

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента доктора биологических наук, профессора  
Ефременко Елены Николаевны на диссертационную работу  
Островского Константина Петровича «Разработка водосовместимых  
форм антибиотиков рифамицинового ряда и исследование их  
биологических свойств», представленной на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук по специальностям  
03.01.06 –Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и  
14.03.07 – химиотерапия и антибиотики**

**Актуальность темы диссертации.** Диссертационная работа Островского К.П. направлена на разработку методов получения водосовместимых форм антибиотиков рифамицинового ряда (рифапентина и рифаксимины), имеющих большое практическое значение в лечении заболеваний туберкулезом, предназначенных для внутривенного введения и обладающих сниженной кардиотоксической и гастроинтестинальной токсичностью по сравнению с традиционно применяемой пероральной формой антибиотиков. Проведение таких разработок имеет высокую актуальность, ввиду того, что туберкулез, несмотря на длительный исторический период борьбы с этим заболеванием, продолжает быть одним из опаснейших и распространенных инфекционных заболеваний в современном мире, а существующие бактерицидные препараты против туберкулеза характеризуются низкой водорастворимостью и высокой токсичностью. Разработка новых антибактериальных препаратов против туберкулеза сегодня ориентирована на создание таких форм антибиотиков, которые могут длительно пребывать в организме человека и при этом токсический эффект от их применения может быть значительно снижен. На решение именно этих актуальных научных вопросов направлена данная диссертационная работа.

**Новизна проведенных исследований и полученных результатов** заключается в том, что Островским К.П. разработаны водосовместимые коллоидные формы малорастворимых в воде антибиотиков рифапентина и рифаксимины, которые обладают в сравнении с применяемыми на практике лекарственными препаратами более высокой противомикробной активностью в отношении клеток *M. tuberculosis*, вызывающих развитие туберкулеза. Впервые автором этой диссертационной работы были исследованы закономерности самого

процесса получения водосовместимых форм указанных антибиотиков, растворимость которых им регулировалась за счет получения комплексов к различными белками. При этом белки выполнили роль не только «улучшителей» растворимости антибиотиков (солюбилизаторов), но и их по сути «носителей» в организме животных. При этом эффективность противомикробного действия этих антибиотиков не утрачивалась ими в таком белковом комплексе. Автором работы впервые было установлено, что подобные водосовместимые формы рифапентина обладают сниженной токсичностью, что является привлекательным фактором для их практического применения для внутривенного введения.

**Научно-практическая значимость полученных результатов** состоит в том, что разработанная Островским К.П. внутривенная форма рифапентина обладает повышенной операционной и функциональной стабильностью, более стабильна при хранении. Её применение на практике может обеспечить возможность использования альтернативного пути введения антибиотиков пациентам в случае невозможности применения для них перорального приема традиционных противотуберкулезных препаратов из-за их высокой гастроинтестинальной токсичности, формирующейся вследствие длительного пребывания антибиотиков в желудочно-кишечном тракте. Продемонстрированные автором подходы к решению вопроса получения более биодоступных, стабильных, эффективных и мене токсичных форм антимикробных препаратов могут быть использованы при решении аналогичных задач с другими антибиотиками в научно-практической деятельности другими исследователями.

**Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов, рекомендаций и заключений.** Научные положения и практические рекомендации, сформулированные автором в диссертации, основаны на изучении достаточного большого объема представленного им экспериментального материала. Данная работа выглядит большой по числу примененных автором различных методов исследования (хроматографических и спектральных методов, электрофоретических, лазерной дифракции, методов гематологического исследования крови, биохимических методов исследования сыворотки крови и мочи, электрокардиографии, патоморфологических методов исследования внутренних органов и тканей животных) и объемной по числу проведенных



экспериментов с большим массивом статистически обработанных данных. Научные положения, выводы, рекомендации и заключения, представленные в диссертации, сформулированы автором на основе полученных им результатов. Выводы достаточно аргументированы и вытекают из проведенных автором исследований.

