

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

комиссии диссертационного совета Д 350.002.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора по кандидатской диссертации Ивановой Ольги Сергеевны на тему: «Биотехнологические подходы разработки новых лекарственных форм аналога интерферона гамма», выполненной в Институте медицинской биотехнологии – филиала Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Соответствие соискателя ученой степени требованиям, необходимым для допуска к защите. Иванова О.С. соответствует требованиям, изложенным в п. 3 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г.: имеет высшее образование, подтвержденное дипломом Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Московского государственного университета дизайна и технологии» по специальности «Технология кожи и меха»; подготовила диссертацию в Институте медицинской биотехнологии – филиала Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, давшем положительное заключение по данной диссертации; сдала кандидатские экзамены, о чем представлено удостоверение.

Соответствие диссертации специальности, по которой совету предоставлено право защиты. Диссертация Ивановой О.С. выполнена в рамках научной тематики Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора: Федеральная целевая программа «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 - 2020 годы», Соглашение о предоставлении субсидии № 14.604.21.0061 от 27.06.2014 по теме «Разработка адресного терапевтического средства для лечения костных метастазов опухолей на основе бифосфонатов и белков-цитокинов», под руководством кандидата биологических наук Левагиной Галины Михайловны, на современном научно-методическом уровне с использованием биотехнологических, физико-химических, биологических, иммунологических и статистических методов исследования. Члены комиссии считают, что диссертация

Ивановой О.С. соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, отрасли науки «Биологические науки», а также паспорту специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) в областях исследований по пункту 3 – «Изучение и разработка технологических режимов выращивания микроорганизмов-продуцентов, культур тканей и клеток растений и животных для получения биомассы, ее компонентов, продуктов метаболизма, направленного биосинтеза биологически активных соединений и других продуктов, изучение их состава и методов анализа, технико-экономических критериев оценки, создание эффективных композиций биопрепаратов и разработка способов их применения», по пункту 8 – «Разработка научно-методических основ для применения стандартных биосистем на молекулярном, клеточном, тканевом и организменных уровнях в научных исследованиях, контроле качества и оценке безопасности использования пищевых, медицинских, ветеринарных и парфюмернокосметических биопрепаратов».

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных автором. Выполнение требований к публикации основных научных результатов диссертации. По материалам диссертации опубликовано 15 печатных работ, включая 8 статей в научных журналах (6 статей в журналах, рекомендованных в списке ВАК), что является вполне достаточным для проведения ее защиты.

Автор самостоятельно провела информационный поиск, анализ литературных источников. Вместе с научным руководителем она сформулировала цель и задачи работы, проанализировала и обобщила полученные результаты. Все лабораторные исследования, оформление первичной документации, статистическая обработка результатов проведены автором самостоятельно. Автор непосредственно принимала участие в подготовке и написании научных публикаций по теме диссертации. Присвоения авторства чужого научного труда (плагиата), результатом которого может быть нарушение авторско-правового и патентного законодательства, в данной диссертации не усматривается.

Диссертационная работа изложена на 133 страницах печатного текста и состоит из следующих разделов: Введения, Обзора литературы, Результаты собственных исследований и их обсуждения, Заключение, Выводов, Практических рекомендаций, Списка использованных литературных источников. Диссертация иллюстрирована 14 таблицами и 30 рисунками. Список литературы содержит 154 источника, в том числе 53 отечественных публикаций и 101 зарубежную публикацию.

Актуальность выбранной темы определяется тем, что инфекционные и онкологические заболевания занимают одно из первых мест в структуре заболеваемости населения РФ и в мире. Отсутствие выраженного защитного эффекта вакцинопрофилактики, возникающая резистентность к химиопрепаратам, недостаточная эффективность противовирусных и противоопухолевых препаратов обуславливают необходимость разработки новых лекарственных средств. В последние годы все большую актуальность приобретают способы лечения инфекционных и онкологических заболеваний с помощью стимуляторов системы неспецифической резистентности, в частности, интерферонов и их индукторов. Среди интерферонов разных типов особый интерес представляет интерферон гамма (ИФН- γ) в силу разнообразия и выраженности иммуномодулирующего действия и противоопухолевых свойств ИФН- γ , такие как подавление роста опухолевых клеток, усиление активности цитотоксических лимфоцитов, ингибирование ангиогенеза. Роль ИФН- γ как регулятора ремоделирования костной ткани позволяют рассматривать данный цитокин как перспективное средство лечения не только вирусных, но и онкологических заболеваний, в частности, злокачественных новообразований, склонных к образованию костных метастазов.

