

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.247.01 ПО ЗАЩИТЕ
ДИССЕРТАЦИЙ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК, НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ» РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК»

аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 6 июня 2019г № _18__ о присуждении
Филатовой Елене Викторовне, гражданство Российская Федерация, ученой степени кан-
дидата биологических наук

Диссертация «Лекарственные системы противоопухолевого действия на основе
микросфер из поли-3-оксибутирата», по специальности 03.01.04 Биохимия, принята к за-
щите 4 апреля 2019г (протокол № _11_) диссертационным советом Д 002.247.01 на базе
Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», 119071, Москва,
Ленинский проспект, дом 33, строение 2. Совет учрежден Рособрнадзором Министерства
образования и науки РФ, приказ № 2249-1602 от 16.11.2007г с учетом изменений в составе
Совета в соответствии с приказом Минобрнауки России от 13.02.2013г № 74/нк и от
10.02.2014г № 55/нк и с учетом переименования Совета от 30.09.2015г №1166/нк/ и от 13
марта 2019 г. № 222/нп.

Соискатель:

Филатова Елена Викторовна в 1995г. окончила Федеральное государственное обра-
зовательное учреждение высшего образования Новосибирский государственный универ-
ситет, Факультет естественных наук, по специальности «Биология», специализация «Мо-
лекулярная биология». В ноябре 2007г. поступила в очную аспирантуру Федерального
государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии им. А.Н. Баха Рос-
сийской академии наук, где проходила обучение по ноябрь 2010 г. В период учебы в ас-
пирантуре и подготовке диссертации работала в Институте биохимии им. А.Н. Баха Рос-
сийской академии наук в лаборатории биохимии азотфиксации и метаболизма азота в
должности младшего научного сотрудника.

Диссертационную работу Филатова Е.В. выполняла в лаборатории биохимии азотфиксации и метаболизма азота Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук.

Научный руководитель:

Бонарцева Гарина Александровна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии азотфиксации и метаболизма азота Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Официальные оппоненты:

Сербин Александр Владимирович, доктор химических наук, главный научный сотрудник лаборатории химии полиэлектролитов и медико-биологических полимеров Федерального государственного бюджетного учреждения науки ордена Трудового Красного Знамени Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева Российской академии наук.

Новикова Светлана Петровна, доктор биологических наук, доктор химических наук, заведующая лабораторией химии и технологии материалов для сердечно-сосудистой хирургии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Выбор официальных оппонентов был обусловлен:

тем, что доктор химических наук Сербин Александр Владимирович является главным научным сотрудником лаборатории химии полиэлектролитов и медико-биологических полимеров и высококвалифицированным специалистом в области создания лекарственных форм на основе высокомолекулярных соединений, а также биомедицинских полимеров.

тем, что доктор биологических наук, доктор химических наук Новикова Светлана Петровна является заведующей лабораторией химии и технологии материалов для сердечно-сосудистой хирургии и специализируется на разработке и применении в хирургической практике биомедицинских полимеров и биосовместимых полимерных покрытий для сосудистых протезов и сердечных клапанов.

Квалификация оппонентов подтверждается наличием у них большого числа публикаций в рецензируемых российских и международных журналах.

Оба официальных оппонента дали положительные отзывы на диссертацию Филатовой Е.В.

Ведущая организация:

Федеральное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук в своем положительном отзыве, подписанном доктором химических наук, заведующим лабораторией физико-химии композиций синтетических и природных полимеров ФГБУ ИБХФ РАН Поповым А.А. и утвержденным директором ФГБУ ИБХФ РАН, доктором химических наук, профессором Курочкиным И.Н., указала, что диссертационная работа Филатовой Е.В. является самостоятельной научно-квалификационной работой, которая соответствует критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней, утвержденным Постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013г. К кандидатским диссертациям, а ее автор, Филатова Е.В. заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 Биохимия.

Выбор ведущей организации был обусловлен тем, что ФГБУ ИБХФ РАН является признанным отечественным центром в проведении фундаментальных и прикладных научных исследований работ в области биохимии и биотехнологии. В лаборатории широко используют современные физико-химические методы для изучения биосовместимых полимерных материалов. Сотрудники ФГБУ ИБХФ РАН, в том числе и указанной лаборатории, являются высококвалифицированными специалистами-биохимиками, ведущими исследования, непосредственно связанные с тематикой диссертации Филатовой Е.В.

