

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата химических наук Федотовой Анжелики Олеговны
на тему: «Комплексы Sc^{3+} , Y^{3+} , Tb^{3+} (Eu^{3+}) и Bi^{3+}
с конъюгатами коротких аналогов соматостатина для
диагностики и терапии онкологических заболеваний»
по специальности 1.4.13. – радиохимия.

Диссертационная работа Федотовой А.О. тесно связана с одним из наиболее актуальных и активно развивающихся направлений ядерной медицины - разработкой новых радиофармпрепаратов (РФП) для таргетной радионуклидной терапии (ТРТ) онкологических заболеваний. Наиболее эффективным этот метод оказался при радиотерапии нейроэндокринных опухолей (НЭО), обнаруживаемых в желудочно-кишечном или респираторном тракте и отличающихся гиперэкспрессией рецепторов соматостатина (sst) различных типов (sstr1 - sstr5). Рецепторы соматостатина являются идеальной мишенью для пептид-рецепторной радиотерапии с использованием таких широко известных РФП на основе циклического октапептида октреотида, как [^{90}Y]Y-DOTATOC и [^{177}Lu]Lu-DOTATATE, в состав которых входят бета-излучающие радионуклиды, включенные в структуру хелатора DOTA. За последние годы продолжают исследования по созданию более эффективных пептидных макроциклических и ациклических производных с различным сродством к рецепторам соматостатина, подробно рассмотренных в обзоре литературы, который заслуживает отдельного внимания. На основе этого анализа автором выбрано перспективное, но малоизученное научное направление - разработка пептидных РФП на основе коротких аналогов соматостатина, преимуществом которых является высокая устойчивость к протеолизу и сравнительно простой синтез.

В рамках этого *актуального направления* Федотовой А.О. предложен и исследован ряд новых комплексов на основе ультракоротких тетра- и пентапептидов линейного типа (аналогов соматостатина), сохраняющих

«ключевую» конформацию Phe-Trp-Lys-Thr, обеспечивающую высокую аффинность к sst. Ключевым аспектом является наличие вторичной структуры белковых молекул, а именно, образование так называемого β -поворота (β -петли) за счет укороченной аминокислотной последовательности. В качестве радионуклидов автором выбраны трехвалентные катионы, образующие устойчивые комплексы с хелатором DOTA: $^{44}\text{Sc}^{3+}$, $^{90}\text{Y}^{3+}$, $^{152}\text{Eu}^{3+}$, $^{207}\text{Bi}^{3+}$. Два последних долгоживущих изотопа не применяются в ядерной медицине, но используются как суррогаты широко применяемого бета-минус излучателя ^{177}Lu и альфа эмиттера ^{213}Bi , соответственно. Кроме того, фотоядерным методом получен тераностический радионуклид ^{161}Tb , пригодный к использованию как в радиотерапии (бета-минус излучение), так и ОФЭКТ диагностике (гамма-излучение).

Рецензируемая работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, шести глав результатов и их обсуждения, выводов, списка литературы, включающего 182 источника, и приложения.

Экспериментальная часть включает разработку методов синтеза новых комплексов и методов введения метки, радиохроматографические методы (ТСХ, ВЭЖХ) для определения радиохимических выходов и идентификации продуктов, методы масс-спектрометрии и спектроскопии кругового дихроизма. Для выбора оптимальных структур конъюгатов использованы методы молекулярного докинга. Изучена стабильность новых РФП в различных биологических средах *in-vitro*, а для наиболее перспективных конъюгатов проведено *in-vivo* исследование биораспределения на модели иммунодефицитных мышей с ксенографтом нейробластомы человека IMR-32, экспрессирующей SSTR2 и SSTR5. В целом набор применяемых методов отражает современный уровень науки в данной области, позволяя не только синтезировать новые меченые конъюгаты, но и оценить возможность их использования в качестве РФП. Ясное изложение экспериментального материала, обработка и интерпретация полученных данных не вызывают вопросов и указывают на их достоверность и обоснованность заключений.

