

ОТЗЫВ

**оппонента на диссертационную работу
Васильевой Лейсан Альбертовны**

**«Липидные наноконтейнеры, модифицированные монокаатионными фосфониевыми и дикаатионными аммониевыми ПАВ с карбаматными фрагментами: физико-химические свойства и функциональная активность»,
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 1.4.4. Физическая химия**

Диссертация Васильевой Лейсан Альбертовны посвящена созданию новых модифицированных амфифильными молекулами липидных наноконтейнеров для использования их в качестве средств доставки биологически активных субстратов различной природы и назначения.

На современном этапе развития биомедицины особое внимание уделяется созданию новых транспортных систем биологически активных соединений. В качестве основы таких систем доставки широко используются наноконтейнеры различного типа. Однако, несмотря на существенный прогресс в области наномедицины, остаются нерешенными вопросы, связанные с биосовместимостью наноразмерных систем доставки, таргетностью доставки лекарственных препаратов, избирательным высвобождением биологически активных субстратов, снижением токсического воздействия на здоровые органы и выводом их из организма человека. Среди широкого спектра наноразмерных систем активно применяются липидные наноконтейнеры благодаря своей биосовместимости, биоразлагаемости и нетоксичности.

В диссертационной работе Васильевой Л.А. предложена стратегия нековалентной модификации липидных наноконтейнеров неионными и катионными ПАВ для решения ряда важных биомедицинских проблем, а именно терапии острого отравления фосфорорганическими соединениями, онкологических и нейродегенеративных заболеваний, в частности болезни Альцгеймера. Среди амфифильных соединений в работе использованы катионные ПАВ, благодаря сродству к отрицательно заряженным поверхностям. Для решения задачи снижения токсичности и повышения биоразлагаемости катионных ПАВ в рамках диссертационной работы Васильевой Л.А. получены смешанные системы на основе катионных и неионных ПАВ, а также проведен синтез новой

гомологической серии дикаатионных ПАВ с додекановым спейсером и карбаматными фрагментами. Разработка новых модифицированных амфифильными соединениями липосом с улучшенной способностью преодолевать биологические барьеры для доставки биологически активных соединений различной природы является *актуальной задачей физической химии*.

Структура диссертационной работы

Диссертация Васильевой Л.А. имеет традиционную структуру, содержит введение, 3 главы (литературный обзор, экспериментальная часть, обсуждение результатов), заключение, список сокращений и условных обозначений, список литературы (277 литературных ссылок) и приложение. Диссертационная работа написана на 176 страницах, включает 63 рисунка и 30 таблиц.

Во введении обоснована необходимость проведения диссертационного исследования.

Литературный обзор (глава 1) посвящен рассмотрению дизайна и практического применения супрамолекулярных систем на основе ПАВ и липидных наноконтейнеров. Литературный обзор состоит из двух частей. Первая часть посвящена проблемам создания различных супрамолекулярных систем на основе амфифилов. Описаны современные подходы, которые используются в получении новых ПАВ, и факторы, оказывающие влияние на процессы самоорганизации в водных растворах и их функциональную активность. Основное внимание уделено рассмотрению физико-химических свойств фосфониевых и дикаатионных геминальных ПАВ. Во второй части обзора рассматриваются результаты научных исследований, направленных на получение липосом со свойствами, необходимыми для биомедицинского применения. В качестве одной из ключевых стратегий получения таких липидных наноконтейнеров автор рассматривает их модификацию молекулами ПАВ. Литературный обзор написан хорошим языком, содержит наглядные рисунки.

Глава 2 посвящена краткому описанию методик синтеза и подтверждению строения полученных ПАВ, методик получения липидных систем, описанию методов исследования и обработки экспериментальных данных.