В целом, высокая квалификация оппонентов и сотрудников ведущей организации позволяет объективно оценить научную и практическую ценность данной диссертационной работы.

Публикации:

Основные результаты диссертационной работы Филатовой Е.В. изложены в 11 статьях в рецензируемых научных журналах, входящих в список изданий, рекомендованных ВАК РФ, что соответствует требованиям п. 13 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого Правительством РФ от 24.09.2013 г. № 842.

1. Филатова Е.В., Бонарцев А.П., Бонарцева Г.А. «Малотоксичные микросферы для направленной доставки доксорубина». *Эффективная фармакотерапия. Онкология, гематология и радиология*, 2018, том 5, № 4, с. 30-33
2. Филатова Е.В., Бонарцев А.П., Бонарцева Г.А. «Микросферы на основе полиоксibuтирата как перспективные системы для адресной доставки дексаметазона». *Эффективная фармакотерапия. Онкология, гематология и радиология*, 2018, том 5, № 4, с.24-29
3. Bonartsev A.P., Boskhomodgiev A.P., Iordanskii A.L., Bonartseva G.A., Rebrov A.V., Makhina T.K., Myshkina V.L., Yakovlev S.G., Filatova E.V., Ivanov E.A., Bagrov D.V., Zaikov G.E., Artsis M.I. «Kinetics and mechanism of poly(3-hydroxybutyrate) degradation» *Вестник Казанского технологического университета*, 2014, том 17, № 4, с. 145-151
4. Bonartsev A.P., Yakovlev S.G., Filatova E.V., Soboleva G.M., Makhina T.K., Bonartseva G.A., Shaïtan K.V., Popov V.O., Kirpichnikov M.P. «Sustained release of the antitumor drug paclitaxel from poly(3-hydroxybutyrate)-based microspheres». *Biochemistry, Supplemental Series B*, 2012 том 6, № 1, с. 42-47
5. Филатова Е.В., Яковлев С.Г., Бонарцев А.П., Махина Т.К., Мышкина В.Л., Бонарцева Г.А. «Пролонгированное высвобождение хлорамбуцила и этопозиды из полимерных микросфер из поли-3-оксибутирата». *Прикладная биохимия и микробиология*, 2012, т. 48, № 6, с. 662–667.
6. Bonartsev A.P., Boskhomodgiev A.P., Voinova V.V., Makhina T.K., Myshkina V.L., Yakovlev S.G., Zharkova I.I., Zernov A.L., Filatova E.V., Bagrov D.V., Rebrov A.V., Bonartseva G.A., Iordanskii A.L. «Hydrolytic degradation of poly(3-hydroxybutyrate) and its derivatives: characterization and kinetic behavior» *Chemistry and Chemical Technology*, 2012, V. 6, № 4, p. 385-392.
7. Bonartsev A.P., Boskhomodgiev A.P., Iordanskii A.L., Bonartseva G.A., Rebrov A.V., Makhina T.K., Myshkina V.L., Yakovlev S.G., Filatova E.V., Ivanov E.A., Bagrov D.V., Zaikov G.E. «Hydrolytic Degradation of Poly(3-hydroxybutyrate), Polylactide and their Derivatives: Kinetics, Crystallinity, and Surface Morphology» *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 2012, V. 556, № 1, p. 288-300.
8. Бонарцев А.П., Яковлев С.Г., Филатова Е.В., Соболева Г.М., Махина Т.К., Бонарцева Г.А., Шайтан К.В., Попов В.О., Кирпичников М.П. «Пролонгированное высвобождение противоопухолевого лекарственного вещества, паклитаксела, из микро-

сфер на основе поли-3-оксибутирата». *Биомедицинская химия*, 2011, т. 57, № 2, с. 232-240