В результате **впервые продемонстрирована** возможность образования высокоустойчивых комплексов радионуклидов ^{44}Sc , ^{90}Y , ^{161}Tb , ^{152}Eu , ^{207}Bi с конъюгатами DOTA-P (P = P1, P2, P3, P4), для каждого из которых определены оптимальные условия синтеза, включая температуру реакции конъюгации, концентрации, интервала pH и времени, с учетом требований, предъявляемых к методам синтеза РФП на практике. *In-vitro* исследование ^{152}Eu Eu-DOTA-P3 и ^{152}Eu Eu-DOTA-P4 продемонстрировало аффинность к рецепторам SSTR 2 и 5 на поверхности клеток IMR-32 с константами диссоциации комплекса «рецептор-лиганд» $K_d = 0,73 \pm 0,07$ и $K_d = 1,56 \pm 0,58$ нМ, соответственно. ^{152}Eu Eu-DOTA-P4 демонстрирует существенно меньшее неспецифическое связывание (около 18%).

Изучение типа вторичной структуры полученных пептидных конъюгатов показало, что единственным конъюгатом, чья форма спектра имеет характер β -поворота, отвечающего главному структурному требованию, предъявляемому к РФП на основе аналогов соматостатина, является DOTA-P4. Конъюгат ^{152}Eu Eu-DOTA-P4 (^{152}Eu Eu-Thz-Phe-D-Trp-Lys-Thr-DOTA) был выбран для *in-vivo* исследований на модели иммунодефицитных мышей с опухолью IMR-32, в сравнении с широко применяемым пептидным РФП на основе DOTA-TATE, меченным ^{152}Eu . Было продемонстрировано сходство в накоплении двух РФП в опухоли с более высоким накоплением ^{152}Eu Eu-DOTA-P4 в почках.

Поскольку ^{152}Eu является суррогатным маркером, в сходных условиях синтеза был получен и конъюгат DOTA-P4, меченный перспективным медицинским радионуклидом ^{161}Tb . Это указывает не только на высокую научную значимость работы, но и возможность практического применения при создании **нового класса** РФП для радиотерапии НЭО с использованием в качестве базовой структуры «короткопептидного» конъюгата DOTA-P4.

Рецензируемая диссертационная работа написана современным научным языком, читается с огромным интересом. Большинство данных проиллюстрировано графиками или таблицами, что способствует лучшему пониманию материала. Обоснованность выводов не вызывает сомнений.

В качестве небольших замечаний можно указать:

- важные данные о туморотропности [^{152}Eu]Eu-DOТА-P4 (накоплении препарата в опухоли IMR-32) не отражены в выводах; в выводе 7 отмечена лишь устойчивость конъюгата:

- на стр. 93 автор пишет: «По результатам эксперимента с «заблокированными» рецепторами, накопление [^{152}Eu]Eu-DOТА-P4 в части интересующих органов существенно снижается по сравнению с животными, которым предварительно не вводился октреотид (Таблица 18, выделены жирным), что может подтверждать сохранение специфичности [^{152}Eu]Eu-DOТА-P4 по отношению к SSTR в условиях *in vivo*, однако отсутствие снижения такого накопления в мозге не позволяет считать этот факт доказанным». Именно снижение накопления в опухоли в 10 раз при «блокировке» подтверждает высокую специфичность нового РФП. Отсутствие снижения отмечено не только в мозге, но и селезенке и других органах, где экспрессия SSRT незначительна;

- на стр. 96 автор пишет: «Результаты мечения DOТА-P4 катионами ^{161}Tb демонстрируют высокую радиохимическую чистоту уже через 5 минут после начала реакции, что даже превышает скорость реакции мечения в сравнении с катионами европия». Видимо автор имел ввиду радиохимический выход реакции мечения, но не радиохимическую чистоту;

- некоторые термины, например, биологически релевантные среды, следовало бы расшифровать или дать другое определение.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.4.13. - радиохимия (по химическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой

степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Федотова Анжелика Олеговна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.13. - радиохимия.

Официальный оппонент:

Кандидат химических наук,

Заведующий лабораторией радиохимии

Федерального государственного бюджетного

учреждения науки Институт мозга человека

им. Н.П. Бехтеревой Российской академии наук

Красикова Раиса Николаевна

08 ноября 2023 г.

