

«УТВЕРЖДАЮ»

Врио директора НИИФирМ им. Е.Д.  
Гольдберга, д.м.н., профессор

  
\_\_\_\_\_ В.В. Жданов  
« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2016 г.



## ОТЗЫВ

ведущей организации о научно-практической значимости диссертации Е.А. Пашкиной «Иммуномодулирующие свойства комплекса тафтсина с кукурбит[7]урилом», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

### Актуальность темы исследования

Одной из актуальных проблем современной молекулярной иммунофармакологии является снижение дозы препарата, защита от биodeградации, увеличение периода жизни, снижение периода полувыведения биологически активных молекул, белков и пептидов. В настоящее время разработаны различные способы защиты белковых и пептидных препаратов, включая химическую модификацию аминокислот, повышение их гидрофобности, использование ферментных ингибиторов, применение усилителей абсорбции, использование различных переносчиков, таких как микросферы, наночастицы, липосомы. Ни один из данных способов не дает стопроцентно эффективного результата, поэтому поиск новых методов защиты пептидов от биodeградации остается насущной проблемой.

Одним из перспективных подходов для решения указанных задач является использование протективных молекул и формирование систем «гость-хозяин». В частности может быть использовано комплексообразование лекарственных пептидов с кукурбит[7]урилом.

Кукурбит[7]урил – это макроциклический кавитанд, в областях портов которого располагаются карбонильные группы, способные образовывать

ассоциаты с положительно заряженными частицами, а образующаяся полость может связываться с гидрофобными участками молекул. Согласно литературным данным, исследование комплексов кукурбит[7]урилы с пептидами выявило, что образование комплексов может препятствовать гидролизу субстратов (и потенциальных лекарств) по отношению к лейцинаминопептидазе, трипсину и другим ферментам, распознающим положительно заряженные аминокислотные остатки. Комплекс между кукурбитурилами и пептидами образуется за счет связывания боковых радикалов аминокислотных остатков полипептидной цепи положительно заряженных аминокислот (аргинин, лизин), а также через гидрофобные остатки аминокислот, содержащих ароматическое кольцо (фенилаланин, тирозин, триптофан).

Образование комплексов кукурбитурилов с пептидами не обеспечивает полную защиту для крупных пептидов, поэтому целесообразно использовать небольшие пептиды, имеющие всего несколько остатков аминокислот. Механизм образования и условия поддержания устойчивых комплексов пептидов с кукурбит[7]урилом по типу «гость-хозяин» необходимо изучать и подбирать в каждом индивидуальном случае.

На сегодняшний день известно большое количество пептидов с иммуномодулирующим действием, такие как тафтсин, иммунофан, тимоген, вилон и другие. Иммуномодулирующий пептид тафтсин, стимулирующий фагоцитоз, состоит из четырех аминокислотных остатков (Thr-Lys-Pro-Arg), комплексообразование может происходить за счет связывания с положительно заряженными остатками аргинина и лизина. Следовательно, использование кукурбит[7]урилы в качестве комплексообразователя для пептида тафтсина позволяет оптимизировать иммунофармакологические характеристики иммуномодулятора.

Диссертационное исследование Пашкиной Е.А. посвящено исследованию иммуномодулирующих свойств комплекса тафтсина с кукурбит[7]урилом. Научная задача по изучению иммуномодулирующих свойств супрамолекулярного комплекса тафтсина с кукурбит[7]урилом в экспери-



ментальных моделях *in vitro* и *in vivo*, сформулированная в диссертации А.А. Пашкиной, безусловно актуальна и имеет важное фундаментальное и практическое значение.

Ее решение имеет важную роль для дальнейшего развития представлений о воздействии комплексообразования с кукурбит[7]урилом на иммуномодулирующие свойства пептидного препарата.

### **Научная новизна исследования, полученных основных результатов и выводов, сформулированных в диссертации, степень достоверности полученных результатов**

Научная новизна проведенного исследования не вызывает сомнений. Автором впервые изучено комплексообразование кукурбит[7]урила с тафтсином, а также влияние комплексообразования с кукурбит[7]урилом на биологические свойства иммуномодулирующего пептида тафтсина *in vitro* и *in vivo*.

Объем выполненных исследований достаточен для получения достоверных результатов. Современные методы исследования, использования адекватных статистических методов обработки данных, соответствие логики исследования поставленной цели и задачам определяют высокую степень достоверности положений, заключений и выводов диссертационной работы. Сформулированные выводы и положения аргументированы и логически вытекают из анализа полученных в ходе научного исследования результатов.

