

«УТВЕРЖДАЮ»
И.о. директора ИОХ РАН
член-корр. РАН Терентьев А.О.

«10» января 2024 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук (ИОХ РАН)
на диссертационную работу Васильевой Лейсан Альбертовны «ЛИПИДНЫЕ НАНОКОНТЕЙНЕРЫ, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ МОНОКАТИОННЫМИ ФОСФОНИЕВЫМИ И ДИКАТИОННЫМИ 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.

Актуальность темы диссертационного исследования. Диссертационная работа Васильевой Лейсан Альбертовны посвящена синтезу новых амфифильных соединений, изучению их агрегации, нековалентной модификации липидных наноконтейнеров амфифилами, определению их физико-химических характеристик и оценке эффективности липосом в экспериментах *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*. Тематика работы связана с успешно развивающимися на протяжении последнего десятилетия направлениями работ по коллоидной, супрамолекулярной и медицинской химии амфифилов, которые осуществляются в лаборатории высокоорганизованных сред Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова.

Широкое практическое применение ПАВ (представляющих собой амфифильные соединения) основано на их способности адсорбироваться на границе раздела фаз, самопроизвольно образовывать агрегаты выше критической концентрации мицеллообразования (ККМ) и солубилизировать гидрофобные соединения. Кроме того, амфифильные соединения используются как катализаторы межфазного переноса, антибактериальные и противовирусные агенты. Выбор амфифилов определяется в первую очередь поставленными целями. Преимущества катионных ПАВ в биомедицинской сфере обусловлены сродством к отрицательно заряженным поверхностям, в первую очередь, митохондриальным мембранам; неионные амфифилы, со своей стороны, характеризуются низкой токсичностью. Особый интерес представляют монокатионные ПАВ с объемной головной группой и дикатионные ПАВ за счет более выраженной поверхностной активности по сравнению с классическими катионными амфифилами. Поиск путей оптимизации структуры амфифилов и состава мицеллярных систем является одним из ключевых направлений создания супрамолекулярных систем с оптимальным балансом между высокой функциональной активностью и низкой токсичностью.

Стратегия нековалентной модификации липосом с использованием ПАВ требует тщательного подбора компонентов и их соотношения, а также глубокого анализа полученных результатов для выявления системы-лидера. Таким образом, разработка методов синтеза новых амфифильных соединений, изучение их агрегации, нековалентная модификация липидных наноконтейнеров амфифилами, определение их физико-химических характеристик и оценка эффективности липосом является **актуальным** направлением в современной физической, коллоидной и супрамолекулярной химии.

Структура и содержание диссертационной работы. Диссертационная работа состоит из введения, трех глав, заключения, списка литературы, списка условных обозначений и сокращений, приложения (277 литературных ссылок на публикации отечественных и зарубежных авторов). Общий объем диссертации составляет 176 страниц, включая 30 таблиц, 63 рисунка. Объем приложения 2 страницы.

Во **введении** обоснована актуальность, сформулированы цель и задачи диссертационной работы, представлены научная новизна проведенных исследований, их теоретическая и практическая значимость.

Первая глава представляет собой литературный обзор, в котором рассмотрены современные направления исследований в области высокоорганизованных сред на основе катионных амфифилов с фокусом на ПАВ с объемной головной группой и геминальные амфифилы.

Вторая глава включает описание приготовления исследуемых образцов и проведения физико-химических измерений различными методами, а также характеристики использованных в работе коммерческих реагентов и синтезированных соединений.

Третья глава содержит обсуждение полученных результатов. Диссертационная работа выстроена путем усложнения полученных супрамолекулярных систем от изучения закономерностей агрегации монокатионных фосфониевых и дикатионных аммониевых ПАВ в водных растворах до оптимизации состава модифицированных липидных наноконтейнеров. В качестве ключевых этапов исследования выделены «синтез новых амфифильных соединений – агрегация ПАВ – нековалентная модификация липидных наноконтейнеров амфифилами – определение их физико-химических характеристик – оценка эффективности липосом в экспериментах *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*».

Литературный обзор диссертационной работы состоит из двух разделов, первый из которых посвящен общим вопросам супрамолекулярной химии систем на основе амфифильных молекул; второй раздел повествует об общих вопросах липидных формулировок как перспективных систем доставки лекарств. В обзоре автор описывает подходы к синтезу ПАВ, особенности самоорганизации фосфониевых амфифилов, агрегации дикатионных ПАВ. Отдельно описаны понятия липосом, их свойства и способы функционализации.

Тщательный и профессионально проведенный анализ литературных данных позволил автору сформулировать основные направления работы и обосновать используемые методы и подходы. Таким образом, сформулированные цели и положения работы звучат следующим образом.

