

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Кирилла Игоревича Мосалева на тему «Клеточные и молекулярные механизмы иммуномодулирующего действия конъюгата бетулоновой кислоты с 9-(4-метилпиперазин-1-илметил)-2-(4-метилена-1,2,3-триазол-1-ил) ореозеленом», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4 – Биохимия.

Диссертационная работа Кирилла Игоревича Мосалева посвящена исследованию механизмов иммуномодулирующих, противовоспалительных и гепатотоксических эффектов (прежде всего в системе метаболизма ксенобиотиков) нового оригинального соединения - конъюгата природного тритерпеноида бетулоновой кислоты и производного фурукумарина ореозелона (конъюгат БК-ФК). **Актуальность** работы связана с поиском новых малотоксичных иммуномодуляторов среди низкомолекулярных соединений с исходно высокой биологической активностью. Интерес к подобным соединениям обусловлен ростом заболеваний, вызванных патогенными организмами (бактериями, вирусами, простейшими), а также резистентностью и высокой токсичностью конвенциональных химиотерапевтических средств.

В последнее время в терапии воспалительных и иммуногенных патологий наблюдается устойчивый тренд на развитие биотерапевтических подходов, направленных на коррекцию различных звеньев естественного иммунитета. Перспективными иммунотропными агентами считаются вторичные метаболиты растений, в частности тритерпеноиды и кумарины. Однако, разработка новых лекарственных препаратов на их основе сдерживается в силу недостаточно изученных тонких механизмов их функционирования в системе иммунитета, в том числе в кооперации с другими системными процессами в организме, как в нормальных, так и патологических условиях. В работе К.И. Мосалева на модели индуцированной иммуносупрессии исследованы клеточные, гуморальные и метаболические аспекты иммуномодулирующих эффектов конъюгата БК-ФК, а также его противовоспалительные свойства и влияние на систему биотрансформации, включая цитохром Р450-зависимые реакции. Кроме того, решалась задача определения возможности связывания агента с активными центрами микросомальных ферментов печеночного метаболизма.

**Новизна исследования.** Впервые на примере конъюгата БК-ФК соискателем выполнено комплексное исследование иммуномодулирующих свойств производного растительных метаболитов лупанового и фурукумаринового типа. Автор впервые на примере культуры лимфогистиоцитарных клеток U-937 показал, что конъюгат БК-ФК не оказывает цитотоксического действия и вызывает сдвиг в цитокиновом профиле в сторону

противовоспалительного IL12A. Аналогичный эффект конъюгата БК-ФК выявлен в перитонеальных клетках мышей, подвергнутых иммуносупрессии циклофосфаном. Показано, что у этих животных под действием конъюгата повышается относительное содержание CD4+ и CD8+ лимфоцитов в крови, но снижается в тимусе. На этом фоне возрастает экспрессия цитокинов в костном мозге, что указывает на стимуляцию там лейкопоэза. Полученные данные свидетельствуют о перспективности конъюгата БК-ФК как стимулятора костномозговой регенерации.

Отдельного внимания заслуживают результаты, показывающие влияние изучаемого соединения на печень и систему микросомальных ферментов. Вопросы, касающиеся взаимодействия этой системы с иммунитетом, до сих пор практически не исследованы. В своей работе К.И. Мосалев установил, что конъюгат БК-ФК повышает в печени содержание мРНК генов цитохромов P450 2B10 и 3A11, которые принимают участие в метаболизме лекарств и самого агента. Показано, что изучаемое вещество обладает выраженным сродством к конститутивному андростановому (CAR) и прегнановому-X (PXR) рецепторам, контролирующим экспрессию этих генов. Показано, что оно не проявляет гепатотоксичность и снижает объемную плотность некрозов и степень лейкоцитарной инфильтрации печеночной паренхимы. Экспериментальные результаты, представленные в диссертационном исследовании, отвечают критериям **научной значимости**.

**Практическая значимость** работы соискателя связана с изучением нового типа гибридных соединений, подобных конъюгату БК-ФК, который оказывает иммуномодулирующее действие при сниженном иммунитете. Иммуно- и гепатопротекторные эффекты, обнаруженные у изучаемого соединения, указывают на возможность его практического применения в комплексной терапии онкологических и воспалительных болезней.

**Обоснованность и достоверность полученных результатов, выводов и рекомендаций** подтверждается использованием большого объема экспериментального материала и современных методов анализа. С применением метода обратной транскрипции с последующей ПЦР в реальном времени изучено влияние конъюгата на транскрипционную активность генов цитокинов в культуре моноцитарно-макрофагальных клеток, а также в перитонеальных макрофагах и костном мозге мышей с индуцированной иммунодепрессией. Методом вестерн-блоттинга установлено действие конъюгата на активность ключевых белков, участвующих в воспалительных каскадах и детоксикации. С помощью методов световой и электронной микроскопии выполнено обширное морфологическое исследование воздействия агента на иммунокомпетентные органы

(тимус, селезенку) и печень мышей с иммуносупрессий. Достоверность результатов подтверждена статистической обработкой с использованием современных компьютерных программ. Таким образом, диссертационная работа К.И. Мосалева выполнена на современном методическом уровне. Выводы и рекомендации, сформулированные в диссертационной работе, соответствуют поставленным целям и задачам, обоснованы и логично вытекают из полученных результатов. Данные диссертационного исследования могут служить базой для разработки практических рекомендаций и внедрения в практику нового малотоксичного иммуномодулятора для комплексной терапии онкологических и воспалительных заболеваний.