9. Мышкина В.Л., Иванов Е.А., Николаева Д.А., Махина Т.К., Бонарцев А.П., Филатова Е.В., Ружицкий А.О., Бонарцева Г.А. «Биосинтез сополимера поли-3-гидроксибутирата-3-гидроксивалерата штаммом *Azotobacter chroococcum* 7Б». *Прикладная биохимия и микробиология*, 2010, т. 46, № 3, с. 1-8
10. Босхомджиев А.П., Бонарцев А.П., Махина Т.К., Мышкина В.Л., Иванов Е.А., Багров Д.В., Филатова Е.В., Иорданский А.Л., Бонарцева Г.А. «Сравнительное изучение кинетики биodeградации биополимерных систем на основе поли-3-оксибутирата». *Биомедицинская химия*, 2009, т. 55, № 6, с. 702-712
11. Босхомджиев А.П., Бонарцев А.П., Иванов Е.А., Махина Т.К., Мышкина В.Л., Багров Д.В., Филатова Е.В., Бонарцева Г.А., Иорданский А.Л. «Гидролитическая деструкция биополимерных систем на основе поли-3-оксибутирата. Кинетический и структурный аспекты». *Пластические массы*, 2009, т. 8, с. 13-18

Результаты работы были представлены в 4 обзорах:

1. Bonartsev A.P., Boskhomodgiev A.P., Iordanskii A.L., Bonartseva G.A., Rebrov A.V., Makhina T.K., Myshkina V.L., Yakovlev S.A., Filatova E.V., Ivanov E.A., Bagrov D.V., Zaikov G.E., Artsis M.I. «Trends in New Generation of Biodegradable Polymers (Part 3)». *Applied Research on Polymer Composites* 342 p. ISBN 978-1-77188-038-1, AAP Research Notes on Polymer Engineering Science and Technology, CRC Press (Taylor&Francis group), Apple Academic Press Oakville, Canada, 2015, p. 63-80
2. Bonartsev A.P., Boskhomodgiev A.P., Iordanskii A.L., Bonartseva G.A., Rebrov A.V., Makhina T.K., Myshkina V.L., Yakovlev S.G., Filatova E.V., Ivanov E.A., Bagrov D.V., Zaikov G.E., Artsis M.I. «Trends in Polyblend Compounds: Part II». *Polymers and Polymeric Composites: Properties, Optimization, and Applications*, AAP Research Notes on Polymer Science Engineering and Technology, Apple Academic Press New York, 2014, p. 57-77
3. Bonartsev A.P., Boskhomodgiev A.P., Iordanskii A.L., Bonartseva G.A., Rebrov A.V., Makhina T.K., Myshkina V.L., Yakovlev S.G., Filatova E.V., Ivanov E.A., Bagrov D.V. «Degradation of poly(3-hydroxybutyrate) and its derivatives: characterization and kinetic behavior». *Advances in Kinetics and Mechanism of Chemical Reactions* (edited by G.E. Zaikov), Apple Academic Press New-York, 2013, v. 9, p. 122-138

4. Bonartsev A.P., Boskhomodgiev A.P., Iordanskii A.L., Bonartseva G.A., Rebrov A.V., Makhina T.K., Myshkina V.L., Yakovlev S.G., Filatova E.V., Ivanov E.A., Bagrov D.V., Zaikov G.E. «Degradation of Poly(3-hydroxybutyrate), and its Derivatives: Characterization and Kinetic Behavior». *Advances in Kinetics and Mechanism of Chemical Reactions*. (ed. by G. Zaikov) Ch, 9, pp 121-139. 2013 APPLE Academic Press, Canada

Также результаты работы были представлены на 9 международных и 4 всероссийских конференциях.

1. 1-я Международная научная школа — Нано-2009. Наноматериалы и нанотехнологии в живых системах, г. Обнинск, 2009;
2. International conference “Biocatalysis-2009”, 2009, Arkhangelsk;
3. Научно-практической конференция «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине», Санкт-Петербург, 2010;
4. III Всероссийская конференция «Нанотехнологии в онкологии 2010», МНИОИ им. П. А. Герцена, Москва, 2010;
5. The 7th World Meeting on Pharmaceuticals, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Валетта, Мальта, 2010;
6. The 26th Annual Scientific Meeting of the American Society of Hypertension, 2010, New-York, USA;
7. International conference MirТес, Базель, Швейцария, 2010;
8. The 27th Annual Scientific Meeting of the American Society of Hypertension, 2011, New-York, USA;
9. Международная конференция, Современные достижения бионаноскопии, 2011, Москва, ФФ МГУ им. М.В. Ломоносова;
10. IV Всероссийская конференция по наноматериалам «НАНО-2011», 2011, Москва;
11. Всероссийская школа-семинар Научный потенциал - XXI "Композитные наноматериалы", Бекасово, МО, 2011;
12. 8th World Meeting on Pharmaceuticals, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Стамбул, Турция, 2012;
13. TechConnect World 2012 Conference and Trade Show, 2012, Santa Clara, California, USA.

