



РОССИЙСКАЯ  
ВОЕННО-  
МЕДИЦИНСКАЯ  
АКАДЕМИЯ

КАФЕДРА  
ФАРМАКОЛОГИИ



Санкт-Петербург, 194044, ул. Лебедева, д. 6  
E-mail: shabanov@mail.rcom.ru

Тел./факс: (812) 542-43-97

## ОТЗЫВ

официального оппонента профессора П.Д. Шабанова на диссертацию БАЛАБАНЬЯНА Вадима Юрьевича на тему: «Фармакологические и фармацевтические аспекты создания наноразмерных форм факторов роста нервной ткани, феназепам и паклитаксела», представленную на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

### Актуальность проблемы

Проблема доставки лекарственных средств в головной мозг, как и в целом, прохождения через гистогематические барьеры, относится к важным до сих пор нерешенным проблемам фармакологической науки. Это связано с физико-химической сущностью лекарственных препаратов, которые представляют собой, как правило, либо слабые кислоты, либо слабые щелочи. Появление в последние четверть века на рынке фармацевтических средств лекарственных препаратов пептидной (белковой) структуры усугубило проблему, точнее ее разрешение. Крупные белковые или полипептидные молекулы (органопрепараты, лечебные антитела, полипептидные гормоны и их фрагменты, олигопептиды) не могут достигать органов-мишеней, не видоизменяясь, то есть не претерпев расщепления протеазами крови. Это усложняет и без того достаточно сложную проблему адресной доставки лекарственного вещества, поскольку мы точно не знаем, цельная молекула или какой-то ее фрагмент действует на орган-мишень или молекулярную структуру-мишень. В значительной степени это относится прежде всего к препаратам, применяемым в неврологии (прохождение через гематоэнцефалический барьер) и в онкологии (применение антительных препаратов). В первом случае органом-мишенью является головной мозг, точнее отдельные его структуры и клетки, во втором – опухоле-

вое образование, которое развивается по своим законам. Это диктует необходимость разработки новых способов и средств доставки лекарственных препаратов к органам-мишеням. Именно этому и посвящено исследование В.Ю.БАЛАБАНЬЯНА, которое по своей сути представляет фундаментальный труд, направленный на решение важнейших физиологических и практических медицинских задач. Такое сочетание – фундаментальность и практическая применимость – делает диссертационное исследование В.Ю.БАЛАБАНЬЯНА не только актуальным, но и практически значимым. Следует также подчеркнуть, что число подобных исследований, проводимых как в России, так и за рубежом, пока еще сравнительно мало из-за сложных методологических задач, тонких методических подходов, наличия дорогостоящих фармакологических агентов-анализаторов, высокоточной исследовательской техники и аппаратуры. Однако это не умаляет данную проблему, а указывает лишь на то, что не всякая лаборатория способна заниматься решением подобных задач. Настоящая работа выполнена в рамках научно-исследовательских программ, разрабатываемых в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, где традиционно уделяют много внимания изучению молекулярных механизмов различных физиологических и патологических состояний, а также способов их лекарственного лечения.

### **Оценка наиболее значимых результатов, полученных автором**

Целью исследования диссертанта было экспериментальное обоснование создания наноразмерных форм фактора роста нервов, низкосиалированного рекомбинантного эритропоэтина человека, феназепама и паклитаксела. На основании цели сформулированы конкретные задачи исследования (6). Для решения этих вопросов автор использовал большой набор современных биофармацевтических, нанотехнологических, фармакологических, биохимических, физиологических и биотехнологических методов исследования, применяемых в мировой практике. Постановка цели и задач работы конкретны и логичны. Примененные методы исследования, а также характер и количество полученного материала адекватны задачам диссертации. Значительный объем дан-

ных, их статистическая обработка и высокий уровень анализа позволяют считать результаты диссертационной работы достоверными, а положения и выводы – обоснованными.

В ходе исследований диссертант сделал ряд важных находок. В частности, разработана технология, позволяющая с помощью наночастиц на основе полибутилцианоакрилата (ПБЦА) и сополимера молочной и гликолевой кислот (ПЛГА) с модифицированной поверхностью создавать терапевтически значимые концентрации фактора роста нервов (ФРН) и низкосиалированного рекомбинантного эритропоэтина человека (нсРЭЧ) в головном мозге животных при системном введении. При этом доказано, что наносомальные формы ФРН и нсРЭЧ на основе ПБЦА и ПЛГА наночастиц способны проявлять выраженные протекторные свойства при экспериментальном моделировании нейродегенеративных процессов. Любопытно, что и низкомолекулярные препараты, примененные в форме наночастиц, меняют свои свойства. Так, включение феназепама в ПБЦА наночастицы с модифицированной полисорбатом-80 (ПС-80) поверхностью приводит к качественному и количественному изменению спектра его нейрорепрессивных эффектов. Наносомальная форма паклитаксела на основе ПЛГА наночастиц обладает выраженным цитостатическим и противоопухолевым эффектом в отношении клеточной линии Jurkat WT и аденокарциномы молочной железы Ca755 в эксперименте. Автор делает вывод, что ПБЦА и ПЛГА наночастицы с модифицированной поверхностью способны проникать через интактный гематоэнцефалический барьер в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Результаты исследований репрезентативны, корректно обработаны и не вызывают сомнений.

