

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Пашкиной Екатерины Александровны  
«Иммуномодулирующие свойства комплекса тафтсина с  
кукурбит[7]урилом», представленной на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – Клиническая  
иммунология, аллергология.

Разработка новых систем доставки лекарств представляет собой одну из наиболее актуальных проблем современной медицины. Действительно, многие классы соединений, обладающие потенциальной биологической активностью (напр., пептиды, нуклеиновые кислоты), обладают слишком низкой стабильностью в биологических средах для эффективной трансляции связанных с ними разработок в клиническую практику. Использование для лекарственной доставки в качестве наноконтейнеров образующих супрамолекулярные соединения кавитандов, в частности, кукурбит[7]урила, является перспективным направлением с целью защиты от биodeградации, а также модификации свойств уже готовых лекарственных форм, в том числе и иммуномодулирующих пептидов. Однако на сегодняшний день существует лишь малое число работ, в которых исследуется возможность комплексообразования лекарственных веществ с молекулами-контейнерами.

Работа Пашкиной Е.А. посвящена изучению свойств комплекса кукурбит[7]урила с иммуномодулирующим пептидом тафтсином в экспериментальных моделях *in vitro* и *in vivo*. Автору удалось получить ряд важных результатов, касающихся воздействия комплексообразования с кукурбит[7]урилом на иммуномодулирующие свойства тафтсина. В частности, было выявлено, что при коротком сроке культивации свободный тафтсин и комплексированный с кукурбит[7]урилом обладают схожим действием на фагоцитоз перитонеальных макрофагов, при увеличении же срока культивирования увеличивает фагоцитарную активность более существенно, чем свободный пептид. Также установлено, что комплекс



кукурбит[7]урила с тафтсином увеличивает количество антителообразующих клеток в селезенке у лабораторных животных, по сравнению со свободным пептидом.

Автором впервые получен комплекс тафтсина с кукурбит[7]урилом, определена константа комплексообразования. Впервые продемонстрировано, что комплексообразование с кукурбит[7]урилом не изменяет способность тафтсина повышать интенсивность реакции гиперчувствительности замедленного типа, а также стимулировать продукцию супероксидного радикала нейтрофилами и макрофагами, как *in vitro*, так и *in vivo*. Кроме того, впервые получены данные о влиянии комплекса на цитокинпродуцирующую способность МНК ПК, на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов. Автором впервые показано, что комплекс кукурбит[7]урила с тафтсином способен статистически значимо усиливать реакции гуморального иммунитета, повышая количество антителообразующих клеток в селезенке у лабораторных животных, по сравнению со свободным пептидом.

Некоторые замечания, возникшие при чтении автореферата:

Автором подробно исследована термодинамика ассоциации кукурбит[7]урила и тафтсина в комплекс. В то же время, в автореферате, несмотря на подробное описание методики эксперимента, не приводится описание математической модели, используемой для оценки константы ассоциации. На рис. 1 приведена аппроксимация экспериментальных данных сглаживающей, а не теоретической кривой, позволяющей выполнить требуемые оценки.

Для биологических экспериментов была выбрана концентрация тафтсина 1 мкг/мл (0.5 мкМ), что на 3 порядка ниже концентрации кукурбит[7]урила (0.5 мМ). По мнению рецензента, такое различие в концентрациях компонентов может затруднить регистрацию синергического эффекта комплекса кукурбит[7]урила с тафтсином на фоне эффекта избытка свободного кукурбит[7]урила (см. табл. 3-6).



В качестве пожеланий к работе в целом хотелось бы отметить следующее: известно, что некоторые компоненты культуральной среды, в первую очередь, белки сыворотки, способны взаимодействовать с наночастицами, изменяя их активность. Поэтому взаимодействие кукурбит[7]урилы и его комплекса с тафтсином с компонентами среды нуждается в дальнейшем изучении. Кроме того, стоит выяснить, не могут ли компоненты среды вытеснять тафтсин из комплекса. Детального изучения заслуживает и механизм взаимодействия комплекса с клетками, приводящего к описанному эффекту.

Высказанные замечания не влияют на высокую оценку работы. Результаты работы Е.А. Пашкиной представляет собой научно-практический интерес, предлагаемый подход по модификации пептида тафтсина посредством комплексования с кукурбит[7]урилом с целью защиты от биodeградации может быть использован для создания препарата для клинического применения. Также разработанный подход к созданию системы лекарственной доставки может быть использован и для других пептидов, содержащих положительно заряженные аминокислотные остатки.

Положения, выносимые на защиту, сформулированы четко, понятно, полностью обоснованы и доказаны. Результаты работы хорошо проиллюстрированы. Выводы написаны строгим, понятным языком, прочно базируются на полученных автором экспериментальных результатах и полностью ими обоснованы. О высокой квалификации соискателя свидетельствует успешное использование в работе широкого набора биологических и инструментальных методов, в том числе приемов работы с культурами клеток и лабораторными животными. Работа Е.А. Пашкиной «Иммуномодулирующие свойства комплекса тафтсина с кукурбит[7]урилом» производит впечатление хорошо продуманного и тщательно выполненного исследования. Отмечу высокий уровень диссертации, актуальность темы исследования и его практическую направленность.

Диссертационная работа 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.



11 апреля 2016 г.

Апарцин Евгений Константинович,  
канд. хим. наук, научный сотрудник Лаборатории химии РНК  
Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
630090, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 8.  
Тел. (383) 3635129, факс: (383) 3635153, e-mail: eka@niboch.nsc.ru

