

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА
на диссертацию Васильевой Лейсан Альбертовны
**«Липидные наноконтейнеры, модифицированные монокатионными
фосфониевыми и дикатионными аммониевыми ПАВ с карбаматными
фрагментами: физико-химические свойства и функциональная активность»**
на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 1.4.4. Физическая химия

Адресная доставка лекарственных препаратов является одним из наиболее бурно развивающихся направлений современных научных исследований. Однако наиболее эффективные препараты зачастую бывают слишком токсичными и скорее вредят, нежели помогают. Для решения этих проблем на первый план выходят подходы супрамолекулярной химии, которые позволяют очень тонко настраивать ключевые параметры систем доставки. Использование при создании таких систем строительных блоков разной природы может привести к так называемому синергетическому эффекту – нелинейной зависимости характеристик от состава смеси. Важно понимать, что этот эффект может сработать как в одну сторону, что позволит получить усиление полезных характеристик, например, терапевтического эффекта, так и в другую сторону, усилив побочные эффекты. Поэтому оптимизация функциональных характеристик супрамолекулярных систем доставки лекарственных препаратов, безусловно, важна и актуальна. Следует отметить, что в подобных исследованиях необходим комплексный подход: это и исследование самих строительных блоков, и токсикологические исследования, и *in vivo* - исследования с привлечением лабораторных животных. Диссертация Л.А. Васильевой посвящена созданию и характеристике наноразмерных средств доставки лекарственных препаратов на основе липидов и поверхностно-активных веществ (ПАВ) различной природы, как коммерчески доступных, так и новых.

Диссертация Лейсан Альбертовны имеет классическую структуру: состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, результатов и обсуждения, заключения, списков литературы (277 источников) и условных обозначений и приложения. Объем диссертации составляет 176 страниц.

Во введении автор описывает актуальность и степень разработанности темы исследования, на основании чего абсолютно логично формулируется цель работы. Следует отметить, что задачи при этом не сформулированы, что является недостатком данной части диссертации. Во введении автор также описывает новизну, теоретическую и практическую значимость, приводит внушительный список методов исследования. Используемые методы соответствуют цели работы и позволяют осуществить полную характеристику объектов исследования. Из положительных моментов также следует отметить формальные показатели диссертации – 10 статей в индексируемых изданиях, в 6 из которых соискатель является первым автором. Кроме того, результаты прошли достойную апробацию на научных мероприятиях.

Обзор литературы посвящен основным аспектам направленного синтеза амфифильных соединений и дизайну супрамолекулярных средств доставки лекарственных препаратов. Обзор достаточно подробный, цели диссертации логично вытекают из анализа литературных источников. Несомненный плюс литературного обзора заключается в том, что автор в основном цитирует работы последних 3-5 лет, что указывает на высокий уровень интереса к данной теме. Количество процитированных источников также впечатляет. В качестве

недостатков литературного обзора я бы отметил недостаточную полноту описания некоторых моментов: плюсы и минусы катионных и неионных ПАВ с точки зрения создания контейнеров для адресной доставки лекарственных препаратов автор обсуждает весьма детально, так как они являются основными объектами исследования. А вот анионные и цвиттер-ионные ПАВ при этом вообще не обсуждаются. При обсуждении основных математических моделей описания кинетики высвобождения лекарств автор не уделяет должного внимания их различиям и условиям применимости.

В экспериментальной части автор описывает используемые реактивы и методики исследований. Личный вклад отмечен на каждом этапе, что позволяет высоко оценить квалификацию соискателя как самостоятельного исследователя. Выбор методик полностью согласуется с целями исследования. В качестве недостатков данной части диссертации хотелось бы отметить, что не все методы описаны достаточно детально, а ВЭЖХ и вовсе упоминается только во введении и списке сокращений. Это может быть обусловлено тем, что соискателем использован очень большой набор методов, выполнены эксперименты на мышах и крысах, что, несомненно, заслуживает особого внимания. Характеризацию объектов исследования можно уверенно назвать исчерпывающей. Это обеспечивает не вызывающую ни малейших сомнений достоверность и обоснованность полученных результатов и сделанных выводов. В целом, методическая часть диссертации заслуживает очень высокой оценки.