Учитывая достоинства ИФН- γ как универсального средства лечения вирусных и онкологических заболеваний и возможность стабилизации его свойств в составе средства доставки, актуальной и научно обоснованной является разработка технологии получения молекулярной конструкции, содержащей аналог ИФН- γ Дельтаферон для системного и интраназального применения для целей противовирусной и противоопухолевой терапии.

Цель работы – разработать технологии получения новых лекарственных форм аналога интерферона гамма в составе средства доставки для противoinфекционной и противоопухолевой терапии.

Научная новизна полученных результатов усматривается в том, что впервые экспериментально установлены параметры проведения процесса конъюгирования декстрана, белка Дельтаферона и спермидина. Продемонстрировано влияние количественного соотношения компонентов конструкции (дсРНК, Дельтаферона) и технологических параметров скорости перемешивания и внесения компонентов в реакционную среду на размер частиц и специфическую активность образцов молекулярной конструкции. Методом просвечивающей электронной микроскопии показано, что 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. В результате исследования структурных характеристик молекулярной конструкции, содержащей Дельтаферон и дсРНК, методами ультрафиолетовой спектроскопии и кругового дихроизма впервые установлено отсутствие конформационных перестроек во вторичной структуре белкового и нуклеинового компонентов созданной молекулярной конструкции.

Впервые в процессе гранулометрической характеристики образцов молекулярных конструкций, содержащих Дельтаферон и дсРНК, было показано, что в результате сборки образуются относительно однородные по размеру сферические наночастицы с диаметром около 200 нм (94% от общего количества частиц), которые сохраняются после лиофилизации и хранения в составе лиофилизированных образцов. Установлено, что Дельтаферон, экспонированный на поверхности конструкции, отличался устойчивостью при хранении в течение суток в широком диапазоне температур (от -4°C до $+20^\circ\text{C}$), в отличие от исходного белка Дельтаферон, который был стабилен лишь при $+6^\circ\text{C}$. Установлено, что Дельтаферон и дсРНК в составе молекулярной конструкции более устойчивы к ферментативному воздействию трипсина и рибонуклеазы, чем свободный Дельтаферон и дсРНК, соответственно. Показано, что молекулярная конструкция, содержащая Дельтаферон, в дозе 50 тыс. МЕ на мышь повышает уровень ИФН- α и ИФН- γ , повышает противовирусную устойчивость мышей, инфицированных вирусом гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2).

Впервые разработана интраназальная форма Дельтаферона в составе молекулярной конструкции. Показано, что препарат обладал повышенной противовирусной активностью в культуре клеток L-68, проявлял способность повышать уровень ИФН- α в тканях носоглотки, легких и крови мышей и выживаемость животных, инфицированных вирусом гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2).

Впервые разработана технология получения препарата на основе аналога интерферона гамма Дельтаферона и алендроновой кислоты в составе молекулярной конструкции для лечения костных метастазов опухолей. Выбраны условия получения конъюгата полисахарида с Дельтафероном и алендроновой кислотой и сборки молекулярной конструкции. Методом электронной микроскопии показано наличие в препарате округлых наночастиц размером от 20 до 55 нм. В результате исследования физико-химических свойств молекулярной конструкции, содержащей Дельтаферон и алендроновую кислоту, доказана сохранность структуры и биологических свойств Дельтаферона в составе конструкции.

Впервые установлена способность молекулярной конструкции, несущей Дельтаферон и алендроновую кислоту, связываться с костной тканью в системе *in vitro*. На модели костных метастазов, индуцированных введением мышам клеток меланомы B16-F10, продемонстрированы противоопухолевые свойства Дельтаферона в составе конструкции.

На основании анализа поступившей работы комиссия пришла к заключению о возможности защиты кандидатской диссертации Ивановой Ольги Сергеевны по теме «Биотехнологические подходы разработки новых лекарственных форм аналога интерферона гамма» в диссертационном совете Д 350.002.01 при ФБУН ГНЦ ПМБ.

Члены комиссии:

доктор биол. наук Коломбет Любовь Васильевна (председатель)	_____
	(подпись)
доктор биол. наук Игнатов Сергей Георгиевич	_____
	(подпись)
доктор мед. наук Ерусланов Борис Васильевич	_____
	(подпись)

Председатель диссертационного совета
Д 350.002.01, академик РАН, д-р мед. наук, проф.

Дятлов И.А.

Ученый секретарь диссертационного
совета Д 350.002.01, канд. биол. наук

Фурсова Н.К.