

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Покровского Вадима Сергеевича на диссертационную работу Журикова Руслана Владимировича **«Спектр фармакологической активности и механизмы действия 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина»**, представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы диссертационной работы

Согласно данным экспертов ВОЗ к 2050 г. смертность от онкологии вырастет на 77% и достигнет 35 млн. Быстрый рост онкозаболеваний является следствием как старения населения, так и изменения в подверженности людей воздействию факторов риска, некоторые из которых связаны с уровнем социально-экономического развития. Ключевыми факторами роста заболеваемости раком являются табак, алкоголь и ожирение; загрязнение воздуха также остается одним из основных экологических факторов заболеваемости. Около двух третей новых случаев онкологических заболеваний приходится на 10 типов рака. В 2022 году наибольшее распространение в мире получил рак легких (2,5 млн, или 12,4% всех новых случаев). На втором месте – рак молочной железы (2,3 млн случаев, 11,6%), за ним следуют колоректальный рак (1,9 млн, 9,6%), рак предстательной железы (1,5 млн, 7,3%) и рак желудка (970 тыс., 4,9%). У женщин наиболее часто диагностируемым видом рака и основной причиной смертности от онкологических болезней в 2022 году был рак молочной железы, у мужчин - рак легких.

В настоящее время методы лечения опухолей постоянно совершенствуются, наряду с химиотерапией, хирургическим лечением и радиотерапией в последние годы стала активно применяться иммунотерапия. С накоплением опыта проведения иммунотерапии оказалось, что применение ингибиторов контрольных точек (ИКТ) имеет свои ограничения и не всегда приводит к желаемому результату. Оказалось, что далеко не при каждом онкологическом заболевании применение ИКТ, таких как CTLA-4 и PD-L1 приводит к желаемому результату. Для преодоления резистентности опухолей к ИКТ внутри иммунотерапии развиваются новые подходы, такие как: поиск новых молекулярных мишеней, использование моноклональных антител, воздействие на опухолевое микроокружение. После появления данных об ограниченной эффективности

ИКТ одним из перспективных подходов рассматривается использование совместно с ИКТ иммуномодулирующих средств ингибирующих T2 воспаление.

Установлено, что 25% онкологических заболеваний возникает в связи с хроническим воспалением, которое характеризуется увеличением концентрации проонкогенных цитокинов в микроокружении опухоли, а дисбаланс иммунных сигнальных молекул (цитокинов, хемокинов) и клеточного состава способствует развитию и метастазированию опухоли. В данных условиях актуальной становится разработка лекарственных средств, обладающих способностью ингибировать различные формы воспаления, которые могут повысить чувствительность опухолей к иммунотерапии, а также снизить дозы цитостатиков, необходимые для достижения терапевтического ответа, что может также привести и к снижению частоты побочных эффектов. В отделе химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» был проведен синтез производных 5-оксипиримидина, а именно малотоксичного 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в виде основания (лабораторный шифр СНК-411, патент RU2518889, 10.06.2014) и в виде хорошо растворимой в воде гидрохлорида (лабораторный шифр СНК-578, патент RU2686672, 30.04.2019, евразийский патент № 041226 от 28.09.2022 года).

Производные 5-оксипиримидина на экспериментальных моделях солидных опухолей LLC и рака шейки матки РШМ-5 снижали концентрации провоспалительных и проонкогенных интерлейкинов, а также ИЛ-10 и ИЛ-17-А в сыворотках крови мышей-опухоленосителей, обладали противоаллергенным действием в опытах на морских свинках и сопоставимым с диклофенаком выраженным противовоспалительным действием на различных экспериментальных моделях.

Согласно ранее проведенным исследованиям, производные 5-оксипиримидина обладают иммуномодулирующим действием на клеточный и противоопухолевой иммунитет. Под действием СНК-411 в крови и печени мышей определено увеличение содержания НК-клеток и цитотоксических лимфоцитов, при гистологическом изучении легких мышей-опухоленосителей LLC вокруг вторичных опухолевых очагов наблюдали соединительнотканную капсулу, что указывает на активность противоопухолевого иммунного ответа. На экспериментальных опухолевых моделях LLC и РШМ-5 СНК-411 и СНК-578 ингибировали в сыворотках крови мышей содержание основных проонкогенных и проаллергенных цитокинов. Таким образом диссертационная работа Журикова Р.В., посвященная поиску и изучению механизмов действия производных 5-оксипиримидина, обладающих поликомпонентным механизмом действия, является актуальной и представляет теоретический и практический интерес.