Глава 3 включает оригинальные результаты исследований соискателя и их обсуждение. Диссертация построена путем усложнения получаемых автором

супрамолекулярных систем – от изучения закономерностей агрегации фосфониевых и геминальных ПАВ в водных растворах до оптимизации состава модифицированных липосом. Обсуждение результатов идет по схеме: синтез новых амфифильных соединений – самоагрегация ПАВ в растворах – нековалентная модификация липосом амфифилами – физико-химические характеристики липосом – показатели эффективности липосом в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. «Красной нитью» через всю диссертационную работу проходит идея нековалентной модификации липидных наноконтейнеров катионными ПАВ для придания им положительного заряда с целью улучшения проникновения через биологические барьеры и обеспечения таргетности доставки лекарственных средств. На мой взгляд, именно такая постановка проблемы и стратегия ее выполнения позволила автору детально изучить физико-химические свойства отдельных компонентов сложной системы и на выходе получить липосомальные наноконтейнеры с высоким потенциалом к практическому применению.

Васильевой Л.А. установлены закономерности изменения агрегационной и солубилизирующей способностей смешанных мицеллярных систем, созданных с использованием неионного ПАВ Бридж®35 и катионного ПАВ гексадецилтрифенилфосфоний бромида, а также индивидуальных растворов дикаатионных карбаматсодержащих ПАВ с додекановым спейсерным фрагментом; проведено исследование влияния доли фосфониевых и карбаматсодержащих геминальных ПАВ в липосомальной композиции на дзета-потенциал, стабильность наноконтейнеров, а также на процессы высвобождения субстратов с применением различных математических моделей; оптимизирован состав трансферсом для загрузки пралидоксима хлорида и карбоксина; представлены результаты количественной оценки степени колокализации липосом, модифицированных алкилтрифенилфосфоний бромидами, с митохондриями; в *in vivo* тестах выявлено, что катионные липосомы, модифицированные тетрадецилтрифенилфосфоний бромидом и геминальными ПАВ, обладают способностью замедлять прогрессирование болезни Альцгеймера.

Достоверность и новизна результатов исследования

О достоверности результатов диссертации свидетельствуют большой объем экспериментального материала, полученного с применением современных физико-

химических и спектральных методов исследования, а также сопоставимость экспериментальных результатов с уже имеющимися данными надежных литературных источников.

Результаты работы отличаются *новизной*:

- автором получены смешанные мицеллы на основе катионного ПАВ гексадецилтрифенилфосфоний бромида и неионного ПАВ Бридж®35, впервые охарактеризованы мицеллообразующие свойства системы и солубилизирующая способность в отношении гидрофобных субстратов;

- впервые синтезирована новая гомологическая серия дикатионных геминальных ПАВ с карбаматными фрагментами и додекановым спейсером;

- установлено, что сочетание трансдермальной доставки пралидоксима хлорида, загруженного в трансферсомы, с одновременным внутривенным введением антидота приводит к увеличению выживаемости крыс, отравленных смертельной дозой параоксона;

- проведена нековалентная модификация липосом с использованием алкилтрифенилфосфоний бромидов с целью терапии онкологических заболеваний, что обеспечило увеличение селективности цитотоксического действия ротенона, загруженного в катионные липосомы, до двух порядков по отношению к опухолевым клеткам линии NuTu 80;

- доказано улучшение когнитивных функций и снижение уровня амилоидных отложений в гиппокампе и энторинальной коре головного мозга у мышей с моделью болезни Альцгеймера в результате интраназальной терапии модифицированными катионными ПАВ липосомами, загруженными α -токоферолом и донепезила гидрохлоридом.

Теоретическая и практическая значимость результатов

Теоретическая и практическая значимость результатов диссертационной работы Васильевой Л.А. заключается в возможности дальнейшего использования выявленных корреляций между физико-химическими свойствами и функциональной активностью фосфониевых и карбаматсодержащих аммониевых амфифильных соединений в получении новых катионных ПАВ и смешанных композиций на их основе.

Васильевой Л.А. разработан протокол оптимизации состава липидных наноконтейнеров, предназначенных для включения биологически активных веществ различной природы, установлено соотношение липид/ПАВ для модификации липосом катионными ПАВ, обеспечивающее оптимальный баланс между функциональной активностью и токсичностью. Полученные результаты будут полезны для разработки наноразмерных систем направленной доставки лекарственных препаратов различной природы.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Высокий уровень обсуждения результатов, детальное рассмотрение собственных и литературных данных, подтверждает *обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций*, сделанных автором.

