

ОТЗЫВ

официального оппонента

доктора фармацевтических наук Калениковой Елена Игоревна

на диссертацию Балабаньяна Вадима Юрьевича

«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 темы

Среди факторов, снижающих эффективность лекарственной терапии, следует отметить недостаточную селективность действия лекарств: при введении лекарственного вещества в организм происходит его неконтролируемое распределение по органам и тканям, при этом концентрации в очаге патологии зачастую не достигают терапевтического уровня. Наименее доступными для фармакотерапии являются органы и ткани, имеющие гистогематические барьеры. Так, наличие гематоэнцефалического барьера препятствует поступлению в мозг потенциально эффективных лекарственных веществ в терапевтически значимых концентрациях. Разработка безопасных и неинвазивных методов доставки лекарственных веществ в мозг представляет собой серьезную проблему, для решения которой нужны новые стратегии.

Другой важной проблемой остается преодоление фармакорезистентности опухолевых клеток. Система активного выведения противоопухолевых препаратов из клеток, представленная Р-гликопротеином и белком множественной лекарственной устойчивости, препятствует проникновению многих цитостатиков в клетки злокачественных новообразований. С целью преодоления этого барьера увеличивают дозы лекарственных препаратов, что в значительной степени приводит к усугублению побочных эффектов со стороны различных органов и систем. Актуальность этой проблемы послужила стимулом для разработки подходов к преодолению множественной лекарственной устойчивостью посредством создания наносомальных форм цитостатиков, позволяющих доставить лекарственное вещество в резистентные опухолевые клетки.

Особый интерес среди различных систем доставки лекарственных веществ представляют полимерные наночастицы на основе полибутилцианоакрилата и сополимеров молочной и гликолевой кислоты. Использование исключительно фармацевтических ингредиентов, мягкие условия получения, позволяющие сохранять структуру биологически активных веществ, емкость, стабильность и возможность стерилизации определяют технологичность лекарственных форм на основе полибутилцианоакрилатных и полилактидных наночастиц. Создание наносомальных форм препаратов различного химического строения приводит к существенной оптимизации их фармакокинетики и фармакодинамики, а также позволяет солюбилизовать препараты с недостаточной растворимостью и пролонгировать действие препаратов с быстрой инактивацией.

Учитывая вышеизложенное, выполненное Балабаньяном Вадимом Юрьевичем исследование «Фармакологические и фармацевтические аспекты создания наноразмерных форм факторов роста нервной ткани, феназепама и паклитаксела» является актуальным и своевременным.

Научная новизна

Автором создана технология, позволяющая обеспечить доставку в мозг терапевтически значимых концентраций высокомолекулярных белково-пептидных факторов роста нервной ткани – фактора роста нервов и низкосиалированного рекомбинантного эритропоэтина человека. Способность полимерных наночастиц преодолевать гематоэнцефалический барьер подтверждена фармакологическими, биохимическими, молекулярно-генетическими и иммуноферментными методами исследования. Выявлены физико-химические и технологические закономерности, позволяющие конструировать наносомальные формы факторов роста нервной ткани с максимальной загрузкой активной фармацевтической субстанцией.

На примере разработанной наносомальной формы феназепама на основе полибутилцианоакрилатных наночастиц предложен подход, позволяющий существенно снизить побочные эффекты (седативный и миорелаксирующий) при

сохранности основных (анксиолитического, антиагрессивного и противосудорожного).

Создание наносомальной формы паклитаксела на основе сополимеров молочной и гликолевой кислот позволило солюбилизовать труднорастворимый паклитаксел и существенно улучшить его биофармацевтические характеристики. Кроме того, отсутствие в составе наносомальной формы высокотоксичного солюбилизатора – кремофора привело к существенному снижению токсичности. Модификация поверхности наночастиц с паклитакселом полисорбатом 80 и полксамером 188 позволила обеспечить его транспорт в высокорезистентные опухолевые клетки в исследованиях *in vitro* и *in vivo*.

Научно-практическая значимость

Полученные в работе Балабаньяна В.Ю. результаты имеют как теоретическое, так и практическое значение. Предложенная технология преодоления гематоэнцефалического барьера открывает новые возможности в лечении нейродегенеративных заболеваний, в частности, инсультов и травм мозга. Способность полимерных наночастиц обеспечивать внутриклеточный транспорт связанных с ними цитостатиков предполагает возможность применения этой технологии для химиотерапии резистентных форм злокачественных новообразований. Кроме того, создание наносомальных форм позволяет значительно повысить содержание в водной фазе нерастворимых в воде активных фармацевтических субстанций.

Результаты диссертации внедрены на федеральном уровне в рамках реализации федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу», а также на региональном уровне.

Степень обоснованности и достоверности выводов и основных положений диссертации

Учитывая достаточный объем хорошо спланированных исследований с использованием известных экспериментальных моделей и тестов, детальный и поэтапный анализ полученных результатов, можно утверждать, что выводы, положения и рекомендации экспериментально обоснованы. Статистическая обработка полученных результатов проведена с помощью адекватных статистических методов, общепринятых в медико-биологических исследованиях, в связи с чем достоверность полученных результатов и сделанных на этом основании выводов не вызывает сомнений.