Научная новизна

В диссертационной работе Журикова Р.В. проведен анализ противоопухолевой и противовоспалительной активности 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина.

Противоопухолевая и антиметастатическая активность производных 5-оксипиримидина была подтверждена на трех моделях солидных опухолей. Впервые на модели меланомы В16 индекс ингибирования метастазирования (ИИМ) при 14-ти дневном введении СНК-411 в дозе 10 мг/кг составил 72 %, при введении в дозе 25 мг/кг - 82,9 %. Курсовое введение СНК-411, СНК-578 в сочетании с однократным введением доксорубина вызывало выраженное антиметастатическое действие (СНК-411+доксорубин - ИИМ-92,3), (СНК-578+доксорубин - ИИМ-98,9%).

Впервые на модели аденокарциномы молочной железы Ca755 было определено, что при курсовом введении СНК-411 в дозе 25 мг/кг с двукратным введением гемцитабина торможение роста опухоли (ТРО) составило 79 %. При курсовом введении СНК-578 в дозе 10 мг/кг совместно с двукратным введением гемцитабина ТРО составило 80 %. Также на данной модели было показано, что введение производных 5-оксипиримидина предотвращало развитие анемии у мышей с аденокарциномой Ca755.

Впервые на модели аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ было показано, что при 14-ти дневном пероральном введении основания и внутрибрюшинном введении соли торможение роста опухоли (ТРО) составило 74% через 7 дней после окончания их введения, на 28-е сутки ТРО составило 64-67%. ТРО при введении комбинации СНК-411 в дозе 25 мг/кг и доксорубина в дозе 5 мг/кг составило 92,7%, а при введении доксорубина совместно с СНК-411 определено торможение роста опухоли на 91,6%.

Впервые было показано, что производные 5-оксипиримидина реализуют свой противоаллергенный эффект и уменьшают гибель от анафилаксии за счет ингибирования в сыворотках крови сенсibilизированных к овальбумину мышей концентрации проаллергенных Т2 интерлейкинов (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13) и иммуноглобулина Е (IgE).

На модели адьювантного артрита впервые были выявлены некоторые анальгетические свойства СНК-411 и СНК-578. Производные 5-оксипиримидина восстанавливали двигательную активность животных до уровня интактного контроля, уменьшали воспаление в пораженных конечностях на ранних сроках наблюдения, увеличивали латентное время отдергивания лапы в тесте «горячая пластина», нормализовали гематологические показатели животных опытных групп.

Впервые показано, что 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин является неселективным ингибитором ЦОГ. На модели ПАФ-индуцированного отека у крыс показано, что 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин также влияет на липооксигеназный путь воспаления.

На клетках линии Jurkat впервые было установлено, что СНК-578 в концентрации 10^{-4} М уменьшает долю клеток в S фазе клеточного цикла и увеличивает долю клеток в G₁ фазе клеточного цикла. Определено, что изучаемое соединение не обладает генотоксичностью.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Расширено представление о спектре фармакологической активности 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина. На опухолевых моделях выявлено антиметастатическое, противоопухолевое и гематопротекторное действие 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина. На модели системной анафилаксии показано, что 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин обладает противоаллергенным действием, обусловленным ингибированием IgE и T2-цитокинов. Изучены некоторые механизмы противоаллергенного, противовоспалительного и противоопухолевого действия 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина, показано, что он не обладает генотоксичностью. СНК-578 обладает широким спектром фармакологической активности и поликомпонентным механизмом действия, является перспективным для дальнейшего углубленного изучения механизмов его действия на T2 воспаление и возможного применения в качестве средства, дополняющего противоопухолевую химиотерапию совместно с цитостатиками и препаратами других групп.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа Журикова Р.В. изложена на 140 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений и списка литературы. В диссертационной работе приведено 26 таблиц и 13 рисунков. Литературный обзор, написанный на 27 страницах машинописного текста, характеризует множественные механизмы различных форм хронического воспаления в патогенезе развития онкологии и основной механизм, лежащий в основе различных аллергических заболеваний, согласно современным данным и гипотезам по проблемам онкологии и аллергии. Список литературы содержит 207 библиографических источников, из них 27 отечественных и 180 зарубежных публикаций.

