

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу
Супрунчук Виктории Евгеньевны
«Нанобиокомпозит на основе фукоидана как система таргетной доставки
тромболитического агента», представленную на соискание ученой степени
кандидата химических наук по специальности 03.01.06 Биотехнология (в том числе
бионанотехнологии)

Актуальность темы диссертации. Современная антитромботическая терапия требует создания эффективных антикоагулянтных и тромболитических препаратов с высокой селективностью действия. Самым распространенным подходом в тромболитической терапии является использование в качестве тромболитического агента тканевого активатора пламиногена (ТАП). Однако для своевременного восстановления кровотока требуются высокие терапевтической дозы, так как в кровяном русле ТАП подвержен инактивации. Поэтому проблема локального повышения концентрации ТАП, в том числе посредством систем доставки, с очаговой активацией тромболитической активности непосредственно в месте фибринового сгустка является актуальной. Применение фукоидана при разработке подобных систем дает возможность получать уникальный биоактивный материал, поскольку сам биополимер обладает рядом биологически важных качеств. Для расширения возможностей применения фукоидана необходим поиск способа получения его низкомолекулярных фракций с сохранением важнейших биологических свойств. Одним из таких методов является ультразвуковая обработка, активно применяемая для деградации полисахаридов, но малоизученная для фукоидана. Поэтому актуальность исследования не вызывает сомнений.

Научная новизна работы. В ходе диссертационного исследования Супрунчук В.Е. показала возможность использования фукоидана, функционализированного магнетитом, как самостоятельного носителя для направленной доставки тромболитического агента. Автором разработана схема получения нанобиокомпозита с иммобилизованным тромболитическим ферментом с пролонгированным действием.

Теоретическая и практическая ценность результатов работы Супрунчук В.Е. не вызывает сомнений. Проведенные исследования и полученные результаты позволяют утверждать, что полученные нанобиокомпозитные материалы могут быть использованы для направленной доставки ТАП.

Объём и структура диссертации. Представленная для рассмотрения диссертационная работа Супрунчук В.Е. изложена на 142 страницах машинописного текста и включает 33 рисунка, 7 таблиц, 2 схемы, 3 формулы. Список литературы включает 305 источников.

Первая глава представлена литературным обзором, в котором проанализированы основные направления применения фукоидана для разработки систем доставки, рассмотрены их основные типы, а также структурные и биологические особенности самого полисахарида. Подробно рассмотрена проблема разработки и применения систем доставки тканевого активатора плазминогена. Кроме того, отдельно проведена сравнительная характеристика существующих адресных систем доставки ТАП.

Во второй главе диссертационного исследования приведены основные методики получения материалов, используемых в работе.

В третьей главе представлены результаты исследований и их обсуждение. Автор описывает оптимизацию процесса УЗ-обработки фукоидана с целью подбора условий для получения полимерных носителей с определенными свойствами. Рассмотрено влияние процесса на биологическую активность полисахарида, его размерность и структуру. Автором описаны подходы для создания композитного носителя, обладающего магнитными свойствами, с использованием наночастиц магнетита. В заключительной части диссертационного исследования рассмотрено применение полученных нанобиокомпозитов с целью иммобилизации тканевого активатора плазминогена. Изучено высвобождение фермента из полимерных композитов, проанализирована эффективность включения в зависимости от метода получения образцов, исследованы амидолитическая и фибринолитическая активности препарата, изучена цитотоксичность нанокомпозитов в моделях *in vitro*.

В заключении содержатся выводы, которые резюмируют проделанную работу, как с научной, так и с практической точки зрения.

По материалам диссертации опубликовано 8 работ в журналах, рекомендованных к изданию ВАК, в том числе 3 публикации в журналах, индексируемых международной системой Scopus и Web of Science, имеется 1 патент.

Автореферат диссертационного исследования Супрунчук В.Е. оформлен в соответствии с требованиями ВАК Минобрнауки РФ, в полной мере отражает содержание работы с указанием перечня опубликованных работ соискателя.

