СТЕНОГРАММА

Заседания диссертационного совета 24.1.192.02 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН)

г. Новосибирск 30 октября 2026 г.

ЗАЩИТА ДИССЕРТАЦИИ

инженером-исследователем Лаборатории первичного биоскрининга, клеточных и генных технологий Научно-образовательного и инновационного центра химико-фармацевтических технологий Химико-технологического института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.16 – медицинская химия.

Научный руководитель: к.м.н. Мелехин Всеволод Викторович.

Официальные оппоненты:

Груздев Дмитрий Андреевич, доктор химических наук, ведущий научный сотрудник Лаборатории медицинской химии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского» Уральского отделения Российской академии наук (ИОС УрО РАН), г. Екатеринбург

Назаров Алексей Анатольевич, кандидат химических наук, доцент кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ), г. Москва.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук (ФИЦ ПХФ и МХ РАН), г. Черноголовка

На заседании присутствовали 19 членов диссертационного совета из 25, в том числе:

1) Волчо Константин Петрович	д.х.н., проф. РАН, председатель	1.4.16.
2) Тихонов Алексей Яковлевич	д.х.н., доцент РАН, зам. председателя	1.4.3.
3) Патрушев Сергей Сергеевич	к.х.н., учёный секретарь	1.4.16.
4) Артемьев Александр Викторович	д.х.н., член совета	1.4.4.
5) Багрянская Ирина Юрьевна	д.х.н., член совета	1.4.4.
6) Басова Тамара Валерьевна	д.х.н., член совета	1.4.4.
7) Борисевич София Станиславовна	д.х.н., член совета	1.4.16.
8) Карпов Виктор Михайлович	д.х.н., член совета	1.4.3.
9) Колтунов Константин Юрьевич	д.х.н., член совета	1.4.3.
10) Лузина Ольга Анатольевна	д.х.н., член совета	1.4.16.
11) Макаров Александр Юрьевич	д.х.н., член совета	1.4.3.
12) Меженкова Татьяна Владимировна	д.х.н., член совета	1.4.3.
13) Платонов Вячеслав Евдокимович	д.х.н., член совета	1.4.3.
14) Салахутдинов Нариман Фаридович	д.х.н., член совета	1.4.16.
15) Ткачев Алексей Васильевич	д.х.н., член совета	1.4.3.
16) Харитонов Юрий Викторович	д.х.н., член совета	1.4.3.
17) Шелковников Владимир Владимирович	д.х.н., член совета	1.4.4.
18) Шульц Эльвира Эдуардовна	д.х.н., член совета	1.4.16.
19) Яровая Ольга Ивановна	д.х.н., член совета	1.4.16.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Добрый день. Продолжаем нашу работу. Значит, теперь у нас защита кандидата диссертации на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности Медицинская химия. В зале присутствует 19 членов диссертационного совета, из них шесть по специальности Медицинская химия. Кворум есть, можно приступить к работе. Соискатель Тохтуева Мария Дмитриевна. Сергей Сергеевич, Вам слово.

Ученый секретарь диссертационного совета – к.х.н. Патрушев Сергей Сергеевич

В диссертационном деле Тохтуевой Марии Дмитриевны имеются заявление, поданное 12 августа 2026 года; копия свидетельства об окончании аспирантуры по специальности 1.4.16 Медицинская химия и приложение к диплому; копия справки о сдаче кандидатских экзаменов, в том числе по научной специальности 1.4.16 Медицинская химия; список научных трудов; отзыв научного руководителя, кандидата медицинских наук, доцента Мелехина Всеволода Викторовича, заведующего лабораторией первичного

биоскрининга клеточных и генных технологий УФУ имени первого Президента России Бориса Николаевича Ельцина, Екатеринбург; заключение организации, в которой выполнялась диссертация – это Уральский федеральный университет имени Первого Президента России Бориса Николаевича Ельцина; отзыв ведущей организации, ей выступил Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук, Черноголовка; два отзыва официальных оппонентов – доктора химических наук Груздева Дмитрия Андреевича и кандидата химических наук Назарова Алексея Анатольевича. В совет пришло четыре отзыва и имеется проект заключения дис. совета. Все необходимые документы имеются, Мария Дмитриевна, Вам слово.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Уважаемые члены диссертационного совета, тема диссертационной работы посвящена исследованию противоопухолевой активности циклоплатинированных соединений и оценке их роли в запуске программируемой клеточной гибели в злокачественно перерождённых клетках.

Онкологические заболевания являются актуальной проблемой современного здравоохранения ввиду высоких показателей смертности и частотой диагностируемых заболеваний. Основным подходом к лечению в настоящее время остаётся химиотерапия, в частности, препараты платины, такие как цисплатин, карбоплатин и оксалиплатин. Однако, несмотря на свою доказанную эффективность, они обладают рядом существенных недостатков в виде высокой токсичности и приобретённой устойчивости к воздействию. Поэтому актуален поиск новых противоопухолевых агентов, которые позволили бы преодолеть вышеупомянутые ограничения.

Основной механизм платиновых препаратов заключается в том, что при проникании в клетку они попадают в ядро и образуют сшивки с ДНК, в результате чего нарушается процесс удвоения или репликации, и клетка запускает программируемую клеточную гибель по типу апоптоза. Однако следствием такого механизма является высокая токсичность, так как под ударом оказываются все быстро делящиеся клетки в организме и приобретение резистентности из-за того, что клетки находят способы обхода такого воздействия через усиленные системы репарации или выведения препаратов из клетки.

При этом интересен поиск соединений, которые индуцировали бы альтернативные пути клеточной смерти и сохранение в структуре платины позволило бы сохранить вышеупомянутую активность, при этом изменение лигандного окружения и заместителей потенциально могло бы привести к иному механизму действия. Действительно, в литературе описаны комплексы платины, которые вызывают альтернативные пути клеточной смерти. Такие исследования опубликованы в настоящее время *in vitro*, что подтверждает гипотезу о возможности создания таких соединений и перспективе их

дальнейшего доклинического и клинического исследования. Однако в настоящее время на стадиях клинических испытаний находятся только комплексы платины IV, так называемые пролекарства, которые восстанавливаются до комплексов платины II уже внутри клетки. Поэтому первостепенной задачей является поиск комплексов платины II, которые способны были бы индуцировать альтернативные пути клеточной смерти, и затем уже создание на их основе потенциальных пролекарств в виде комплексов платины IV.

Перспективной платформой для разработки таких соединений являются комплексы платины арилбипиридинов, которые имеют в структуре платину, отличаются по структуре от применяющихся в настоящее время цисплатина, карбоплатина и оксалиплатина и в литературе описаны структурно похожие соединения, обладающие биологической активностью. Поэтому целью работы было изучение противоопухолевой активности серии комплексов платины арилбипиридинов, определение механизма действия соединения-лидера и разработка на его основе потенциального пролекарства в виде комплекса платины IV с верификацией механизма и мишени.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи: первичный скрининг цитотоксической активности серии комплексов платины II с определением концентрации полумаксимального ингибирования; установление основного противоопухолевого действия определённого соединения лидера; идентификация мишени и характеристика механизма клеточной гибели; синтез потенциального пролекарства в виде комплекса платины IV и верификация его механизма действия и мишени внутриклеточной.

Положения, выносимые на защиту, вы можете увидеть на слайде, каждое из них будет далее подробно рассмотрено по ходу доклада.

Для синтеза изучаемых комплексов платины II использовался метод Крёнке с дальнейшим циклоплатинированием, схема синтеза и выходы лигандов и непосредственно комплексов платины вы можете увидеть на слайде. Синтез осуществлялся на кафедре Технологии органического синтеза Уральского федерального университета под руководством Ельцова Олега Станиславовича.

Первым положением, выносимым на защиту, является: из серии выбранных хлороплатиновых комплексов арилбипиридинов одно соединение обладает выраженной противоопухолевой активностью и является веществом лидером.

Для изучения цитотоксической активности применялся МТТ-тест, на основании которого были рассчитаны концентрации полумаксимального ингибирования. Для тестирования было выбрано три клеточных линии опухолевого генеза и одна условная нормальная клеточная линия HEK293. Исходя из полученных данных, было установлено, что соединение **2.2e** обладает наилучшей противоопухолевой активностью в отношении всех клеточных линий, используемых в эксперименте, а также некоторой селективностью в отношении клеточной линии A172.

При этом интересным оказался анализ кривых «доза-эффект». Это зависимость жизнеспособности от концентрации вещества. И этот анализ позволил установить так называемое «фармакологическое окно» для комплекса **2.2e** – это область концентрации, при которой опухолевые клетки снижают свою жизнеспособность, при этом условно нормальные клетки сохраняют её практически на 100 %-ном уровне. Что касается цисплататина, который в данном случае использовался как препарат сравнения или как положительный контроль, в данном случае такого фармакологического окна не наблюдалось, и все клетки снижали свою жизнеспособность примерно с одинаковой динамикой, что говорит об отсутствии селективности, что и характерно для данного соединения.

Таким образом, было определено соединение-лидер и следующим этапом работы, и положением два, выносимым на защиту, стало определение противоопухолевого механизма действия, который связан с окислительным стрессом и не обусловлен образованием сшивок с ДНК, в отличие от классических препаратов платины, индуцирующих апоптоз.

Для определения противоопухолевого механизма было выбрано три основных теста. В первую очередь изучалась способность соединения **2.2e** индуцировать апоптоз в сравнении с цисплатином. В данном случае на диаграмме тёмно-серым выделена область, отражающая процент клеток, переходящих в апоптоз под влиянием веществ. Видно, что цисплатин индуцирует апоптоз выраженней, чем комплекс **2.2e**, что говорит о том, что для этого соединения апоптоз может быть скорее сопутствующим механизмом действия, чем основным.

Следующим этапом стало изучение его влияния на процессы репликации или на S-фазу клеточного цикла. Для этого использовалась флуоресцентная микроскопия. В центральной части слайда представлены микрофотографии: красным светятся клетки, активно реплицирующие ДНК, в то время как синим светятся все клетки, находящиеся в пробе. Можно увидеть, что под влиянием комплекса **2.2e** практически все клетки сохраняли репликативную активность на уровне, сопоставимом с отрицательным контролем, который не подвергался никакому воздействию, в то время как под влиянием цисплататина клетки практически полностью блокировали свою репликацию, что характерно для его механизма действия. Этот эксперимент стал ключевым в понимании того, что механизмы комплекса **2.2e** и цисплатина отличаются.

Следующим этапом стало изучение способности комплекса **2.2e**, также в сравнении с цисплатином, вызывать окислительный стресс. Изучалась его способность продуцировать активные формы кислорода. Для этого использовалась флуоресцентная микроскопия, в данном случае зелёным светятся клетки, которые активно вырабатывают активные формы кислорода. Можно увидеть, что под влиянием комплекса **2.2e** наблюдается яркая зелёная

флюоресценция, что говорит о выраженном окислительном стрессе и о том, что природа его механизма связана именно с этим.

В связи с полученными данными, следующим этапом работы стал поиск мишени. Положение 3, выносимое на защиту – установлена внутриклеточная мишень в виде глутатиона или антиоксидантной системы NRF2/глутатион.

Исходя из полученных результатов о природе механизма комплекса **2.2e**, связанного с окислительным стрессом, была выдвинута гипотеза, что это может быть связано с подавлением антиоксидантной системы защиты клетки, в частности, глутатионовой системы. Поэтому было изучено влияние соединения на активность глутатионовой системы и, как следствие, на индукцию такого типа клеточной смерти, как ферроптоз, который во многом связан с подавлением работы антиоксидантных систем, в частности, глутатионовой.

Для этого было выбрано несколько маркеров, которые изучали с помощью метода вестерн-блоттинга, отражающего экспрессию белка в клетке. С правой стороны слайда видны белковые полоски, отражающие количество белка в клетках после воздействия изучаемыми соединениями. В данном случае в качестве положительного контроля использовался уже эрастин – это известный индуктор ферроптоза. Можно увидеть, что под влиянием комплекса **2.2e** практически полностью исчезает белковая полоска, соответствующая глутатионпероксидазе 4 – это GPX4, входящая в состав работы глутатионовой системы. При этом эрастин также подавляет экспрессию белка, однако менее выраженно. Наблюдается повышенная экспрессия транскрипционного фактора NRF2 – это фактор, который активируется в ответ на окислительный стресс, что согласуется с предположенным механизмом действия. Также важным показателем является фермент ACSL4, который отвечает за формирование фосфолипидного слоя мембран. Он находится на уровне, сопоставимым с контролем, что говорит о наличии пула к окислению в клетках при воздействии комплекса **2.2e**.

При этом важно отметить, что результаты полимеразной цепной реакции в реальном времени, отражающие количество мРНК, отвечающей за синтез белка, в данном случае, не отличаются от контроля. Это говорит о том, что действие соединения начинается уже на посттрансляционном уровне, то есть непосредственно после биосинтеза белка.

В результате полученных данных была выдвинута гипотеза о том, что возможной мишенью комплекса **2.2e** может быть глутатион, так как наблюдалось практически полное подавление количества глутатиопероксидазы 4, входящей в состав глутатионовой системы. Взаимодействие комплекса **2.2e** с глутатионом изучалось с помощью ЯМР-спектроскопии. Были получены H^1 ЯМР-спектры, которые позволили предположить, что происходит взаимодействие комплекса **2.2e** с глутатионом по Pt-S связи.

Данная гипотеза также была подтверждена изменением сигналов в Pt^{195} ЯМР-спектрах и конечным результатом работы, позволяющим сделать заключение о том, что происходит взаимодействие, был двумерный спектр, отражающий корреляцию связей по Pt-S связи. Таким образом, было установлено, что основным механизмом действия соединения **2.2e** является ферроптоз, а мишенью в клетке – глутатион.

Следующим этапом работы и положением 4, выносимым на защиту, стал синтез комплекса платины IV или пролекарства. На основе соединения лидера комплекса платины II было синтезировано потенциальное пролекарство или комплекс платины IV, цитотоксическая активность которого значительно превышала предшественник.

Для синтеза комплекса платины IV использовалась реакция мягкого окисления с ДМСО и соляной кислотой. Синтез также осуществлялся на кафедре Технологии органического синтеза в Уральском федеральном университете под руководством Олега Станиславовича Ельцова.

Цитотоксическая активность изучалась с помощью МТТ-теста, и было установлено, что комплекс платины IV обладает значительно большей цитотоксической активностью, чем его предшественник комплекс платины II.

При этом расчёт коэффициента селективности позволил установить значительно большую селективность в отношении клеток глиобластомы A172, что говорит об успешной модификации соединения.

Следующим этапом и положением 5, выносимым на защиту, стала верификация мишеней и механизма синтезированного комплекса платины IV. Верифицировано сохранение механизма действия комплекса платины IV, подтверждена индукция ферроптоза и блокировка глутатионовой системы, а также идентифицированы дополнительные мишени, вызывающие апоптотические механизмы клеточной смерти.

Для способности индуцировать ферроптоз, также применялся метод вестерн-блоттинга, который позволил установить снижение содержания количества глутатиопероксидазы 4 – GPX4, повышение содержания транскрипционного фактора NRF2 и достаточное количество фермента ACSL4.

При этом интересно отметить, что в данном случае наблюдалось чуть менее выраженное подавление экспрессии фермента GPX4, что может быть связано с пролонгированным и накопительным эффектом комплекса платины IV и более мягким воздействием на клетки.

Подтверждение мишени также выполнялось с помощью ЯМР-спектроскопии. Анализ H^1 ЯМР-спектров позволил установить смещение сигналов по водороду с образованием полупродукта, также, как и в случае с комплексом платины II, однако в данном варианте реакция шла медленнее. При этом интересно отметить, что с течением

времени в системе наблюдались изменения сигналов, характерные для образования комплекса платины II. При этом наблюдалось расходование глутатиона. Исходя из этого, был сделан вывод, что комплекс платины IV восстанавливается до комплекса платины II с помощью глутатиона, и образовавшийся комплекс платины II уже взаимодействует с глутатионом, блокируя его работу.

