

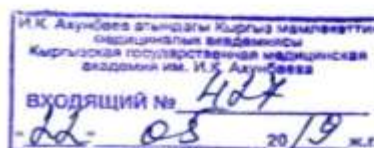
## О Т З Ы В

официального оппонента на диссертационную работу Камчибековой Чолпон «Разработка нового противоопухолевого лекарственного препарата гликозил-нитрозометилмочевина-1» на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы исследования и ее связь с общенаучными и общегосударственными программами. Неудовлетворенность клиницистов результатами противоопухолевой химиотерапии является побудительным мотивом для экспериментальной фармакологии. Идет перманентный процесс поиска новых субстанций с потенциалом противоопухолевой активности, актуальность исследования в области фармакологии противоопухолевых средств остается на высоком уровне все последние годы. Среди скрининговых работ выделяются чрезвычайно актуальные исследования по поиску близких к метаболитам организма субстанций с противоопухолевой активностью. Разработка прототипов лекарственных средств, обладающих низкой токсичностью и высокой избирательностью противоопухолевого действия стало одной из важнейших задач современной фармакологии. Углеводсодержащие производные нитрозометилмочевины (НММ), которые являются объектом исследования в данной диссертационной работе, известны как субстанции с относительно низкой токсичностью и вероятностью широкого спектра терапевтического действия. Соединения этого класса уже послужили основой для разработки эффективных противоопухолевых препаратов. В связи тема исследования, связанная с поиском и разработкой инновационного углеводного производного гликозил-нитрозометилмочевины, обладающего низким потенциалом токсичности и широким спектром терапевтической эффективности, является актуальной.

В настоящее время на фармацевтическом рынке стран СНГ, в том числе и в Кыргызстане, в основном доминируют дорогостоящие лекарственные средства зарубежного производства и иностранной разработки, отечественные

1



исследования единичны и низкорезультативны, при том, что фундаментальные наработки в области медицинской химии производных нитрозометилмочевины известны. Логично, что общегосударственные программы в этом направлении должны включать значительный фармакологический блок, что и осуществлено на примере данной работы. Диссертационная работа «Разработка нового противоопухолевого лекарственного препарата гликозил-нитрозометилмочевина-1» выполнена в рамках плана научно-исследовательских работ, проводимых в Кыргызской государственной медицинской академии им. И. К. Ахунбаева и Институте химии и фитотехнологий Национальной академии наук Кыргызской Республики, и Министерства образования и науки КР (госрегистр. № 0005351).

**Цель исследования:** научное обоснование разработки новой цитостатической противоопухолевой (ПО) субстанции со сниженным потенциалом токсичности в группе производных НММ и доклиническое исследование фармакологии и токсикологии оригинальной субстанции гликозил-нитрозометилмочевина-1 (гликозил-НММ-1).

#### **Новизна исследования и полученных результатов.**

Общенаучная значимость диссертационной работы обусловлена тем, что найдена водорастворимая субстанция гликозил-НММ-1, имеющая потенциал противоопухолевой активности, приемлемый уровень токсичности и физико-химические свойства, пригодные для создания нового противоопухолевого лекарственного препарата. Это является новым доказательством перспективности класса соединений нитрозометилмочевины в качестве прототипов лекарств. Прикладная значимость полученных результатов определяется тем, что совокупность данных диссертационной работы представляющих собой полноценную характеристику (физико-химическую, фармакодинамическую, фармакокинетическую и токсикологическую) новой субстанции и лекарственной формы в объеме, достаточном для проведения клинических исследований и получения нового лекарственного препарата. Соискателем впервые описаны физико-химические свойства,

фармакодинамика, фармакокинетика и токсикология гликозил-НММ-1. Основные результаты диссертационной работы являются новыми. Научная новизна работы подтверждена Патентом на изобретение: № 1129 “Способ лечения асцитной опухоли Эрлиха” с использованием субстанции гликозил-НММ-1. Главное и новое в диссертационной работе то, что найдено оригинальное производное нитрозометилмочевины с наличием выраженного противоопухолевого потенциала, но не токсичного. При этом, что сама исходная нитрозометилмочевина является высокотоксичным соединением. Доказательства этого положения определяют и новизну и научную ценность работы.

#### **Оценка содержания диссертации.**

Диссертация по форме и содержанию написана в соответствии со стандартными и принятыми требованиями к работам на соискание ученой степени доктора медицинских наук.