### **Обоснованность и достоверность результатов исследования**

Представленный большой объем экспериментальных данных (исследования выполнены с привлечением широкого ассортимента нанотехнологических, аналитических и биофармацевтических методов по созданию 4 наименований лекарственных препаратов в наноформах, а также проведением опытов на лабораторных животных, включая 260 беспородных мышей, 230 мышей ли-

нии C57/Bl6, 50 мышей линии Balb/C, 300 беспородных крыс и 40 крыс линии Sprague-Dowly), их корректная статистическая обработка, четкое представление в виде рисунков, таблиц и обстоятельного описания, а также достаточный анализ позволяет квалифицировать результаты диссертационной работы как достоверные, а основные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации как вполне обоснованные.

### **Научная новизна**

Диссертант описывает в работе оригинальные данные о принципах конструирования новых фармакологических средств, применяемых в нанотехнологически полученных лекарственных формах. Большинство из приведенных работ может быть квалифицировано как приоритетное. Так, автором впервые разработана технология получения наносомальной формы ФРН на основе ПБЦА наночастиц и установлено, что ФРН в составе наносомальной формы проникает в мозг и оказывает выраженное противопаркинсоническое и анти-амнестическое действие в эксперименте, тогда как субстанция ФРН подобными эффектами не обладает. Впервые разработана технология получения наносомальных форм нсРЭЧ на основе ПБЦА и ПЛГА наночастиц и установлена зависимость физико-химических характеристик наночастиц от параметров технологического процесса. Показано, что наносомальные формы обеспечивают проникновение нсРЭЧ в мозг. Впервые показано протекторное действие наносомальных форм нсРЭЧ на модели экспериментального геморрагического инсульта и выявлена способность нсРЭЧ увеличивать экспрессию мРНК нейротрофинов NGF и BDNF во фронтальной коре и гиппокампе крыс. Впервые разработана технология получения наносомальной формы феназепама на основе ПБЦА наночастиц. Показано, что наносомальная форма феназепама обладает выраженным анксиолитическим, антиагрессивным и противосудорожным действием, аналогичным действию феназепама в субстанции, однако, в отличие от феназепама в субстанции, в терапевтических дозах не обладает седативным и миорелаксирующим действием. Наконец, разработана технология получения наносомальной формы паклитаксела на основе ПЛГА

наночастиц. Впервые установлено, что наносомальная форма паклитаксела оказывает выраженный цитотоксический эффект *in vitro* в отношении высоко-резистентных клеток Т-лимфобластного лейкоза человека Jurkat WT и обладает высокой противоопухолевой активностью в эксперименте *in vivo* в отношении резистентной аденокарциномы молочной железы Ca755 мышей линии C57BL/6 в сравнении со стандартной лекарственной формой паклитаксела.

Рецензируемая работа может быть квалифицирована как доказательное обстоятельное исследование в области фундаментальной фармакологии, биотехнологии лекарственных средств и медико-биологической науки в целом.

### **Теоретическая и научно-практическая значимость**

Теоретическое значение диссертационной работы В.Ю.БАЛАБАНЬЯНА следует оценить как высокое, поскольку она изначально является фундаментальной по направленности. Кроме этого, работа ориентирована на практическую применимость результатов. В частности, выявленные протекторные свойства наносомальной формы нсРЭЧ открывают перспективу для дальнейших исследований по разработке и доклиническому изучению новой формы нсРЭЧ в качестве препарата для лечения заболеваний, сопровождающихся нейродегенерацией, в частности, инсультов и травм мозга. Далее. На примере наносомальной формы феназепама предложен и реализован подход, позволяющий с помощью ПБЦА наночастиц устранить нежелательные побочные эффекты при усилении и/или сохранении основных эффектов. Весьма интересно, что на основе разработанной наносомальной формы паклитаксела предложен и реализован подход, позволяющий с помощью ПЛГА наночастиц с модифицированной поверхностью преодолеть Р-gp-зависимую резистентность опухолевых клеток. Результаты изучения противоопухолевой активности наносомальной формы паклитаксела на основе ПЛГА наночастиц позволяют рекомендовать указанную форму для дальнейшего доклинического изучения. В нашей стране это направление активно развивается в Первом Московском государственном медицинском университете им. И.М. Сеченова МЗ РФ, Институте особо чистых биопрепаратов (Санкт-Петербург), ряде других научных уч-

реждений. Полученные данные следует рассматривать как новые, имеющие важное теоретическое и практическое значение для фармакологии, биотехнологии лекарственных средств и общемедицинской практики. Подтверждением этого положения является финансирование части выполненных исследований Федеральными целевыми программами РФ.