В перечисленных публикациях адекватно отражены результаты экспериментальной работы, проведенной в рамках выполнения диссертации.

На диссертацию поступили следующие отзывы:

Отзыв официального оппонента доктора химических наук, Сербина Александра Владимировича главного научного сотрудника лаборатории химии полиэлектролитов и медико-биологических полимеров ФГБУ ИНХС РАН (положительный). Отзыв содержит следующие замечания:

1. Начиная с литературного обзора, текст диссертации несколько перегружен повторами, например, относительно типичных недостатков традиционных и преимуществ, разрабатываемых диссертантом ЛФ по всем частным примерам. Более компактное изложение с заключениями и прогнозами не по эпизодам, а обобщенно – по ключевым разделам облегчило бы целостное восприятие материала, тем более, что обзор представлен логически последовательно и достаточно полноценно.
2. Глава 2 — Материалы и методы.
 - 2.1. Раздел 4 — оценка молекулярной массы (М) ПОБ только методом вискозиметрии представляется недостаточной, так как не дает представления о широте разброса по молекулярно-массовому распределению (ММР), что может быть существенным в регуляции свойств микросфер. В этой связи и с учетом требований к стандартизации полимеров медицинского назначения, определение ММР было бы полезным, например, методами хроматографии.
 - 2.2. Раздел 6 — в перечне использованных ХТ «препаратов» отсутствуют сведения, являются ли они индивидуальными соединениями и какой степени чистоты.
 - 2.3. Раздел 10 — отсутствуют данные о происхождении, размерах и иных характеристиках исходных «наночастиц» золота и оксида железа, использованных в работе.
 - 2.4. Раздел 11 — содержит указание на стерилизацию высушенных микросфер при 100°C в течение 10 минут перед биологическими испытаниями. Неясно, проводились ли контрольные опыты по оценке возможного влияния этой процедуры на состав, структуру, активность и иные свойства микросфер с инкапсулированными ЛВ.
3. Глава 3 — Результаты и обсуждение.
 - 3.1. Раздел 1.1. рассматривает разработки микросфер с метал-содержащими наночастицами, в т. ч., ориентированные на перспективу средств магнитоуправляемой адресной доставки ЛВ – на примере оксида железа III формулы Fe_2O_3 . Однако для

заявленной задачи выбор именно такой формы окислов железа представляется нецелесообразным, так как обе стабильные модификации Fe_2O_3 (α — ферромагнетик, но слабый, и γ — ферримагнетик) не имеют значительной восприимчивостью к магнитному полю. Логичнее было бы апробировать наночастицы магнетита — Fe_3O_4 (железа II/III, 1:2) — сильного ферромагнетика.

- 3.2. Раздел 2 — в первых строках раздела в качестве ЛВ, оптимального для инкапсуляции, обозначен Таксол. Здесь, видимо, опечатка, поскольку Таксол это не ЛВ, а, как упоминал и сам диссертант, лекарственная форма паклитаксела — раствор ЛВ (~6%).
- 3.3. Обсуждая механизмы выявленных различий в кинетике высвобождения разных ЛВ из микросфер ПОБ, диссертант делает акцент, преимущественно на гидрофильные (в т.ч., водородные связи) и гидрофобные взаимодействия молекул ЛВ с ПОБ. Однако, на наш взгляд, соотношению размеров молекул ЛВ внимание уделено недостаточно. Увеличение размера (и M) должно сказываться на скорости диффузионного выхода ЛВ из микросфер. Так, ускоренный выход более низкомолекулярных ЛВ заметен, в целом, на рис. 57 и в однозначно явной форме — на рис. 61.
- 3.4. Раздел 4 — при обсуждении гидролитической стабильности микросфер с разными ЛВ обнаруживаются факты отличий в скоростях деструкции ПОБ. Однако комментарии (пусть гипотетические) о возможной связи с химической природой ЛВ отсутствуют. Так, молекулы ЛВ, особенно кислотные, могут служить фактором каталитического ускорения гидролитической деструкции полиэфирных цепей, что могло бы стать одним из объяснений заметно ускоренной деструкции микросфер с хлорамбуцилом (рис. 67).
- 3.5. Кроме того, ввиду присутствия в организме ПОБ-расщепляющих ферментов, в опытах *in vitro* полезно было бы не ограничиваться упрощенной моделью среды в виде фосфатного буфера, а хотя бы выборочно, апробировать аналогичные среды с добавками соответствующих энзимов. Были ли такие попытки?
4. Текст диссертации и автореферата не свободен от некоторых неудачных формулировок, неточностей, или, возможно, опечаток, например:
- 4.1. Стр. 37 — при описании эксперимента *in vivo* читаем: «на мышях Эрлиха» (такой линии мышей нет), видимо, имелось в виду: «на мышях с карциномой Эрлиха»?
- 4.2. Стр. 41 — «инкапсулированную эффективность Этанидазола»... Эффективность не может быть инкапсулированной;