Глава «Результаты и обсуждение», на мой взгляд, также заслуживает высокой оценки. В данной части диссертации логика и структура исследования хорошо прослеживается, представление результатов последовательно, идет по пути от простых систем к сложным. На каждом этапе работы выполнена необходимая характеристика в соответствии с целью работы. Можно четко проследить весь путь от исследования физико-химических характеристик растворов ПАВ до оценки эффективности полученных систем доставки *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*. Данную главу я бы назвал самой сильной стороной диссертации, вызывающей наибольший интерес читателя. В качестве недостатка отмечу неудачную форму представления некоторых результатов, прежде всего касающихся характеристики новых дикатионных ПАВ.

В заключении диссертации сделаны выводы по результатам проделанной работы. К наиболее значимым результатам, по моему мнению, следует отнести:

а) Установление закономерностей самоорганизации гомологической серии новых дикатионных карбаматсодержащих геминальных ПАВ, дополненное исследованиями их солубилизирующей способности и противомикробной активности.

б) Исследование кинетики высвобождения субстратов из модифицированных липосом, в том числе с привлечением различных математических моделей.

в) Получение трансферсом для трансдермальной доставки лекарственных препаратов и демонстрация возможности их проникновения через модельные мембраны растительного и животного происхождения. Особо следует отметить результат по увеличению выживаемости крыс, отравленных летальной дозой параоксона, за счет комбинации внутривенного введения антидота и трансдермальной доставки.

г) Демонстрация восстановления когнитивных функций и замедления скорости роста бета-амилоидных бляшек в областях энторинальной коры и гиппокампа головного мозга мышей с моделью болезни Альцгеймера после интраназального введения катионных липосом. Данный результат также заслуживает отдельной высокой оценки.

Полученные результаты достигнуты за счет использования грамотного подхода к планированию эксперимента и привлечения широкого набора современных методов анализа. Высокий уровень практической значимости работы абсолютно очевиден. Несомненным плюсом также является указание соискателем дальнейших путей развития данной работы. Важно отметить, что в диссертации соискателем представлено очень большое количество интересных результатов. Вместить их в рамки кандидатской диссертации и при этом сохранить внимание к мелочам представляется крайне сложной задачей. Поэтому после прочтения диссертации и автореферата у меня возникло достаточно большое количество вопросов и замечаний, что в первую очередь является показателем интереса к данному исследованию и обусловлено желанием разобраться во всех его аспектах:

1. Экспериментальная часть, стр. 55-56. В описании прибора Malvern ZetaSizer Nano мощность лазера, вероятнее всего, указана неверно. Для подобных приборов порядок мощности лазера – милливатты, а не киловатты. Для метода динамического рассеяния света следовало указать, какой алгоритм использовался для анализа автокорреляционной функции, а также дать пояснения, как доказывалась одномодальность функций распределения частиц по размеру. Не лишним было бы указание количества измерений, времени накопления сигнала или количества рассеянных фотонов, используемых для построения автокорреляционной функции. В описании метода определения электрокинетического потенциала также хотелось бы видеть больше деталей: каким способом определяли электрофоретическую подвижность – по изменению частоты или фазы рассеянного света, какова напряженность электрического поля и какой режим измерений?
2. Результаты, стр. 79. Автор говорит о хорошей сходимости результатов определения ККМ разными методами (таб. 3.4.), хотя различия достигают трехкратных. Возникает вопрос о точности измерений ККМ каждым из методов и обоснованности вывода об их сходимости.
3. Результаты, стр. 101, таб. 3.14. Для большинства из приведенных данных по проценту реактивации АХЭ значение стандартного отклонения превышает величину среднего значения. Это возможно лишь в том случае, когда часть из полученных значений отрицательна. Насколько корректны такие измерения?
4. Смущает использование коммерческих названий ПАВ и реактивов иностранного производства на русском языке (Бридж, Твин, Оранж ОТ и т.п.). Мне видится предпочтительным использование англоязычных названий, особенно с учетом того, что некоторые из названий все же приводятся автором на английском (например, Doxil, Carbopol).
5. Некоторые утверждения автора довольно спорные. Во введении диссертации (стр. 5) и автореферата (стр. 3) автор пишет: «Широкое практическое применение ПАВ обусловлено их способностью адсорбироваться на границе раздела фаз, самопроизвольно образовывать агрегаты выше критической