И повышение активности комплекса платины IV не могло исключать вовлечение дополнительных мишеней, поэтому была изучена его способность индуцировать апоптоз с помощью флуоресцентного окрашивания с аннексином V, а также с помощью вестерн-блоттинга. И было установлено, что комплекс платины IV способен также дополнительно вызывать и апоптотическую гибель клеток. Однако данные по аннексину говорят о том, что большое количество клеток – с нарушенной целостностью цитоплазматической мембраны, что предполагает индукцию ферроптотической гибели, как основной механизм действия, а апоптоз – как сопутствующий.

По результатам работы было опубликовано три статьи, две из которых индексируемы в Scopus и одна статья в ВАК по специальности Медицинская химия. Результаты были представлены на 12-ти конференциях российского и международного уровня, по результатам которых были опубликованы тезисы.

Личный вклад в работу заключался в предложении основной идеи и цели исследования, разработке дизайна эксперимента, постановке протоколов и обработке данных, проведении всех исследований на культивируемых клетках *in vitro*, анализе полученных результатов с применением теоретических и практических навыков работы.

Перспективы дальнейших исследований включают в себя исследования на моделях *in vivo*, а также комбинированные исследования комплексов платины, описанных в работе, с известными противоопухолевыми препаратами.

В заключение хотелось бы сказать, что в работе впервые предложен и обоснован подход использования комплексов платины II, как индукторов ферроптотического механизма гибели клеток с последующей трансформацией в комплекс платины IV. При этом за исходную матрицу в работе взяты не известные комплексы платины II, такие как цисплатин, а структурно отличающиеся, в виде комплексов платиновых арилбипиридинов.

Выводы по работе включают в себя следующие пункты:

Из серии хлорплатиновых-II-комплексов арилбипиридинов одно соединение обладает выраженным противоопухолевым действием и некоторой селективностью, которая превышает цисплатин. Установлена неапоптотическая природа индуцированной клеточной смерти под действием вещества, которое вызвано окислительным стрессом.

Подтверждено, что ДНК не является основной мишенью изученного соединения в отличие от классических препаратов платины, которые в том числе находятся на стадиях

клинических испытаний. Впервые показана способность комплекса платины II индуцировать фероптоз через блокировку глутатиона и ингибирование антиоксидантной системы защиты клетки. Описан синтез пролекарства комплекса платины IV на основе определённого соединения лидера комплекса платины II и описана его цитотоксическая активность в разы превышающая предшественник.

И установлен и описан механизм разработанного потенциального пролекарства, который заключается в индукции ферроптоза из-за блокировки глутатиона через предварительное восстановление комплекса платины IV до комплекса платины II, посредством глутатиона, с его переходом в окисленную форму, не вступающую в реакцию с комплексом платины II.

Спасибо за внимание!

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Спасибо. Вопросы, пожалуйста. Да, Ольга Анатольевна?

Член диссертационного совета – д.х.н., Лузина Ольга Анатольевна

Спасибо за доклад. У меня несколько вопросов. В начале доклада я услышала, что я для меня понятно, почему нужны альтернативные механизмы действия. А почему нужен альтернативный путь клеточной смерти? Насколько я слышала, все, кто занимается противоопухолевыми препаратами, все стремятся к апоптозу. Чем ферроптоз лучше апоптоза?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Спасибо за вопрос. На самом деле апоптоз – это самый распространённый ответ клетки на химическое воздействие. Он считается одним из наиболее безопасных способов для клетки погибнуть, так как не происходит резкого нарушения целостности цитоплазматической мембраны и механизмы индукции апоптоза с точки зрения возможности вызова этого типа клеточной смерти достаточно распространены. И даже если есть какие-то соединения, которые сейчас изучаются или разрабатываются, они в конечном счёте, скорее всего, с большой вероятностью будут индуцировать апоптоз тоже, однако, значительно менее выражено, потому что это очень распространённый ответ клетки на воздействие.

Однако, если мы говорим о том, что это основной механизм работы, то он может быть сопряжён с теми ограничениями, которые я в докладе обозначила, потому что клетка находит способы ухода от индукции апоптоза и в конечном итоге остаётся резистентной или устойчивой к воздействию. И поэтому интересен поиск других типов программируемой клеточной гибели, которые не зависят от сигналинга апоптоза, то есть от работы каспаз или

других каких-то сигналов, запускающих апоптоз, которые клетка может обходить. И вот одним из таких вариантов может быть ферроптоз.

Член диссертационного совета – д.х.н., Лузина Ольга Анатольевна

А что в нём хорошего? То есть, почему он хороший именно?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Ну, тут сложно сказать, хороший или плохой. Скорее всего, можно сказать то, что это тоже тип программируемой клеточной смерти, который можно регулировать за счёт действия каких-то химических соединений или химических агентов. То есть мы можем как-то избирательно или селективно индуцировать ферроптоз без, например, условного вреда нормальным клеткам и с высокой активностью в отношении клеток, которые устойчивы к апоптозу.

Член диссертационного совета – д.х.н., Лузина Ольга Анатольевна

Ага, спасибо, поняла. А ещё один вопрос по поводу выбора клеточных линий. Эти клеточные линии как-то связаны с использованием платиновых препаратов?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Выбор клеточных линий обусловлен был несколькими аспектами. Во-первых, при первичном скрининге, мы старались выбрать клеточные линии различного опухолевого генеза. То есть мы взяли глиобластому, карциному печени и карциному лёгкого и условно нормальные клетки почки эмбриона человека. Препараты платины используются для лечения, например, карциномы лёгкого – широко применяются. В какой-то степени они используются и для глиобластомы тоже. Поэтому тут была такая комбинация принятых решений, связанных с тем, что да, они применяются в отношении некоторых типов данных злокачественных новообразований, но в то же время хотелось взять более широкий разбег, чтобы посмотреть, как соединение будет действовать в отношении клеток различного происхождения. И уже на основании этого сделать какое-то предположение о том, а почему именно вот так вот оно работает.

Член диссертационного совета – д.х.н., Лузина Ольга Анатольевна

Спасибо. Ещё парочка вопросов. Один из них касается выбора соединений для скрининга. То есть был ли какой-то осмысленный выбор этих производных платины? Или это просто то, что где-то имелось в наличии. Как-то лиганды вообще в принципе таргетно конструировались, нет?

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Десятый слайд. Почему именно эти лиганды?

Тохтуева Мария Дмитриевна

На самом деле выбор линейки соединений был обусловлен тоже рядом причин. Во-первых, в работу мы взяли бипиридиновые комплексы платины с бипиридиновыми лигандами, в которых две координационные связи, одна ковалентная, что потенциально предполагало большую стабильность данных веществ в сравнении с, например, терпиридиновыми комплексами платины. При этом структурно похожие соединения, пиридиновые лиганды в литературе описаны с точки зрения и биологической активности, и противоопухолевой активности, и даже с точки зрения возможности индукции неапоптотической гибели клеток. Поэтому выбрали линейку именно вот таких соединений, потому что подумали, что они, потенциально могут быть активны и потенциально могут работать иначе, чем то, что сейчас есть, и отличаются уже от того, что в целом описано, но структурно схоже.

Член диссертационного совета – д.х.н., Лузина Ольга Анатольевна

Хорошо, поняла.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Можно я продолжу чуток? А вот почему вы решили варьировать сложный эфир, вот эта эфирная группа, которая в ароматическом кольце – O-R_2? Это донорный заместитель, он насколько важен?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Насколько он важен и как так получилось? Сейчас я перейду на таблицу с МТТ-тестом. На самом деле, чем длиннее вот этот алкильный фрагмент, тем большую противоопухолевую активность мы получали.

Член диссертационного совета – д.х.н., Лузина Ольга Анатольевна

Это связано, возможно, с какой-то биодоступностью?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Да, я к этому и веду, что первое, что мы увидели, когда протестировали противоопухолевую активность, что увеличение длины алкильного фрагмента приводит к повышению активности. мы предположили, что это может быть связано с изменением липофильных свойств соединений и провели расчёты, которые подтвердили нашу гипотезу о том, что чем длиннее алкильный фрагмент, тем выше липофильность. При этом почему длиннее не сделали, если такой вопрос возникает? Потому что это приводило к ограничениям растворимости соединений и уже снижению активности, как следствие.

Член диссертационного совета – д.х.н., Лузина Ольга Анатольевна

Ну, вопрос был чуть-чуть про другое, про то, что насколько важно, что там через кислород связанная какая-то группа, то есть донорный эффект в первую очередь

кислородом даётся. Нельзя ли было ввести какой-то другой заместитель? NO_2, допустим, имело ли это значение?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Ну, вообще на самом деле на биологическую активность это не повлияло бы. Потому что мы изучали также отдельно активность лиганда от самого вещества. И поэтому, сам заместитель, сам по себе, не несёт биологической активности как таковой.

Член диссертационного совета – д.х.н., Лузина Ольга Анатольевна

Я поняла на самом деле, да, что у Вас скорее вот о биодоступности варьировали. А просто это был удобный способ ввести. И у меня последний буквально вопрос. То есть вы вот механизм связывания своего препарата с глуататионом позиционируете как платина-сера. А цисплатин разве не может так же связываться с серой?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Цисплатин может так связываться.

Член диссертационного совета – д.х.н., Лузина Ольга Анатольевна

То есть у него тоже этот механизм?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Для цисплатина основным механизмом действия является образование сшивок с ДНК и индукция апоптоза. Взаимодействие с глутатионом, как таковое, имеет место быть, но с обратной стороны. Известно, что в данном случае глутатион может являться инактиватором цисплатина, потому что какая-то часть цисплатина, попадая в клетку, взаимодействуя с глутатионом, не успевает дойти до ДНК, и его действие может таким образом блокироваться. То есть нельзя сказать, что это его основной механизм работы, но с глутатионом он реагирует и глутатионовая система является одним из основных источником резистентности к цисплатину. Поэтому как раз мы подумали, что интересно было бы использовать наше соединения в комбинации с цисплатином, посмотреть повысится ли активность и эффективность цисплатина, если, например, мы введём наше соединение к клеткам в предтоксических концентрациях.

Член диссертационного совета – д.х.н., Лузина Ольга Анатольевна

Будет ли синергия, Вы имеете в виду?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Да. Потому что Pt-S связь для цисплатина описана и известна, но с точки зрения немножко другого действия.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Что получилось?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Пока что ещё в планах.

Член диссертационного совета – д.х.н., Лузина Ольга Анатольевна

Спасибо.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Да, Ольга Ивановна.

Член диссертационного совета – д.х.н., Яровая Ольга Ивановна

Разрешите всё-таки обратиться опять к методу синтеза, это ваш, по-моему, десятый слайд. Да, вот здесь. А можно мне указать, у вас конечные структуры, у них присутствуют R: R_1, R_2. Где они входят? На самой структуре R? В какой? От чего входят?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Вот этот заместитель, который с алкильным фрагментом, он входит на этапе алкилирования.

Член диссертационного совета – д.х.н., Яровая Ольга Ивановна

И где вот он там есть?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Вот здесь вот.

Член диссертационного совета – д.х.н., Яровая Ольга Ивановна

Тогда он должен быть R-Br, наверное, да?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Да.

Член диссертационного совета – д.х.н., Яровая Ольга Ивановна

Как минимум, да? То есть иначе это непонятно, откуда взялась буква «R», которой не было, и она появляется.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Ну, алкильный фрагмент идёт из реакции алкилирования непосредственно. Вот этот фенильный заместитель, уже сразу же при Крёнке.

Член диссертационного совета – д.х.н., Яровая Ольга Ивановна

Изобразить надо было более корректно с точки зрения химии. Согласны со мной, да? Подскажите, пожалуйста, формально можно считать, что вы изучили два класса соединений, да? То есть одни, у которых есть там сверху ещё фенилы, у других, у которых нет, да? А хоть на какие-то из них РСА были получены?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Да, на комплекс платины IV. Сейчас я покажу схему синтеза. Мы пытались сделать рентгеноструктурный анализ, но из-за подвижности алкильного фрагмента, к сожалению, не получилось. Поэтому дополнительно был произведён синтез, в диссертации он представлен, и если позволите, я могу показать результаты рентгеноструктурного анализа на комплекс платины IV, который с метильной группой здесь. И таким образом получилось установить структуру, но только так.

Член диссертационного совета – д.х.н., Яровая Ольга Ивановна

Это тоже даёт важный момент расположения. То есть, иными словами, вы понимаете, как расположен ваш комплекс, вы знаете его 3D, остов, фактически?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Да.

Член диссертационного совета – д.х.н., Яровая Ольга Ивановна

А проводилось ли у вас какое-то молекулярное моделирование, которое могло бы вам позволить делать выводы? Ну, потому что вот вы сейчас говорите, увеличение длины цепочки у R_1 приводит к увеличению эффективности. Но фактически вы это делаете на основании данных двух соединений. Если мы посмотрим вашу первую табличку, у вас там первые четыре примерно одинаковые, потом увеличивается длина заместителя, да? И фактически вы сравниваете последние две строчки между номером четыре и пять, потому что первые три одинаковые, правильно?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Не совсем. Тут метильный и этильный.

Член диссертационного совета – д.х.н., Яровая Ольга Ивановна

Я согласна. Но сравнивается фактически только два соединения. И вы на основании этого говорите о том, что чем длиннее, тем лучше эффективность. Но если слишком длинный, то не будет растворяться. Правильно?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Да.

Член диссертационного совета – д.х.н., Яровая Ольга Ивановна

Отсюда я к чему подвожу. То есть, если вы знаете 3D-структуру ваших комплексов, почему бы вам не сделать какое-то моделирование, тем более вы предполагаете, что у вас мишень известна? Делалось ли такое исследование?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Молекулярное моделирование мы не проводили. Молекулярный докинг, да, вы имеете ввиду? Сродство к мишеням? Наверное, это было бы интересно с теоретической точки зрения, расчётной. Но, нам показалось в данном случае достаточным информация из

литературных данных и полученные нами результаты экспериментов, чтобы сделать заключение о том, что вещество взаимодействует с глутатионом.

Член диссертационного совета – д.х.н., Яровая Ольга Ивановна

Вы очень жёстко говорите, что мы определили мишень. А вот я бы вот всё-таки сказала, что вы предполагаете, что у вас такая мишень. Потому что на основании тех результатов, которые вы сейчас нам показываете, вы очень много чего сделали, да. Но жёстко удостовериться и говорить, что «мы определили мишень», можно было бы, если бы вы кристалл вырастили с конечным вашим соединением, и то тоже не 100 %. И отсюда у меня следующий вопрос. А что известно вообще по ингибиторам, которые работают именно по этому пути? Существуют такие?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Соединение, которое мы брали в качестве положительного контроля, для изучения возможности соединения индуцировать ферроптоз. Оно также влияет на глутатионовую систему. Однако оно влияет на транспорт цистина в клетку и непосредственно на синтез глутатиона, то есть подавляется синтез глутитиона на более ранних стадиях. Что касается воздействия на клетку через блокировку глутатииона и взаимодействия с ним, таких исследований в литературе с точки зрения индукции ферроптоза нет. Однако, возможность взаимодействия платины с глутатионом через Pt-S связь описана.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

У меня немножко развитие этого. Вот вы показали на модельной системе «платиновый комплекс с глутатионом», что он взаимодействует, это подтверждено ЯМР-ом, то есть всё надёжно. Вы показали комплексом биологических исследований то, что оно действительно воздействует на глутатионовую систему. И вот не хватает вот этого промежутка. А вы действительно знаете, что *in vitro* в клетке этот комплекс образуется? Это можно как-то подтвердить или это там слишком низкие концентрации?

Тохтуева Мария Дмитриевна

На самом деле, это достаточно проблематично сделать, потому что клетка очень сложная система, однако для этого как раз-таки мы и использовали комбинацию разных методов. То есть, подтвердив взаимодействие с глутатионом в пробирке *in vitro* и изучив изменение спектров с помощью ЯМР, в комбинации с данными по биологической активности, указывающими на то, что происходит подавление экспрессии глутатионпероксидазы 4 и непосредственно глутатионовой системы, мы предположили, что комплекс, точнее, что эта система в клетке стабильна, что она образуется там. И также, как вот я уже раньше упомянула то, что мы отдельно изучили активность лиганда, который не проявлял цитотоксического действия и по кривым «доза-эффект» клетки под конец чуть-

чуть совсем снижают жизнеспособность. При этом сам платиновый комплекс обладает выраженной активностью, что говорит о том, что его структура сохранена и взаимодействие происходит, предположительно вот таким образом.