Цель работы - создание наноконтейнеров с улучшенной способностью преодолевать биологические барьеры за счет нековалентной модификации катионными и неионными ПАВ, оценка их физико-химических характеристик и установление

закономерностей влияния структурных параметров на функциональную активность *in vitro* и *in vivo*.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Закономерности изменения агрегационной и солубилизирующей способности смешанных мицеллярных систем на основе неионного амфифила Бридж®35 и катионного ПАВ гексадецилтрифенилфосфоний бромида при варьировании мольной доли компонентов.
2. Оценка влияния длины углеводородного радикала дикатионных карбаматсодержащих геминальных ПАВ с додекановым спейсерным фрагментом на агрегационные, солубилизационные и антимикробные свойства.
3. Оценка влияния доли фосфониевых и карбаматсодержащих геминальных ПАВ в составе липосом на значения дзета-потенциала, стабильность наноконтейнеров, кинетику и механизм высвобождения субстратов с использованием математических моделей Корсмейера-Пеппаса, Хигучи и первого порядка.
4. Оптимизация состава ультрадеформируемых липосом и определение их потенциала для лечения острого отравления ФОС.
5. Результаты оценки способности липосом, модифицированных алкилтрифенилфосфоний бромидами, колокализироваться с митохондриями клеток и увеличивать цитотоксичность ротенона в рамках терапии онкологических заболеваний.
6. Установление способности катионных липосом, модифицированных тетрадецилтрифенилфосфоний бромидом и карбаматсодержащими геминальными ПАВ, замедлять развитие болезни Альцгеймера у трансгенных мышей *in vivo*.

Тщательный анализ текста диссертации, автореферата и публикаций автора позволяют сделать однозначный вывод о том, что цель работы достигнута, а сопутствующие задачи полностью выполнены – см. далее.

Следует отметить, что вся работа написана очень хорошим литературным языком, её легко и приятно читать. Очень важны для понимания сути работы рис. 1.10 и таблица 1.1. Также нельзя не обратить внимание на то, как автор тщательно и профессионально формулирует выводы из каждого раздела своей работы, что позволило сформулировать обобщенное заключение по всей диссертации.

Оценка достоверности и научной новизны результатов, представленных в диссертационной работе. Обоснованность и достоверность полученных результатов, обсуждаемых в диссертационной работе, подтверждаются применением широкого комплекса физико-химических методов и высокой степенью согласования экспериментальных данных, полученных разными методами. Результаты работы интерпретированы в рамках современных теоретических представлений, не противоречат имеющимся литературным данным, опубликованы в рецензируемых профильных и междисциплинарных журналах. Результаты, представленные в диссертационной работе, получены с использованием широкого комплекса физико-химических методов, включающего тензиометрию, кондуктометрию, динамическое и электрофоретическое рассеяние света, флуориметрию, спектрофотометрию, просвечивающую электронную микроскопию, проточную цитометрию, оптическую, флуоресцентную и конфокальную микроскопию, высокоэффективную жидкостную хроматографию.

Следует отметить наиболее яркие примеры **научной новизны** проведенного исследования:

1. Сформированы смешанные мицеллярные системы на основе катионного ПАВ гексадецилтрифенилфосфоний бромида и неионного ПАВ Бридж®35, обладающие низкими порогами агрегации и высокой солюбилизационной активностью по отношению к модельным соединениям.
2. Исследованы агрегационные, солюбилизационные и антимикробные свойства новых дикатионных геминальных ПАВ с карбаматными фрагментами и додекановым спейсером.
3. Впервые показано, что трансдермальная доставка формулированного пралидоксима хлорида совместно с внутривенным введением антидота приводит к увеличению выживаемости крыс, отравленных летальной дозой параоксона, с 55% до 90%.
4. Осуществлена нековалентная модификация липосом алкилтрифенилфосфоний бромидами для лечения резистентных к традиционным видам химиотерапии онкологических заболеваний.
5. Получены липосомы, модифицированные тетрадецилтрифенилфосфоний бромидом и новыми геминальными карбаматсодержащими ПАВ, с двойной загрузкой субстратов (α -токоферол и гидрохлорид донепезила) для интраназальной терапии трансгенных мышей с моделью болезни Альцгеймера.

Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации. Диссертационная работа Васильевой Лейсан Альбертовны является законченным научным исследованием, отличается научной новизной, выполнена на хорошем экспериментальном и теоретическом уровне с использованием современных физико-химических методов анализа. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Автореферат полностью отражает проведенное исследование. Материал, представленный в диссертационной работе, опубликован в 10 статьях в журналах, входящих в перечень, рекомендуемый ВАК РФ, и 10 тезисах докладов.