Во введении отражены актуальность темы диссертационной работы, цели и задачи исследования, основные положения, выносимые на защиту.

В главе «Обзор литературы» представлены различные механизмы поликомпонентного действия производных пиримидинов, отличие механизма действия 5-оксипиримидинов от широко применяемых ранее фторпиримидинов. Анализируется

полиморфизм хронического воспаления при развитии рака, возможность ингибирования различных форм воспаления при аллергических, аутоиммунных и онкологических заболеваниях, отмечена роль цитокинов и патологических сигнальных путей в онкологии. Далее рассмотрен возможный механизм ингибирования гемолитической анемии у больных с онкологией и характеристика экспериментальных моделей использованных в работе солидных опухолей,

В главе «Материалы и методы» описаны методы оценки противоопухолевого, противоаллергенного и противовоспалительного действия 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина. Противоопухолевая активность была изучена на экспериментальных моделях солидных опухолей: меланомы В-16, аденокарциномы молочной железы Ca755, аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ.

На модели системной анафилаксии на овальбумин в опытах на мышах линии BALB/c был изучен механизм противоаллергенного действия 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина путем ингибирования уровней иммуноглобулина Е, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13 и других Т2 цитокинов.

В связи с ингибированием 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидином в ранее проведенных исследованиях на моделях LLC и РШМ-5 концентраций в сыворотках крови мышей ИЛ-6, ИЛ-10 и ИЛ-17-А, участвующих в активации хронического воспаления при аутоиммунных заболеваниях, в настоящей работе на крысах линии Wistar проведено исследование противовоспалительной, обезболивающей, двигательной активности и гематологических показателей на модели адьювантного артрита.

При изучении действия 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина на активность ЦОГ-1 и ЦОГ-2 в бесклеточной системе COX Colorimetric Inhibition Screening Assay Kit было изучено возможное ингибирование ЦОГ-1 и ЦОГ-2.

В главе 3 «Результаты исследований» результаты проиллюстрированы 26 таблицами и 13 рисунками, полученные данные статистически обработаны адекватными методами и проанализированы.

В разделе «Обсуждение результатов» анализируются полученные результаты, а также возможность у 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина, как и у тиеновых пиримидинов, ингибировать процессы фосфорилирования STAT3, на что указывают полученные данные на модели аденокарциномы молочной железы Ca755, однако это требует дополнительных исследований.

В разделе «Закключение» представлена сравнительная характеристика 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина в форме основания (СНК-411) и форме соли (СНК-578), из которой можно сделать вывод, что обе формы проявляют одинаковый спектр фармакологической активности, но при этом водорастворимая соль СНК-578

эффективна в меньших дозировках.

Полнота публикаций по теме диссертационной работы

Основные научные результаты представлены в 11 научных работах: 6 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендуемых ВАК Минобрнауки России, и 5 тезисов в материалах научных съездов и конференций.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат полностью отражает содержание диссертации, основные положения и выводы, оформлен в соответствии с требованиями.

Соответствие диссертационной работы паспорту научной специальности

Диссертационная работа Журикова Р.В. соответствует паспорту научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, а именно пунктам: п.№ 2; п. № 5, п.№ 6.