Член диссертационного совета – д.х.н,. Яровая Ольга Ивановна

Один маленький вопрос. Вот вы когда проводите эксперименты в ЯМРе, вы видите какое-то изменение. Вот этот комплекс, который образуется с аминокислотой и вашим комплексом платиновым, он обратимый или необратимый? Иными словами, можно ли это, кроме ЯМР, чем-то дополнительно подтвердить? Вот вы их смешали эти вещества и насколько, кроме ЯМРных данных, например, этот комплекс дополнительно подтвердить можно ещё?

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Масс-спектр?

Член диссертационного совета – д.х.н., Яровая Ольга Ивановна

Масс-спектр, например. Выпадает он у вас там как-то? Как его ещё дополнительно описать можно?

Тохтуева Мария Дмитриевна

На самом деле, вот на данном этапе работы выделить само соединение не получилось, потому что оно осмолялось на воздухе, распадалось и не получилось. Мы пока что работаем над этим. Поэтому сказать то, обратима реакция или необратима, на 100%, пока что тоже не представляется возможным. Что касается подтверждения с помощью масс-спектрометрии, к сожалению, из-за структуры комплекса платины II не удаётся получить пик молекулярного иона, потому что при электрораспылении распадается он. В общем, нет пика молекулярного иона, и поэтому, даже при подтверждении структуры веществ мы использовали ИК, элементный, ЯМР, РСА, потому что не получается масс-спектрометрия.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

А какой-нибудь малди использовали? Просто электрораспыление – это не единственный способ ионизации. Есть химическая ионизация, есть малди, когда оно тоже улетает. Ну, там тоже, конечно, химическая ионизация.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Пока что это вызвало некоторые трудности, поэтому...

Член диссертационного совета – д.х.н,. Яровая Ольга Ивановна

Ладно, хорошо, спасибо.

Член диссертационного совета – д.х.н., Платонов Вячеслав Евдокимович

Хорошо, что открыта вот эта таблица. На основании этих данных вы выбрали соединение **2.2e** как хит. Значит, у меня такой вопрос в связи с этим. Скажите, а вот это соединение с длинной цепью углеводородной в качестве заместителя проникает через мембрану внутрь клетки? Для того чтобы создать вам такие цифры влияния на клетку этого соединения по сравнению с другими соединениями, которые имеют более маленькие группировки алкильные. Вот в этой связи у меня такой вопрос: если проникает соединение через мембрану, может быть липидную часть мембраны, то учитывая, что вот эта длинная цепь, она больше по объёму, чем маленькие ваши алкилы, которые содержатся у кислорода, да? То почему бы им тоже стерически не проникать через мембрану внутрь клетки? А если бы это происходило, эти соединения могли бы реагировать с глутатионом тоже, как и вот это соединение **2.2e**. Реагировать с глутатионом, давать соединения, имеющие связь платина-сера. И, как у вас написано, как соединения **2.2e** начали бы активно вырабатывать активные формы кислорода, которые начали бы перекисно разрушать часть мембраны, состоящей из липидов. Вот почему этого не происходит, если такие маленькие там группировки почему бы им не дать соединения с глутатионом, не начать вырабатывать вот эти кислородно-активные соединения. Кстати, в этой связи вопрос у меня по соединению **2.2e**. Какие активные формы кислорода вырабатывает эта система – комплекс, значит, получающийся комплекс соединения **2.2e** и глутатиона. Какие активные формы кислорода? Понимаете? И если те соединения тоже могли бы давать комплексы и вырабатывать активные формы кислорода, то почему тогда **2.2e** вдруг оказался наиболее перспективным соединением?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Спасибо большое за вопрос. На самом деле, предполагается, что удлинение алкильного фрагмента повышает доступность проникновения соединения в клетку. Мы рассчитывали коэффициент липофильности, отражающий соотношение способности растворяться веществе в н-октаноле и в воде. И с увеличением алкильного фрагмента вот этот теоретический расчётный коэффициент липофильности возрастал. Это может говорить о том, что комплекс **2.2e** лучше проникает в клетку, через фосфолипидный бислой клеточной мембраны. Тем самым его там больше накапливается, чем других соединений, потому что они тоже проникают, и у них тоже есть некоторая активность, и по кривым «доза-эффект» мы видим снижение жизнеспособности. Где-то не получилось рассчитать IC_{50}, потому что там менее чем на 50 % снизилась жизнеспособность, где-то получилось, но они менее активны. Это может быть связано с тем, что они хуже могут проникать через фосфолипидный бислой клеточной мембраны. Как мы предполагаем. Что касается второго вопроса.

Член диссертационного совета – д.х.н., Платонов Вячеслав Евдокимович

Почему хуже они могут проникать? Ведь алкильные группы эти сравнительно небольшие по сравнению с той группировкой алкильной, которая в соединении **2.2е** есть. Стерически им проще проникать через липидную мембрану, чем соединение **2.2е**. Вот это вот странно.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Данные говорят вот так.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Это нормально. Так и есть. Более жирные – они легче проникают.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Да, то есть более жирные легче могут проникнуть в клетку. То есть это не говорит о том, что эти соединения вообще не проникают. Нет, они проникают просто хуже. Поэтому мы и видим меньшую активность. То есть мы не можем исключить, что они не взаимодействуют с глутатионом или не работают по такому же механизму, но за счёт небольшого такого изменения структуры мы предполагаем, что они хуже могут проникать и из-за этого обладать меньшей активностью.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Скажите, в продолжение этого вопроса, ответа, точнее, на этот вопрос, вы сказали, что не было достигнуто IC_{50} для вот этих вот, но они тоже снижали жизнеспособность клеток. А у вас эти графики есть? Просто в этом случае было бы намного нагляднее приводить не вот эти значения «больше чего-то», а приводить собственные графики, где было бы видно, как они влияют на жизнеспособность клеток.

Тохтуева Мария Дмитриевна

На самом деле, графики представлены в диссертационной работе, но, почему, значения нагляднее? Потому что тут можно в таблице сразу же увидеть, кто как работает, а кривых было бы очень много. Но если комментировать, то эта кривая выглядит просто вот так. Для всех соединений. Ну, то есть она начинается от нуля-двух, идёт, идёт, и вот тут, может быть, чуть-чуть снижается. Или просто прямая. Или чуть-чуть снижена жизнеспособность. То есть они практически между собой не отличаются, а выглядели бы они все одинаково, сложнее было бы.

Член диссертационного совета – д.х.н., Платонов Вячеслав Евдокимович

Да, извините, вот я ещё спрашивал, какие активный формы кислорода вырабатывает комплекс **2.2е** и глутатион. Какие активные формы кислорода? И самое главное, за счёт чего происходит выработка этих активных форм кислорода? Например, например, озон, перекись водорода, другие перекиси, сам кислород. И он бирадикал в триплетном

состоянии. Понимаете? Он, конечно, своеобразное соединение, особенно если он попадает там внутрь клетки. Так вот, какие формы? Может быть, не те, которые я вам сейчас назвал, а какие-то другие?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Вырабатываются активные радикалы кислорода, с помощью флуоресцентного окрашивания мы изучали их. Есть разные красители на различные активные формы кислорода, все, какие именно могут продуцироваться, мы не изучали. То есть нам достаточно было увидеть, что соединение вызывает выраженный окислительный стресс. А почему они образуются? И ещё из первой части вопроса. Сам глутатион, сам по себе, он не влияет, не индуцирует выработку активных форм кислорода. Он наоборот участвует в системе антиоксидантной защиты клетки. Глутатионпероксидаза 4 – фермент, использует глутатион для того, чтобы инактивировать образующиеся гидроперекиси. И если нет глутатиона в клетке, то глутатионпероксидаза-4 не может его использовать для того, чтобы нейтрализовать образовавшиеся гидроперекиси, и клетка погибает из-за окислительного стресса. При этом, почему мы видим такое большое количество активных форм кислорода, если ни глутатион сам по себе не индуцирует их, ни соединение, потому что оно же с глутатионом взаимодействует, оно же не является индуктором активных форм кислорода? Это, вероятнее всего, можно объяснить следующим образом. При проникновении в клетку, комплекс **2.2e** взаимодействует с глутатионом, который должен в своей функции в глутатионовой системе, помогать глутатионпероксидазе нейтрализовывать большое количество гидроперекисей и даже некоторое количество – избыточное. В опухолевых клетках вообще в целом больше активных форм кислорода может быть. При этом, когда, глутатион блокируется, клетка, даже в том минимальном количестве, или в некотором количестве, содержащая вот эти активные формы кислорода, теряет способность с ними бороться. То есть, они начинают окислять мембраны, в том числе мембраны митохондрий или кардиолипин, входящий в состав мембран митохондрий. И в ответ на это воздействие может нарушаться протонный градиент митохондрий и выработка активных форм кислорода ещё сильнее начинает работать, и поэтому мы видим такой выраженный окислительный стресс. При этом, мы изучали влияние соединения, точнее, эффекты соединения, на клетках после того, как установили, что оно способно индуцировать ферроптоз, и в том числе мы изучали его влияние на потенциал митохондриальной мембраны, потому что всё-таки митохондрии – одни из ключевых органелл, которые влияют на выработку активных форм кислорода. И также на окисление кардиолипина, входящего в состав мембран митохондрий. И наблюдалось снижение потенциала митохондриальной мембраны и окисление кардиолипина, собственно. И этот весь цикл сам по себе и приводит к большой выработке активных форм кислорода. То есть само по себе соединение **2.2e**, как и сам по себе глутатион не влияют, не индуцируют выработку АФК.

Но те реакции, которые они вызывают в клетке, приводят к тому, что вырабатываемые активные формы кислорода не блокируются, и в связи с этим запускается этот необратимый цикл выработки, приводящий к гибели.

Член диссертационного совета – д.х.н., Платонов Вячеслав Евдокимович

Погодите, вы говорили про катионы, которые способствуют образованию активных форм кислорода. Но у вас в автореферате я прочитал, что способствует генерации вот этих активных форм кислорода комплекс, комплексное соединение **2.2e** и глутатиона. Понимаете, когда образуется связь платина-сера, вот этот комплекс, он вырабатывает активные формы кислорода. В результате чего он в состоянии выработать активные формы кислорода? На что он действует? Например, чтобы появились эти активные формы кислорода?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Да, я поняла ваш вопрос. имеется в виду, что образование связи Pt-S и образование комплекса «**2.2e**-глутатион» блокируют работу антиоксидантной системы защиты клетки. Она больше не может справляться с вырабатываемыми активными формами кислорода, которые, в свою очередь, начинают окислять мембраны, в том числе мембраны митохондрий. И, в связи с этим, нарушается протонный градиент, который приводит к ещё большей выработке активных форм кислорода. А глутатионовая система, она уже заблокирована, клетка уже не справляется с этим окислительным стрессом, и они ещё больше вырабатываются. И поэтому мы видим этот выраженный окислительный стресс. Сам по себе этот результат взаимодействия – это реакция, которая приводит к тому, что вырабатываемые в клетке активные формы кислорода перестают утилизироваться.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Владимир Владимирович, к микрофону, пожалуйста.

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

Немножко пояснить интерес Вячеслава Евдокимовича, потому что такой же вопрос возник и у меня. И это связано с тем, что люди читают реферат, может быть, разъяснено в диссертации больше. Дословно написано: «высокая степень окисления карлиолипина свидетельствует о том, что генерируемые **2.2e** активные формы кислорода достигают липидных мембран». Это прямо дословно написано в автореферате. Отсюда человек, который с химией связан, он сразу задаётся вопросом: «А как этот комплекс генерирует активные формы кислорода?» И всё, и затык. И вот он уже дважды спрашивал. Понятно вы объяснили, всё понятно, как это работает, но здесь вкралась досадная ошибка, я бы так сказал – в автореферате это звучит буквально. А в связи с этим, также тут ещё один есть вопрос близкого характера. Вы микрофотографии с люминофором представляли –

краситель «MitoClox». Написано: «зелёным флюоресцирует окисленный кардиолипин, а красным – восстановленные формы». Что люминесцирует?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Это люминесцентный, флуоресцентный краситель, который имеет длинные линкерные...

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

Спасибо. Люминесцирует краситель, а написано, что кардиолипин. Дословно написано. Не краситель, а «на микрофотографиях, на которых люминесцирует кардиолипин, зелёным – окисленный, красным – восстановленный».

Тохтуева Мария Дмитриевна

Краситель встраивается в мембрану, и мы видим свечение мембраны, включающей в себя кардиолипин.

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

Да. Люминесцирует что? Какая форма красителя люминесцирует зелёным, какая красным?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Зелёным – окисленная форма

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

Красителя. Если мы просто окислим краситель, не будем его связывать с кардиолипином. Просто окислим краситель и восстановим. Как он будет люминесцировать?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Сам по себе краситель начинает флуоресцировать при встраивании в мембрану.

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

Он с кардиолипидом не связан, он с каким-то липидом встроен. И мы будем его окислять и восстанавливать. Он будет люминесцировать?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Да.

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

В какой форме он будет красным, в какой зелёной?

Тохтуева Мария Дмитриевна

В восстановленной форме – красным, в окисленной – зелёным.

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

Прекрасно. Кардиолипин ни при чём. Он с ним рядом стоит и также окисляется активными формами кислорода, как и кардиолипин. Он просто за счёт пептидной связи, которая там пептидная цепочка, связан с кардиолипином. Но это не кардиолипин люминесцирует. А написано дословно так в автореферате.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Терминологическая ошибка на самом деле.

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

Теперь такой вопрос, который обычно на предзащитах выясняется. Вы изучали хлороплатиновые комплексы с арилбипиридинами. А в названии диссертации написано, что исследовалась активность противоопухолевая циклоплатинированных соединений. То есть у вас платина в каком-то цикле органического лиганда. Ну, это значит, что притязания ваши вообще-то не на кандидатскую, а на докторскую. То есть это огромный массив циклоплатинированных комплексов, где только вот эта одна маленькая часть сделана, да? А на самом деле сделано гораздо больше. То есть здесь обычно тоже надо аккуратнее писать. То есть притязания было бы совершенно правильно и справедливо ограничить именно вашими комплексами. И достаточно много вы сделали. А здесь это странное такое, совершенно широкое понятие.

Тохтуева Мария Дмитриевна

На самом деле, название может носить дискуссионный характер. У нас были такого рода замечания, однако мы стремились показать возможность использования циклоплатинированных соединений, как индукторов альтернативных...

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

Спасибо, можно не отвечать на этот вопрос.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Ладно…

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

Это в качестве замечания. Теперь вы сказали, что снимали УФ и ИК, для комплексов с глутатионом. И что? Вот связь Pt-Cl и связь Pt-S, она имеет разные колебания?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Да. При постановке реакции, при взаимодействии платины...

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

Вы в ИК видели характерные частоты Pt-Cl и Pt-S. Да.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Да.

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

А что ж не привели?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Здесь снизу приведены.

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

Это ИК?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Мы подтверждали взаимодействие комплекса платины...

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

Вы сказали в ответе на вопрос, что снимали УФ и ИК?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Нет, я имела в виду, что для комплексов платины не с глутатионом.

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

А, всё, ладно. Для характеризации ваших соединений, скорее всего. Всё, теперь понял. Не снимали. Ладно. И тогда ещё последний вопрос. Вот ферроптоз, да, и взаимодействие с глутатионом. А как различает ваше платиновое соединение раковые и нераковые клетки?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Предполагается, что найденная селективность может быть как раз-таки связана с большим содержанием восстановителей, в том числе глутатиона, в клетках злокачественных новообразований, и поэтому эффект на неопластических клетках, значительно более выраженный, потому что там просто активнее работает глутатионовая система, и содержится больше глутатиона, чем в условно нормальных клетках. Поэтому и можно говорить о некоторой селективности, которую мы видим.

