова Е.Ф., Богатыренко Т.Н., Мищенко Д.В. Антиоксидантные свойства фармацевтической субстанции гипокард - потенциального лекарственного средства при ишемической болезни. // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2018. – Т. 166, № 7. – С. 53-57.
8. Махаева Г.Ф., Шевцова Е.Ф., Болтнева Н.П., Ковалёва Н.В., Рудакова Е.В., Дубова Л.Г., Шевцов П.Н., Бачурин С.О. Антихолинэстеразная и антиоксидантная активность новых бинарных конъюгатов γ -карболинов. // *Доклады Академии наук*. 2019. – Т. 484, № 1. – С. 104-108
9. Chrishtop V.V., Tomilova I.K., Rumyantseva T.A., Mikhaylenko E.V., Nikolenko V.N., Aliev G., Avila-Rodriguez M.F., Mikhaleva L.M., Somasundaram S.G., Kirkland C.E., Bachurin S.O. The effect of short-term physical activity on the oxidative stress in rats with different stress resistance profiles in cerebral hypoperfusion. // *Molecular Neurobiology*. – 2020. – Т. 57, № 7. – С. 3014-3026.
10. Nikitin E. A., Shpakovsky D. B., Pryakhin A. D., Antonenko T. A., Tyurin V. Yu., Kazak A.A., Ulyanov A. N., Tafeenko V.A., Aslanov L.A., Dubova L. G., Lysova E.A., Shevtsova E. F., Milaeva E. R. Antioxidant activity of modified 2,6-Di-tert-butylphenols with pyridine moiety // *Pharmacy & Pharmacology International Journal, MedCrave Group (Edmond)*. – 2020. – Т. 8, № 3. – С. 122-134