

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Моллаевой Марии Романовны на тему «Системы доставки комплексов металлов и мезо-тетрафенилпорфиринов на основе полимерных частиц для каталитической терапии» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 - Биотехнология

Актуальность работы. Известно, что металлопорфирины (MeП) являются перспективными индукторами АФК, широко используются в качестве катализаторов реакций эпоксицирования, гидроксирования, фотоокисления и окисления. Они применяются в качестве препаратов для фотодинамической терапии (ФДТ), а также для каталитической терапии, основанной на образовании активных форм кислорода (АФК), которые образуются при взаимодействии MeП с субстратом окисления, например, с аскорбиновой кислотой (АК). Комплексы железа (III), марганца (III), кобальта (II), никеля (II) и мезотетрафенилпорфиринов являются эффективными катализаторами химических реакций и вступают в реакцию с АК. Известно, что включение гидрофобных MeП в наночастицы (НЧ) позволяет улучшить их солюбилизацию, снизить неспецифическую токсичность, а также осуществить их пассивную доставку в опухолевые клетки за счет эффекта EPR (enhanced permeability and retention effect). Несмотря на то, что в литературе можно найти подобные наноразмерные системы доставки, эффективность именно НЧ с включенными в них гидрофобными MeП изучена недостаточно. Работа Моллаевой М.Р. посвящена разработке и оптимизации метода получения НЧ на основе сополимера молочной и гликолевой кислот (ПМГК), загруженных MeП, с помощью методологии Бокса-Бенкена и исследованию их цитотоксичности.

Целью данной работы являлась разработка каталитических систем, состоящих из комбинации аскорбиновой кислоты и частиц, содержащих гидрофобные металлокомплексы мезотетрафенилпорфиринов, и исследование их биологической активности.

Таким образом, **актуальность** представленной работы несомненна.

Научная новизна данной работы заключается в том, что автором впервые разработаны и оптимизированы методы получения частицы ПМГК, загруженные комплексами Fe (III), Mn (III), Co (II), Ni (II) и мезотетрафенилпорфиринов. Установлены закономерности влияния некоторых параметров, в частности соотношения вещества к полимеру, концентрации стабилизатора дисперсии, соотношения органической и водной фаз на конечные физико-химические характеристики полученных частиц. Впервые показано, что частицы, содержащие комплексы мезотетрафенилпорфиринов с Fe (III), Mn (III), Ni (II), Co (II), в сочетании с аскорбиновой кислотой являются цитотоксичными для опухолевых клеток нескольких линий (MCF-7, K562, HeLa, SK-OV-3). Кроме того, продемонстрирована более высокая цитотоксическая активность комбинации частиц, загруженных Mn-мезотетрафенилпорфирином с аскорбиновой кислотой, по сравнению с другими каталитическими системами. В модели *in vitro* показано, что использование комбинации этих частиц приводит к апоптозу клеток аденокарциномы молочной железы человека (MCF-7). Кроме того, в модели *in vivo* обнаружено, что частицы с включенным в них Mn-мезотетрафенилпорфирином в комбинации с АК ингибируют рост опухолевых клеток карциномы молочной железы линии 4T1 у мышей линии BALB/c.

Таким образом, **научная новизна** диссертации совершенно очевидна.

Теоретическая и практическая значимость работы. Частицы, загруженные комплексами MeП с Fe (III), Mn (III), Ni (II), Co (II), могут

быть использованы для разработки нового препарата для применения в диагностике и терапии рака. Методы определения цитотоксичности, а также уровня активных форм кислорода и апоптоза после совместной инкубации аскорбиновой кислоты и частиц с MeP можно использовать для оценки каталитической активности системы на основе различных других полимерных частиц.

Общая характеристика диссертационной работы. Диссертация имеет традиционную структуру и состоит из Введения, Литературного обзора, главы Материалы и Методы, главы Результаты и их обсуждение, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 122 страницах, содержит 22 таблицы и 35 рисунков. Библиография включает 249 источников. Хочется особо отметить правильное и очень аккуратное оформление списка литературы.

Глава 1 (Литературный обзор) состоит из двух разделов:

В первом разделе автор рассматривает активные формы кислорода, их источники и регуляцию в клетках (1.1); окислительный стресс как метод лечения опухолевых заболеваний (1.2); каталитическую терапию (1.3). Во втором разделе описаны нанотехнологии в медицине (2.1) и, в частности, в терапии опухолевых заболеваний (2.2). В подразделе 2.3 автором подробно рассмотрены и проанализированы основные типы наночастиц для доставки металлопорфиринов (твёрдые липидные частицы, липосомы, дендримеры, углеродные нанотрубки, неорганические и полимерные частицы). Отдельный подраздел посвящен сополимерам молочной и гликолевой кислот (2.4). Основные методы получения полимерных частиц приведены в подразделе 2.5 (методы эмульгирования, высаливания, преципитации, микрофлюидика). Подраздел 2.6 посвящен оптимизации метода получения частиц с помощью планов Бокса-Бенкена. Кроме этого

автором описано определение константы связывания (2.7) и рассмотрены основные методы анализа полимерных частиц (2.8).