Результаты диссертации доложены на научных конференциях, опубликованы в 6 печатных работах, из них 3 статьи – в рецензируемых научных журналах, входящих в список ВАК, а также международную реферативную базу данных и систем цитирования Scopus и в единый государственный перечень научных изданий, имеющих уровни 1 и 2 «Белого списка», что является достаточным для публикации основных результатов диссертационного исследования.

**Оценка содержания диссертации и ее завершенности в целом.** Диссертационная работа К.И. Мосалева изложена на 157 страницах и выполнена по классической схеме: введение, обзор литературы, глава с изложением материалов и методов исследования, глава с изложением результатов собственных исследований и их обсуждение, заключение, выводы и список литературы, включающий 17 отечественных и 144 иностранных источников. Работа иллюстрирована достаточным количеством рисунков (43) и таблиц (25). Структура и объем диссертации представляются адекватными заявленным цели и задачам.

В обзоре литературы подробно анализируются биологические эффекты производных бетулина и фурукумаринов, их молекулярные мишени в клетках, участие взаимодействующих с ними сигнальных путей в воспалительных и иммуноопосредованных процессах. В отдельных разделах приводятся сведения о иммунодепрессивных и гепатотоксических эффектах циклофосфида, рассматривается роль отдельных цитокинов и белков в иммунных и воспалительных процессах. Литературные данные достаточно полно отражают современное состояние поднятых в диссертации вопросов, логично связаны с целью и задачами диссертационного исследования.

Глава с изложением собственных результатов делится на три подглавы, посвященные изучению эффектов конъюгата в экспериментах *in vitro*, *in vivo* и *in silico* в соответствии с поставленными задачами. В завершающей главе приводятся результаты

докинга соединения в активные сайты ферментов-мишеней. Разнообразие использованных методов позволило соискателю комплексно и разносторонне изучить внутриклеточные и системные особенности иммуотропных, противовоспалительных и гепатопротекторных эффектов в условиях иммунодепрессии. Выбранные методические подходы соответствуют поставленным цели и задачам работы и позволяют сформулировать основные научные положения и выводы. Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации.

**Замечания.** Принципиальных замечаний к работе нет. Имеются вопросы.

В главе 3.3.1 приводятся данные по цитотоксичности конъюгата БК-ФК в виде двух гистограмм: А - конъюгата БК-ФК; Б – ДМСО в количестве, которое вносилось в конъюгат БК-ФК. Сравнение данных показывает, что гибель клеток (некроз и апоптоз) на гистограмме А идет под действием ДМСО, при этом количество живых сохраняется примерно на одном уровне на каждой диаграмме. Можно ли на основании этого говорить об отсутствии цитотоксического эффекта у конъюгата БК-ФК в данном диапазоне концентраций? Сколько серий экспериментов проводилось в данном случае?


**Заключение.** Кандидатская диссертация Мосалева Кирилла Игоревича на тему «Клеточные и молекулярные механизмы иммуномодулирующего действия конъюгата бетулоновой кислоты с 9-(4-метилпиперазин-1-илметил)-2-(4-метил-1,2,3-триазол-1-ил) ореозелоном», выполненная под руководством кандидата биологических наук Иванова Игоря Диадоровича и научного консультанта доктора медицинских наук, профессора, член-корр. РАН Вавилина Валентина Андреевича, является законченной научно-квалификационной работой в которой содержится решение актуальной научно-практической задачи, имеющей существенное значение для развития биохимии - изучены клеточные и молекулярные механизмы иммуномодулирующего действия конъюгата бетулоновой кислоты с 9-(4-метилпиперазин-1-илметил)-2-(4-метил-1,2,3-триазол-1-ил) ореозелоном, обладающего гепатопротекторным действием, для возможного применения средства в комплексной терапии онкологических и воспалительных болезней.

По своей актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, обоснованности научных положений и выводов, полноте публикации материалов в научных печатных изданиях диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 - 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 01.10.2018 г. с изм. от 26.05.2020 г), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автору

Кириллу Игоревичу Мосалеву следует присудить ученую степень кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4 – биохимия (медицинские науки).

**Официальный оппонент:**

Ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук, доктор биологических наук (03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология)

 Сорокина Ирина Васильевна

Адрес: 630090, г. Новосибирск,  
проспект Академика Лаврентьева, дом 9  
Тел.: 8 (383) 330-36-63  
e-mail: benzol@nioch.nsc.ru

Подпись Сорокиной И.В. заверяю.  
Ученый секретарь НИОХ СО РАН,  
кандидат химических наук





Бредихин Р.А.

Дата отзыва: «15» мая 2026 г.