Практическая значимость полученных результатов. Характеризуя теоретическую и практическую значимость работы, можно отметить следующее: расширение банка данных по значениям порогов агрегации, солюбилизационной емкости и антимикробной активности индивидуальных и смешанных композиций с участием катионных ПАВ; установление корреляции «структура-свойство» для фосфониевых и карбаматсодержащих аммониевых амфифилов – это позволяет наметить дальнейшие практически важные шаги по синтезу катионных ПАВ и формированию смешанных композиций с оптимальным балансом между функциональной активностью и токсичностью (по сути – *формулировка направлений развития темы* подобной работы в будущем); разработаны протоколы по формированию мультифункциональных катионных липосом, в которых ПАВ играют роль не только агентов, придающих положительный заряд, но и лигандов, обладающих либо нацеливающими свойствами, либо терапевтическим действием (так называемая *тераностика*).

Критические замечания по диссертационной работе. Принципиальных замечаний по работе не выявлено, однако следует отметить следующее:

- 1) обзор литературы – на стр. 13 применяется понятие «параметра упаковки (ПУ)», но его определение появляется только на стр. 19; вопрос по формуле определения ПУ – а как может влиять на свойства амфифилов конформация алкильного/алкенильного гидрофобного хвоста?

2) экспериментальная часть – при описании синтетических экспериментов необходимо указывать количество реагентов единообразно (и масса/объем, и количество моль): для алкилирующих агентов приведены только значения количества вещества в ммоль, а для ДАБКО только в граммах;

3) обсуждение результатов, стр. 68, обсуждение Табл. 3.1 – рецензенту кажется, что обсуждение параметра «минимальная поверхность в расчете на молекулу» можно было бы провести более детально, в частности, сравнить с литературными данными;

4) обсуждение результатов, стр. 70, обсуждение Табл. 3.2 – приведены значения «чисел анизотропии», а их обсуждение проводится только в следующем разделе;

5) обсуждение результатов, стр. 118, обсуждение Табл. 3.22 – сравнивая строки 2 и 4: с одной стороны, фактор селективности увеличивается (увеличение токсичности по отношению к раковым клеткам в 40 раз), но надо было отметить, что токсичность по отношению к здоровым клеткам также возрастает (в 22.5 раза);

6) редакторские и стилистические – «более разлагаемы» (стр. 15); «Дю-Нуи» (стр. 52) и «Дью Нуи» (стр. 65); что такое «палисадная область» (стр. 69)?

Отмеченные выше замечания и вопросы не являются принципиальными и несколько не затрагивают существа сформулированных выводов и в целом не умаляют общих достоинств данной замечательной работы.

Результаты диссертации могут быть использованы в следующих организациях, занимающихся вопросами физической, коллоидной и супрамолекулярной химии: Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН (г. Москва), Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН (г. Москва), Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН (г. Москва), Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН (г. Москва), Институт химии Санкт-Петербургского государственного университета, Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН (г. Иваново) и др.

Заключение. Диссертационная работа по содержанию соответствует паспорту научной специальности 1.4.4. Физическая химия по следующим направлениям исследований: 3. Определение термодинамических характеристик процессов на поверхности, установление закономерностей адсорбции на границе раздела фаз и формирования активных центров на таких поверхностях; 4. Теория растворов, межмолекулярные и межчастичные взаимодействия.

По актуальности темы, объему выполненных исследований, новизне полученных результатов, методам исследования, практической значимости, обоснованности сделанных выводов и уровню исполнения диссертационная работа «Липидные наноконтейнеры, модифицированные монокатионными фосфониевыми и дикатионными аммониевыми ПАВ с карбаматными фрагментами: физико-химические свойства и функциональная активность» **соответствует требованиям к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук**, установленным пунктами 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, в действующей редакции), а ее автор, Васильева Лейсан

Альбертовна, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4. Физическая химия.

Настоящий отзыв рассмотрен и утвержден на совместном открытом заседании лаборатории углеводов и биоцидов им. академика Н.К. Кочеткова (№21) и супрамолекулярной химии (№2) Института органической химии им. Н. Д. Зелинского Российской академии наук (Протокол № 2/23 от 25/12/2023 г.), присутствовали 16 человек (научный персонал).

Отзыв подготовлен заведующим лабораторией супрамолекулярной химии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук (ИОХ РАН), профессором, профессором РАН, доктором химических наук по специальности 02.00.03 (1.4.3.) – органическая химия Вацадзе Сергеем Зурабовичем.

09.01.2024 г.

Доктор химических наук по специальности 1.4.3. Органическая химия (02.00.03)

Вацадзе Сергей Зурабович

Должность: заведующий лабораторией супрамолекулярной химии (№2) ИОХ РАН

Адрес электронной почты: vatsadze@ioc.ac.ru

Телефон: +7-903-748-78-92

Наименование организации: ФГБУН «Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук» (ИОХ РАН)

Адрес: 119991, г. Москва, Ленинский проспект, д. 47