Представленный автором Литобзор хорошо структурирован, написан логично и грамотно, содержит достаточно подробную информацию и дает полное представление о современном состоянии проблемы за последние 6-7 лет. Список литературы впечатляет как по количеству ссылок (249 источников), так и по их качеству. Так, из 249 приведенных автором ссылок приблизительно 50 % от общего количества относятся к периоду 2018-2024 гг. Этот факт может свидетельствовать как о широком кругозоре автора, так и его желании и умении работать с литературой.

В Главе 2 (Материалы и Методы) достаточно полно описаны реактивы и реагенты, оборудование, клетки, а также все использованные в работе методы. Так, в работе приведены подробные протоколы для получения и характеристики полимерных частиц (определение размера частиц, их дзета-потенциала, исследование НЧ методом просвечивающей микроскопии, а также описан рентгеноструктурный анализ, ИК-спектроскопия, изучение кинетики высвобождения MeП из НЧ, анализ связывания MeП с ПМГК и др.).

Результаты работы представлены в Главе 3, которая содержит 6 разделов:

3.1 Оптимизация процесса получения частиц, содержащих металло-порфирины.

3.2 Анализ частиц, содержащих MeП.

3.3 Анализ полученных частиц, загруженных MeП, *in vitro*.

3.4 Оценка токсичности MeП и наночастиц с включенным в них MeП.

3.5 Исследование противоопухолевых свойств каталитической системы MnП-НЧ и АК *in vivo*.

3.6 Исследование биораспределения MnП-НЧ и MnП *in vivo* методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой.

В целом, Глава **Результаты и их обсуждение** очень грамотно структурирована, логично написана и прекрасно проиллюстрирована таблицами, цветными рисунками и микрофотографиями. Эта глава позволяет получить полное представление об очень большом количестве проведенных автором экспериментов и тщательном анализе результатов. Безусловной заслугой автора являются безупречная логика, аккуратность и последовательность в планировании и проведении экспериментов, а также отличная интерпретация и тщательное обсуждение полученных результатов.

Степень достоверности полученных результатов. Исследование выполнено на высоком научном и методическом уровне с применением самых современных методов исследования. Диссертационная работа включает подробное описание использованных методик, для обработки экспериментальных данных использованы методы математической статистики.

Выводы диссертации сформулированы четко и логически вытекают из результатов проведенного исследования.

По материалам диссертационной работы опубликовано 5 статей в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базах Scopus и Web of Science. Особо хочется отметить статьи в очень достойных международных журналах, таких как Int J Mol Sci (IF 5.6 WoS); ACS Appl Bio Materials (IF 4.7 WoS); Free Radical Biol Med (IF 7.4 WoS). Результаты также представлены автором на 11 международных и российских конференциях.

Аннотация полностью отражает содержание диссертации.

При прочтении диссертации возникло несколько комментариев и вопросов, в частности, следующие:

1. Не совсем понятно, зачем в эксперименте по оптимизации процесса получения частиц, содержащих металлопорфирины,

требовалось включение 5 повторов центральных параметров (таблица 5)?

2. Проводили ли исследование по оценке эффективности накопления в клетках свободного Мп-мезо-тетрафенилпорфирина и частиц, его содержащих?

3. При обсуждении цитотоксической активности разработанных каталитических систем было бы целесообразно сравнить их эффект с эффектами, полученными для других каталитических систем, описанных в литературе.

Однако все вопросы и замечания не являются принципиальными и носят характер пожеланий на будущее, а количество обнаруженных опечаток и ошибок для такого объемного текста диссертации (122 страницы) не очень велико.

В целом как диссертационная работа, так и автореферат Моллаевой М.Р. написаны грамотно, прекрасно проиллюстрированы большим количеством фотографий, цветных рисунков и оставляют самое приятное впечатление от чтения данной работы.

Из диссертации также следует, что автором выполнен очень большой объем комплексных исследований с применением самых современных физико-химических методов.

Диссертация Моллаевой М.Р. 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, направления 14, 15), а также всем критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова и оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Моллаева М.Р. заслуживает присуждения
ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 –
Биотехнология.

Официальный оппонент
Главный научный сотрудник,
Руководитель Лаборатории биомедицинских материалов
ГНЦ Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

117 997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10
Тел 8(495) 336 06 00;
email : [redacted]@hotmail.com

доктор химических наук (специальность 03.00.04-Биохимия)



/ Марквичева Е.А./

17.05.2024

Подпись д.х.н. Марквичевой Е.А.

ЗАВЕРЯЮ

Учёный секретарь ИБХ РАН

доктор физико-математических наук



/ Олейников В.А./