- 4.3. Стр. 8, 10, 88, 124, 127, 141 — словосочетание «наиболее оптимальный» представляется не совсем корректным, поскольку сам термин «оптимальный» уже характеризует объект или явление как однозначно наиболее соответствующий условиям/задачам.
5. Рисунки:
- 5.1. Рис. 3,4 — пропущены градуировка и/или единицы измерения по осям;
- 5.2. Рис. 10,15,19 — подписи к осям графиков не на русском языке;
- 5.3. Рис. 33, 38, 46, 51, 56, 66 — кривая скорости высвобождения ЛВ, быстро падая, почти сливается с осью абсцисс, и далее становится трудно различимой. Нельзя ли было улучшить читаемость графиков, заменив развертку шкалы ординат, например, на логарифмическую?
6. Излишнее употребление русскоязычных имитаторов англоязычных терминов вместо их ясных эквивалентов на русском языке.
- 6.1. Типичный пример: для обозначения быстрого высвобождения ЛВ англоязычный термин “burst effect” диссертант употребляет (18 раз) как «берст эффект». Грамотнее использовать вполне понятный русский эквивалент (употреблен 12 раз) - взрывной (дав сноску: на английском — “burst”) эффект. Аналогично, метод «эвапорации» по-русски означает метод «упаривания» (удаления растворителя). Замедляющие (“retard”), но не «ретард» (стр. 22-23) ЛФ, и т.д.
- 6.2. Это важно для роста национальной науки — не с позиций ведомого мировых достижений, но устремлённости молодых ученых к самостоятельному лидерскому мышлению, свободному от формально-подражательной зависимости там, где русский язык вполне достаточен и ясен для понимания и отражения сути.

Приведенные замечания носят частный и дискуссионный характер, не затрагивая существа представленной работы, её актуальности, новизны, практической ценности, и научно-квалификационного уровня.

Отзыв официального оппонента Новиковой Светланы Петровны, доктора биологических наук, доктора химических наук, заведующей лабораторией химии и технологии материалов для сердечно-сосудистой хирургии ФГБУ НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева Минздрава России (положительный).

Существенных замечаний к работе нет. Есть некоторые рекомендации и отмечены незначительные недостатки:

- в работе встречаются досадные грамматические ошибки, опiski, например, стр. 29, 36, 37, 43, 46, 47, 52, 54-56, 60, 64, 83, 86, 88;
- содержание подраздела 4.2.2 «Учет особенностей и свойств полимеров при создании систем пролонгированного высвобождения лекарственных веществ» касается особенностей и свойств полимеров «вообще», и поэтому не совсем соответствует заголовку раздела 4.2 «Природные биodeградируемые материалы — полиоксиалканоаты». Подраздел 4.2.2 целесообразно было бы выделить в отдельный раздел, например, 4.3;
- рис. 7 не имеет расшифровку сокращений;
- названия таблиц следовало помещать над таблицами;
- в методах исследования — стр. 9, 78 автор пишет об оценке биodeградации. Правильно было бы говорить о гидролитической деструкции, так как оценка деградации микросфер проводилась в фосфатном буфере, вне живого организма;
- повтор информации, касающейся описания паклитаксела — п.2.5 и п.4.2;
- очень поверхностно затронут вопрос о стерилизации микросфер — «Предварительно сухие микросферы стерилизовали при 100°C в течение 10 минут». Как подтверждалась стерильность?
- следовало больше внимания уделить эксперименту *in vivo*: оценка сроков биodeградации, сравнение полученных микросфер с импортными аналогами, имплантация животным и оценка действия магнитоуправляемых систем.