Результаты исследований В.Ю.БАЛАБАНЬЯНА могут быть полезны для научно-исследовательских работ, проводимых в Военно-медицинской академии им. С.М.Кирова МО РФ (Санкт-Петербург), Институте медико-биологических проблем РАН (Москва), Томском НИИ фармакологии, НИИИ военной медицины МО РФ (Москва, Санкт-Петербург), учреждениях Российской академии наук, Федерального агентства медицинских организаций, Федерального медико-биологического агентства, Министерства сельского хозяйства и ветеринарной медицины.

### **Структура и оформление работы**

Работа изложена на 248 страницах машинописи, иллюстрирована 77 рисунками и 30 таблицами. Построение диссертации традиционное и соответствует ГОСТу РФ. Диссертация включает введение (17 стр.), обзор литературы (39 стр.), главу материалов и методов исследования (44 стр.), 6 глав результатов исследований (95 стр.), обсуждение результатов (18 стр.), заключение (1 стр.), выводы (4 стр.), список использованной литературы (26 стр.). Литературный указатель содержит 245 ссылок (23 отечественных и 222 иностранных) на работы, опубликованные в основном за последние 10 лет. Диссертация написана хорошим литературным языком и легко читается.

### **Статистика**

Полученные данные корректно обработаны с применением современных методов статистики. Используемые статистические методы позволяют адекватно оценивать полученные результаты.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 50 работы, включая 28 статей в журналах, рекомендованных ВАК, 1 евразийский патент на изобретение и 21 публикацию в сборниках тезисов и научно-практических работ. Публикации в целом отражают основные результаты, полученные в диссертационной работе.

### **Автореферат**

Основные положения автореферата диссертации полностью соответствуют разделам и содержанию диссертационной работы.

### **Выводы**

Диссертация содержит 9 выводов. Все выводы обоснованы и логично вытекают из основного содержания диссертации. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключений соискателя следует признать высокой, что обеспечивается как количественной стороной изученного материала, так и качеством его обработки.

### **Вопросы и замечания**

Принципиальных замечаний и возражений по диссертационной работе нет. Вместе с тем, в ходе рецензирования диссертационной работы возникли следующие вопросы и некоторые спорные моменты, требующие дополнительного пояснения и уточнения:

1. Главный вопрос, который возникает от прочтения диссертации: наноформы – это формы доставки, или это особая форма лекарственного препарата, меняющая его свойства? В выводе 1 (стр. 40 автореферата) читаем: «фармакологическая активность наносомальных форм зависит от типа полимера, размера частиц и природы модифицирующего агента». Стало быть, меняя форму доставки, мы меняем препарат, при этом он по активности может быть выше или ниже, лучше или хуже. Вопрос принципиальный, требующий разъяснения позиции автора, поскольку в заключении (стр. 39 автореферата) автор делает вывод, что «создание наносомальных форм позволяет получить

качественно новые фармакологические эффекты для хорошо известных активных фармацевтических субстанций».

2. В продолжение первого вопроса. В главе 4 (стр.126-133) автор описывает фармакологические эффекты наносомальной формы фактора роста нервов. Данные, полученные автором, весьма любопытны. Прежде всего, это доказательство антипаркинсонического действия (модель МРТР у мышей) и антиамнестического действия по крайней мере у одного из обследованных соединений (ФРН с полисорбатом 80). Другие формы были либо неактивны, либо малоактивны (стр. 15-17 автореферата). Получается, что выявлено некое соединение на основе фактора роста нервов, которое обладает антипаркинсоническими свойствами, тогда как сам фактор роста нервов необязательно их проявляет. Все же: это новый препарат или лекформа?

3. В разделе собственных результатов (глава 6, стр. 154-167 диссертации, стр. 25 автореферата) описываются фармакологические эффекты наносомальной формы феназепама, это вошло и в вывод 5 (стр. 40 автореферата). Вопрос: с чем автор связывает отсутствие седативных и миорелаксирующих свойств у наноформы феназепама? Меняется ли его механизм действия в отношении блокады VZ-сайта ГАМК<sub>A</sub> рецепторов или же это новый лекарственный препарат, квалифицируемый как дневной транквилизатор? Просьба пояснить более подробно.