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

Глутатион – это он сидит внутри клетки?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Да.

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

То есть уже сначала мы через барьер, через мембрану проникли?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Да.

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

И это одинаково для раковых и нераковых, правильно?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Через мембрану? Да.

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

Одинаково. И дальше мы работаем с тем глутатионом, которым есть, тоже одинаково. Моль на моль, грубо говоря. Ну, там в микроколичествах. Нет никакой селективности.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Вещество будет стремиться.

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

Вот именно в том-то и дело, чтобы оно стремилось до того, как проникнет в клетку, где работает по глутатиону, должно стремиться в большей степени для раковой клетки, чем, и обычно там делают какие-нибудь фаги и прочее, чтобы выбирали, так сказать, да, соответствие именно мембране белков и у себя пептидной связи. А вот здесь этого ничего нет, да?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Предполагается, что соединение будет стремиться в среду, где больше восстановителей, таких, как, например, глутатион.

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

Они закрыты у вас. Закрыто. У вас нет градиента концентрации глутатиона, он сидит внутри. Он не может туда стремиться до того, как проникнет.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Но его там содержится больше...

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

Хорошо. Всё, вопрос закрыт. Я понял. Спасибо.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

А вот продолжение этого вопроса. А вы смотрели, сравнивали активность системы глутатионовой вот в клетках A172 и HEK293?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Такого эксперимента не проводилось.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

То есть это, может быть, был бы ответ на вопрос.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Да, это было бы интересно и посмотреть в целом активность, но в литературе много написано статей и данных о работе глутатиона, глутатионовой системы в опухолевых, в нормальных клетках. И эксперименты, которые проводились по изучению экспрессии или количества белка непосредственно, говорят о том, что влияние на неё есть. Ферментативную ещё не изучали. Было бы интересно, да.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Влияние есть. Я оппонировал диссертацию в Институте химической биологии и фундаментальной медицины. Они сравнивали две линии клеток, близких: опухолевая и неопухолевая, одинакового генеза, кстати, в отличие от этого. И они смотрели влияние на системы, в том числе глутатионовую, на системы борьбы с окислительным стрессом, и оттуда уже и до обработки, и после обработки, оттуда они могли уже утверждать, а не предполагать, почему оно так работает. Может быть, это выходит за рамки работы, но, вообще говоря, имеет смысл.

Член диссертационного совета – д.х.н., Борисевич София Станиславовна

Я простой задам вопрос. А скажите, пожалуйста, вы свои соединения проверяли на острую токсичность? Ведь цисплатин сам по себе очень токсичен. А ваше соединение?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Спасибо за вопрос. Нет, пока что не проверяли. Это вот как раз в конце своего доклада я сказала о том, что перспективы дальнейших исследований это в себя включают.

Член диссертационного совета – д.х.н., Борисевич София Станиславовна

Понятно. Мало веществ? Почему нее проверяли? Вроде бы такой простой тест достаточно. Мышки требуются, да.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Да, во-первых, нужно найти сертифицированный виварий и..

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Не обязательно.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Не обязательно... на самом деле, сейчас у нас есть уже договорённости о работе. Мы начали исследования в данном направлении, и часть исследований, вот, например, комплекс платины IV передали на исследование. Но в рамках данной работы эти результаты не представлены, они вообще ещё только делаются.

Член диссертационного совета – д.х.н., Борисевич София Станиславовна

Спасибо.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Ещё вопросы? Да, Алексей Васильевич.

Член диссертационного совета – д.х.н., Ткачев Алексей Васильевич

Я хочу вернуться к самому началу вашего доклада, когда вы начали говорить о том, что цисплатин и родственные ему соединения имеют недостатки в связи с тем, что там какая-то резистентность, так?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Да.

Член диссертационного совета – д.х.н., Ткачев Алексей Васильевич

Поясните вот что. Когда говорят о резистентности в отношении лекарственных препаратов, имеют в виду прежде всего какие-то инфекционные агенты. Типа вирусы, грибки, простейшие, бактерии. В результате длительного применения какого-то препарата появляются устойчивые линии, более устойчивые линии. Очевидно, что здесь под резистентностью понимается что-то другое. Вот поясните, пожалуйста, что именно в данном случае понимается под резистентностью?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Спасибо за вопрос. На самом деле, резистентность может быть, как приобретённой, так и уже встроенной в клетку, потому что, на резистентность к препаратам платины может влиять множество факторов. Во-первых, они встраиваются в ДНК. И в клетке есть системы репарации, которые могут эти повреждения устранять. То есть с помощью специальных ферментов они как ножницы могут вырезать встроенный туда цисплатин и достроить себе нужную последовательность ДНК. И в некоторых клетках эти системы репарации могут быть заранее сверхактивны, просто за счёт особенности метаболизма или типа клеточной линии, типа новообразования. Либо они точно так же могут адаптироваться к воздействию. То есть, когда мы вводим какой-то агент, какой-то химический агент, какое-то действие оказываем, то, как правило, клетка, как в случае с бактериальным действием, может адаптироваться, перестроить свою работу таким образом, чтобы, например, эти системы репарации активнее использовать и инактивировать работу платиновых препаратов, например. Из-за этого возникает устойчивость. То есть системы репарации очень активны, вещество попадает в клетку, только встроилось, а его уже оттуда убрали.

Также, как уже было сказано до этого, платиновые препараты могут образовывать связь с глутатионом, но тут с обратной точки зрения, что если в клетке много глутатиона, то эта клетка потенциально является устойчивой к воздействию цисплатина, карбоплатина и так далее, потому что будет просто происходить инактивация, только часть препарата может доходить до ядра, и, соответственно, эффект будет ниже.

А также у клетки есть возможность выводить препарат из клетки. То есть с помощью специальных транспортёров она просто его оттуда выводит.

И вот это перестроение клетки на новую работу, оно может происходить как в контексте уже воздействия, и она приобретает эту устойчивость, просто у неё есть возможность это сделать, либо она может быть изначально более устойчива к воздействию препаратов платины. И клеточные линии даже есть те, которые уже считаются резистентными к платиновым препаратам, и их берут вот в том числе для того, чтобы изучать другие вещества, которые потенциально могут преодолевать эту резистентность, это тоже может предметом быть исследования. То есть вот этот вопрос резистентности, он точно так же, как и с длительным воздействием антибиотиков, антибактериальной терапии, тут можно провести какую-то аналогию. То есть тоже она может приобрестись, а может быть уже изначально запрограммирована.

Член диссертационного совета – д.х.н., Ткачев Алексей Васильевич

Всё равно непонятно. Дело в том, что любой организм имеет какие-то границы устойчивости в отношении каких-то ксенобиотиков. Вот любое вещество, инородное, ксенобиотик, попадая в человеческий организм, подвергается атаке множества ферментов детоксикации. То есть, но это никогда не называют резистентностью. Резистентностью называют именно выработанные в результате действия какого-то агента свойства. То есть это в отношении вирусов, это в отношении многих других вещей. Нет, я понимаю, что что вы имели в виду? Просто мне кажется, что это какое-то неудачное выражение.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Нет, это обычный термин.

Член диссертационного совета – д.х.н., Ткачев Алексей Васильевич

Общий термин?

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Да, это общепринятый термин.

Член диссертационного совета – д.х.н., Ткачев Алексей Васильевич

Ну ладно, хорошо, спасибо.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Спасибо вам.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Так, и у меня ещё вопрос. Вот вы показали, что ваше соединение вызывает ферроптоз, ваши соединения – два. Значит и поэтому они не вызывают повреждение ДНК. И на основании этого говорите, что это основной механизм? А может быть, там ещё есть какие-то механизмы действия ваших веществ, которые вы просто не изучали? То есть механизм доказан, а доказано ли, что он основной?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Действительно, не исключено, что вещество может взаимодействовать с какими-то другими клеточными, внутриклеточными мишенями. Исходя из этого, нельзя исключать, что могут вызываться какие-то другие типы клеточной смерти. Однако, наблюдаемое снижение экспрессии глутатионпероксидазы 4, взаимодействие с глутатионом, изменение активности транскрипционных факторов, активизирующихся в ответ на окислительный стресс, может говорить о том, что ферроптотическая гибель в данном случае выступает как основная. Мы же видели то, что апоптоз тоже имеет место быть. Но просто скорее как накопительная реакция на возникающий стресс. И другие типы клеточной смерти, да, интересно было бы изучить с точки зрения сопутствующих механизмов. Но исключать всё, конечно же, нельзя. И все другие какие-то взаимодействия, которые там могут происходить, тоже.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

А некроз наблюдался?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Кто?

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Некроз.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Некроз как таковой сам по себе является общим термином. То есть сейчас же к некротическим морфотипам относится и некроптоз, и в том числе ферроптоз. И мы можем сказать, что это некротический морфотип, то, что разрушается мембрана.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Понял, спасибо. Так, ещё вопросы есть? Ну, наверное, достаточно, всё, спасибо. Теперь у переходим к выступлению научного руководителя — это кандидат медицинских наук, доцент Мелехин Всеволод Викторович, заведующий лабораторией первичного биоскрининга клеточных и генных технологий УрФУ.

Научный руководитель – к.м.н., Мелехин Всеволод Викторович

Благодарю за предоставленное слово. И, конечно, вообще хотел бы поблагодарить диссертационный совет и принимающую сторону: Новосибирский институт органической химии. В целом я бы сказал, что Екатеринбургскую и Новосибирскую школу медицинской химии достаточно много всего связывает, и сегодня тут аж два оппонента из Екатеринбурга. И это отмечено и сегодня в этой диссертационной работе, эта связь прослеживается. Хотел бы перейти к характеристике диссертанта самого. И чуть-чуть отойду от формального отзыва. Мария Дмитриевна родилась, выросла в небольшом городе на севере Пермского края, город Березники. Занималась спортом активно, волейболом, и, может быть, вот эти спортивные достижения какие-то сформировали такого целеустремлённого волевого человека. Закончила лицей и поступила в Екатеринбург, в Химико-технологический институт Уральского федерального университета, где проявила себя как выдающийся студент – это отличница, это член актива профкома студенческого. И я бы сказал словами классиков так – спортсменка, комсомолка и, как выяснилось уже чуть позже, просто хороший исследователь. В девятнадцатом году поступила на вновь открывшуюся магистерскую программу, которая была посвящена фармацевтике и медицине будущего, и оттуда начала свой путь в изучении биологического действия новых химических соединений. Снова здесь – староста, отличница, блестяще защитила дипломную работу и поступила в аспирантуру. Здесь также была удостоена ряда наград: это и стипендия Губернатора Свердловской области, стипендия имени Первого Президента России Бориса Николаевича Ельцина, также дипломы различной степени на конференциях и конкурсах. В целом по теме диссертации было опубликовано три работы индексируемых Scopus и ВАК, 12 тезисов конференций. В целом у Марии Дмитриевны более 50 уже научных работ (публикаций), из них 19 входят в базу данных Scopus, индекс Хирша здесь четыре. Кроме того, Мария Дмитриевна является соавтором трёх патентов на изобретение Российской Федерации, одного учебно-методического пособия. И в этом году с отличием закончила также аспирантуру, была награждена грамотой, как наиболее выдающийся аспирант своего выпуска. Ну и в завершение отмечу, выполненная диссертационная работа, несомненно, обладает новизной и научной значимостью, представляет собой логические выстроенное...

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Достойна, недостойна?

Научный руководитель – к.м.н., Мелехин Всеволод Викторович

Хорошо. Благодарю. Автор диссертационной работы Тохтуева Мария Дмитриевна заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.4.16 Медицинская химия, Химические науки. Благодарю за внимание.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Спасибо. Теперь слово предоставляется Сергею Сергеевичу.

Ученый секретарь диссертационного совета – к.х.н. Патрушев Сергей Сергеевич

Так, коллеги, начнём с заключения Уральского федерального университета, организации, где была выполнена диссертационная работа. Диссертация «Исследование противоопухолевой активности циклоплатинированных соединений и оценка их роли в запуске программируемой клеточной гибели в злокачественно перерождённых клетках» выполнена в Лаборатории первичного биоскрининга, клеточных и генных технологий Научно-образовательного и инновационного центра Химико-фармацевтических технологий и на кафедре Технологии органического синтеза Химико-технологического института Уральского федерального университета.

В период подготовки диссертации Тохтуева Мария Дмитриевна работала в УрФУ в должностях инженера-исследователя Лаборатории первичного биоскрининга клеточных и генных технологий Научно-образовательного и инновационного центра химико-фармацевтических технологий с апреля 2022 года по настоящее время; инженером Проблемной лаборатории физиологически активных веществ ХТИ с марта 2023 года по 24-й; ассистентом кафедры Технологий органического синтеза с сентября 2024 года по февраль 26-го и старшим преподавателем научно-образовательного и инновационного центра ХТИ с февраля 2026 года по настоящее время.

В 2019 году окончила бакалавриат, в 2021 году – магистратуру, а в двадцать шестом году аспирантуру по специальности 1.4.16 Медицинская химия. В рамках аспирантуры с двадцать второго по двадцать шестой год сдала кандидатские минимумы по следующим дисциплинам: иностранный язык, история философии и философия науки и медицинская химия. Свидетельство об окончании аспирантуры по направлению 1.4.16 с приложением к нему выдано в 2026 году.

Научный руководитель, кандидат медицинских наук, доцент Мелехин Всеволод Викторович, заведующий лабораторией первичного биоскрининга клеточных и генных технологий Научно-образовательного и инновационного центра химико-фармацевтических технологий ХТИ Уральского федерального университета. Тема диссертационной работы утверждена приказом № 896/05 от 17.10.2022. Заключение принято на заседании Кафедры органической и биомолекулярной химии и Химико-технологического института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Уральский федеральный университет» имени первого Президента Бориса Николаевича Ельцина.

Так, актуальность темы и направленность исследований, её научная новизна, степень достоверности и практическая значимость сомнений не вызывают. Основные результаты диссертационного исследования опубликованы в ведущих рецензируемых научных журналах. В опубликованных работах впервые установлен альтернативный механизм противоопухолевого действия комплексов платины на основе арилбипиридина, реализуемый через индукцию окислительного стресса и перекисного окисления липидов без повреждения ДНК. Впервые показана потенциальная роль ферроптоза, как ключевого пути гибели клеток под действием соединений. Выявленная структурная трансформация комплекса в физиологических условиях и корреляция структур активности создают основу для направленного синтеза новых противоопухолевых агентов, преодолевающих резистентность к цисплатину.

Синтез новых комплексов платины на основе арил и диарил-2.2'-бипиридина выполнен по известной методике. Применяемый подход является стандартным для данного класса лигандов, однако целевые соединения с предложенной структурой заместителей получены впервые. Для синтезированных соединений проведено полное отнесение сигналов спектра ^{1}H, ^{13}C ЯМР, впервые проведены первичный скрининг противоопухолевой активности полученных соединений на культурах клеток человека *in vitro*. Установлен тип клеточной гибели под действием исследованных комплексов.

Диссертация соответствует требования положениям. Соискателем все заимствованные фрагменты оформлены с указанием первоисточников, а результаты, полученные лично автором или в соавторстве, отмечены в тексте с соответствующими ссылками на публикацию. Таким образом, требования к ссылкам на автора и источники, а также обязанность отмечать собственный вклад выполнен в полном объёме. Так, соответствует паспорту специальности 1.4.16 Медицинская химия, пунктам 1, 3, 4, 6, 8. Основным, так, ну я повторюсь, что основные научные результаты диссертационной работы в полном объёме отражены в пятнадцати работах, из них три статьи рекомендованных ВАК, и/или входящих в перечень SCOPUS и WOS, и также 12 тезисов доклада тоже имеются.

Так далее. Диссертация «Исследование противоопухолевой активности циклоплатинированных соединений и оценка их роли в запуске программируемой клеточной гибели в злокачественно перерождённых клетках» Тохтуевой Марии Дмитриевны рекомендуется к защите на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 14.16 Медицинская химия. Данное заключение было принято на семинаре, где участвовало 33 сотрудника, из них 8 докторов, 17 кандидатов наук. Заключение подписано доктором химических наук, заведующим кафедрой, член-корреспондентом РАН Русиновым Владимиром Леонидовичем. Его подпись заверена секретарём доктором химических наук, профессором, доцентом Утеповой И.А. 27 июля

2026 года м утверждён ректором УрФУ кандидатом технических наук, доцентом Обабковым И.Н. 27 июля 2026 года.

