

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 350.002.01 НА БАЗЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ  
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ  
МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО  
НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ  
ЧЕЛОВЕКА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА  
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 27.01.2017 г. № 1

о присуждении Ивановой Ольге Сергеевне, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Биотехнологические подходы разработки новых лекарственных форм аналога интерферона гамма» по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) принята к защите 22.11.2017 г., протокол № 17 диссертационным советом Д 350.002.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, Оболенск, приказ о создании №714/нк от 02.11.2012 г.

Соискатель Иванова Ольга Сергеевна 1986 г. рождения, в 2008 г. окончила «Московский государственный университет дизайна и технологии» по специальности «Технология кожи и меха», с 2008 г. работает в Институте медицинской биотехнологии – Филиале Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, отдел разработки технологий и пилотного производства биопрепаратов, научный сотрудник. Иванова Ольга Сергеевна в 2008 году поступила в аспирантуру Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, окончила аспирантуру в 2011 г.

Диссертация выполнена в отделе разработки технологий и пилотного производства биопрепаратов Института медицинской биотехнологии – Филиала Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора.

Научный руководитель – кандидат биологических наук Левагина Галина Михайловна, Институт медицинской биотехнологии - Филиал Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, заведующая отделом разработки технологии и пилотного производства биопрепаратов.

Официальные оппоненты:

Афанасьев Станислав Степанович, Заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, заместитель директора по биотехнологии;

Бровко Федор Александрович, доктор биологических наук, Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, заведующий лабораторией иммунохимии, дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины» Федерального агентства научных организаций России, г. Новосибирск, в своем положительном Заключении, подписанном кандидатом медицинских наук Троицким Александром Васильевичем, ведущим научным сотрудником лаборатории биосовместимых наночастиц, наноматериалов и средств адресной доставки, и доктором биологических наук Пальчиковой Натальей Александровной, ученым секретарем института, указала, что диссертация является, завершённой научно-квалифицированной

работой, в которой рассмотрены биотехнологические подходы по разработке новых лекарственных форм аналога интерферона гамма. По глубине содержания, новизне и научно-практической значимости работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней и присвоения ученых званий» (Постановление Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Соискатель имеет **15** опубликованных работ, в том числе по теме диссертации **15** работ, в том числе опубликованных в рецензируемых научных изданиях - **7** статей и **9** работ, опубликованных в материалах научных конференций и симпозиумов.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Иванова, О.С.** Исследование структурных характеристик, гранулометрического состава и биологических свойств молекулярной конструкции, содержащей аналог интерферона гамма. / **О.С. Иванова**, А.А. Ломзов, Г.М. Левагина, А.В. Батенева, М.О. Скарнович, М.А. Скарнович, Л.Н. Шишкина, В.И. Масычева, Е.Д. Даниленко // **Вестн. Биотехнол. и Физ.-Хим. Биол. им. Ю.А. Овчинникова.** - 2015. - Т.11, - № 4. - С. 15-20. Импакт - фактор РИНЦ 0,075.
2. **Коровина, О.С.\*** Исследование физико-химических свойств нового препарата дельтаферона в составе молекулярной конструкции. / **О.С. Коровина\***, Д.В. Корнеев, Г.М. Левагина, М.П. Богрянцева, В.И. Масычева // **Биотехнология.** – 2012. - №2. – С. 73-77. Импакт- фактор РИНЦ 0,404.
3. **Коровина, О.С.\*** Иммуномодулирующие свойства наноконструкции, несущей аналог интерферона гамма. / **О.С.Коровина\***, С.Г. Гамалей, А.В. Батенева, Д.В. Корнеев, Л.Д. Медикова, Г.М. Левагина, Е.Д. Даниленко, М.П. Богрянцева // **Вест. Урал. мед. академ. науки.** -2010. - №2\1 (29). – С.40. – (Тематич. вып. по аллергологии и иммунологии). Импакт - фактор РИНЦ 0,146.