Вопросы и замечания

- 1) Достаточно противоречивыми выглядят результаты исследований комбинированной терапии с доксорубицином. Во-первых, использованная доза доксорубицина выглядит заведомо небольшой. Во-вторых, противоопухолевый эффект комбинации на модели меланомы В16 продемонстрирован на 11-е сутки, но длительно он не сохранялся. Кроме того, выглядит неожиданно, что эффективность СНК-411 в монотерапии по мере введения препарата возрастала (от 11-х к 21-м суткам), а в комбинированном режиме снижалась. На модели меланомы В16 и рака толстой кишки АКАТОЛ добавление к доксорубицину СНК-411 или СНК-578 не дает вообще никаких преимуществ. Полученные эффекты можно расценивать даже как антагонистические. Эффект сочетанного применения с гемцитабином (который использован в достаточно высокой дозе) тоже нельзя оценить как синергизм или суммацию эффектов, поэтому выводы автора о возможности применения исследуемых агентов в комбинированной терапии представляются преждевременными.
- 2) В разделе 2.6.7. дано описание эксперимента, в котором в группе активного контроля вводили 1% раствор крахмала в/б. Если это не ошибка, неясно, зачем это было сделано: раствор крахмала использован в экспериментальной группе для введения СНК-411 внутрь, а растворителем для внутрибрюшинно вводимых препаратов служил 0,9% раствор натрия хлорида.

- 3) Из таблицы 7 складывается ощущение, что введение СНК-411 и СНК-578 не столько препятствовало угнетению кроветворения и развитию анемии у мышей, сколько одновременное применение гемцитабина снижало токсичность СНК-411 и СНК-578 в монорежиме, что наводит на мысли об антагонистическом действии. В этом же эксперименте (на аденокарциноме молочной железы) вызывает удивление двукратное снижение концентрации гемоглобина, эритроцитов и гемоглобина в группе активного контроля (мышей, получавших крахмал) на фоне явного сдвига лейкоцитарной формулы.
- 4) В ряде случаев автор использует не вполне корректные формулировки или термины:

= Задача 7 сформулирована как «Изучить механизм противоопухолевого действия 2-изобутил-4,6- диметил-5-оксипиримидина по влиянию на клеточный цикл и оценить его генотоксичность». Это не вполне корректно называть молекулярным механизмом действия, было бы более корректно сформулировать это как «Оценить влияние на клеточный цикл и генотоксичность 2-изобутил-4,6- диметил-5-оксипиримидина».

= П.2.2. «перевиванием опухолевой культуры на мышах различных линий» — как следует из текста, перевивали не культуру клеток, а штамм.

= Вместо «радиотерапия» следует писать «лучевая терапия» (это весьма традиционная для современной русскоязычной литературы ошибка перевода)

= Эпидермоидная карцинома легкого – не Льюиса, а Льюис (впервые получена и описана Маргарет Льюис, по правилам русского языка женские фамилии, оканчивающиеся на согласные, не следует склонять).

Эти замечания, безусловно, носят технический характер и не снижают научной ценности работы.

Заключение

Диссертационная работа Журикова Р.В. на тему «Спектр фармакологической активности и механизмы действия 2-изобутил-4,6-диметил-5-окси-пиримидина», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной научной задачи, имеющей значение для развития фармакологии и клинической фармакологии — поиск и изучение нового оригинального соединения, сочетающего иммунофармакологические, выраженные противовоспалительные и противоопухолевые свойства, перспективного для дальнейшей разработки в качестве лекарственного средства для терапии онкологических заболеваний, а также при различных формах Т2 воспаления.

По актуальности темы, степени обоснованности положений, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверности, научной новизне, теоретической и практической значимости диссертация полностью соответствует требованиям п. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Журиков Руслан Владимирович заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Доктор медицинских наук, профессор (3.1.6 – Онкология, лучевая терапия; 1.5.4 – Биохимия),
заведующий лабораторией биохимических основ фармакологии,
директор НИИ экспериментальной онкологии и канцерогенеза
федерального государственного бюджетного учреждения
«Национальный медицинский исследовательский центр
онкологии имени Н.Н. Блохина»
Министерства здравоохранения Российской Федерации»

03.08.2026

Покровский Вадим Сергеевич

115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24
www.ronc.ru
v.pokrovsky@ronc.ru
+7-499-324-2274

Подпись доктора медицинских наук, профессора
Покровского Вадима Сергеевича заверяю:

Ученый секретарь
НИИ экспериментальной онкологии и канцерогенеза
федерального государственного бюджетного учреждения
«Национальный медицинский исследовательский центр
онкологии имени Н.Н. Блохина»
Министерства здравоохранения Российской Федерации»,
Кандидат биологических наук



Гудкова Маргарита Владимировна