Однако все сделанные замечания носят рекомендательный характер и не влияют на положительную оценку диссертации.

Отзыв ведущей организации — Федерального бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук (ФГБУ ИБХФ РАН) (положительный). Отзыв содержит ряд вопросов и замечаний:

- В главе 2 «Материалы и методы исследования» на стр. 79 Автор говорит о выявлении наночастиц металлов в микросферах методом ТЭМ. Однако при описании объектов исследования ранее нет упоминания об этом. Краткая информация о введении наночастиц Fe₂O₃ и золота в микросферы представлена непосредственно в главе 3 «Результаты и обсуждение». На наш взгляд вся информация об изготовлении объектов исследования должна быть сосредоточена в главе 2.

- Автором никак не обоснован выбор конкретных наночастиц: оксида железа (Fe_2O_3) и золота.
- В работе отсутствуют характеристики наночастиц: средний диаметр, распределение частиц по диаметрам, химический состав поверхности, являющиеся важными параметрами при анализе взаимодействия с ЛВ и полимером-матрицей.
- Автором диссертации для характеристики ПОБ приводятся данные лишь о молекулярной массе, в то время как для характеристики микросфер необходимы параметры, характеризующие надмолекулярную структуру полимера, например, степень кристалличности ПОБ. Этот параметр является одним из определяющих в кинетике диффузии низкомолекулярных веществ в полимерной матрице.
- При анализе кинетики высвобождения ЛВ из микросфер ПОБ Автором не анализируется изменение в надмолекулярной структуре оболочек микросфер ПОБ.

Тем не менее, все эти замечания носят частный характер и не могут повлиять на общее хорошее впечатление от работы.

На автореферат поступили положительные отзывы от:

- Ведущего научного сотрудника лаборатории клинической и экспериментальной нейрхимии ФГБНУ «Научный центр неврологии» РАМН, д.б.н. С.Л. Стволинского; отзыв положительный, замечаний нет.
- Заведующей лабораторией молекулярной биологии и нанобиотехнологий Саратовского научно-исследовательского ветеринарного института-филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» д.м.н, профессора В.А. Федоровой; отзыв положительный, принципиальных замечаний нет. Есть вопрос к соискателю:
 - Изучали ли хроническую токсичность созданных автором экспериментальных препаратов и, если да, то какие результаты получены?
- И.о. заведующего лабораторией диффузионных явлений в полимерных системах (№0313) ФИЦ Химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, к.т.н., доцента А.А. Ольхова; отзыв положительный, содержит следующие вопросы и замечания:
 - В автореферате не найдено обоснование выбора наночастиц оксида железа (Fe_2O_3) и золота и практически отсутствуют их основные параметры.

- Не понятно, почему автором диссертации не приводятся данные по надмолекулярной структуре ПОБ в микросферах?

Тем не менее, все эти замечания носят частный характер и не могут повлиять на общее хорошее впечатление от работы.

В дискуссии принимали участие:

- 1) ;к.т.н. Ольхов Анатолий Александрович
- 2) д.б.н. Шумаев Константин Борисович
- 3) .д.б.н. Капрельянц Арсений Сумбатович

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований, получены следующие **основные результаты**:

- 1) Получены биополимерные микрочастицы на основе поли-3-оксибутирата методом одноэтапного эмульгирования с инкапсулированными цитостатиками: дексаметазоном, хлорамбуцилом, этопозидом, паклитакселом, метотрексатом, доксорубицином.
- 2) Анализ профилей высвобождения цитостатиков из микросфер с использованием математической модели нулевого порядка дает количественное описание «берст»-эффекта на начальной стадии высвобождения, а с помощью моделей «Higuchi» и «Peppas-Korsmeyer», показано, что ранняя стадия высвобождения имеет диффузионный характер по Фику. По модели диффузии Фика рассчитаны коэффициенты диффузии. Анализ данных с помощью модели первого порядка указывает, что на поздней стадии высвобождения хлорамбуцила происходит гидролитическая деструкция полимера.
- 3) Установлено, что профиль высвобождения цитостатических лекарственных веществ из микросфер соответствует динамике контролируемого высвобождения. Из изученных микрочастиц с включением цитостатиков наиболее оптимальным кинетическим показателем пролонгированного высвобождения отвечают микрочастицы с включением паклитаксела.
- 4) Противоопухолевая активность *in vitro* микросфер с различными ЛВ: паклитакселом, этопозидом и хлорамбуцилом зависит как от кинетики высвобождения ЛВ из микрочастиц, так и от биологической активности действующего ЛВ на опухолевые клетки линии MFC-7 *in vitro*.