4. Гамалей, С.Г. Влияние структурного аналога интерферона- гамма на уровень эндогенных интерферонов и пролиферацию спленоцитов мышей. / С.Г. Гамалей, Г.М. Сысоева, А.В. Батенева, Е.Д. Даниленко, **О.С. Коровина\***, В.И. Масычева // **Вестн. Урал. мед. академ. науки.** – 2011. - №2/1(35). – Темат. вып. по аллергологии и иммунологии. - С. 20-21. Импакт - фактор РИНЦ 0,146.
5. Сысоева, Г.М. Исследование иммуномоделирующей активности аналога интерферона гамма на экспериментальной модели адьювантного артрита. / Г.М. Сысоева, Е.Д. Даниленко, **О.С. Иванова**, **В.И. Масычева** // «Рос. науч. форум на Урале», 23-25 окт. 2014г., Екатеринбург // **Рос. иммунол. журн.** [электрон. ресурс]. - 2014. - Т.8(17), №3. - С.737- 740. – 1 электрон. диск. Импакт - фактор РИНЦ 0,447.
6. Сысоева, Г.М. Сравнительное изучение влияния препаратов интерферона-гамма на функциональную активность макрофагов. / Г.М. Сысоева, Е.Д. Даниленко, Т.Б. Медведева, **О.С.Коровина\***, Г.М. Левагина, В.И. Масычева // **Вестн. Урал. мед. академ. науки.** – 2011. - №2/2(35). – Темат. вып. по аллергологии и иммунологии. - С. 68-69. Импакт - фактор РИНЦ 0,146.
7. **Korovina, O.S.** Studies on the physicochemical properties of the new preparation deltaferon as a component of a molecular construct / **O.S. Korovina**, D.V. Korneev, G.M. Levagina, M.P. Bogryantseva, V.I. Masycheva // **Appl. Biochem. Microbiol.** - 2013. – Vol. 49. – No. 7. – P. 660-663. Impact Factor JCR2015: 0.671.

\* Фамилия Коровина О.С. изменена на Иванова О.С.

На диссертацию и автореферат поступили положительные отзывы без замечаний от: (1) д-ра биол. наук **Карпенко Ларисы Ивановны**, заведующей лабораторией рекомбинантных вакцин Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п.Кольцово, Новосибирская область; (2) д-ра биол. наук **Трошковой Галины Павловны**, профессора кафедры

фармацевтической технологии и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Новосибирск; (3) д-ра биол. наук **Богачева Сергея Станиславовича**, заведующего лабораторией индуцирующих клеточных процессов Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск; (4) д-ра мед. наук, профессора **Орловской Ирины Анатольевны**, заведующей лабораторией иммунобиологии стволовой клетки Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» Федерального агентства научных организаций России, г. Новосибирск.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что:

Заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор **Афанасьев С.С.** является компетентным специалистом в сфере микробиологии и биотехнологии, имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Ивановой О.С. (**Иммунол. – 2015. – Т. 36. – № 3. – С. 176-183; Леч. Профилактикт. – 2015. – № 2(14). – С. 28-33; Иммунол. –2015. – Т. 36. – № 5. – С. 290-295; Бюлл. Вост.-Сиб. науч. центр. Сиб. отд. Росс. акад. мед. наук. – 2015. –№ 5. – С. 113-122; Бюлл. Вост.-Сиб. науч. центр. Сиб. отд. Росс. акад. мед. наук. – 2015. –№ 5. – С. 88-93; Мед. Иммунол. – 2015. – Т. 17. – С. 116; Эффект. Фармакотер. – 2013. – № 27. –С. 6-11; Иммунол. – 2012. – Т. 33. – № 5. – С. 255-259**);

доктор биологических наук, заведующий лабораторией иммунохимии **Бровко Ф.А.** является признанным специалистом в области микробиологии, иммунологии и биотехнологии патогенных микроорганизмов и имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Ивановой О.С. (**Analyt. Chem. - 2012. - Vol. 84. – No. 13. - P.**

5596-5603; **Virus Res.** - 2012. - Vol. 163. – No. 1. - P. 141-150; **Биохим.** - 2014. - Т. 79. - № 2. - С. 178-186; **Биорг. хим.** - 2014. - Т. 40. - № 2. - С. 186; **Журн. Микробиол. Эпидемиол. Иммунобиол.**- 2014. - № 5. - С. 99-110; **FEBS Lett.** - 2015. - Vol. 589. – No. 15. - P. 1819-1824; **Биорг. Хим.** - 2014. - Т. 40. - № 3. - С. 297).

