

**Заключение диссертационного совета 24.1.172.01, созданного на базе  
Федерального государственного бюджетного научного учреждения  
«Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени  
В.Н. Ореховича», по диссертации на соискание ученой степени  
кандидата наук**

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 11 ноября 2021 г. № 8

О присуждении Кострюковой Любови Викторовне, гражданке РФ, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Фосфолипидная наносистема направленного транспорта фотосенсибилизатора хлорина Е6 к опухолевым клеткам» по специальности 1.5.4. - биохимия» принята к защите 22 июля 2021 г., протокол № 6, диссертационным советом Д 001.010.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения (ФГБНУ) «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», 119121, Россия, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8, созданного Приказом Минобрнауки России № 105/нк от 11.04.2012 г. с внесением изменений Приказом Минобрнауки России № 791/нк от 09.12.2020 г. и Приказом Минобрнауки России № 561/нк от 03 июня 2021 г.

Соискатель Кострюкова Любовь Викторовна, 1987 года рождения.

В 2010 году соискатель окончила Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования (ФГОУ ВПО) «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» (РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева)». Работает научным сотрудником в лаборатории фосфолипидных нанолекарств и транспортных систем Федерального государственного бюджетного научного учреждения (ФГБНУ) «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича».

Диссертация выполнена в лаборатории фосфолипидных нанолекарств и транспортных систем ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича».

Научный руководитель – доктор биологических наук Торховская Татьяна Ивановна, ведущий научный сотрудник лаборатории фосфолипидных нанолекарств и транспортных систем ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича».

Официальные оппоненты:

Посыпанова Галина Ароновна, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение (ФГБУ) «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной биологии и молекулярной медицины;

Покровский Вадим Сергеевич, доктор медицинских наук, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России), заведующий лабораторией комбинированной терапии опухолей;

Ведущая организация – Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» (Медицинский институт, кафедра биохимии имени академика Т.Т. Березова), гор. Москва, в своём положительном заключении, подписанном Калининой Еленой Валентиновной, доктором биологических наук, профессором кафедры биохимии имени академика Т.Т. Березова, указала на недостаточное внимание автора к освещению вопроса механизма фотодинамической терапии, к процессам активации фотосенсибилизатора под влиянием облучения и возможного локального действия продуктов фотоиндуцируемой реакции в клетке, а также, указала, что автору желательно было бы пояснить эффект отсутствия изменения фотоиндуцированной активности хлорина еб в фосфолипидных наночастицах при совместном

использовании специфического адресного и проникающего пептидов. Однако высказанные замечания не снижают общей ценности работы.

Соискатель имеет 17 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 17 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях - 6.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Torkhovskaya T.I., Kostryukova L.V., Tereshkina Yu.A., Tikhonova E.G., Morozevich G.E., Plutinskaya A.D., Lupatov A.Yu., Pankratov A.A. Chlorin e6 embedded in phospholipid nanoparticles equipped with specific peptides: Interaction with tumor cells with different aminopeptidase N expression // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2021. – V. 134. – P. 111154. Объем печатных листов 0,81 усл. печ л. В работе приведены данные по влиянию присоединения двух пептидов (адресного и клеточно-проникающего) к фосфолипидным наночастицам с хлорином е6 на внутриклеточное накопление фотосенсибилизатора и его фотоиндуцированную активность на двух клеточных линиях (HepG2 и MCF-7). Соискатель планировал проведение экспериментов, получал исследуемые композиции с хлорином е6, занимался пробоподготовкой образцов, анализировал данные, участвовал в написании текста рукописи и в работе на всех этапах рецензирования.
2. Kostryukova L.V., Plyutinskaya A.D., Pankratov A.A., Korotkevich E.I., Prozorovskiy V.N., Tikhonova E.G., Torkhovskaya T.I., Teryoshkina Yu.A. Chlorine e6 in Phospholipid Nanoparticles with Specific Targeting and Penetrating Peptides as Prospective Composition for Photodynamic Therapy of Malignant Neoplasms // *Biochem. Moscow Suppl. Ser. B*. – 2020. – V. 14. – № 1. – P. 174 – 179. Объем печатных листов 0,53 усл. печ л. В публикации продемонстрировано влияние включения хлорина е6 в фосфолипидные наночастицы, содержащие специфический адресный и клеточно-проникающий пептиды; на цитотоксическую и фотоиндуцированную активность лекарства в условиях *in vitro* на линии клеток HT-1080. Соискатель участвовал во всех этапах экспериментальной работы: от планирования экспериментов до получения

результатов и их анализа, участвовал в написании текста публикации и в работе по его рецензированию.