Объем, структура и содержание работы

Диссертация изложена по на 248 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 6-ти глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, иллюстрирована 77 рисунками и документирована 30 таблицами. Список литературы включает 245 источников, из которых 222 зарубежных.

Во введении диссертации автором четко сформулированы актуальность, цель и задачи исследования, научная и практическая значимость.

В обзоре литературы приведены современные представления о строении гематоэнцефалического барьера и существующих на сегодняшний день способах его преодоления, приведены технологические сведения о способах получения различных типов наночастиц, изложены основные направления применения наночастиц как систем доставки лекарственных веществ. На основании обобщения литературных данных автор аргументирует проведение собственных исследований.

Глава 2 («Материалы и методы исследования») содержит описание методов и методик, соответствующих поставленным задачам. Подробно описаны фармакологические, биохимические, молекулярно-генетические, гистологические и фармацевтические методы исследования.

В главе 3 представлены результаты разработки наносомальных форм фактора роста нервов, низкосиалированного рекомбинантного эритропоэтина человека, феназепама и паклитаксела. Выявлены параметры технологического процесса, влияющие на свойства наночастиц с загруженными лекарственными веществами. Представлены данные по стандартизации полученных наночастиц.

В главах 4-7 («Результаты собственных исследований») представлены результаты фармакологического изучения наносомальных форм низкосиалированного рекомбинантного эритропоэтина человека, фактора роста нервов, феназепама и паклитаксела. Следует отметить, что с целью получения доказательных представлений об активности полученных наносомальных форм автор использует совокупность методов исследования, включая иммуноферментные, гистохимические, биохимические, фармакологические.

В главе 8 представлены результаты изучения проникновения наночастиц через интактный гематоэнцефалический барьер в экспериментах *in vitro* и *in vivo* с использованием флюориметрического анализа и сканирующей лазерной конфокальной микроскопии.

При обсуждении полученных результатов автор сопоставляет литературные данные с результатами собственных исследований и выдвигает аргументированные научные положения, демонстрируя высокий уровень анализа и обобщения материала. Работа завершается 9 выводами и 4 практическими рекомендациями, которые отражают основные результаты проведенного исследования и полностью согласуются с количественными данными, представленными в таблицах и рисунках диссертации. Выводы полностью соответствуют поставленным цели и задачам исследования.

Автореферат, оформленный в соответствии с современными требованиями, включает все основные положения и доказательства правомочности выводов диссертации. Наиболее значимые результаты исследования отражены в 3 таблицах и 36 рисунках автореферата.

По материалам диссертации опубликовано 50 работ, 28 из которых – в журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве образования и науки РФ.

Новизна проведенного исследования подтверждается полученным евразийским патентом на изобретение.

Критические замечания и вопросы по диссертации

Принципиальных возражений диссертация не вызывает, однако в ней, как и во всякой работе, встречаются опечатки, неточности, неудачные стилистические обороты. В процессе чтения работы возникли следующие вопросы:

1. В заключительном разделе работы представлены данные по изучению проникновения наночастиц через гематоэнцефалический барьер. Вместе с тем, логичнее первоначально оценивать способность наночастиц проникать через гематоэнцефалический барьер, а затем изучать фармакологические эффекты разработанных наносомальных форм. Поясните логику ваших экспериментов.
2. При оценке объема повреждений мозга Вами использовался коэффициент эффективности защиты, при расчете которого не учитывается объем мозга конкретного животного. Поясните почему?
3. Оценивалось ли Вами накопление наночастиц в мозге при экспериментальном инсульте? По Вашему мнению, не приведет ли повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера, вызванное инсультом, к повышению неспецифической токсичности?
4. Как Вы можете объяснить наблюдаемое расслоение фармакологических эффектов стандартной и наносомальной форм феназепам?
5. При проведении флюориметрических исследований Вы оценивали содержание меченых наночастиц в мозге экспериментальных животных. Как Вы дифференцировали локализацию накопления наночастиц в тканях мозга от накопления в сосудистой эндотелии?

Следует отметить, что в целом диссертация оценивается положительно.

Заключение

Диссертация В.Ю. Балабаньяна «Фармакологические и фармацевтические аспекты создания наноразмерных форм факторов роста нервной ткани,

феназепам и паклитаксела» является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, имеющее важное значение для фармакологии – изыскание новых эффективных и безопасных средств для медикаментозной коррекции патологий центральной нервной системы и злокачественных новообразований.

По актуальности выбранной темы, объему выполненных автором исследований, новизне полученных данных и их научно-практической значимости диссертация В.Ю. Балабаньяна соответствует критериям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент:

Заведующая кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации и экономики фармации факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»
доктор фармацевтических наук

Е.И. Каленикова

«16» сентября 2015 г.

119192, Москва, Ломоносовский
проспект, д. 31, корп.5
Тел.: (495) 932-99-11 E-mail: eikaleni@fbm.msu.ru

Подпись д.ф.н. Е.И. Калениковой подтверждаю

Декан факультета фундаментальной медицины
ФГБОУ ВО «Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова»
академик РАН, д.б.н., профессор

В.А. Ткачук