**Объем и структура диссертации.** Анализируя структуру диссертационной работы Островского К.П. можно отметить, что она написана по традиционному плану, когда текст включает отдельно представленный литературный обзор по теме проводимого исследования (с 11 по 35 страницу текста), раздел, в котором представлены объекты и методы исследования, применявшиеся в работе (с 36 по 59 страницу), и большой раздел (с 60 по 131 страницу) с собственными результатами и их обсуждением. Диссертационная работа изложена на 162 страницах машинописного текста, включает 24 рисунка и 53 таблицы, и помимо этого еще в конце диссертации автором представлены (в составе Приложения А) 63 фотографии образцов, которые были проанализированы автором в рамках проведения патоморфологических исследований внутренних органов животных до и после проведения курса лечения разработанной инъекционной формы рифапентина. Текст диссертации также содержит заключение (стр.132), выводы по работе (стр. 133) и список использованных библиографических источников, включающий 184 наименования отечественных и зарубежных работ, из которых 73 публикаций (40% от общего числа) относятся к числу опубликованных за последние 10 лет. Последний факт свидетельствует в пользу того, что автор работы хорошо осведомлен о современном состоянии исследований в той области науки, в которой была выполнена эта работа.

Анализируя работу в целом, необходимо отметить, что она написана последовательно, логично, обстоятельно и хорошо оформлена. В написании текста чувствуется безусловное участие её автора. Представленные в работе рисунки, таблицы и фотографии наглядно иллюстрируют полученные автором результаты. Каждый раздел исследовательской части диссертационной работы завершается подведением основных выводов по представленным научным результатам, что позволяет проследить логику изложения этой весьма объемной и разносторонней работы. Отдельно необходимо отметить, что проведенный в

диссертационной работе большой объем разнообразных исследований, позволил автору получить результаты, которые подтверждены статистическими данными, не вызывающими никаких сомнений и составляющих основу сделанных автором выводов.

Автореферат диссертации полностью соответствует содержанию представленной диссертационной работы.

Из наиболее значимых результатов, полученных автором в диссертационной работе, мне хочется выделить разработку им методики, согласно которой ему удалось довести концентрацию рифапентина в получаемом препарате антибиотика, солюбилизированном в сывороточном альбумине, до 10 г/л, и превысить, таким образом, концентрацию биодоступного антибиотика в 6 раз! При этом для рифаксимины, гораздо менее растворимого в воде вещества, чем рифапентин, удалось поднять его растворимость аналогичным методом в 600 раз! Сожалею в связи с этим, что автор не привел свой результирующий рис. 16 из диссертации в автореферате, наглядно демонстрирующий его достижения в этой работе. При этом автором с применением методов ВЭЖХ показана высокая стабильность рифапентина в получаемых водосовместимых препаратах антибиотика, стабилизированного альбумином, равно как и подтверждена методом нативного электрофореза стабильность белкового солюбилизатора в этом препарате. При этом автором с использованием флуориметрических методов исследования был продемонстрирован очевидный факт высокой стабильности образующегося комплекса между антибиотиком и альбумином. Кроме того, автор провел большой пул экспериментов с животными и доказал действенность разработанного им препарата рифапентина против бактерий, вызывающих развитие туберкулеза, продемонстрировав в длительных токсикологических исследованиях, что при сохранении высокой токсичности данного вещества, именно растворимая форма антибиотика позволила снизить значительно кардиотоксичность и полностью уйти от гастроинтестинальной токсичности, поскольку препарат вводился в кровоток, минуя желудочно-кишечный тракт.

Что касается содержания самой диссертации, то **в качестве замечаний следует отметить, что:**



1. Автор называет технологиями разработанные им методики, что не совсем верно, поскольку технологические разработки предполагают в конечном итоге наличие описания всей технологии с указанием всех режимов проводимых процессов, технологических и аппаратурных схем, материальных балансов этих процессов, указанием отходов и их характеристик, и т.д. Этого нет ничего в этой диссертации, однако она представлена по биологическим наукам, и не требует представления технологий. В этой связи автору следует корректнее относиться к терминам, которые он применяет в отношении разработанных им методик;

2. В обзоре литературы материал п.1.4 (стр.23-35- диссертации) следовало бы систематизировать и структурировать в виде таблицы, отразив в ней известные приёмы, применявшиеся ранее для улучшения характеристик антибиотических препаратов (растворимость, биодоступность, длительность циркуляции в кровотоке, снижение токсичности и т.д);

3. Автор активно использует термин наночастицы, поскольку в биомедицинских нанотехнологиях наночастицами зачастую условно называют в том числе и объекты с диаметром до нескольких сотен нанометров. Однако в биотехнологии есть четкое определение того, что наночастицами называются только те, что имеют размер в любом одном измерении, не превышающий 100 нм. Считаю в этой связи, что говорить в диссертации о получаемых автором частицах от 300 до 700 нм как о наноразмерных, не корректно.