### **Научная и практическая значимость полученных результатов исследования**

Научная значимость исследования, выполненного Е.А. Пашкиной, состоит в получении новых знаний о способах защиты пептидных и белковых препаратов от биодegradации, основанной на образовании комплексов типа «гость-хозяин» с супрамолекулярными соединениями.

Полученные данные расширяют представления о стабилизации и защите от биodeградации пептидных препаратов путем использования различных систем доставки лекарственных средств при помощи супрамолекулярных соединений, в частности, кукурбит[7]урила.

Практическая значимость работы заключается в разработке нового подхода по модификации пептида тафтсина посредством комплексирования с кукурбит[7]урилом с целью защиты от биodeградации, который может быть использован для создания препарата для клинического применения. Кроме того, разработанный подход может быть использован не только для тафтсина, но и для других пептидов, содержащих положительно заряженные аминокислотные остатки.

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации**

Использование результатов исследования, полученных Е.А. Пашкиной, возможно как в педагогической практике в преподавании курса иммунологии, так и с целью обоснования использования супрамолекулярных соединений, в частности кукурбит[7]урила, для защиты пептидных препаратов и их направленной доставки. Разработанный метод комплексирования кукурбит[7]урила с тафтсином может быть использован и для других иммуноактивных пептидов.

### **Обоснованность и достоверность научных положений диссертационной работы**

Работа выполнена с использованием информативных методов оценки иммуотропного действия лекарственных средств. Было исследовано влияние комплекса кукурбит[7]урила с тафтсином на реакции иммунной системы как *in vivo*, так и *in vitro*. Результаты получены на достаточном количестве экспериментальных животных и образцов периферической крови человека. В работе использованы адекватные исследованию статистические методы обработки результатов. Выводы диссертации полностью соответствуют постав-



ленным задачам и полученным данным. Основное содержание работы четко отражено в автореферате.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на научных конференциях, семинарах и форумах, и опубликованы в 10 печатных работах, из которых 2 - статьи в журналах, рекомендованных ВАК для публикации результатов работ соискателей ученой степени.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе Е.А. Пашкиной нет.

### **Замечания**

1. Диссертация и автореферат должны быть оформлены в соответствии с ГОСТ Р 7.0.11-2011.

2. Глава 1 «Обзор литературы» слишком обширна, занимает почти треть всей диссертации, с выделением двух подразделов – 1.1.3 и 1.1.4, занимающих по объему менее страницы.

3. В диссертации мало цитирований литературных источников за последние 5 лет, всего чуть более 20% от всех ссылок.

### **Вопросы**

1. Диссертант предложил комплексировать тафтсин с кукурбит[7]урилом с целью защиты иммуноактивного пептида от биодegradации. Почему тогда не попробовали изменить путь введения комплекса тафтсина с кукурбит[7]урилом с парентерального на пероральный?

2. Как Вы можете объяснить, что комплекс тафтсина с кукурбит[7]урилом при добавлении *in vitro* в культуру мононуклеаров периферической крови стимулировал спонтанную продукцию всех исследуемых цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$ , ИЛ-2 и ИЛ-10), а в случае стимулированной выработки комплекс повышал уровень ФНО- $\alpha$  и ИЛ-2 и снижал выработку ИФН- $\gamma$  и ИЛ-10?

## Заключение

Диссертационная работа Е.А. Пашкиной «Иммуномодулирующие свойства комплекса тафтсина с кукурбит[7]урилом», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной научно-квалификационной работой. В работе содержится решение актуальной задачи – изучены иммуномодулирующие свойства комплекса тафтсина с кукурбит[7]урилом. Изучение влияния комплексообразования на биологические свойства препаратов позволят расширить представления о современных системах лекарственной доставки, используемых с целью защиты от биодegradации.

Таким образом, по актуальности темы, объему проведенных исследований, научной и практической значимости полученных результатов работа Е.А. Пашкиной полностью отвечает требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология.

Отзыв обсужден на заседании лаборатории иммунофармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга», протокол № 3 от «4» апреля 2016 г.

Заведующий отделом иммунофармакологии

НИИФирМ им. Е.Д. Гольдберга,

д.м.н., профессор

«Подпись Е.Ю. Шерстобоева заверяю»

Ученый секретарь НИИФирМ

им. Е.Д. Гольдберга, д.м.н., профессор РАН



Е.Ю. Шерстобоев

Г.Н. Зюзьков