3. Kostryukova L.V., Korotkevich E.I., Morozevich G.E., Kolesanova E.F., Mel'nikova M.V., Filatova Y.V., Torkhovskaya T.I., Prozorovskii V.N., Tikhonova E.G., Ipatova O.M. Effect of Cell-Penetrating Arginine Peptide on Interaction of Photosensitizer Chlorin e6 Incorporated into Phospholipid Nanoparticles with Tumor Cells//Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2019. – V.167 – №3. – P.347-350. Объем печатных листов 0,47 усл. печ л. В статье показано влияние присоединения клеточно-проникающего пептида (R7) к хлорину е6, встроенному в фосфолипидные наночастицы, на накопление фотосенсибилизатора в клетках HepG2. Соискатель планировал проведение экспериментов, получал образцы с хлорином е6, анализировал данные, писал текст рукописи, а также работал с текстом на всех этапах рецензирования.

4. Kostryukova L.V., Prozorovskiy V.N., Medvedeva N.V., Ipatova O.M. Comparison of a new nanoform of the photosensitizer chlorin e6, based on plant phospholipids, with its free form // FEBS Open Bio. – 2018. – V. 8. – № 2. – P. 201-210; Объем печатных листов 1,155 усл. печ л. В работе показано влияние включения хлорина е6 в фосфолипидные наночастицы на фотосенсибилизирующую активность хлорина е6, а также влияние на накопление в опухоли у мышей привитой карциномой Льюис. Соискатель планировал проведение экспериментальной работы, получал образцы фосфолипидной наноконструкции хлорина е6, участвовал на всех этапах проведения экспериментальных работ, анализировал полученные данные, писал текст публикации, а также участвовал в работе с текстом на всех этапах рецензирования.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от: официального оппонента Посыпановой Галины Ароновны, доктора биологических наук, ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной биологии и молекулярной медицины, в котором указано, что для

доказательства избирательности действия липосомальных систем доставки неплохо было бы в качестве отрицательного контроля использовать неопухолевые клетки, такие как лимфоциты, фибробласты, эпителий. Также в отзыве поставлен вопрос об обоснованности применяемого в экспериментах с клетками продолжительности «темновой» фазы, уменьшение которой могло бы привести к проявлению эффекта таргетного пептида NGR. Однако эти замечания не являются принципиальными, носят частный характер и ни в коем случае не снижают ценность полученных результатов и не ставят под сомнение научную значимость проведенного исследования;

официального оппонента Покровского Вадима Сергеевича, доктора медицинских наук, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России), заведующий лабораторией комбинированной терапии опухолей, отмечается некоторая нелогичность проведения экспериментов *in vivo* по исходной схеме (без пептидов) для анализа накопления и элиминации хлорина еб в разных органах у двух видов здоровых животных (крыс и мышей). Логичнее было бы провести серию экспериментов на одном виде животных. Также в ряде таблиц с результатами работы отсутствуют данные о разбросах, что не позволяет судить о статистической достоверности этих результатов. Однако указанные замечания не снижают общего положительного впечатления от представленной большой и значимой диссертационной работы.

В положительном отзыве на автореферат Красновского Александра Александровича, доктора биологических наук, профессора, ФГБУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», главный научный сотрудник лаборатории физической биохимии, замечаний нет.

В положительном отзыве на автореферат Немцовой Елены Романовны, доктора биологических наук, Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиала ФГБУ

«Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, ведущий научный сотрудник отделения экспериментальной фармакологии и токсикологии, замечаний нет.

В положительном отзыве на автореферат Ибрагимовой Светланы Александровны, кандидата биологических наук, ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарёва», доцент кафедры биотехнологии и биохимии факультета биотехнологии и биологии, указывается на не совсем понятную формулировку понятия «фосфолипидные наночастицы» в отношении структур, представляющих собой, по всей вероятности, липосомы или нанолипосомы. Помимо этого терминологического вопроса других замечаний нет.