Замечания и предложения по диссертационной работе

1. Автор не корректно использует термин "таргетная (адресная) доставка, интерпретируя активный таргетинг за счет намагниченности системы под действием внешнего магнитного поля. Активный направленный транспорт осуществляется за счет связывания с ткане-/клеточно-специфическими маркерами, ведущего к локализованному накоплению наноносителей. Включение магнитных наночастиц способствует направленному транспорту средств доставки лекарственного компонента, но не адресную доставку.
2. Термин "ультраструктура" применяют для обозначения наноструктуры биологических объектов, и может применяться по отношению к клеткам, тканям, органам и другим биологическим структурам. Для характеристики полимерных систем данный термин применять не корректно.
3. В разделе "Экспериментальная часть" отсутствует часть "Материалы".
4. Методики описаны не достаточно подробно, что не дает возможности воспроизведения эксперимента без привлечения дополнительных источников. Так, важный пункт очищение выделенного фукоидана не описан. Не приведена методика определения концентрации полисахарида с применением метиленового синего.
5. Для определения содержания тромболитического фермента автор использует бычий сывороточный альбумин для построения калибровочной прямой. Почему не использовали сам фермент для калибровки?
6. Концентрации ТАП приведены в диссертации в разных размерностях (ед/мг и мг/мл), что затрудняет восприятие материала.
7. При определении амидолитической активности ТАП, раствором сравнения выступал физиологический раствор, в то время как реакция протекала в Трис-НСI буфере.
8. Масса фукоидана после ультразвуковой обработки без осуществления фильтрации выражается в %. (с. 55) Абсолютно не понятно относительно чего выражаются проценты.

9. Автор описывает значительное уменьшение размера молекул фукоидана, начиная с первой минуты УЗ воздействия, подтвержденное методом лазерной корреляционной спектроскопии. При этом в работе не приведены какие-либо данные, подкрепляющие это утверждение. (с. 58)
10. Подпись к рисунку 12 не достаточно отражает представленные графики.
11. На стр. 61 пропущена формула.
12. Рисунок 13 не достаточного качества.
13. Данные рисунок 13а и 13б (зависимость размера частиц от времени воздействия) не соответствуют данным по размеру частиц после 40 мин УЗ обработки, представленным в диссертации. (с. 64)
14. Автор описывает ингибирующее действие фукоидана на процесс образования гидроксильных радикалов и супероксидных радикалов. (с. 68) При этом, рассматривая механизмы деполимеризации полимера, данный факт нигде не учитывается, что является очень важным аспектом, особенно при развитии теории радикального механизма деполимеризации.
15. При описании механизма доставки наночастиц к месту воздействия остается не понятным как будет осуществлено приложении внешнего магнитного поля к области тромба.

Сделанные замечания, безусловно, не затрагивают существа данной работы, представляющей собой законченное научное исследование.

Диссертация Супрунчук Виктории Евгеньевны на тему: «Нанобиокомпозит на основе фукоидана как система таргетной доставки тромболитического агента» представляет собой законченную научно-исследовательскую работу, выполненную на актуальную тему.

Представленная диссертационная работа «Нанобиокомпозит на основе фукоидана как система таргетной доставки тромболитического агента» по содержанию и результатам выполненных исследований соответствует паспорту специальности 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) по пункту 3 (создание эффективных композиций биопрепаратов и разработка способов их применения). По новизне и актуальности полученных результатов, научной и практической значимости диссертация соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением правительства

РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. предъявляемым ВАК Минобрнауки РФ к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата химических наук, а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

27 ноября 2020 г.

Официальный оппонент,
Старший научный сотрудник
Лаборатории биоорганических структур
ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН
кандидат химических наук

Т.Н. Бородина

Бородина Татьяна Николаевна
Федеральный научно-исследовательский центр «Кристаллография и фотоника»
Российской академии наук
119333, г. Москва, Ленинский проспект, д. 59,
Тел. +7 (499) 135-40-20,
e-mail: borodina@crys.ras.ru

Я, Бородина Татьяна Николаевна, даю согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку.

Подпись Бородиной Т.Н. заверяю:

Ученый секретарь
ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН
Кандидат физико-математических наук



Л.А. Дадинова