

## ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию Павлова Раиса Валерьевича «Супрамолекулярный дизайн наноконтейнеров для внутриклеточной доставки лекарственных веществ методом нековалентной самосборки ПАВ и липидов» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4 Физическая химия.

Диссертационная работа Павлова Р.В. посвящена исследованию актуальной проблемы современной физической химии: разработке новых липосомальных наноконтейнеров, модифицированных амфифильными соединениями, включая исследование самоорганизации новых дикатионных ПАВ в водном растворе, оптимизацию состава липосом, выявление зависимости основных физико-химических параметров липосом от структуры модифицирующих компонентов, а также влияние структурных характеристик липосом на их цитотоксическую активность и эффективность взаимодействия с клетками. Разработка новых липосомальных систем представляет интерес в связи с возможностью их использования в качестве средств селективной доставки лекарств с низкой биодоступностью, исключаящих их преждевременную деградацию и снижающих возникновение побочных эффектов.

Диссертационная работа написана на 180 страницах, содержит введение, 3 главы с литературным обзором, экспериментальной частью и обсуждением результатов, заключение, 20 таблиц, 59 рисунков, список условных обозначений и сокращений, список цитируемой литературы с 322 ссылками на литературные источники и публикации автора по теме диссертации и приложение.

Глава 1 «Литературный обзор» содержит подробную информацию о современных исследованиях агрегации и солюбилизации в водных растворах катионных ПАВ, термодинамики агрегации ПАВ на границе раздела фаз вода-воздух и в объеме раствора, применения дикатионных ПАВ в медицине, синтеза биоразлагаемых ПАВ, физико-химических параметров и синтеза липосом, керасом, порфисом, а также механизма преодоления биологических барьеров липосомами. В целом литературный обзор дает достаточное представление об актуальности темы диссертационной работы и уровне проводимых исследований в этой области, проводимых различными авторами. Главный вывод, который делает Павлов Р.В. на основе выполненного анализа в этой главе, – недостаточный уровень физико-химических исследований свойств липосом в литературе.

В главе 2 «Экспериментальная часть» описан синтез новых карбаматсодержащих геминальных ПАВ, которые Павлов Р.В. исследовал в диссертационной работе. В

этой главе охарактеризованы применяемые флуоресцирующие вещества, в том числе лекарственные, исследуемые в диссертационной работе в качестве спектральных зондов, а также амфифильные производные олигопептидов, синтезированные соавторами Павлова Р.В., буферные растворы и порфирины, извлеченные из нефти. Описаны методика приготовления липосом и методы измерения свойств изученных растворов: тензиометрия, кондуктометрия, спектрофотометрия, флуоресцентная спектроскопия, динамическое и электрофоретическое светорассеяние, просвечивающая электронная микроскопия, флуоресцентная и конфокальная микроскопия. Дано описание определения методов измерения параметров инкапсуляции субстратов в липосомах, биологической активности продуктов инкапсуляции, включая гемагглютинацию, проникновение через гематоэнцефалический барьер, количественный анализ пралидоксим хлорида в плазме и мозге животных. Есть сведения о статобработке результатов экспериментальных измерений.

В Главе 3 «Результаты и обсуждение» приведено обоснование постановки задачи диссертационной работы, результаты измерения ККМ новых карбаматсодержащих геминальных ПАВ разными методами, и соответствующих термодинамических параметров адсорбции и мицеллообразования. Определены параметры корреляции между свободной энергией мицеллообразования этих ПАВ и числом атомов углерода в их гидрофобной части. Показано, что с падением ККМ падает число агрегации ПАВ и растет солубилизационная емкость. Приведены результаты измерений антимикробной активности карбаматсодержащих геминальных и катионных изотиуруриновых ПАВ. Найдена оптимальная длина цепи гидрофобного фрагмента, обеспечивающая наибольшую антибактериальную активность. Показано, что карбаматсодержащие геминальные ПАВ проявляют большую активность, чем катионные изотиуруриновые. Приводятся результаты нековалентной модификации липосом на основе обычных липидов с помощью синтезированных амфифильных олигопептидов и катионных ПАВ. Показано, что повышение концентрации катионных ПАВ повышает дзета-потенциал липосом. Геминальные карбаматсодержащие ПАВ при этом дают большее значение потенциала, чем ЦТАБ. Выполнен подбор длины гидрофобной части геминального ПАВ для достижения оптимальных значений дзета-потенциала и цитотоксичности. Определено дикатионное геминальное карбаматсодержащее ПАВ, которое лучше сохраняет морфологию липосом по сравнению с катионным липидом диолеил-3-триметиламмоний пропаном. Изучено влияние катионных компонентов и амфифильного пептида  $C_{16}$ -SSRGD-NH<sub>2</sub> на эффективность взаимодействия липосом с мембранами клеток рака простаты. Показано, что больший положительный дзета-

потенциал липосом способствует их большему поглощению раковыми клетками с отрицательным зарядом мембраны. Аналогичное исследование выполнено по подбору структуры гидроксиэтилированных геминальных ПАВ в качестве модификатора липосом для доставки пралидоксим хлорида в мозг. Показано, что выбранное ПАВ обеспечивает такую доставку пралидоксим хлорида, который является антидотом отравления фосфорорганическими соединениями. Выполненная таким образом доставка обеспечила реактивацию 27% ацетилхолинэстеразы. В диссертационной работе также приготовлены и охарактеризованы липосомы, модифицированные нефтяными порфиринами, и изучена их клеточная доставка доксирубина с их помощью. Приготовлены и охарактеризованы керасомы – липосомы, ковалентно модифицированные производным поликремниевой кислоты. Выполнена проверка биосовместимости керасом и доставки с их помощью противоракового агента паклитаксела в раковые клетки. Показано, что керасомы увеличивают апоптотическое действие паклитаксела и при этом обладают стабильностью собственной морфологии.