Результаты диссертационной работы Васильевой Л.А. опубликованы в 10 статьях в рецензируемых научных журналах с высоким рейтингом, индексируемых в международных базах WoS и Scopus. Материалы диссертационной работы докладывались в виде устных и стендовых докладов на крупных международных и всероссийских конференциях, что свидетельствует о *хорошей апробации результатов работы*. Публикации и автореферат полностью отражают основные научные результаты, положения и выводы, приведенные в диссертации.

Об актуальности, теоретической и практической значимости исследований свидетельствует и то, что они выполнены при финансовой поддержке гранта РФ.

Диссертационная работа имеет логичную структуру, написана грамотным научным языком, содержит хороший иллюстративный материал и очень аккуратно оформлена.

По тексту диссертации имеются вопросы и замечания:

1. В разделе 3.2 автором изучено влияние длины гидрофобного радикала дикатионных геминальных ПАВ с карбаматными фрагментами на их агрегационные и солубилизационные свойства. Для дикатионного ПАВ с тетрадецильным гидрофобным радикалом ход кривой изотермы поверхностного натяжения раствора (рис. 3.7), параметры адсорбции (табл. 3.4) и солубилизационная емкость по отношению к гидрофобным субстратам (табл. 3.5) существенно отличаются. С чем автор связывает такой немонотонный характер

изменения свойств в гомологическом ряду при переходе от децил- и додецильного гомологов к ПАВ с тетрадецильным радикалом?

2. Автор проводит сравнительный анализ свойств новых дикатионных геминальных ПАВ с карбаматными фрагментами с монокатионными ПАВ. Насколько обоснованно подобное сравнение?

3. В работе обсуждаются результаты исследований методом флуориметрии с использованием зонда пирена для определения ККМ ПАВ. Индекс полярности пирена (I_1/I_3) имеет достаточно высокие значения для смешанных мицеллярных систем катионное ПАВ–неионное ПАВ (рис. 3.2) и дикатионных геминальных ПАВ (рис. 3.9), что характерно для полярного микроокружения зонда. Каков механизм солубилизации гидрофобных субстратов (краситель Оранжевый OT, индометацин) в этих системах?

4. На рис. 3.3 зависимость $\ln(I_0/I_{394})$ в водных растворах ТФФБ-16/Бридж®35 от концентрации тушителя ЦПБ для доли катионного ПАВ $\alpha_1 = 0.7$ не проходит через начало координат. Выполняются ли при этом условия применимости метода тушения флуоресценции, предложенного Туро и Екта для определения чисел агрегации по тангенсу угла наклона зависимости?

5. Кинетические зависимости проникновения пралидоксима хлорида, загруженного в трансферсомы, через модельную кожу (рис. 3.20) имеют выраженный перегиб при времени ≈ 6 ч. С какими процессами может быть связано изменение наклона кривых?

Все отмеченные вопросы носят частный характер и не влияют на общую высокую положительную оценку диссертационной работы.

Заключение

Диссертация Васильевой Л.А. является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная задача физической химии, заключающаяся в разработке новых липидных наноконтейнеров, модифицированных амфифильными молекулами, для использования их в качестве средств доставки биологически активных субстратов различной природы и назначения, которая имеет теоретическое и практическое значение.

Диссертационная работа Васильевой Лейсан Альбертовны, выполненная на тему «Липидные наноконтейнеры, модифицированные монокатионными фосфониевыми и дикатионными аммониевыми ПАВ с карбаматными фрагментами: физико-химические свойства и функциональная активность», по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической ценности полученных результатов, значимости основных положений и выводов полностью отвечает требованиям пунктов 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук, а ее автор, Васильева Лейсан Альбертовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4. Физическая химия.

Оппонент:

Шилова Светлана Владимировна

Доктор химических наук (02.00.04 - физическая химия), доцент, профессор кафедры физической и коллоидной химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет»

Почтовый адрес организации: 420015, Российская Федерация, Республика Татарстан, г. Казань, ул. К. Маркса, д. 68
Телефон: +7(843)231-89-27
E-mail: s_shilova74@mail.ru

« 9 » января 2024 г.