Назначение ведущей организации обосновано широкой известностью ее достижений в области разработки новых средств, технологий и способов диагностики, лечения и профилактики инфекционных и неинфекционных заболеваний, а также наличием публикаций в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Ивановой О.С. (**Bull. Exp. Biol. Med.** –2016. –Т. 160. – № 6. – С. 783-786; **Хим.-Фарм. Журн.** – 2016. – Т. 50. – № 9. – С. 7-9; **Междунар. Журн. Прикл. Фунд. Иссл.** – 2016. – № 8-2. – С. 198-202; **Bull. Exp. Biol. Med.** – 2015. –Т. 158. – № 1. – С. 112-114; **Биомед. Хим.** – 2013. – Т. 59. – № 1. – С. 81-89; **Вестн. Алтайск. Наук.** – 2013. – № 2-1. – С. 162-164.)

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработаны условия получения полисахаридной оболочки молекулярной конструкции Дельтаферона (оптимальный диапазон соотношений концентраций периодат натрия/декстран составляет от 10:1 до 75:1; оптимальная степень окисления декстрана достигается при количестве внесенного периодата натрия 25-50 молей на моль декстрана; оптимальное время конъюгирования составляет 60 мин; соотношение спермидин/декстран равно 10:1 - 15:1), обеспечивающие сохранность интраназальной формы Дельтаферона при температуре 2-8 °С в течение не менее 20 месяцев;

предложен метод получения препарата Дельтаферона в составе молекулярной конструкции, содержащей в качестве векторной молекулы бифосфонат алендроновую кислоту; для повышения тропности конструкции к костной ткани выбрано оптимальное соотношение алендроновая кислота/декстран, равное 10:1; методами ультрафиолетовой спектроскопии и

кругового дихроизма показано отсутствие конформационных перестроек во вторичной структуре белка и нуклеиновой кислоты в составе конструкции;

доказано, что Дельтаферон в составе конструкции проявляет противовирусные свойства в культуре клеток L-68, повышает уровень интерферонов альфа и гамма в крови экспериментальных животных, увеличивает выживаемость и среднюю продолжительность жизни мышей, инфицированных вирусом гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2); в составе конструкции с алендроновой кислотой Дельтаферон, в дозе  $5 \times 10^4$  МЕ, обладает высокой противоопухолевой активностью, что продемонстрировано на экспериментальной модели костных метастазов меланомы B16-F10 у мышей;

введены новые представления о влиянии соотношения компонентов дсРНК и Дельтаферона, а также технологических параметров на сборку молекулярной конструкции: наиболее однородные сферические частицы размером  $\approx 200$  нм формируются при соотношении дсРНК и Дельтаферона 1:120-150 (моль/моль), при медленном микродозированном внесении дсРНК в реакционную среду, содержащую конъюгат декстрана с Дельтафероном и спермидином.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны экспериментально научные предсказания оптимальных параметров проведения процесса конъюгирования декстрана, белка Дельтаферона и спермидина: количественное соотношение полисахарида и окислителя периодата натрия 25-50 молей окислителя на моль декстрана; инкубация в течение 60 мин вне зависимости от температуры; соотношение спермидин/декстран от 10:1 до 15:1;

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых методов исследования, в том числе методы синтеза конъюгата декстрана с аналогом интерферона гамма человека Дельтафероном и спермидином, конъюгата декстрана с Дельтафероном, спермидином и алендроновой кислотой, метод просвечивающей электронной микроскопии, метод кругового дихроизма и ультрафиолетовой спектроскопии,

методы электрофореза в полиакриламидном и агарозном гелях, иммунологические методы, включая метод иммуноферментного анализа и титрования в культурах клеток, вирусологические, гистологические методы исследования;

изложено доказательство влияния количественного соотношения компонентов конструкции (дсРНК и Дельтаферона) и технологических параметров скорости перемешивания и внесения компонентов в реакционную среду на размер формируемых частиц и специфическую активность образцов молекулярной конструкции. Наиболее однородные сферические частицы размером до 200 нм были получены при соотношении дсРНК и Дельтаферона 1:5 по массе или 1:120-150 (моль/моль). Специфическая активность образцов наночастиц, полученных при соотношении дсРНК и Дельтаферона 1:5 по массе, в культуре клеток L-68 составила  $1,0 \times 10^5$  МЕ/мг;

раскрыты с помощью ультрафиолетовой спектроскопии и кругового дихроизма существенные особенности созданной молекулярной конструкции, содержащей Дельтаферон и дсРНК, а именно отсутствие конформационных перестроек во вторичной структуре белкового и нуклеинового компонентов, с помощью ультрафиолетовой спектроскопии и кругового дихроизма;