Результаты работы отличаются **новизной**: определена агрегационная и антимикробная активности новых дикатионных геминальных ПАВ с карбаматными фрагментами; впервые проведена нековалентная модификация липосом дикатионными геминальными карбаматсодержащими ПАВ и определены характеристики их интернализации живыми клетками; впервые получены органо-кремниевые гибридные наночастицы, модифицированные неионным и катионным геминальным ПАВ, пригодные для доставки противоракового препарата; впервые получены порфисомы на основе фосфатидилхолина, холестерина и смеси нефтяных порфиринов в качестве наноконтейнеров для противоракового лекарства; впервые была осуществлена существенная реактивация ацетилхолинэстеразы мозга крыс, отравленных параоксоном, путем доставки в мозг реактиватора катионными липосомами, модифицированными геминальными гидроксиэтилированными ПАВ.

Результаты диссертационной работы обладают **практической значимостью**: разработанные методики получения липосом, обеспечивающих доставку лекарственных средств через гематоэнцефалический барьер, могут быть использованы для совершенствования способов лечения онкологических заболеваний, в том числе глиобластомы.

Результаты диссертационной работы Павлова Р.В. имеют **теоретическую значимость**. В работе выявлены закономерности соотношений между морфологией, физико-химическими параметрами новых ПАВ и модифицированных с их помощью липосом и функциональными свойствами модифицированных липосом в качестве

наноконтейнеров: эффективностью инкапсулирования лекарств, кинетикой их высвобождения, доставкой в клетки.

Выводы диссертации являются достоверными и обоснованными. Результаты получены с использованием современных экспериментальных методов.

По тексту диссертации имеются замечания:

1. В целом литературный обзор выполнен на хорошем уровне и дает полное представление о современном состоянии исследований по теме диссертации. При этом, в конце литературного обзора желательно было бы дать обобщение литературных данных по влиянию структуры модификатора липосом на их свойства.
2. В работе определены величины площади, занимаемой молекулой ПАВ в адсорбционном слое. На основе зависимости этой величины от структуры ПАВ можно было бы сделать какие-либо структурные выводы подобно тому, как делается в литературе и описано в Главе 1 диссертации.
3. Автор использует аббревиатуры, не приведенные в списке сокращений, для обозначения липидов, в том числе в заголовках разделов.
4. В экспериментальной части не для всех использованных экспериментальных методов указано использованное оборудование. Например, нет информации о конфокальном микроскопе, приборе ВЭЖХ-ИЭР-МС. В расшифровке обозначений для эффективности инкапсуляции (ЕЕ) и степени загрузки (LC) есть ошибка, должно быть:  $m_{in}$  – масса субстрата, не ассоциированного с наночастицами.

В целом автором проделана большая экспериментальная работа и работа по анализу и обобщению полученных данных. Синтезирован и охарактеризован новый гомологический ряд дикатионных карбаматсодержащих геминальных ПАВ, разработан подход по нековалентной модификации липосом дикатионными ПАВ этого вида; установлено влияние физико-химических параметров липосом на их стабильность и функциональные характеристики, в том числе на цитотоксичность и клеточное поглощение; получены и охарактеризованы катионные липосомы, функционализированные амфифильными формами пептидов, обеспечивающих повышенную селективность во взаимодействии с клетками; впервые получены липосомы с включенными нефтяными порфиринами, выступающими в качестве фотосенсибилизаторов селективного цитотоксического действия по отношению к клеткам карциномы шейки матки; впервые осуществлено успешное применение катионных липосом для реактивации ацетилхолинэстеразы головного мозга; получены стабильные сшитые органосиликатные липосомы, на основе которых

разработана система доставки противоракового препарата паклитаксела в клетки глиобластомы.

Павловым Р.В. опубликовано по теме диссертации 8 статей в рецензируемых отечественных и международных научных журналах с высоким рейтингом, индексируемых в WoS и Scopus. Работа апробирована на международных и российских научных конференциях.

Автореферат диссертации соответствует ее содержанию.

Диссертация Павлова Раиса Валерьевича по своей актуальности, новизне, объему и достигнутым результатам отвечает требованиям, установленным в пп.9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации, и является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена важная задача современной физической химии, имеющая практическое и теоретическое значение: разработаны новые липосомы и способы их получения для использования в качестве средств доставки лекарственных веществ. Ее автор, Павлов Раис Валерьевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4 Физическая химия.

Профессор кафедры физической химии Химического института им. А.М. Бутлерова ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», доктор химических наук (02.00.04 – физическая химия), профессор

420008, Казань,  
ул.Кремлевская, 18  
vgorbatc@kpfu.ru  
Тел. (843)2337309

Горбачук Валерий Виленович

25.05.2023