4. В главе 7 (стр. 168-174) описываются фармакологические эффекты паклитаксела в наносомальной форме, который автор квалифицирует как «подход, позволяющий с помощью ПЛГА наночастиц с модифицированной поверхностью преодолеть P-gp-зависимую резистентность опухолевых клеток» (стр. 39 автореферата). Вопрос: за счет чего можно преодолеть эту резистентность – за счет повышения биодоступности самого паклитаксела для клеток-мишеней, повышения киллерной активности лимфоцитов, общего цитотоксического действия или иного механизма? Ясно, что предлагаемая технология имеет безусловные перспективы, но нужно отчетливо понимать, к чему мы стремимся и, главное, какими способами достигаем результата.



5. Из замечаний следует отметить явную пересыщенность сокращениями, как по ходу диссертации, так и в автореферате, хотя это частично и понятно, поскольку сложные химические наименования, произносимые или написанные полностью, вряд ли бы облегчили чтение работы.

В целом, работа производит весьма благоприятное впечатление как по сути, так и по оформлению.

Все приведенные вопросы и замечания не затрагивают существа работы и сформулированы в плане дискуссии.

### **Заключение**

Диссертация БАЛАБАНЬЯНА Вадима Юрьевича на тему: «Фармакологические и фармацевтические аспекты создания наноразмерных форм факторов роста нервной ткани, феназепам и паклитаксела», представленная на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология, является законченной, самостоятельно выполненной квалификационной работой, в которой содержится решение крупной научной проблемы в области фундаментальной и клинической фармакологии, состоящей в разработке и изучении новых нанолечекарственных форм фармакологических средств, что имеет большое значение для фармакологии и медицины в целом. Научная новизна и практическая значимость результатов исследования позволяют утверждать, что данное исследование соответствует п.9 Положения ВАК Министерства образования РФ, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 о порядке присуждения ученых степеней на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук, а ее автор, БАЛАБАНЬЯН Вадим Юрьевич, по своей эрудиции, научному и практическому опыту достоин присуждения искомой степени.

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой фармакологии  
Военно-медицинской академии им. С.М.Кирова,  
Главный фармаколог Минобороны РФ,  
доктор медицинских наук профессор

П.Д.Шабанов

«13» сентября 2015 года

## Публикации, близкие по тематике диссертационного исследования

1. Букинич А.А., Шабанов П.Д. Функциональное значение димерных (гетеромерных) рецепторов в ЦНС позвоночных. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* - 2015. - Т. 13. - № 1. - С. 25-31.
  2. Шабанов П.Д., Бакунина Н.С., Лебедев А.А., Цикунов С.Г., Султанов В.С. Оценка нейропротекторных эффектов полипренолов в модели витального психогенного стресса. *Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях.* - 2014. - № 3. - С. 63-69.
  3. Shabanov P.D., Lebedev A.A. Involvement of gaba- and dopaminergic mechanisms of the bed nucleus of the stria terminalis in the reinforcing effects of psychotropic substances mediated via the lateral hypothalamus. *Neuroscience and Behavioral Physiology.* - 2013. - Т. 43. - № 4. - С. 1-7.
  4. Дробленков А.В., Наумов Н.В., Монид М.В., Сосин В.В., Пеньков Д.С., Прошин С.Н., Шабанов П.Д. Реакция клеточных элементов головного мозга крыс на циркуляторную гипоксию. *Медицинский академический журнал.* - 2013. - Т. 13. - № 4. - С. 19-28.
  5. Шабанов П.Д., Вислобоков А.И. Нейропротекторное действие кортексина и кортагена. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* - 2013. - Т. 11. - № 2. - С. 17-25.
  6. Бакунина Н.С., Глушаков Р.И., Тапильская Н.И., Шабанов П.Д. Фармакология полипренолов как адаптогенов, снижающих интенсивность процессов гликирования. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* - 2013. - Т. 11. - № 4. - С. 44-53
  7. Бакунина Н.С., Лебедев А.А., Цикунов С.Г., Султанов В.С., Шабанов П.Д. Анализ нейропротекторных эффектов полипренолов в модели посттравматического стрессового расстройства у крыс. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* - 2014. - Т. 12. - № 2. - С. 65-70.
- Сосин Д.В., Евсеев А.В., Правдивцев В.А., Шабанов П.Д. Нейрофизиологический анализ биоэлектрической активности коры мозга при острой гиперкапнической гипоксии в эксперименте. *Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях.* - 2014. - № 1. - С. 64-69.