*Во введении* автором обоснована актуальность исследования, отражена степень изученности проблемы, определены цель и задачи, новизна и практическое значение данного исследования.

*В главе «Обзор литературы»* автор систематизировал литературные данные по современному состоянию проблемы ХТ опухолей, на основании которого автором обоснована необходимость разработки и изучения новой ПО субстанции из группы углеводных производных НММ. Автором обобщен и проанализирован большой объем научных данных по результатам изучения источников отечественной и зарубежной литературы об известной группе ПО производных НММ. Обоснована актуальность и необходимость проведения данного исследования в Кыргызстане. Результат достоверен, так как получен в результате глубокого анализа существующих научных данных мировой литературы с использованием подходов доказательной медицины.

*Вторая глава* посвящена описанию этапов проведения, объектов и методов исследования. В ней дана характеристика предмета и объектов исследования, подробно описаны методики, использовавшие при проведении

диссертационной работы, которые вполне современны, информативны и адекватны поставленным задачам. Примененные методы исследования: физико-химические, доклинические экспериментальные, фармакологические, клинико-лабораторные, биохимические, морфологические, цитологические методы являются современными, подобраны к цели и конкретным задачам исследования. Доклинические экспериментальные исследования по изучению профиля безопасности и специфической ПОА проведены на 2368 аутбредных животных: 1340 белых беспородных мышах и на линии мышах BALBC, 888 крысах Вистар, 96 морских свинок и 44 кроликах породы Шиншилла обоих полов в сравнении с циклофосфамидом.

Данные полученные в результате экспериментальных и лабораторных исследований были подвергнуты статистической обработке с использованием современных методов биостатистики по программе «Стат-6».

При проведении исследований использовались химические реактивы, посуды, стандартные образцы, соответствующие требованиям нормативно-технической документации, медицинская аппаратура и др.

Объем проведенных исследований позволяет заключить, что работа выполнена на соответствующем уровне.

*В 3, 4, 5, 6 и 7 главах* представлены материалы собственных исследований автора и их обсуждение. В процессе исследования, в соответствии с установленными задачами, соискателем получены наиболее существенные научные результаты, позволяющие сделать объективные выводы.

❖ результаты изучения физико-химических свойств субстанции гликозил-НММ-1: в составе содержит компоненты, которые широко используются в фармацевтической практике; технологии получения состоит: из реакции взаимодействия моносахаридов с алкилмочевинами в условиях нуклеофильного катализа с добавлением ариламинов и нитрозирования N-алкил-гликозилмочевин; водорастворимая, обладает избирательными свойствами характерными для моносахаридов. Гликозил-НММ-1 по



нормативам соответствует требованиям ГФ XI и XIII изд. для сухих лекарственных субстанций, предназначенных для инъекций;

- ❖ при изучении острой токсичности гликозил-НММ-1, при однократном в/б и в/в введениях экспериментальным животным, установлены высшие летальные дозы, которые равняются 1950 и 717 мг/кг, соответственно. Оригинальная субстанция малотоксична, по международной системе классификации токсичности веществ GHS относится к IV классу. Изучение анатомо-морфологического состояния внутренних органов животных на фоне применения субстанции не выявило патологических изменений. При исследовании хронической токсичности гликозил-НММ-1 не выявлено отрицательного влияния на состояние животных, массу тела, температуру тела, показатели периферической крови, биохимические показатели сыворотки крови, на функции почек, центральной нервной системы. Морфологическое изучение состояния внутренних органов животных, динамика относительной массы органов в условиях хронической токсичности показали, что гликозил-НММ-1 не вызывает патологических изменений в органах в сравнении с циклофосфамидом. Полученные результаты достоверны и подтверждены экспериментальными данными;
- ❖ «Изучение специфической ПОА субстанции гликозил-НММ-1 на животных-опухоленосителях с АОЭ (диплоидный вариант)». Результаты исследования асцитного варианта АОЭ показали, что ПОА гликозил-НММ-1 проявляется в уменьшении массы тела и объема асцитной опухоли, выраженной противоопухолевой активностью (ПОА) до 93 %. При цитологическом изучении асцитной опухоли выявлены отдельно лежащие клетки в различных положениях. В препаратах контрольной группы наблюдались признаки апоптоза в виде «протуберанцев» цитоплазмы. Опухолевые клетки окрашивались интенсивно, находились в состоянии лизиса с образованием клеток-«теней». На фоне гликозил-НММ-1 опухолевые клетки уменьшились. Обнаружены мезотелиальные клетки с апоптозом в периоде лизиса с формированием клеток-«теней». Патоморфологическое изучение

специфической ПОА субстанции при АОЭ (диплоидный вариант) проявляется морфологическими признаками повреждения опухолевой ткани: появляются многоядерные клетки, очаги некроза, выраженные дегенеративно-дистрофические изменения, гибель и лизис клеток. Вокруг зоны некроза разрастается соединительная ткань; кровеносные сосуды расширены, проницаемость сосудов повышена.