Дальше переходим к отзыву ведущей организации, которой выступил Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук. Актуальность представленной работы связана с устойчивым ростом онкологической заболеваемости и острой проблемой злокачественных новообразований, занимающих второе место в структуре смертности населения России. Среди основных подходов к терапии важное место занимают препараты на основе платины: цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин, признанные стандартным при лечении многих типов опухолей. Однако их клиническая эффективность ограничена формированием лекарственной устойчивости и высоким риском тяжёлых нежелательных реакций, что снижает как результаты терапии, так и качество жизни пациентов. В связи с этим поиск путей преодоления резистентности и снижения токсичности платиновых соединений представляет собой важную научно-практическую задачу. Возникновение резистентности и токсических эффектов во многом обусловлено доминирующим апоптотическим механизмом действия платиновых препаратов. Перспективной стратегией в этой связи является поиск соединений, индуцирующих альтернативные неапоптотические пути гибели клеток. Одним из подходов к решению указанных проблем выступает создание новых соединений платины, структурно отличных от применяемых в клинике. Сохранение иона платины позволяет рассчитывать на удержание противоопухолевой активности, характерной для данного класса, тогда как модификация лигандного окружения, геометрии комплекса или архитектуры молекулы, способна изменить механизмы цитотоксического действия или спектр поражаемых мишеней, открывая возможности для обхода существующих путей резистентности и снижения побочных эффектов.

В литературе описаны отдельные комплексы платины, структурно, отличающиеся от цисплатина и способные индуцировать альтернативные механизмы гибели опухолевых клеток. Однако все имеющиеся данные получены исключительно *in vitro* и не вышли за пределы доклинических исследований. Значительными перспективами обладают комплекс платины IV – пролекарства, восстанавливающие до активных форм платины II внутри клетки. Несмотря на то, что на стадию клинических испытаний вышли исключительно комплексы платины II, реализуемый ими механизм действия аналогичен таковому у традиционных препаратов платины, что не позволяет нам в полной мере решить проблему приобретённой резистентности. В этой связи актуальным представляется изучение комплексов платины II, как потенциальных индукторов неапоптотических путей клеточной гибели и при подтверждении требуемых механизмов действия, дальнейший дизайн соответствующих пролекарств на основе Платины IV, высвобождающих активные формы платины II внутри опухолевых клеток. Такой подход позволяет сочетать структурное

разнообразие комплексов платины с формакокинетическими преимуществами платиновых пролекарств.

В рецензируемой работе впервые сформулирован и аргументирован подход, согласно которому комплексы платины рассматриваются не только как цитостатики классического типа, но и как потенциальные индукторы ферроптоза, неапоптотического пути гибели опухолевых клеток. Такой ракурс принципиально отличает исследование от преобладающих стратегий, сосредоточенных на усовершенствовании уже известного ДНК-повреждающего механизма. Существенным элементом новизны является и выбор исходной платформы для последующей разработки платиновых пролекарств. Вместо традиционных клинических препаратов: цисплатина, карбоплатина, в качестве матрицы используются предварительно отобранные платина II комплексы, для которых предварительно доказывается способность запускать неапоптотические программы клеточной смерти.

Рецензируемую работу выделяют комплексность методов исследования и систематичность подхода к определению и подтверждению свойств полученных соединений. Данные и выводы, сформулированные в работе Тохтуевой Марии Дмитриевны, могут служить основой для дальнейших исследований в области противоопухолевых соединений платины и разработки новых подходов к преодолению лекарственной устойчивости злокачественных новообразований.

Теоретическая, практическая значимость сомнений не вызывают. Достоверность полученных результатов обеспечена применением современных методов исследования, воспроизводимостью экспериментальных данных. В работе использованы паспортизированные клеточные линии. Применяемые методики выполнялись согласно протоколам, описанным в научных статьях или инструкциях производителей. Все эксперименты проводились нескольких независимых повторах и обрабатывались с применением статистических методов анализа, что подтверждает релевантность полученных данных. Анализ структур синтезированных соединений осуществлялся на проверенном оборудовании. Основное содержание диссертационного исследования изложено в трёх статьях в журналах, индексированных библиографическими базами международными и включёнными в перечень рецензируемых научных изданий ВАК РФ. А также в двенадцати тезисных докладов на конференциях всероссийского и международного уровня.

Дальше идёт детальный обзор самой диссертации. Её каждой главы. И в заключение – рецензируемая диссертационная работа затрагивает проблематику, значимую как для фундаментальной науки, так и для прикладных разработок. Структура работы отличается продуманностью и внутренней логикой, а экспериментальная часть выполнена на высоком методическом уровне. Постановка опытов тщательно продумана, их проведение корректно. Полученные данные детально проанализированы, а их интерпретация не вызывает

возражений. Обоснованность сделанных выводов подкреплена, как правило, результатами нескольких взаимодополняющих методов анализа. Сами выводы полностью согласуются с полученными результатами, а новизна работы сомнений не вызывает. Текст диссертации изложен ясным языком и хорошо воспринимается. В целом результаты исследования вносят существенный вклад в соответствующую область науки. В ходе изучения работы Марии Дмитриевны возникло несколько вопросов и замечаний.

Первое, чем был обусловлен выбор алкильных групп для синтеза хлорплатиновых комплексов арилбипиридинов?

Второе, почему не была опробована вся комбинаторика алкильных радикалов, изучение взаимосвязи структуры активности проводили при CH3 и далее сразу радикал C8? не были ли синтезированы и протестированы комплексы с радикалами C6, C7, C9?

Чем объясняется меньшая цитотоксичность комплексов платины по отношению к псевдонормальным клеткам, чем к опухолевым.

Четвёртый вопрос: по ходу работы было бы логично дополнительно вместо электронно-акцепторного радикала фенила поставить электрон-донорный алкильный радикал и оценить, как меняется цитотоксичность.

Пятое: автор делает вывод, что механизм действия связан только с влиянием на систему глутатиона, но тем не менее было показано значительное увеличение продукции свободных радикалов, что вряд ли можно объяснить только снижением восстановленных форм глутатиона. В связи с этим представляется интерес механизм увеличения продукции свободных радикалов.

На рисунках при атомах N и платины проведены ковалентные связи вместо координационных.

Сделанные замечания не являются принципиальными, не снижают высокую научную ценность проведённого исследования и не влияют на положительную оценку работы Марии Дмитриевны.

В заключении: актуальность и новизна полученных данных, высокий научный уровень работы и практическая значимость полученных результатов позволяет сделать заключение о том, что диссертация Тохтуевой Марии Дмитриевны «Исследование противоопухолевой активности циклоплатинированных соединений и оценка их роли в запуске программируемой клеточной гибели в злокачественно перерождённых клетках» является завершённой научно-квалификационной работой, в которой решена задача дополнения соответствующих представлений о взаимосвязи между строением соединений платины и механизмом цитотоксического действия не только за счёт изменения ДНК связывающих свойств, но и как потенциальных индукторов неапоптотического пути гибели опухолевых клеток, что имеет важное значение для химической науки. Диссертационная

работа Тохтуевой Марии Дмитриевны соответствует всем критериям, установленным Положением об присуждении учёных степеней, утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 в текущей редакции и паспорту специальности 1.4.16 Медицинская химия, а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности они 1.4.16 Медицинская химия. Отзыв подготовил доктор химических наук Григорьев Вениамин Юрьевич, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией количественной связи «структура-активность» ИФАВ РАН.

Диссертационные работы и отзывы были обсуждены на расширенном семинаре отдела медицинской и биологической химии обособленного структурного подразделения Института физиологически активных веществ ФИЦ ПХФ и МХ РАН. Протокол № 42 от 25 сентября 2026 года. Подписан председателем семинара Отделом медицинской и биологической химии ИФАВ, научным руководителем ИФАВ РАН, доктором химических наук, профессором, академиком РАН Бачуриным Сергеем Олеговичем. И отзыв утверждён директором ФИЦ ПХФ и МХ РАН, кандидатом физико-математических наук Е.В. Голосовым 2 октября 2026 года.

В совет поступило четыре отзыва с высокой оценкой работы.

1. Первый отзыв, подписанный доктором биологических наук, заведующей кафедрой фармакологии Пермской государственной фармацевтической академии Зыковой Светланой Сергеевной. Отзыв положительный, без замечаний.

2. Отзыв, подписанный ведущим научным сотрудником, заведующим группой диагностики и профилактики герпесвирусных инфекций Виром Роспотребнадзора, доктором медицинских наук Мальчиковым Игорем Александровичем. Отзыв положительный, без замечаний.

Так далее.

3. Отзыв, подписанный кандидатом биологических наук Назаровым Кириллом Вячеславовичем, научным сотрудником Лаборатории молекулярной иммунологии НИИ фундаментальной и клинической иммунологии. Содержит несколько замечаний, я их сейчас зачитаю:

Первое. Почему исследовали активность молекулы лидера только на клеточных линиях? Почему не были взяты первичные клетки? То есть свежевыделенные из организма? Например, мононуклеарные клетки крови, ведь их получить легче всего. Или хотя бы клетки крови, селезёнки, костного мозга, лимфоузлов мыши, как наиболее близкого и удобного модельного организма. Ведь это важно, как молекула-лидер действует на клетки крови и вообще клетки иммунной системы, так как именно иммунокомпетентные клетки являются главным борцом в организме с опухолью.

Второй вопрос. В работе указано, что молекула **2.2е** индуцирует выработку значительного количества активных форм кислорода, однако известно, что опухолевые клетки сами постоянно производят большое количество АФК. Это является одним из способов уклонения от иммунного надзора. Вопрос. Можно ли сказать, что исследуемое вещество лидер **2.2е** вызывает опасное для опухолевых клеток увеличение выработки АФК, что ведёт к их гибели?

Третий вопрос. Весьма смелое заявление об однозначности вывода о взаимодействии комплекса платины **2.2е** именно с глутатионом, основанное на ЯМР-экспериментах, выполненных в очень искусственных условиях, существенно отличающихся от среды в клетке. Отсюда возникает вопрос: проводились ли аналогичные эксперименты, где в качестве растворителя использован физиологический буфер или хотя бы его смесь с ДМСО? Стоит также отметить, что выше в автореферате оценивали стабильность комплекса **2.2е** методом ЯМР, причём использованная смесь 0,5 мл ДМСО д6 и 33 мкл физ. раствора не является физиологическими условиями. Аналогичный вопрос возникает к симметрию, где предложено превращение комплекса платины IV в комплекс платины II в присутствии глутатиона в среде диметилформамида д7, что также является условием далёким от физиологических.

И последний вопрос: является ли образование предлагаемого комплекса платины **2.2е** с глутатионом, необратимым? Стехиометрическое соотношение комплекса платины с глутатионом предложено как один к одному, при этом известно, что концентрация глутатиона в нормальных клетках составляет 0,5–10 миллимоль/л, в раковых ещё больше, а добавляемые количества исследуемого вещества **2.2е** соответствовали концентрациям в диапазоне микромоль/л, что является несопоставимыми по порядку величинами. Как это можно объяснить?

4. Так и последний отзыв. Подписанный Зверевой Мариной Владимировной, кандидатом химических наук, ведущим научным сотрудником лаборатории функциональных наноматериалов ФИЦ Иркутский института химии имени Фаворского СО РАН. Вопросы и замечания.

Первое: ссылки на таблицы в автореферате идут не в порядке их упоминания в тексте.

Второе, в разделе 2.1.1.2 автор приводит скрининговые данные по токсичности ряда комплексов платины в виде таблицы 1, однако далее по тексту автор постоянно делает отсылку на кривые зависимости «доза-эффект», иллюстрации которых отсутствует. Логичнее было бы также приводить данные кривые в автореферате.

Третье, ряд аббревиатур в автореферате остались неиспользуемыми после их первичного введения.

Четвёртое, в разделе 2.1.2.1 отсутствует статистически подтверждаемые обоснования сильной или слабой выраженности биологических эффектов тестируемых образцов.

И пятый. Выводы об изменении уровня АФК в клетках, обработанных тестируемыми соединениями, не содержит каких-либо численных значений, позволяющих бы наглядно продемонстрировать это.

Так, у меня всё, Мария Дмитриевна, можете ответить на вопросы.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Перейду к слайдам с ответами на вопросы.

В первую очередь представлю ответы на вопросы ведущей организации.

Выбор алкильных фрагментов обусловлен потенциальным повышением активности и липофильности. Уже обсуждалось ранее то, что с увеличением длины алкильного фрагмента, мы увидели повышение активности, приводили расчётные данные по липофильности, поэтому предположили... изначально были выдвинуты предположения о том, что вещества с подобными заместителями могут обладать активностью.

Почему не была опробована вся комбинаторика алкильных радикалов? На самом деле, по мере увеличения длины алкильного фрагмента мы получали значительно меньшую растворимость комплексов, при этом промежуточные варианты, такие как С6, С7, к сожалению, имели ограничения синтеза, особенно на этапах алкилирования.

Меньшая цитотоксичность комплексов платины II в отношении псевдонормальных, условно-нормальных клеток, обусловлена тем, что в данных клетках, содержится меньше потенциальной мишени – непосредственно глутатиона. То есть, исходя из полученных данных о механизме, мы смогли сделать, выдвинуть гипотезу, почему именно наблюдалась некоторая селективность. Вероятнее, всего, она была обусловлена тем, что в опухолевых клетках глутатионовая система работает активней.

Что касается алкильных заместителей вместо фенильных. Да, действительно, возможно, такой вариант структуры был бы интересен, однако в рамках одной работы очень сложно охватить все возможные варианты структур, заместителей и так далее, поэтому был выбран оптимальный набор комплексов, который отличался по заместителям. И расширение линейки могло бы быть интересно в контексте дальнейших исследований. А также здесь нужно понимать, что могут наблюдаться какие-то ограничения синтеза, либо растворимости, что может вызвать ограничения. Поэтому, да, это было бы интересно, однако в рамках этой работы был выбран такой оптимальный набор комплексов.

Так, что касается выработки свободных радикалов. Тоже, как уже было обозначено ранее, при блокировке глутатиона, находящиеся в клетке активные формы кислорода перестают утилизироваться в должном количестве, что приводит к непосредственному

окислению мембран, в том числе мембран митохондрий, и получается такая циклическая реакция, которая сопровождается выработкой активных радикалов. То есть сам по себе комплекс напрямую не продуцирует активные формы кислорода. Однако его механизм действия сопряжён с тем, что в клетке вырабатывается большое количество этих активных форм, приводящих к окислению мембран и смерти.

Что касается изображения координационных связей вместо ковалентных. Да, действительно, для координационных связей используются пунктирные линии, однако в литературе и в опубликованных нами статьях использовались сплошные линии, что является общепринятым. Поэтому мы решили допустимым оставить такое изображение, в особенности в связи с тем, что опубликовали данные в статьях именно таким образом и в диссертации, соответственно, сохранили тоже эту структуру.

Так. Теперь ответы на вопросы отзывов на автореферат.

Что касается дополнительных тестов. действительно МТТ-тест отражает активность митохондриальных дегидрогеназ, и для подтверждения того, что вещество оказывает цитотоксическое действие, есть возможность провести другие тесты. Нами были проведены дополнительные тесты, они в том числе были опубликованы и в статье по теме диссертации. Например, мы изучали жизнеспособность клеток с использованием акридинового оранжевого и этидиум бромида. Акридиновый оранжевый – это краситель, который проникает во все живые клетки, и этидиум бромид – только в клетки с нарушенной целостностью цитоплазматической мембраны. Однако в диссертации также представлен эксперимент с изучением апоптоза с использованием двойного флуоресцентного окрашивания с пропидиум иодидом и аннексином V с меткой FITC. И результаты эксперимента по изучению жизнеспособности с этидиум бромидом частично дублируют информацию по пропидиум иодиду, потому что это оба красителя, которые проникают в клетки с нарушенной целостностью цитоплазматической мембраны. Поэтому мы сочли излишним включать дополнительные тесты, потому что, количество экспериментов, описанных в работе, достаточно для того, чтобы оценить жизнеспособность.