4. Для нескольких ссылок, приведенных автором диссертации в виде электронных источников информации, отсутствует дата обращения к ним (не ясно – существуют они до сих пор или закрыты) или не указан год в печатных вариантах ссылок (№67,99,144, 145,164). При этом поражает в диссертации наличие ссылок за 1879 год, 1900, 1946, 1954 (ссылки №9-16), поскольку вызывает сомнение, что автор реально работал с этими первоисточниками, а не пользовался каким-то обзором, из которого взяты эти ссылки. В этом случае надо было ссылаться именно на этот обзор в силу его общедоступности.

**Общая характеристика диссертационной работы.** В целом указанные замечания не умаляют новизны и научно-практической значимости выполненной диссертантом работы. Результаты диссертационной работы, выносимые на защиту, прошли апробацию на 5 научных форумах, в том числе на международном уровне,

что отражено в автореферате диссертации на стр.4. Работа автора, представленная по результатам диссертационной работы на XXI-ой Конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» в 2014 году была отмечена дипломом за «лучший доклад». Считаю, что правильнее было бы автору диссертации не скромничать, а привести полные ссылки в конце автореферата на представленные им свои доклады на указанных научных мероприятиях. Кроме того, автором опубликованы 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК соискателям ученых степеней для их публикаций.

Текст автореферата и печатные работы Островского К.П. отражают содержание диссертации.

Представленная к защите работа по обоснованности суждений, достоверности выводов, теоретической и практической значимости соответствует основным требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

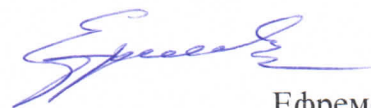
Выводы, сделанные в диссертации, следуют из изложенных автором результатов, и соответствуют задачам, исходно поставленным в этой работе. Научная новизна и практическая ценность работы не вызывают сомнений, а сама работа в целом выглядит как завершённое научное исследование, включающее разработку методики получения новых антибиотических препаратов со значительно улучшенными характеристиками по отношению к существующим и перорально применяемым на практике лекарственным средствам, определены свойства новых препаратов, включая проведение глубокого анализа результатов их применения по отношению к клеткам, вызывающим формирование такого заболевания как туберкулез, и к животным, на которых апробируется новый препарат с анализом различных типов токсичности, проявляемой основным веществом, и реакции всех внутренних органов подопытных животных.

В целом оппонируемая диссертационная работа Островского К.П. соответствует паспортам специальностей 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) в части п. 3 «...создание эффективных композиций биопрепаратов и разработка способов их применения» и 14.03.07 – Химиотерапия и антибиотики в части п.п. 6, 7 «создание прогрессивных лекарственных форм химиотерапевтических средств», «изучение токсикологических свойств химиотерапевтических препаратов в эксперименте». Работа представляет собой законченный научно-квалификационный труд, в котором представлено новое



решение актуальной научной задачи по созданию водорастворимых и стабилизированных форм антибиотиков, применение которых направлено на повышение эффективности их действия, снижение токсичности и предоставление новых возможностей, с точки зрения способов их применения, в частности, замены перорального режима приема на инъекционный, позволяющий полностью элиминировать контакт антибиотика с желудочно-кишечным трактом. Исходя из сказанного выше, считаю, что диссертационная работа Островского К.П. по актуальности темы, объему выполненной работы, новизне полученных данных, важности разработанных теоретических положений, надежности полученных результатов и обоснованности сделанных выводов и публикаций по полученным результатам полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции от 01.10.2018). Автор диссертации Островского К.П. заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и и 14.03.07 – химиотерапия и антибиотики.

Заведующая лабораторией экобиокатализа  
кафедры химической энзимологии Химического  
факультета ФГБОУ ВО «Московский  
государственный университет имени М.В.  
Ломоносова», доктор биологических наук,  
профессор



Ефременко  
Елена Николаевна

И.о. декана Химического факультета МГУ имени  
М.В. Ломоносова,  
член-корреспондент РАН, профессор



Калмыков  
Степан Николаевич

E-mail: [elena\\_efremenko@list.ru](mailto:elena_efremenko@list.ru)  
119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1,  
строение 3  
тел. +7-495-939-31-70  
г. Москва, «21» марта 2018 г.