Изучение специфической ПОА гликозил-НММ-1 на подкожном варианте АОЭ позволяет говорить о преимуществе изучаемой субстанции, которая в исследуемых дозах снижает массу тела у животных-опухоленосителей до нормы; масса опухоли на 7-й, 14-й и 21-е дни полностью уменьшилась; ТРО составило 97 %, СПЖ равняется 81%, УПЖ (175 дней); уменьшалось количество лейкоцитов в крови до нормы у опухоленосителей. Следовательно, гликозил-НММ-1 соответствует критериям ПОА в первичном скрининге по отбору ПО препаратов. Под влиянием препарата сравнения масса опухоли уменьшилась в 2 раза меньше, ТРО составило 47%, происходило угнетение лейкопоза за счет относительного и абсолютного количества лимфоидных элементов крови, незначительно снижалось количество лейкоцитов по сравнению с контрольными животными-опухоленосителями. Результаты патоморфологического исследования внутренних органов и тканей также свидетельствуют о том, что в микроструктуре органов у опухоленосителей происходят аналогичные изменения, как при специфической ПОА асцитного варианта АОЭ.

- ❖ «Изучение фармако-токсикологических свойств субстанции гликозил-НММ-1 в сравнении с циклофосфамидом. Результаты исследования местно-раздражающего, аллергогенного действия, влияние на иммунную систему, кумулятивные, возможного канцерогенного, мутагенного, эмбриотоксического и тератогенного свойств показали, что субстанция не вызывает патологических изменений. Изучение фармакокинетики гликозил-НММ-1 при сравнении фармакокинетических параметров, установленных в

условиях нашего эксперимента относительно субстанции гликозил-НММ-1, с фармакокинетическими характеристиками собственно нитрозомочевины (НМ) позволяет констатировать однотипность фармакокинетики. Результаты изучения содержания гликозил-НММ-1 в кровотоке показали, что после введения через 15 минут в плазме крови определяются лишь следы, которые быстро исчезают из кровотока.

- ❖ «Способ лечения АОЭ (диплоидный вариант) у животных-опухоленосителей». В этой главе описано лечение асцитного и подкожного варианта варианта АОЭ с применением гликозил-НММ-1 у животных-опухоленосителей. Результаты способа лечения с гликозил-НММ-1 показали, что субстанция обладает выраженным ПО действием, превосходящим по активности препарат сравнения. Преимуществами гликозил-НММ-1 являются высокая ПОА при АОЭ (диплоидный вариант) - 93 и 97 %, УПЖ - 175 дней, не вызывает лейкопению по сравнению с циклофосфамидом, обладает избирательными свойствами и проникающей способностью через ГЭБ.

В конце каждой главы автором делается краткое обсуждение и заключение по проведенным исследованиям, что позволяет четко оценить полученные научные результаты.

**Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

Обоснованность и достоверность результатов, основных положений, заключений и выводов, подтверждается концептуальной целостностью и логическим единством исследования, достаточным объемом выборочных совокупностей, адекватными методами исследований.

Заключения и выводы соискателя взаимосвязаны и основаны на полученных научных результатах.

Данные о внедрении результатов исследований подтверждают практическую ценность полученных данных.

Кроме того, значительный вклад в обеспечение достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, вносят многочисленные апробации результатов исследований на научно-практических конференциях и симпозиумах различных уровней.

На основании вышеизложенного считаю, что степень обоснованности и достоверности каждого результата, вывода и заключения соискателя, сформулированных в диссертации, достаточная.

#### **Практическая значимость полученных результатов.**

Полученные данные о ПОА субстанции гликозил-НММ-1 уточняет спектр фармакологической активности и механизм ее действия, что позволяет рекомендовать дальнейшее изучение ее клинической эффективности и безопасности в качестве ПО средства.