изучены гранулометрические характеристики образцов молекулярных конструкций, содержащих Дельтаферон и дсРНК, показавшие, что в результате сборки образуются относительно однородные (94% от общего количества) по размеру сферические наночастицы с диаметром около 200 нм, которые стабильно сохраняются после лиофилизации и хранения в составе лиофилизированных образцов;

проведена модернизация биотехнологических процедур, позволившая получить препарат Дельтаферон, экспонированный на поверхности конструкции, характеризующийся важными новыми свойствами: повышенной устойчивостью при хранении в широком диапазоне температур, повышенной устойчивостью к ферментативному воздействию трипсина и рибонуклеазы, способностью повышать уровень ИФН- $\alpha$  и ИФН- $\gamma$  при введении мышам в дозе

50 тыс. МЕ/животное, повышать противовирусную устойчивость мышей при инфицировании вирусом гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2); противовирусной активностью в культуре клеток L-68; а также препарат Дельтаферона и алендроновой кислоты в составе молекулярной конструкции для лечения костных метастазов опухолей, способный связываться с костной тканью в системе *in vitro* и *in vivo*.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

подтверждена перспективность создания на основе молекулярной конструкции, несущей Дельтаферон и дсРНК, нового лекарственного препарата для лечения гриппозной инфекции, для инъекционного и интраназального применения; разработаны и внедрены в практику Инструкции по изготовлению и контролю препарата Дельтаферон в транспортной системе (ВПЧ-дельтаферон), субстанция, ИК-11/01-2012 (Утверждены приказом ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» №136 от 06.11.2012г, Инв. № 1844 от 19.10.2012) и «Препарата ВПЧ-дельтаферон лиофилизат для приготовления раствора для интраназального применения, 50000 МЕ ИК-16/01-2013». (Утверждены приказом ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» №133 от 25.10.2013г, Инв. № 1899 от 24.10.2013) - Учрежденческий уровень внедрения;

получен препарат молекулярной конструкции, содержащий Дельтаферон и алендроновую кислоту, который может быть использован в качестве перспективного лекарственного средства для лечения костных метастазов, подготовленный для проведения доклинических и клинических исследований (Акт о внедрении результатов научно-исследовательской работы от 10.10.2016 г.) - Учрежденческий уровень внедрения.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

степень достоверности результатов исследований подтверждается использованием современных валидированных методов исследования, поверенного и сертифицированного оборудования, статистических методов обработки данных;

идея диссертационного исследования базируется на анализе имеющихся в литературе данных об актуальности исследований, касающихся разработки технологии получения и свойств препаратов на основе ИФН- $\gamma$  и дельтаферона для системного и интраназального применения для целей противовирусной и противоопухолевой терапии;

установлено частичное совпадение полученных автором результатов с опубликованными ранее в научной литературе данными других авторов - в части методического подхода использования описанной молекулярной конструкции в качестве носителя и средства доставки для получения препаратов других терапевтических белков (ФНО-альфа);

использованы современные методы получения и обработки информации.

Личный вклад соискателя состоит в:

проведении автором лично работ по оптимизации метода получения полисахаридной оболочки молекулярной конструкции, оценке влияния технологических параметров и выбора условий сборки конструкции на основе дсРНК и конъюгата декстрана с Дельтафероном, выбору технологической схемы и получении интраназальной формы Дельтаферона в составе конструкции, оформлению Инструкций по изготовлению и контролю препарата Дельтаферон в транспортной системе «ВПЧ-Дельтаферон, субстанция» и препарата «ВПЧ-Дельтаферон, лиофилизат для приготовления раствора для интраназального применения, 50000 МЕ». Кроме того, автор проводила и принимала участие в исследовании физико-химических свойств конструкции, содержащей Дельтаферон, или Дельтаферон и алендроновую кислоту, оценке способности молекулярной конструкции, содержащей Дельтаферон и алендроновую кислоту, связываться с костной тканью на экспериментальной модели *in vitro*, подготовке материалов к публикации в научных журналах и на конференциях.

На заседании 27.01.2017 г. диссертационный совет принял решение присудить Ивановой О.С. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 9 докторов наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 19 против нет, недействительных бюллетеней нет.

Председатель  
диссертационного совета \_\_\_\_\_ (Дятлов Иван Алексеевич)

Ученый секретарь  
диссертационного совета \_\_\_\_\_ (Фурсова Надежда Константиновна)

Дата оформления Заключения – 27.01.2017 г.

Печать организации, на базе которой создан диссертационный совет.