Так, здесь вопрос по кривой: почему она превышает 100 %? На самом деле, каждая концентрация исследовалась в нескольких независимых биологических повторах, в данном случае в трёх биологических повторах, на основании чего было рассчитано среднее значение плюс-минус стандартное отклонение, и оно попадает в указанный, в указанный интервал. Что касается незначительного вот этого подъёма, который наблюдается, это может быть вызвано флуктуацией данных, это нормально для биологических исследований, количеством клеток, условием инкубированием. Именно поэтому всё выполняется в нескольких повторах и попадает в нужный интервал.

Так. Оценка индекса цитотоксичности представлена как IC_{50}+ SE. Почему не SD? В данном случае, как я уже сказала, каждая концентрация использовалась, тестировалась в

трёх биологических повторах, на основании чего было рассчитано среднее значение жизнеспособности +/- SD для каждой тестируемой концентрации. Однако кривая «доза-эффект» строилась на основании четырёх параметрической регрессионной модели, которая предполагает результат в виде показателя IC_{50}+ стандартная ошибка (SE). Тут SD рассчитать не получилось бы.

Почему не были использованы первичные клеточные линии? На самом деле, этот вопрос достаточно дискуссионный и в контексте публикаций работ, потому что он достаточно часто возникает. Однако, использование первичной клеточной культуры, несмотря на интерес к тому, как вещество будет работать против первичных клеток, имеет свои ограничения в виде того, что данные культуры не позволяют верифицировать полученные данные. Поэтому общепринятой мировой практикой является использование условно нормальных клеточных линий, таких как HEK293 или Wi38, которые, конечно, относятся к псевдо-, к условно-нормальным, но всё-таки позволяют говорить о достоверности полученных данных.

Здесь ответ – да, действительно так, потому что блокировка глутатиона может привести к тому, что выработка активных форм кислорода будет очень активной, они перестанут утилизироваться в нужном количестве, в должном количестве и в конечном итоге это накопление активных радикалов станет критическим, и опухолевая клетка погибнет.

По поводу проведения эксперимента ЯМР и взаимодействия с глутатионом. Действительно, по результатам ЯМР, которые проводились в условиях близких к, точнее, в условиях, не соответствующих физиологическим сложно сделать однозначный вывод. Однако в связи с этим, ну, и в целом, эксперименты проводились в разных вариациях, в том числе и биологические тесты, которые в комбинации с данными по ЯМР позволили сделать предположение о том, что мишенью является глутатион, потому что данные ЯМР-спектроскопии, которые говорят о том, что взаимодействие происходит, подкрепляются данными вестрен-блоттинга, показывающими снижение экспрессии глутатионпероксидазы 4, входящей в глутатионовую систему. И вот эта комбинация и комплексные выводы позволяют, комплексные результаты, полученные при разных экспериментах и с биологической точки зрения и по ЯМР-спектроскопии могут говорить нам о том, что мишенью является глутатион.

По поводу обратимости реакции. Пока что на данный момент, тоже я уже про это говорила, не удалось выделить продукт конечный, и говорить об обратимости прохождения реакции сложно. Возможно, это взаимодействие является обратимым, и поэтому мы видим вот этот накопительный эффект и полное подавление активности глутатионовой системы. Однако наверняка сказать обратимо оно или необратимо, пока что остаётся вопросом открытым. так.

Отзывы на автореферат. Дальше. Ну, с первым замечанием согласна.

Что касается кривых «доза-эффект», то они присутствуют в автореферате. Это рисунок 1. Они изображены на одном рисунке, под буквами «А» и «В». Это кривая зависимости «доза-эффект», кривые зависимости «доза-эффект» для комплекса **2.2e**, здесь кривые зависимости «доза-эффект» для цисплататина.

С третьим замечанием согласны.

Так. Что касается статистического подтверждения обоснованности сильной или слабой выраженности биологических эффектов. Здесь имеются в виду данные, полученные по апоптозу. Действительно, в автореферате представлена таблица, отражающая количество клеток в апоптозе и жизнеспособных клеток. И с целью более простого восприятия материала и отсутствия нагромождённости, звёздочки, решётки из таблиц были удалены. Однако, что касается статистического сравнения, оно было проведено, и в результате было установлено, что все группы имеют стат. значимые отличая между собой. То есть цисплатин вызывает индукцию апоптоза сильнее, чем **2.2e** со стат. значимостью, при этом также есть стат. значимость от контроля и между собой они тоже отличаются.

Что касается об изменения уровня АФК в клетках, то здесь использовалась, использовался метод флуоресцентной микроскопии, который, к сожалению, не позволяет количественно оценить полученные данные. То есть мы по интенсивности флуоресценции, по количеству клеток, которые светятся зелёным, можем сказать, что продукция АФК усилена, что их больше. Однако, чтобы оценить количественно, тут очень сложно, потому что просто это качественный анализ.

Благодарю за внимание.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Да. Сейчас Владимир Владимирович, потом вы.

Член диссертационного совета – д.х.н., Шелковников Владимир Владимирович

Про микромоли и миллимоли ничего не сказали. Но это как бы существенно. Либо товарищ ошибся, ну, может быть, поправите его, либо у вас есть своё мнение по этому поводу.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Нет, действительно, тут всё правильно написано. Концентрация глутатионов в клетках составляет миллимолярные концентрации. Поэтому и предполагается, возможно, что реакция с глутатионом комплекса платины **2.2e** может быть обратимой, и при высвобождении глутатион оказывается в какой-то неактивной форме или что-то там дальше ещё происходит. Однако вот эта обратимость реакции, пока что не была изучена, в связи со

сложностью выделения продукта. Поэтому, да, возможно, она обратима. Но это требует подтверждения.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Ну, то есть у вас вот есть предположение, что оно по сути катализатором является. Это как-то доказывалось или это только гипотеза?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Это пока на этапе гипотезы, да,

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Да, Алексей Васильевич.

Член диссертационного совета – д.х.н., Ткачев Алексей Васильевич

Покажите, пожалуйста, картинки, где вы рассказывали про больше 100 %. Вот здесь. Ну, вот как я вижу для точки номер три – 1.8, доверительный интервал 100 % не захватывает.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Ну смотрите, да, чуть-чуть не захватывает. Однако клетки высаживались в лунки планшета в одинаковой концентрации. Производился подсчёт на автоматическом счётчике клеток и за 100% брался отрицательный...

Член диссертационного совета – д.х.н., Ткачев Алексей Васильевич

Не надо подробностей, речь сейчас не об этом. Почему, вот как вы думаете, почему здесь такой выброс? Должно быть 100 %. Нет. Должно быть 100 %. И на ваше на это вот на этот недостаток обратили внимание. Вы отвечали тем, что три эксперимента было, три повторности, и доверительный интервал якобы всё захватывает. А вот для точки 3 не захватывает. То есть этот вопрос остаётся. Дефект эксперимента, неточность измерений или что?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Нет, никакого дефекта или ошибки в эксперименте нет. За 100% брался отрицательный, необработанный контроль. Здесь, ну вот как бы небольшой вот этот подъём, да, до 107, может быть, и так далее. В рамках биологических исследований, он не считается значимым. То есть, мы можем говорить, что клетки просто сохраняют свою жизнеспособность примерно на стопроцентном уровне. Это не значит, что... количество клеток может незначительно отличаться от лунки к лунке. Где-то их чуть больше, где-то их чуть меньше. Да, мы высаживаем определённое количество клеток. Но всё-таки, мы их

пипетируем, мешаем перед тем, как посадить, или ещё что-то, переносим планшет, крайние лунки могут...

Член диссертационного совета – д.х.н., Ткачев Алексей Васильевич

Всё понятно. Скажите, пожалуйста, значение больше 100 % имеет смысл или нет?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Ну, конечно.

Член диссертационного совета – д.х.н., Ткачев Алексей Васильевич

Как это имеет? Почему?

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

А там клетки-то какие?

Тохтуева Мария Дмитриевна

Да, у нас за 100 % принят отрицательный контроль, и относительно него измерялась оптическая плотность формазана.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Они могли немножко больше его нанести изначально.

Член диссертационного совета – д.х.н., Ткачев Алексей Васильевич

Должно быть всё это учтено. И если вы приводите проценты, их не должно быть больше 100. Ну, по определению. То есть то, что у вас могут быть выбросы туда-сюда, это понятно.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Так, ещё какие-то вопросы? Ладно, всё, спасибо. Так, переходим к выступлению официальных оппонентов. Первый оппонент – доктор химических наук Груздев Дмитрий Андреевич, ведущий научный сотрудник Лаборатории медицинской химии Института органического синтеза имени Постовского.

Официальный оппонент – д.х.н., Груздев Дмитрий Андреевич

Константин Петрович, уважаемые присутствующие, спасибо за представление. Вот мы заслушали интересную, полезную, на мой взгляд, работу, которая, может быть, для химиков-органиков лежит немножко в необычной области, ведь медицинская химия – это междисциплинарное научное направление, охватывающее не только химический синтез биоактивных соединений, но и усовершенствование их структуры, идентификацию, верификацию биологических мишеней, механизмов действия, а также даже идентификацию и изучение свойств метаболитов биоактивных соединений. И вот раз с

данными направлениями и связана диссертационная работа Марии Дмитриевны, которая посвящена скринингу цитотоксических агентов среди арилбипиридиниевых лигандов, содержащих платину II и платину IV. Диссертация, на мой взгляд, является хорошо спланированным и цельным исследованием, которое направлено на выявление новых биоактивных соединений, установление механизма их действия и модификацию соединения лидера с целью создания новых в будущем противораковых препаратов.

Диссертация, автореферат оформлены в соответствии со всеми требованиями, предъявляемыми к данным документам. Диссертация изложена на 141-й странице текста и содержит введение, в котором сформулирована цель работы, связанная с изучением противоопухолевых свойств серии арилбипиридиновых комплексов платины II, определением механизма индукции клеточной гибели и модификации структуры соединения лидера. Также сформулированы задачи, связанные с первичным скринингом цитотоксической активности, выборе соединения лидера из группы комплексов платины II, идентификацией биологических мишеней и установление основного механизма действия соединения лидера, а также будущая последующая оптимизация его структуры.

Вот, я по формальным признакам всё равно должен пройтись, поскольку трудно не повториться с прозвучавшими ранее оценками содержания работы, но формальные признаки пока не звучали.

Литературный обзор изложен на 26 страницах, включает 89 библиографических ссылок. В нём систематизирована информация о существующих противоопухолевых платиносодержащих агентах и представлен лаконичный и вместе с тем исчерпывающий анализ основных механизмов клеточной гибели, который подводит читателя к содержанию основной работы автора, изложенной во второй главе, которая содержит обсуждение результатов, которые исчерпывающе были представлены и обсуждались в нашей аудитории сегодня. Основным, мне, наиболее значимым кажется вывод о механизме цитотоксического действия комплекса на основе платины II, связанном не с апоптозом, а с нарушением внутриклеточной глутатионзависимой антиоксидантной системы. Вот это наблюдение является значимым и открывает путь к новой группе противоопухолевых препаратов платины с неапоптотическим механизмом действия. Воздействие непосредственно на глутатион, как молекула, с которой связывается соединение, это, конечно, вопрос дискуссионный, я по-прежнему не убеждён, меня не удалось убедить, что это так. Но это вопрос дискуссионный.

Экспериментальная часть, выделенная в третью главу, содержит подробное описание методик синтеза, химическую характеризацию соединения и детальное описание других экспериментов, которыми овладел автор: это биохимические методы, такие как вестерн-блоттинг, полимеразная цепная реакция, тесты, основанные на флуоресцентном

окрашивании клеток, оценка потенциала мембран митохондрий, цитологические методы, что свидетельствует о высоком уровне компетенций соискателя.

Исследование, безусловно, имеет высокую актуальность, поскольку приоритетными задачами создания новых противоопухолевых препаратов является повышение направленности действия соединений, поиск цитотоксических агентов, обладающих высокой селективностью, а также снижение побочных эффектов. В первичном скрининге *in vitro* пока Марии Дмитриевне удаётся решать некоторые задачи и работать в рамках этого актуального направления.

Научная новизна исследования не вызывает тоже сомнений. Так впервые была обнаружена селективная цитотоксичность бипиридиниевых хлороплатиновых комплексов в отношении клеток для глиобластомы человека и получены свидетельства неапоптотического, а ферроптотического механизма клеточной гибели, вызываемого такими соединениями, и на основе соединения лидера, представляющего производные двухвалентной платины, впервые синтезирован комплекс платины IV, который превосходит по цитостатической активности родоначальное соединение и обладает, как было показано автором, комбинированным механизмом действия, связанным как с индукцией ферроптоза, как родоначальное соединение, так и апоптоза, как и многие соединения платиновой группы.

В результате систематической работы по синтезу новых платиноорганических соединений, сравнительной оценке их цитотоксической активности в отношении опухолевых и условно нормальных клеток человека, определению ключевых биологических мишеней, автору удалось предложить первый в классе индуктор ферроптоза на основе платины II, высокотоксичный в отношении клеток глиобластомы и его аналог на основе платины IV, обладающий комбинированным механизмом действия и существенно превосходящие по активности препарат сравнения цисплатин и другие препараты платины, используемые в клинике. Это свидетельствует о высокой практической значимости и потенциале данного исследования. Перспективной, безусловно, является дальнейшая разработка темы, связанная с проведением экспериментов уже на лабораторных животных, а также дальнейшая оптимизация структуры соединения лидеров, прежде всего, наверное, уже комплексов платины IV, и выборов оптимальных режимов дозирования для ещё большего увеличения селективности, например, доставки в опытах *in vivo*.

Достоверность исследования, обоснованность научных положений и личный вклад автора не вызывает у меня никаких сомнений после знакомства с работой. Однако возникло несколько вопросов, которые я хотел бы озвучить. Некоторые мои вопросы и замечания уже прозвучали сегодня, поэтому я ограничусь только теми вопросами и замечаниями, которые… ну, хорошо… Итак, вопросы.

Зависит ли концентрация восстановленного глутатиона и экспрессия глутатионпероксидазы-4 от состава культуральной среды и особенностей посева клеток для глиобластомы человека А172, которые были использованы в работе. Могут ли полученные свидетельства в пользу реализации пути клеточной гибели по ферроптотическому механизму быть связанными с особенностями клеточной линии А172, выбранных в условиях культивирования?

Второй вопрос. Можно ли рассматривать ферменты, содержащие сульфгидрильные группы в активном центре, такие как глутатионредуктаза, глицеральдегид, трифосфатредуктаза и другие, в качестве потенциальных внутриклеточных мишеней действия комплексов платины? Может быть, всё-таки связывание происходит с сульфгидрильными группами ферментов, а не конкретно с тиольной группой глутатиона, которого пул может пополняться в клетке постоянно?

Третий вопрос: каков предполагаемый механизм окисления платины II в комплексах **2.2b** и **2.2e** до платины IV в комплексах **2.3**?

Четвёртый вопрос. Может ли постулируемый в работе продукт взаимодействия хлороплатлатинового комплекса **2.2e** с глутатионом быть выделен и охарактеризован, например, с помощью масс-спектрометрии? Мы это уже сегодня заслушали в дискуссии.

Происходит ли взаимодействие восстановленного глутатиона с цисплатином в условиях, аналогичных таковым, для проведения реакции с соединением **2.2e**?