- 5) Биополимерные микросферы с инкапсулированным ПКЛ обладают меньшей токсичностью и большей эффективностью по сравнению с традиционным препаратом Таксол, что доказано опытами, проведенными как на культуре клеток, так и в экспериментах *in vivo*, что служит предпосылкой для создания малотоксичной лекарственной формы ПКЛ на основе биополимера ПОБ.
- 6) Получены микросферы с включением наночастиц металлов золота и железа, на основе которых возможна разработка систем направленной доставки цитостатиков.

Теоретическая значимость исследований состоит в том, что:

- Разработан метод получения лекарственных биополимерных микросфер на основе поли-3-оксибутирата методом одноэтапного эмульгирования с инкапсулированными цитостатиками (дексаметазон, хлорамбуцил, этопозид, паклитаксел (ПКЛ), метотрексат, доксорубин). Лекарственные формы с контролируемым высвобождением ПКЛ обеспечивают уровень высвобождения ЛВ, необходимый для проявления цитостатического действия на клетки.
- Установлено, что профиль высвобождения цитостатических лекарственных веществ из микросфер соответствует динамике контролируемого высвобождения.
- Показано, что биополимерные микросферы с инкапсулированным ПКЛ обладают меньшей токсичностью и большей эффективностью по сравнению с традиционной лекарственной формой, что доказано опытами, проведенными как на культуре клеток рака груди человека, так и в экспериментах *in vivo*.

Практическая значимость заключается в том, что:

- Разработка малотоксичных лекарственных форм с контролируемым высвобождением цитостатиков позволит осуществлять длительную химиотерапию при лечении онкологических больных без многократного введения препарата, что должно значительно улучшить качество жизни пациента.
- Полученные лекарственные формы являются малотоксичными для всего организма, что создает реальные предпосылки для замены в будущем активно применяемого в медицинской практике препарата Таксол, имеющего много побочных эффектов.
- Результаты, полученные в данной работе, могут послужить основой для создания новых малотоксичных лекарственных форм этопозиды и хлорамбуцила (в том числе двойной лекарственной формы) с контролируемым высвобождением.

- Полученные в работе микросферы с включением наночастиц металлов золота и железа могут использоваться в системах адресной доставки лекарственных веществ, а также для диагностики.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

- использованные методики исследования и проведенные расчеты корректны;
- достоверность полученных данных не вызывает сомнений;
- выводы диссертационной работы четко сформулированы и отражают наиболее значимые результаты работы.

Личный вклад соискателя состоит:

- В получении результатов работы лично автором, либо при его непосредственном участии, включая планирование и проведение экспериментов;
- В обработке, анализе и интерпретации экспериментальных данных;
- В подготовке публикаций по выполненной работе.

Заключение:

Диссертация Филатовой Е.В. является законченной научно-квалификационной работой, что подтверждается наличием логичного плана исследования, использованием большого набора современных методов, взаимосвязанностью выводов и результатов, а также публикациями в рецензируемых журналах (11 статей). Таким образом, из представленных материалов следует, что данная работа выполнена на высоком методическом уровне и содержит решение научной задачи, имеющее важное значение для развития биохимии и фармакологии.

На заседании 6 июня 2019 года диссертационный совет принял решение присудить Филатовой Елене Викторовне ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 Биохимия.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 11 докторов биологических наук, 6 докторов химических наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 26 человек, входящих в состав совета Д 002.247.01, постановил:

«За» присуждение ученой степени – 18

«Против» - нет,

Недействительных бюллетеней – нет.

Заместитель председателя диссертационного совета

ФИЦ биотехнологии РАН

Доктор биологических наук, профессор

М.С. Крицкий

Ученый секретарь диссертационного совета

ФИЦ биотехнологии РАН

Кандидат биологических наук

А.Ф. Орловский

«6» июня 2019 г.