#### **Опубликованность результатов исследования.**

Основные результаты диссертационной работы Камчибековой Ч. отражены в 28 научных статьях диссертанта, опубликованных в периодических рецензируемых научных изданиях индексируемых системой РИНЦ. Кроме того диссертант является обладателем Патента на изобретение Кыргызской Республики.

**Автореферат** полностью отражает основное содержание диссертации.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа включает введение, литературный обзор, главу «Материалы и методы исследования», 5 глав с описанием результатов собственных исследований, выводы, практические рекомендации, список литературы, включающий 359 использованных источников, из них 226 отечественных и стран ближнего зарубежья и 133 дальнего зарубежья; и приложение. Список использованной литературы состоит из отечественных и зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 9 таблицами, 127 рисунками.

Диссертационная работа изложена на 297 страницах текста, выполненного на компьютере, шрифтом Times New Roman 14 через 1,5 межстрочных интервала.



**Соответствие диссертации специальности.** Содержание диссертационной работы Камчибековой Ч. на тему «Разработка нового противоопухолевого лекарственного препарата гликозил-нитрозометилмочевина-1» на соискание ученой степени доктора медицинских наук полностью соответствует паспорту специальности 14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология.

#### **Недостатки по содержанию и оформлению диссертации.**

Замечаний, реально снижающих значимость полученных результатов, не нахожу, изложенные ниже не являются принципиально значимыми для оценки диссертации.

1. Выбор циклофосфида в качестве препарата сравнения представляется не слишком удачным, хотя и понятным (по механизму действия). Почему для сравнения не взята собственно нитрозометилмочевина или её аналог?
2. Восприятие работы затруднено многочисленными стилистическими неточностями в выводах, например «Субстанцию получают простым методом синтеза, хорошо растворима в воде», «гликозил-НММ-1 полностью уменьшает массу тела у опухоленосителей и объем асцитной опухоли, содержание лейкоцитов крови до нормы у животных-опухоленосителей».
3. Также к разряду стилистических погрешностей можно отнести и описание фармакодинамического эффекта на опухоли Эрлиха «Способ лечения с применением гликозил-НММ-1 асцитного и подкожного вариантов Асцитной опухоли Эрлиха». В работе приводится полноценное описание противоопухолевого эффекта и фармакодинамики на данной общепринятой модели, но к «способу лечения» это имеет косвенное отношение, поскольку модель не является болезнью.
4. Практические рекомендации представлены в недостаточно оформленном виде. Понятно, что соискатель рекомендует проведение клинических исследований субстанции на основании полученной доклинической

характеристики, но указать это необходимо было более четко. Кроме того, предположение, что субстанция гликозил-НММ-1 в будущем может оказаться эффективным средством для лечения онкологических заболеваний рекомендацией собственно и не является.

Сделанные замечания не снижают теоретической и практической ценности работы. Выбор методов исследования, организация и проведение исследовательской работы по теме диссертации, свидетельствуют о хорошей методической, исследовательской и научной подготовке автора.

Имеется пожелания, чтобы в ближайшей перспективе соискатель участвовал в составлении Протокола клинических исследований нового противоопухолевого препарата на основании положений, разработанных в диссертации.

**Соответствие диссертации предъявляемым требованиям раздела II, пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Кыргызской Республики.**

Диссертационная работа Камчибековой Ч. на тему «Разработка нового противоопухолевого лекарственного препарата гликозил-нитрозометилмочевина-1», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук является законченным, самостоятельно выполненным квалификационным научным трудом, направленным на решение актуальной задачи - разработки нового противоопухолевого лекарственного препарата, имеющей большое значение для фармакологии и онкологии.

Диссертационная работа Камчибековой Ч. соответствует паспорту специальности 14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология.

По актуальности темы, объему проведенных исследований, научной новизне, теоретической и практической значимости, диссертация Камчибековой Ч. на тему «Разработка нового противоопухолевого лекарственного препарата гликозил-нитрозометилмочевина-1» полностью удовлетворяет требованиям раздела II, пункта 9 предъявляемым к докторским

диссертациям «Положением о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Кыргызской Республики, а её автор - Камчибекова Чолпон, заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология.

**Официальный оппонент:**

доктор медицинских наук, профессор,  
ведущий научный сотрудник ЧУ «Центр наук о жизни»,  
NLA, Назарбаев Университет,  
Республика Казахстан, г. Астана



А. Е. Гуляев

*Ирина Галиева д.т.н.*  
*заведующая* *Рыскулова*