По работе имеется ряд замечаний. Некоторые, опять же, я повторюсь, уже звучали, связанные с довольно общим названием работы, то есть термин «циклоплатинированные соединения», он не вполне конкретно отображает объекты настоящего исследования. Также к формальным замечаниям можно отнести то, что в диссертации и автореферате не сформулирован отдельным пунктом «личный вклад автора в работу». Пункт 5 заключения в диссертации и автореферате находится в некотором противоречии с обсуждением результатов, где получены свидетельства апоптотического механизма действия комплекса платины IV наряду со с ферроптотическим, в то время как в заключении звучит по-другому. Некоторые комплексы платины II и IV представленные в работе, не являются новыми и ранее исследовались их фотофизические свойства другими группами исследований. Это было бы достойно упоминания, наверное, и в самой работе, и в экспериментальной части, в части сравнения характеристик соединений. Вот про стабильность комплекса в растворе ДМСО и ДМФ д7 уже у нас звучало, обсуждалось. Имеется некоторое дублирование информации о циотоксичности соединений, распределений в клетках и некоторых других биохимических индикаторах, в таблицах и графиках, то есть по два раза одна и та же информация и даже по три раза кое-где повторяется. И я бы ещё рекомендовал при анализе взаимодействия хлорплатовых комплексов с глутатионом с помощью спектроскопии ЯМР обязательно сравнивать спектры реакционных смесей со спектрами окисленного

глутатиона. Опыт работы с глутатионом в нашей лаборатории говорит о том, что там всё близко и от кислотности среды, от присутствия... ну, в общем, сложно в этих спектрах разобраться и с окисленным глутатионом точно надо сравнивать. И методики синтеза химического синтеза соединений, изложенные в публикации с авторством соискателя, следовало бы подробно, я считаю, представить в экспериментальной части диссертации, чтобы оттенить химическую составляющую работы.

Ну, как и в любой, наверное, работе, имеются незначительные помарки замечания, на которых акцентироваться не будем. Отмечу только, что при описании условий алкилирования «кипячение в ацетонитриле при 120 °С», я бы уточнил этот момент, потому что ацетонитрил, как известно, кипит при температуре 82 °С при атмосферном давлении. То есть это как-то описать что ли, может быть, по-другому стоило. И тоже уже это может быть звучало, что указано в автореферате диссертации, что окисление кардиолипина в митохондриях происходит под действием самого комплекса **2.2e**, в то время как из логики повествования следует, что данное соединение лишь запускает каскад процессов, которые приводят к накоплению и активации форм, к накоплению активных форм кислорода и активизации процессов окисления. Какие-то по мелочи опечатки я не буду зачитывать: не указаны где-то концентрации рабочих растворов, ну это мелкие замечания, недочёты, которые носят такой дискуссионный характер, не снижают общего положительного впечатления от работы, в которой действительно предложен первый в классе, я считаю, агент на основе платины, который действует не по апоптотическому механизму клеточной гибели, а запускает альтернативный путь, что открывает возможности к созданию агентов более селективных и обходящих существующие механизмы резистентности. Автореферат и опубликованные в печати работы, полностью и правильно отражают содержание диссертации. Диссертация охватывает области исследований, соответствующие паспорту специальности 1.4.16 Медицинская химия в части пунктов.

Пункта 1: Поиск, структурный дизайн и синтез соединений лидеров, потенциальных физиологически активных лекарственных веществ, анализа и модификации структур известных активных соединений.

Пункта 3: Оптимизация структуры соединения лидера с целью повышения его активности и селективности

Пункта 6: Биологическое и физиологическое тестирование сконструированных и синтезированных соединений. на предмет изучения особенностей их взаимодействия с молекулярными мишенями организма.

И в диссертации таким образом изложены новые научно-обоснованные технические решения разработки, имеющие существенное значение для развития отечественной химической науки и здоровьесбережения. По актуальности и объёму выполненной работы теоретической, практической значимости, достоверности результатов, обоснованности

положений и выводов, диссертационная работа Тохтуевой Марии Дмитриевны соответствует критериям пунктов 9-14 положения о порядке присуждения учёных степеней, утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации № 842 в действующей редакции, а её автор Тохтуева Мария Дмитриевна заслуживает, я считаю, присуждения учёной степени кандидата химических наук по научной специальности 1.4.16 Медицинская химия. Спасибо.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Спасибо большое. Мария Дмитриевна, ответьте на вопросы, пожалуйста.

Тохтуева Мария Дмитриевна

В работе использовали стандартные протоколы культивирования, стандартные питательные среды, имеющие одинаковый состав от культуры к культуре, от эксперимента к эксперименту, что исключает возможность, а точнее, что говорит о достоверности полученных результатов. При этом важно отметить, что действительно изменение условий культивирования в состав среды может влиять на возможность соединения индуцировать в ферроптоз.

Ответ – да, можно. Нельзя исключать все внутриклеточные мишени, с которыми может взаимодействовать комплекс, особенно те, которые имеют схожее строение, схожие активные группы.

Что касается механизма получения реакции, то он представлен на слайде. Образуется диметилсульфид и хлор присоединяется к платине. Данный механизм действительно в работе не был описан, но он представлен на слайде. Его удалось подтвердить с помощью ГХ МС.

Это уже тоже обсуждалось – в настоящее время выделить продукт не удалось. Ну и масс-спектрометрия тоже пока вызывает трудности.

По поводу названия работ тоже уже обсуждалось. Не буду повторять.

Личный вклад сформулирован в докладе, тоже дублировать его, зачитывать ещё раз не буду.

Что касается пункта пятого заключения, который констатирует индукцию ферроптоза. Действительно, там указано, что основной механизм действия комплекса платины IV может быть связан, точнее, связан с блокировкой глутатиона и индукции фероптоза, однако приведена общая схема и описаны рассуждения, связанные с тем, что сопутствующим механизмом также выступает и апоптоз.

Что касается статей, в которых описаны комплексы платины II, действительно в работу были взяты известные комплексные соединения платины. Это было обозначено в работе. Однако данные соединения представляли интерес с точки зрения их биологической

активности, противоопухолевой активности, поэтому статьи по изучению фотофизики могли выпасть из внимания, потому что литературный обзор писался именно с точки зрения биологической активности. Комплекс платины IV и синтез его представлен в диссертации впервые, и те статьи, которые упомянуты, они содержат структурно отличающиеся комплексы.

Так, по замечаниям.

По липофильности тоже уже было обозначено, что был произведён расчёт коэффициента липофильности, соотношения коэффициент н-октанол-вода, который говорит о том, что повышение, удлинение цепочки может увеличивать липофильные свойства, следовательно, проникновение вещества через мембраны клеток и повышение активности, что мы и видим, собственно, в МТТ-тесте.

Стабильность комплекса в ДМСО не является доказательством его стабильности в физиологических условиях. Была предпринята попытка изучить стабильность комплекса в условиях близких к физиологическим, что обозначено в работе, то есть не было сказано, что условия физиологические именно.

Методы вестерн-блоттинга и полимеразной цепной реакции не указаны в разделе «Результаты». Сами методики, и описание реагентов, и пошаговая протоколы описаны в экспериментальной части, однако, в разделе обсуждения обозначен вопрос отличия экспрессии мРНК и белка, а также обозначены условия получения лизатов для ПЦР и для вестерн-блотинга, что позволяет соотнести полученные результаты с представленными иллюстрациями.

Что касается дублирования информации, это было сделано сознательно, потому что в таблицах представлены точные данные, а на столбчатых диаграммах и рисунках они, скорее иллюстративные, облегчающие восприятие материала, но оттуда точную информацию получить достаточно можно, но, скорее всего, будет достаточно проблематично. Поэтому представлены и иллюстрации, отражающие стат. значимые отличия и так далее, и таблицы.

Что касается окисленной формы глутатиона, да, такой эксперимент был бы интересен, однако на данном этапе работы представилось достаточным изучение восстановленного глутатиона, чтобы сделать выводы о взаимодействии комплекса платины с ним.

Методики синтеза, изложенные в статье по теме диссертации, действительно не были представлены в работе. Однако была дана ссылка на статью, в которой подробно описан синтез. При этом достаточным было описание синтеза комплекса платины IV.

Замечания по литературному обзору, с ними согласна.

Что касается условий алкилирования, кипячения в ацетонитриле, реакцию проводили в толстостенной колбе при повышенном давлении, поэтому такая температура, это позволило ускорить прохождение реакции.

Что касается замечаний по показателям индекса цитоксичности. Написано, что меньше 8,2, хотя в таблице – 8,2. Потому что данные цитоксичности были округлены до десятых знаков, это может вводить в заблуждение, однако точные цифры можно увидеть на слайде, и показатели эти IC_{50} действительно меньше.

Дальше тоже по ходу работы небольшие замечания с ними согласны.

Данные по изменению экспрессии ACSL4 под действием эрастина. Они отличаются. Имеется в виду эксперимент, где изучалась экспрессия эрастина в сравнении с комплексом **2.2e** и потом с комплексом **2.3b**. Показатели были равны 110 ± 16,7 и 130 ± 3,1. В контексте биологического тестирования, это примерно сопоставимые данные, тут нельзя говорить о какой-то существенной разнице. Это наоборот, достоверно полученные одинаковые данные по экспрессии.

Здесь дальше тоже согласны, неточности по формулировкам.

Так, что подразумевается под обработкой реагентов? Подразумевается обработка антисептическим раствором перед внесением в ламинарный бокс, чтобы сохранить стерильность при работе с клетками.

Не указаны источники получения эрастина и цисплататин. Приведены на слайде.

Так, по поводу концентрации аннексина и пропидиум иодида, приведена ссылка на стандартный протокол производителя, который использовался при окрашивании.

Соотношение реагентов для геля тоже на слайде приведены, однако указана ссылка на производителя тоже.

И стандарт для ЯМР – Na_2PtCl_6.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Дмитрий Андреевич, удовлетворены остались замечания? Всё, спасибо. Тогда переходим к выступлению второго оппонента – кандидат химических наук Назаров Алексей Анатольевич, доцент кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза химического факультета Московского государственного университета.

Официальный оппонент – к.х.н., Назаров Алексей Анатольевич

Уважаемые председатель, уважаемые члены совета, большое спасибо, конечно, за приглашение оппонировать эту диссертацию. Ну, вообще эта работа чрезвычайно близка для меня, потому что я тоже работаю в области как раз платиновых соединений и в том числе их биологической активности. А, работа очень интересная, с достаточно

интересными результатами. Я не буду повторять вот всё, что говорил сейчас первый оппонент, чтобы уже и время чуть-чуть меньше, чтобы было. И обычно, когда получаются вещества, ну, мы много синтезируем веществ и много тестируем веществ, и вот, если находится соединение, ну да, что-то меряем, можем померить апоптоз, можем померить ещё что-то. Но вот так подробно разобрать механизм действия, особенно если он ещё и связан с «несвязыванием» с ДНК, такое вообще делается достаточно редко и в современной теории клеточной гибели появлялось несколько новых механизмов гибели, и вот разбирать один из них – ферроптоз, но сейчас наиболее так интересно и, наверное, модно стало. Хотя здесь много чего известно из литературы, но вот таких очень хорошо известных или 100 % говорящих маркеров о ферроптозе, их не очень много, и поэтому подтверждать каждый раз приходится по уже больше косвенным всё-таки данным, а не по какому-то вот определённому маркеру, такому, как, например, известные маркеры апоптоза, там каспазные пути или там какие-либо другие пути. Поэтому вот здесь, конечно, несомненная актуальность и новизна этой работы – это то, что проделана большая работа по доказательству нового метода гибели этих соединений – пути гибели от этих соединений, точнее, клеточной гибели и подтверждение, что есть связывание с предложенной мишенью, конечно, глутатион, наверное, не лучший, потому что слишком много у нас его в клетке. А вот то, что есть, допустим, взаимодействие, то есть полное отключение гуатетиопероксидазы 4, это более интересное и которое может как раз-таки затем повлиять на общую концентрацию гутатионов в клетке.

Совершенно стандартно написанная диссертация. Есть, сначала введение, потом литературный обзор, обсуждение результатов и достаточно большая часть посвящена различным процедурам и, в том числе, немножко проведён синтез. В литературном обзоре даны как раз-таки характеристики основного апоптозного пути метода, как действуют платиновые соединения, какие существуют альтернативные механизмы клеточной гибели. И вот очень интересно, что для каждого механизма клеточной гибели приведены примеры как раз платиновых соединений, для которых уже доказан такой механизм. Затем идёт обсуждение результатов с как раз-таки исследованием нового пути клеточной гибели и подтверждением, что действительно это соединение, скорее всего, идёт по пути ферроптоза, и затем уже сделаны выводы и приведены экспериментальные данные. Но опять-таки я, наверное, перейду к замечаниям:

Первое, соответственно, они будут идти вот по тому, как идёт диссертация. В литературном обзоре есть раздел, посвящённый ферроптозу. Ну, наверное, желательно всё-таки приводить ссылки на оригинальные статьи, а там приведена ссылка на собственный обзор.

Затем, когда проводили реакции по МТТ-тестированию. Тут приведена очень точная концентрация: 48,6 мкмоль – конечная концентрация. Во-первых, откуда взялось это, не

очень понятно из текста. А, во-вторых, ну, учитывая использование аналитической техники, такой достичь чрезвычайно сложно, там ошибка больше, чем это значение.

Действительно, вещество очень токсичное, и поэтому, когда проводили исследования по апоптозу, там взят 72 часовой интервал, то есть одна точка. Ну вот желательно было всё-таки взять либо большую концентрацию и меньшие промежутки, чтобы посмотреть, как раз-таки ранний апоптоз, есть или нет. Здесь не было это сделано. Уже несколько раз говорили, что, когда оценивали структуру зависимость, из двух соединений выбирать, какое из них лучше, это всё-таки, наверное, слабо относится к структуре зависимости. Всё-таки надо было хотя бы немножко ещё расширить количество этих алкильных фрагментов.

Когда исследовали связывание с ДНК. Да, показано, что, скорее всего, нет связывания с ДНК, но почему-то остановились исключительно на оценке S-фазы, хотя для цисплатина того же известно, что это G2M фаза основная, где останавливается, а вот эту фазу практически не исследовали, поэтому, может быть надо было взять и сделать исследование вообще всего клеточного цикла. Такие красители тоже есть, которые показывают вообще весь клеточный цикл.

Для оценки активных форм кислорода. Платина известно, что пока является инициатором активных форм кислорода, то есть в клетке она действительно вызывает сама по себе активные формы кислорода. Но вот желательно всё-таки было показать, являются ли лиганды, а не могут ли они индуцировать активные формы кислорода.

Много говорили про эксперименты ЯМР с глутатионом, действительно, тоже, в общем-то, у меня не очень сильно вызывают сомнения эксперименты с ЯМР, но вот там приведены какие-то очень странные данные по скорости, по времени (даны до секунд). Так не делаются ЯМР эксперименты. В принципе, не делаются. И когда вы перешли к соединениям платины IV, ну да, действительно, платина IV является несомненно пролекарством, но вот надо было хотя бы немножко показать восстановление платины IV до платины II, что это действительно пролекарство, которое восстанавливается потом в свою активную форму. И, да, теперь по поводу синтетической работы. В диссертации указано, что все синтезы были выполнены другой группой, а приведены синтетические методики и характеризации вещества. Ну вот, наверное, тоже не очень корректно это делать, потому что хватило бы просто ссылки на то, что это вещества, которые получены из других лабораторий.

Но вот всё остальное, то есть то, что сделано по механизму, никаких не вызывает сомнений, и это, конечно же, отвечает пунктам и 1, и 4, и 6 паспорта специальности, вот именно исследование, которое проведено диссертантом.

В заключении, на основании вышеизложенного можно заключить, что диссертационная работа Тохтуевой Марии Дмитриевны является самостоятельным,

завершённым исследованием, в котором содержится решение научной задачи, имеющей важное значение для развития химии соединения металлов с цитотоксической активностью. Диссертационная работа соответствует критериям пунктов 9-14 Положения о порядке присуждения учёных степеней, утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 в действующей редакции, а её автор Тохтуева Мария Дмитриевна заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по научной специальности 1.4.16 медицинская химия.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Спасибо большое, Алексей Анатольевич. Ответьте, пожалуйста, на вопросы.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Спасибо большое, Алексей Анатольевич.

Так, перейдём к ответам.

Что касается упоминания, собственного литературного обзора. Вообще в литературном обзоре приведены механизмы гибели различных типов клеточной смерти, в том числе и ферроптоза и там проиллюстрирована схема, которая была взята из литературного обзора, написанного нами, поэтому ссылку привели на него.

