

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук Поповой Екатерины Васильевны на тему: «Гибридные частицы на основе фосфата кальция и хитозана как перспективные носители офтальмологических препаратов» по специальности 1.5.6. – Биотехнология

Местное введение капель является наиболее широко используемым, эффективным и экономичным способом терапии глазных болезней, однако вследствие особенностей строения лекарственных препаратов, низкой биодоступности и слабой адгезии к клеткам роговицы они быстро выводятся с поверхности глаза. Для увеличения эффективности и длительности действия препаратов применяют системы доставки на основе частиц различной природы. Комплекс свойств, присущих хитозану, таких как биоразлагаемость, биосовместимость создает перспективы для его использования в качестве носителя лекарственных соединений. Эти характеристики в сочетании с реакционной способностью и широким спектром собственной биологической активности привлекают большое количество исследователей в попытках получить на его основе нанокompозитные и гибридные лекарственные формы. Таким образом, разработка новых оригинальных методов получения гибридных наночастиц на основе неорганических солей и хитозана как перспективных носителей офтальмологических препаратов является *актуальной научной задачей*, имеющей практическое значение для повышения эффективности терапевтического лечения заболеваний глаз.

В диссертационной работе Поповой Е.В. оптимизированы методы синтеза неорганических, наночастиц хитозана и разработаны методы получения новых гибридных кальцийфосфатных наночастиц, с использованием низкомолекулярного хитозана, а также производного хитозана – гликоль-хитозана в качестве носителей офтальмологических препаратов различной природы: низкомолекулярного ингибитора АПФ эналаприлата и фермента супероксиддисмутазы 1 (СОD1). С целью создания новых эффективных форм

офтальмологических препаратов автору удалось получить гибридные частицы на основе фосфата кальция, покрытого аминоксодержащими полисахаридами, с высоким процентом включения эналаприлата и супероксиддисмутазы, которые способны оказывать пролонгированное лечебное действие и стабильны при хранении в суспензии в течение месяца без добавления консервирующих агентов. Показано, что совместное включение эналаприлата и СОД1 приводило к синергическому гипотензивному действию. Продемонстрирована большая эффективность при использовании гибридных частиц как по сравнению с исходными неорганическими частицами, так и с частицами на основе только сшитого хитозана. Таким образом, в процессе выполнения диссертационной работы Поповой Е.В. были получены важные результаты, обладающие *научной новизной*. Разработанные в диссертации подходы могут быть использованы при получении носителей на основе гибридных частиц для доставки различных лекарственных веществ в ткани глаза и имеют важное *практическое значение*.

Диссертация Поповой Е.В. построена по традиционной схеме в соответствии с ГОСТ 7.0.11–2011 «Диссертация и автореферат диссертации. Структура и правила оформления» и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, экспериментальная часть, результаты и их обсуждение, заключение, выводы, список сокращений и список цитируемой литературы. Диссертационная работа изложена на 168 страницах, содержит большой экспериментальный материал, включающий 38 рисунков, 40 таблиц и 247 ссылок на используемые источники.

Во введении обоснована актуальность и научная новизна исследования, цели и задачи диссертационной работы. Изложена ее методология, сформулированы положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы рассмотрены основные типы носителей для доставки лекарственных средств в офтальмологии, в частности, с использованием как фосфата кальция, так и хитозана. Проанализированы методы получения наночастиц фосфатов кальция с контролируемым размером: от нано- до микромасштаба и разной формы. Показано, что на характеристики

кальцийфосфатных частиц могут влиять параметры системы – концентрация прекурсоров, значение рН и температура синтеза. Результаты анализа легли в основу исследования условий получения носителей лекарственных препаратов. Рассмотрены растворимость хитозана и его производных, влияние на растворимость ММ и степени деацетилирования хитозана. Проанализированы биологическая, в том числе антимикробная активность, мукоадгезивные свойства и описанные в литературе примеры проявления хитозаном антиоксидантной активности. Это позволило обосновать выбор низкомолекулярного хитозана и водорастворимого производного хитозана для использования в составе гибридных носителей эналаприлата и СОД1.

В главе «Материалы и методы» описаны использованные вещества, объекты, информативно изложены методы получения неорганических и гибридных наночастиц и исследования их размеров, морфологии, фазового и композиционного состава. Соискатель использовала широкий комплекс современных методов исследования и анализа данных, таких как ИК-спектроскопия, растровая и проникающая электронная микроскопия, РФА, динамическое светорассеяние и др. Для оценки биологического действия включенных препаратов были проведены эксперименты на кроликах, которые выполнялись в строгом соответствии с Положением Ассоциации исследований в области зрения и офтальмологии по использованию животных в офтальмологических исследованиях.

Третья глава диссертации посвящена результатам работы и их обсуждению и разделена на несколько разделов, последовательность которых отражает логику построения исследования от получения «пустых» кальцийфосфатных наночастиц до полученных разными способами хитозан(или гликольхитозан)-кальцийфосфатных гибридных частиц, наполненных двумя типами лекарственных веществ низкомолекулярным ингибитором АПФ и ферментом СОД1.