В положительном отзыве на автореферат Шевченко Константина Георгиевича, кандидата биологических наук, ФГБУН Институт цитологии Российской академии наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной медицины, отмечается, что в разделе с экспериментами *in vivo* на мышах с опухолью дано сравнение динамики выведения хлорина для тканей после его однократного введения. Но было бы интересно увидеть результаты противоопухолевого действия препарата после проведения курса лечения, то есть многократного введения. Однако отсутствие подобного эксперимента не умаляет ценности и значимости проведенного исследования.

В положительном отзыве на автореферат Мельникова Павла Александровича, кандидата биологических наук, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России, научный сотрудник лаборатории иммунохимии отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии, замечаний нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обоснован тем, доктор биологических наук Посыпанова Галина Ароновна является крупным специалистом в области белковых и пептидных векторов для избирательной доставки противоопухолевых препаратов в опухолевые клетки;

доктор медицинских наук Покровский Вадим Сергеевич является ведущим специалистом в области лекарственных препаратов на основе противоопухолевых ферментов.

Выбор ведущей организации объясняется тем, что ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Медицинский институт, кафедра биохимии имени академика Т.Т.Березова) - научный центр, занимающийся фундаментальными и прикладными разработками в области профилактики и терапии онкологических заболеваний, в частности, создания новых противоопухолевых лекарственных препаратов

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- впервые получены и детально охарактеризованы по физико-химическим свойствам и воздействию *in vitro* и *in vivo* ультрамалые фосфолипидные наночастицы с включенным в них хлорином еб;
- впервые выявлена возможность повышения накопления хлорина еб в опухоли при в/в введении животным и ускоренного выведения из здоровых органов за счёт его включения в фосфолипидные наночастицы;
- впервые получены три фосфолипидные композиции хлорина еб в фосфолипидных наночастицах с включенными в их состав таргетным и проникающим в клетки пептидами, изучено связывание и интернализация таргетных фосфолипидных наночастиц опухолевыми клетками и цитотоксическое действие таких наночастиц.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что полученные результаты расширяют представления о свойствах фосфолипидных наночастиц ультрамалого размера, нагруженных фотосенсибилизатором хлорином еб, и модифицированных таргетным и клеточно-проникающим пептидами.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики состоит в том, что полученные результаты могут служить основой для дальнейших перспективных разработок в направлении оптимизации фотодинамической терапии опухолей путем использования фосфолипидной

композиции направленного транспорта с возможным выбором таргетных пептидов с учётом экспрессии на клетках специфического белка-мишени

Оценка достоверности результатов исследования подтверждается использованием автором проверенных физико-химических методов и соответствующего высокоточного оборудования, адекватных поставленным задачам. Достоверность результатов обусловлена необходимым числом повторений, а также использованием современных статистических методов обработки данных.

Личный вклад соискателя состоит в получении фосфолипидных композиций хлорина еб, проведении физико-химических экспериментов и обработке их результатов, планировании работы в целом и обсуждении полученных данных, постановке задач для фармакологических испытаний полученных препаратов, участии в написании статей и представлении работы на различных научных конференциях.

В ходе защиты диссертации не было высказано критических замечаний.

На заседании 11 ноября 2021 г. диссертационный совет принял решение присудить Кострюковой Любви Викторовне учёную степень кандидата биологических наук за создание фармацевтической композиции на основе хлорина еб и ультрамалых фосфолипидных наночастиц, обеспечивших увеличение фотодинамической активности композиции *in vitro* и *in vivo*, и разработку пути адресной доставки препарата за счет включения в состав наночастиц пептидов, увеличивающих эффективность присоединения встроенного в наночастицы хлорина еб к клеточной поверхности, повышающих общее накопление встроенного хлорина еб в опухолевых клетках и дающих увеличение фотодинамической активности препарата.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 12 докторов наук по специальности 1.5.4. (03.01.04) – «биохимия», участвовавших в заседании, из 26 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 19, против - 0, недействительных бюллетеней – 0.

Зам. председателя Диссертационного совета  
доктор биологических наук, профессор

Медведев А.Е.

Ученый секретарь Диссертационного совета  
кандидат химических наук

Карпова Е.А.



11 ноября 2021 года