Что касается точности указания финальной концентрации для МТТ-теста. На самом деле проводилось тестирование в разных диапазонах концентраций, в том числе и в более широком, без дополнительных десятых в концентрациях. Вот здесь представлена кривая зависимости «доза-эффект» соединения – тут жизнеспособность, тут концентрация – от 1 до 128 мкмоль/л. Однако в дальнейшем этот диапазон был сужен, и исследовались концентрации от 0,2, увеличиваясь в три раза, шаг был увеличен в три раза, чтобы показать большую активность потенциального соединения лидера и повысить точность эксперимента. Но вообще проводились разные варианты МТТ-теста, с разным диапазоном инкубации и с разными разбегами.

Что касается изучения апоптоза на более ранних точках при более высоких концентрациях, такие эксперименты тоже проводились, и они были опубликованы в статьях, в том числе по теме диссертации. Так, мы проводили ПЦР в реальном времени на гены BAX, BCL-2, FASL, FASR, которые проводились в течение, точнее, клетки инкубировались в течение 24 часов при повышенной концентрации. В в данном случае результаты были сопоставимы с теми, что мы наблюдали при окрашивании аннексином при трёхдневной инкубации с веществами. Поэтому результат с аннексином нам показался достаточным для того, чтобы показать отсутствие индукции апоптоза. Приведены ссылки на статьи, в которых более расширенно представлены эти результаты. Что касается разведений, то для подсчёта клеток, находящихся в апоптозе, использовался

автоматический счётчик клеток, в котором производился автоматический подсчёт с приведением процентов клеток, находящихся в раннем апоптозе, в позднем апоптозе и всех клеток в пробе. То есть проценты от степени разведения в данном случае бы не изменились.

Так. Ну, вот этот вопрос уже обсуждался по поводу более длинного алкильного фрагмента. Вероятнее всего, это привело бы к меньшей растворимости вещества. Однако комбинация вот того варианта, который был выбран, точнее, тот вариант соединения, которое было идентифицировано как соединение лидер, с нашей точки зрения, является наиболее оптимальным по длине алкильного фрагмента с точки зрения активности.

По клеточному циклу. Да, действительно, мы показали влияние только на S-фазу. То есть исследовали способность соединения влиять на активность репликации. Из этого эксперимента был сделан вывод о том, что как таковое соединение на активность клеточного деления не влияет, потому что не наблюдалось стат. Значимости от отрицательного контроля. Поэтому показалось излишним изучать дальнейшие контрольные точки клеточного цикла, так как при подавлении активности деления в некоторой степени, если не полностью, то всё равно была бы подавлена, вероятнее всего, репликация. Что касается цисплататина, то в других экспериментах, я просто решила привести эти данные, безусловно, конечно, мы изучали его влияние на клеточный цикл и где именно происходит остановка. Изучалась экспрессия циклинов, отвечающих за контрольные точки клеточного цикла, и G2M здесь ключевой момент. А что касается по вытеснению интеркалляционных маркеров, это могло бы повысить доказательную базу, говорящую о том, что действительно не образуется сшивок с ДНК, но в контексте работы тоже было принято решение, что изучение по S-фазе с помощью EdU достаточно для заключения о том, что механизмы комплекса **2.2e** и цисплатина отличаются, и здесь нет никакого выраженного влияния на деление.

Что касается активности лиганда, здесь приведены «кривые доза-эффект» для лиганда и для вещества. Ну и показатели IC_{50}. Как видно сам по себе лиганд активности выраженный не имеет, что потенциально может снять его влияние и на выработку активных форм кислорода. Поэтому предполагается, что именно блокировка глутатионовой системы за счёт цельного комплекса платины II как раз-таки ведёт к образованию активных радикалов.

А что касается временных параметров, это стандартные протоколы, выполненные на приборе. То есть регистрация, прохождение реакции снималась через равные промежутки времени, которые вот с точностью до секунды и были определены. И они же были приведены и в диссертации.

По кинетике восстановления платины IV до платины II. Да, такие эксперименты действительно интересны, они могут быть целью дальнейших исследований, чтобы повысить доказательную базу и обозначить, что всё-таки действительно происходит

восстановление комплекса платины IV до платины II. Однако, на данном этапе тоже было достаточным изучение ЯМР-спектров, показывающих то, что наблюдается образование в системе комплекса платины II с расходованием глутатиона, что косвенно говорит о том, что происходит это восстановление, ну и подкрепляется тоже литературными данными, источниками и позволяет нам сделать такие выводы.

Что касается синтетической части, это тоже достаточно дискуссионный момент. Вот Дмитрий Андреевич наоборот сказал, что нужно было ещё и комплексы платины II описать. Был описан синтез комплекса платины IV с точки зрения того, что это являлось новым химическим соединением, не описанным до этого в литературе, а на комплекс платины II, на синтез комплексов платины II были приведены литературные ссылки.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Так. Всё, спасибо. Так, переходим тогда к дискуссии. Кто хотел бы выступить? Да, Алексей Васильевич.

Член диссертационного совета – д.х.н., Ткачев Алексей Васильевич

Ну, у меня всё-таки осталось неудовлетворение от процентов. Значит, речь идёт о выживаемости. Стопроцентная выживаемость клеток означает, что из каждых 100 клеток, 100 осталось живыми. Процент выживаемости 99 означает, что из 100 взятых в эксперимент, 99 выживают. Процент выживаемости 101 говорит о том, что из 100 взятых клеток, 101 выжила. Это нонсенс. Если бы клетки размножались, то это надо обсуждать. Но, по-моему, это не обсуждается. Не надо спорить.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Там стоило нормировать по-другому.

Член диссертационного совета – д.х.н., Ткачев Алексей Васильевич

Не надо спорить. Где-то есть маленький дефект. Тем более один процент ничего не решает. То есть и с этим спорить не надо, надо просто аккуратно разобраться и посмотреть, где что не так. Но это всё мелочи и на общее впечатление, конечно, влияния никакого не оказывает. Работа, безусловно, заслуживает самой высокой оценки. Ну, здесь её разобрали, но я бы хотел сказать не про работу. Я на самом деле давно не слушал таких докладов соискателей, когда соискатель на вопросы из зала абсолютно точно, не задумываясь, быстро и полно отвечает на самые сложные вопросы из самых-самых разных областей. На меня это произвело большое впечатление. Я, конечно, буду голосовать «за», потому что перед нами готовый кандидат наук.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Спасибо. Спасибо, Алексей Васильевич. Да. Ну вот, на этой диссертации уже поактивнее выступают.

Член диссертационного совета – д.х.н., Борисевич София Станиславовна

А я, на самом деле, тоже хочу подчеркнуть вовлеченность диссертанта в тему. Это не просто человек разбирается в том, что он делает, а похоже, очень похоже, что Мария Дмитриевна любит то, что она делает. И вот это заслуживает внимания и огромного уважения. Потому что это не просто квалификационная работа, это прямо, мне кажется, любовь всей вашей жизни. Поэтому я, конечно, буду голосовать «за» и всех вас призываю. Спасибо.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Спасибо. Да. Ну давайте. О, Янина Валерьевна.

д.х.н. – Бургарт Янина Валерьевна

Представитель Екатеринбурга, поэтому я должна оправдать своё присутствие на второй защите, поэтому я тоже хочу выступить. Я хотела сказать, что я вот в начале октября была в Обнинске на конференции, как раз посвящённой разработке противоопухолевых препаратов. Выступал академик – Каприн, и он сказал, что за последние 10 лет нет отечественных препаратов, которые могли бы выйти на фармацевтический рынок, поэтому это, безусловно, актуальнейшая тема. И ещё на этой конференции отмечалось, что, несмотря вот на таргетные современные препараты, количество заболевших становится всё больше и больше, и, соответственно, умерших тоже больше. Поэтому вот актуальность этой темы – это вообще безусловно. Конечно же, работа, мне кажется, настолько интересная, что она вызвала вот такие бурные обсуждения и дискуссии. И я вот согласна со вторым оппонентом, что в области именно доказывания вот механизма действия, вот тут вот вопросов нет. Но ведь все болезни наш человеческий организм и опухолевые заболевания – настолько сложно, что, конечно, там запускаются другие процессы. Поэтому, возвращаясь опять к моей «грядной» теории, я считаю, что вот были посеяны семена нашей замечательной диссертанткой, и теперь надо пожинать плоды и дальше копать в этой области может быть действительно хиты. Я ещё думаю, что недаром там донорские заместители в этом бипиридине, потому что это ещё и наверняка увеличивается устойчивость. Может быть, посчитать константы устойчивости этих металлокомплексов. А чем металлокомплекс устойчивее, тем он стабильнее в клетке живой. То есть вот столько много новых нюансов, которые надо ещё распахивать и приобретать, и это создаст благодатную почву. Ну и, конечно же, я очень горжусь, что у нас в городе и в нашем Уральском федеральном университете есть такая диссертантка. Мне кажется, это просто замечательная была защита, и человек реально защищал свою позицию. Поэтому я не член диссертационного совета, но всех призываю одобрить эту диссертацию и голосовать за.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Вот теперь будете сотрудничать.

Так, ну немножко всё-таки ложку мёда я положу, ой, ложку дёгтя в эту бочку мёда я положу. Значит, в биологии, в отличие от химии, очень часто ответ не «да» и «нет», а «может быть». И вот-вот эти вот ваши однозначные утверждения о том, что вот механизм именно такой, глубокий молекулярный, они, ну, наверное, были... подумайте насчёт того, что надо всё больше делать в сослагательном наклонений. Это не касается конкретно вот этой защиты, которая прошла очень хорошо, очень активно. У меня сложилось впечатление, что нашему диссовету было очень полезно вообще так вот с точки зрения биологии ещё поглядеть, в том числе на медицинскую химию, это хорошо, это важно, но вот на вот это вот стоит тоже обратить внимание. Хотя опять же, у меня нет никаких сомнений в том, что ваша квалификация соответствует искомой. Так, теперь, соответственно, вам финальное слово.

Тохтуева Мария Дмитриевна

Ну конечно, в первую очередь хотелось бы поблагодарить всех членов диссертационного совета, в частности Константина Петровича, Сергея Сергеевича, за возможность защищать и представлять свою работу на базе вашего института. Хотелось бы выразить огромную благодарность ведущей организации, в качестве которой выступил Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН, и который дал положительный отзыв о работе. Большую благодарность хотела бы выразить также и официальным оппонентам, доктору химических наук Груздеву Дмитрию Андреевичу, кандидату химических наук Назарову Алексею Анатольевичу за конструктивную критику и за положительный отзыв о работе. И, конечно, упомяну Уральский федеральный университет, Химико-технологический институт в лице директора Вараксина Михаила Викторовича, доктора химических наук и члена-корреспондента РАН доктора химических наук Русинова Владимира Леонидовича, за предоставление возможности площадки для выполнения такой работы. Научного руководителя кандидата медицинских наук Мелехина Всеволода Викторовича за поддержку на каждом из этапов, помощь, совместное планирование экспериментов. Коллег из лаборатории, которые также поддерживали на протяжении всего пути и помогали в экспериментальной части работы. Безусловно, коллег с кафедры технологий органического синтеза – Ельцова Олега Станиславовича, кандидата химических наук и Абрамова Владислава Михайловича за постановку синтеза и химическую составляющую работы. Хотелось бы поблагодарить своих родителей, которые приехали поддержать меня и за то, что когда-то давным-давно, в седьмом классе, папа мне сказал: «Учи химию». И вот как-то так до сих пор сложилось, что я здесь. Всем спасибо большое!

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Спасибо. Так, Сергей Сергеевич, к голосованию.

Ученый секретарь диссертационного совета – к.х.н. Патрушев Сергей Сергеевич

Уважаемые коллеги, я предлагаю оставить комиссию, которую мы на первом заседании сформировали, то есть Софию Станиславовну, Александра Викторовича и Владимира Владимировича. Давайте проголосуем, кто за? Против? Воздержались? Единогласно комиссия может приступить к работе. Все документы есть.

Член диссертационного совета – д.х.н., Борисевич София Станиславовна

Уважаемые коллеги, последний штрих окончания чудесной диссертации. Так, избранная комиссия в составе Борисевич Софии Станиславовны, Артемьева Александра Викторовича и Шелковникова Владимира Владимировича. Присутствовали на заседании 19 членов совета, в том числе докторов наук, по профилю рассматриваемой диссертации 6. Роздано бюллетеней – 19, осталось не розданных бюллетеней – 6, оказалось в урне – 19. Результаты голосования по вопросу о присуждении учёной степени кандидата химических наук Тохтуевой Марии Дмитриевны: «за – 19, против – 0, недействительных – 0».

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Кто за то, чтобы утвердить протокол счётной комиссии? Против? Воздержались? Единогласно. Поздравляю! Вопросы по выписке есть? Да, Алексей Васильевич. Как минимум, нужно будет, если там есть вот эти жёсткие утверждения, их надо будет смягчить.

Член диссертационного совета – д.х.н., Ткачев Алексей Васильевич

Есть много замечаний. Во-первых, фатально не хватает заглавных букв. Есть название Федеральное государственное автономное образование, Научно-образовательный-инновационный центр – это названия учреждений, должны быть с заглавных букв. Я всё это пометил. Дальше, абсолютно невнятно написано место работы. Я слушал заключение ведущей организации или кто там был? Тоже абсолютно невнятно. Вот по тому, что написано, получается, что в настоящее время Мария Дмитриевна одновременно в одной и той же организации, в одном и том же подразделении числится как инженер-исследователь, младший научный сотрудник и старший преподаватель. Такого быть не может. Значит, в одном подразделении. В одном подразделении. Я говорю, в подразделении. Не в организации, а в подразделение. Что да? Вы говорите, что в одном, в одной лаборатории, в другой лаборатории, там, в третьей. Правильно. Подразделения разные. Вы хотите сказать. Нет, вы потом уточните, значит, сейчас не место. Просто обратите на это внимание. Да, на это написано так, что вот как бы так не бывает. Дальше. Ранее работала в проблемной лаборатории. Это что, лаборатория, которая расформируется

или что? Такое впечатление, что это название лаборатории – проблемной лаборатории физиологически активных веществ. Надо с большой буквы называть. Дальше я пометил всё, что большой буквы назвал. Соискатель имеет три научные статьи, которые включены в перечень международных рецензируемых научных журналов. Статьи не могут быть включены в перечень. Соискатель имеет три научные статьи, предлагаю написать, опубликованные в изданиях, которые включены перечень там, да? Согласны с этим?

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Да-да.

Член диссертационного совета – д.х.н., Ткачев Алексей Васильевич

Дальше. Есть список опубликованных работ по теме диссертации. Есть три работы. В двух из них есть какие-то многоточия, которые надо убрать, их там не должно быть. Там что-то должно быть или полное название, вернее, полный перечень авторов или что, но многоточий не должно быть. Дальше идёт прочие публикации. Казалось бы, зачем прочие публикации нужны в заключении? На самом деле, это не прочие публикации, это публикации по теме диссертаций, опубликованные в изданиях, не включённых в перечень ВАК. Я предлагаю так и написать: список работ, опубликованных по теме диссертаций в изданиях, включённых в список ВАК и работы, опубликованы в изданиях, не включённые в список ВАК, чтоб было понятно, то есть, это не прочие, не какие-то левые работы, они по теме. Для ссылок на электронные ресурсы нужно вставить дату доступа или обращение. Ну, по правилам так. И в ссылке, вернее, в списке в этом, в номер девять есть автор, название, название конференции и последняя строчка: «Соавторы отсутствуют в исходном тексте. При желании укажите соавторов». Это мы должны или вам должен указывать автор? То есть проверить.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Угу, спасибо. Так, Сергею Сергеевичу тогда отдадите, а он, соответственно, отдаст. Так, кто за то, чтобы принять за основу существующий вариант заключения, в котором будут внесены соответствующие изменения? Кто за? Против? Воздержались? Всем спасибо. Сегодня был плотный день, интересный.

Председатель диссертационного совета
д.х.н., профессор РАН Волчо К. П.

Ученый секретарь диссертационного совета
к.х.н. Патрушев С. С.