концентрации мицеллообразования (ККМ) и солюбилизовать гидрофобные соединения». Далеко не все ПАВ способны к солюбилизации гидрофобных соединений. ПАВ с низким ГЛБ представляются плохими кандидатами для подобных целей. В продолжение данного замечания: в обзоре литературы (стр. 17 диссертации) автор пишет: «Наиболее важным параметром ПАВ, в первую очередь определяемым для всех амфифильных молекул, является концентрация ПАВ, при которой молекулы начинают агрегировать в растворе». С этим чересчур категоричным утверждением я не соглашусь. Некоторые ПАВ в воде не растворяются.

6. Следует отметить некоторую небрежность автора в использовании терминов. Термины «липидные формулировки» (введение диссертации и автореферата) и «липосомальные формуляции» (стр. 7 автореферата) сложно назвать удачными. Мне видится более подходящим «супрамолекулярные агрегаты (наноконтейнеры, если так угодно автору) на основе липидов». Термин «солюбилизационная активность» следовало бы заменить на «солюбилизирующая способность». Вместо «более биоразлагаемы» (стр. 15 диссертации) правильнее было бы написать «обладают большей полнотой биodeградации» (либо меньшим временем, в зависимости от конкретных систем). При описании количественной характеристики солюбилизации автор использует термин «солюбилизационная емкость» (стр. 74 диссертации) - соотношение количеств солюбилизата и ПАВ. В данном случае корректнее говорить о некотором предельном значении солюбилизационной емкости, выше которого раствор ПАВ солюбилизовать не способен. Отдельной критики, на мой взгляд, заслуживает использование термина «электрокинетический заряд» (стр. 29 диссертации), который противоречит теории строения двойного электрического слоя. Электрокинетические явления определяются **потенциалом** границы скольжения (дзета-потенциалом).

Оценивая диссертацию в целом, следует признать, что она, разумеется, не лишена недостатков, прежде всего касающихся некоторых деталей оформления, представления данных и используемой терминологии, что подробно отражено в приведенных выше замечаниях. Но научный уровень проведенного исследования, несомненно, следует оценить как крайне высокий, равно как его актуальность для супрамолекулярной химии в аспектах биомедицинского применения. Основная часть диссертации логична и последовательна, представляет новые и практически значимые результаты для развития одного из наиболее «горячих» направлений современных научных исследований – адресной доставки лекарств. Автореферат вполне адекватно отражает содержание диссертации, а сама работа соответствует пунктам 2-4 паспорта специальности 1.4.4. Физическая химия. Как уже было отмечено выше, в диссертационной работе соискателем пройден путь от исследования растворов ПАВ до оценки эффективности систем доставки *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*. Это позволяет сделать вывод, что диссертация Л.А. Васильевой представляет собой законченную научно-квалификационную работу, выполненную на высочайшем экспериментальном уровне. Сделанные замечания ни в коем случае не ставят под сомнения защищаемые положения и на оценку уровня работы не влияют.

Считаю, что диссертация «*Липидные наноконтейнеры, модифицированные монокатионными фосфониевыми и дикатионными аммониевыми ПАВ с*

карбаматными фрагментами: физико-химические свойства и функциональная активность» **соответствует** разделу II Положения о присуждении ученых степеней, а ее автор, Васильева Лейсан Альбертовна, **безусловно, заслуживает** присуждения ей искомой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4. Физическая химия.

Официальный оппонент:

Поповецкий Павел Сергеевич,
кандидат химических наук по специальности 02.00.04. Физическая химия.
Заведующий лабораторией химии экстракционных процессов,
старший научный сотрудник.
e-mail: popovetskiy@niic.nsc.ru
Тел: 8-383-330-82-48.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт неорганической химии им. А.В. Николаева
Сибирского отделения Российской академии наук (ИНХ СО РАН)
630090, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, д. 3.

Подпись

/ П.С. Поповецкий

Подпись кандидата химических наук
Поповецкого Павла Сергеевича заверяю.
Ученый секретарь ИНХ СО РАН
Доктор химических наук

/ О.А. Герасько

26.12.2023 г.