Изучение влияния условий процесса синтеза на характеристики кальцийфосфатных частиц позволило оптимизировать параметры получения

стабильных суспензий частиц с узким распределением по гидродинамическому диаметру и выбраны два оптимальных метода синтеза: при комнатной температуре и при охлаждении, обеспечивающие получение наночастиц одинакового размера, но разной морфологии. Показана возможность покрытия синтезированных частиц низкомолекулярным хитозаном и водорастворимым производным хитозана большей ММ и получены частицы, несущие на поверхности положительный заряд. Таким образом, покрытие неорганических частиц фосфатов кальция хитозаном или его производным позволило получить стабильные гибридные частицы, состоящие из неорганического ядра и хитозанового покрытия и вследствие этого обладающие сродством к клеткам роговицы. Среди методов, которые использовались для характеристики состава и доказательства включения хитозана и биологически активных препаратов в состав гибридных частиц, необходимо особо отметить ИК-спектроскопические исследования: столь сложные многокомпонентные системы требуют особой подготовки образцов, подбора концентраций и нормирования спектров, то есть решения задач, требующих специальной квалификации, которая позволила диссертанту интерпретировать полученные результаты.

В результате следующего этапа исследований в кальцийфосфатные частицы, покрытые хитозаном, удалось включить два препарата с различным механизмом лечебного действия – высокомолекулярный фермент СОД1 (32,5 кДа) и низкомолекулярный ингибитор АПФ эналаприлат (348 Да) с высокой эффективностью – 30% и 60% соответственно. Проведенные исследования скорости и характера кривых высвобождения лекарственных соединений *in vitro* и динамики снижения внутриглазного давления (ВГД) у кроликов *in vivo* показали, что гибридные частицы на основе фосфата кальция и хитозана могут служить перспективными носителями как низкомолекулярных соединений, например, ингибитора АПФ эналаприлата, так и высокомолекулярных, таких как фермент СОД1, обеспечивающими медленное высвобождение препаратов в раствор, увеличение времени их удерживания в слезной жидкости и длительную и устойчивую эффективность действия. Гибридные частицы в течение продолжительного времени могут поставлять лекарственный препарат во

внутренние области глаза, поддерживая его концентрацию на уровне, достаточном для снижения ВГД. Разный механизм действия препаратов обеспечил синергическое действие совместно включенных в гибридные частицы эналаприлата и СОД1 на снижение ВГД.

Существенных недостатков в диссертационной работе мною не обнаружено, можно сделать следующие замечания частного характера:

1. Учитывая химическое строение эналаприлата, а именно наличие карбоксильных групп, следовало отдельно исследовать его взаимодействие с хитозаном, и охарактеризовать образующиеся конъюгаты.
2. Диссертант не очень удачно называет исследование влияния условий синтеза на свойства полученных наночастиц «подбором условий» или «подбором соотношений» - таким образом названы некоторые таблицы и главы в диссертации.
3. В работе использованы хитозан и производное хитозана - гликоль хитозан. Не совсем точно называть их «разными хитозанами».

Указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования, в котором содержится решение актуальной для биотехнологии задачи конструирования новых эффективных лекарственных форм на основе биосовместимых биологически активных носителей и современных лекарственных соединений. В целом считаю, что рецензируемая диссертация представляет собой актуальное исследование, выполненное на высоком научном уровне и имеющее практическое значение. Результаты работы опубликованы в высокорейтинговых научных изданиях, автореферат и публикации достаточно полно отражают содержание диссертации.

Достоверность представленных в диссертации данных и сделанных выводов определяется использованием большого количества современных методов исследования и выполнением экспериментов на высокоточном оборудовании с обработкой результатов статистическими методами, принятыми в научной практике. Результаты приведены в таблицах с использованием доверительных интервалов.

Диссертационная работа Поповой Екатерины Васильевны «Гибридные частицы на основе фосфата кальция и хитозана как перспективные носители офтальмологических препаратов» отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.6. – Биотехнология (по химическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени кандидата наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Попова Екатерина Васильевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология.

Официальный оппонент:

Заведующая кафедрой химии и технологии полимерных материалов и нанокompозитов Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный университет им. А.Н. Косыгина (Технологии. Дизайн. Искусство)»,

доктор химических наук (05.17.06 – Технология и переработка полимеров и композитов),

профессор

Кильдеева Наталия Рустемовна

Контактные данные:

Тел.: +7 (495) 811-01-01 доб. 1126; e-mail: kildeva-nr@rguk.ru

Адрес места работы: 119071, Российская Федерация, г. Москва, М. Калужская ул., д.1. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный университет им. А.Н. Косыгина (Технологии. Дизайн. Искусство)»

Подпись Кильдеевой Н.Р. заверяю

Ученый секретарь «РГТУ им. А.Н. Косыгина»

Генералова А.В.

15.05.2023