

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

Представленная соискателем диссертация посвящена актуальной теме разработки противоопухолевого препарата с механизмом действия, основанном на образовании активных форм кислорода (АФК). В работе предлагается использование комплексов порфиринов с переходными металлами в качестве катализаторов и аскорбиновой кислоты в качестве субстрата окисления в реакции образования АФК внутри опухолевых клеток. Для повышения растворимости гидрофобных комплексов порфиринов автором получены полимерные частицы и оптимизированы условия их получения. На основе экспериментальных данных предложена математическая модель, предсказывающая физико-химические характеристики полимерных частиц при варьировании некоторых параметров их получения. Полученные автором прототипы лекарственных средств широко охарактеризованы физико-химическими методами, определена их биологическая активность. В частности, показано, что комбинация аскорбиновой кислоты и частиц, содержащих Mn-мезо-тетрафенилпорфирин, способствовала повышению уровня активных форм кислорода, повреждению ДНК и митохондрий, стимулировала апоптоз, что имеет важное практическое значение.

Диссертация Моллаевой М.Р. 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, материалы и методы, результаты и их обсуждение,

закключение, выводы, список сокращений и список литературы. Диссертационная работа изложена на 122 страницах машинописного текста, содержит 22 таблицы и 35 рисунков. Список литературы включает 249 источников.

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

В обзоре литературы рассмотрены активные формы кислорода, их источники в клетках, роль в регуляции клеточных процессов, приведены примеры применения АФК в противоопухолевой терапии, в том числе образуемых в результате каталитической реакции. Большая часть литературного обзора посвящена наноразмерным системам доставки металлопорфиринов в опухоли. В частности, рассмотрены преимущества и недостатки твердых липидных частиц, липосом, дендримеров, углеродных нанотрубок, неорганических и полимерных частиц. Особое внимание уделено частицам на основе сополимера молочной и гликолевой кислот, который был использован в работе. Описаны основные методы получения таких частиц, в том числе методы эмульгирования, высаливания, преципитации и использование микрофлюидных систем. Широко описаны методы характеристики полимерных частиц, использованные автором в работе. Уделено внимание методу динамического светорассеивания, электрофоретического рассеивания света, ИК-спектроскопии, сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии, методам исследования кинетики высвобождения вещества из частиц, а также биологическим методам определения специфической противоопухолевой активности и окислительного стресса. В совокупности, описанные в обзоре литературы данные позволили обосновать выбор каталитической системы, полимерного носителя на основе молочной и гликолевой кислот, а также методологии проведенного исследования.

В главе “Материалы и методы” приведены использованные в работе реактивы и оборудование, клеточные линии и лабораторные животные. Подробно описаны методы, использованные при получении и анализе полимерных частиц, а также при расчетах математической модели. Соискатель использовала широкий комплекс современных методов исследования, таких как динамическое светорассеивание, микроскопия, рентгеноструктурный анализ, ИК-спектроскопия, спектрофотометрия, проточная цитофлуориметрия, множество клеточных методов исследования.

Третья глава диссертации посвящена результатам работы и их обсуждению и разделена на несколько разделов, отражающих логику исследования. Оптимизация получения частиц была проведена с использованием методологии Бокса-Бенкена. Адекватность полученной модели была подтверждена экспериментальными данными. Автором обнаружены взаимодействия сополимера молочной и гликолевой кислот с металлопорфиринами и охарактеризован двухфазный профиль высвобождения веществ из частиц. С использованием МТТ-теста было показано, что частицы с мезо-тетрафенилпорфиринами Mn, Fe, Co, Ni обладают цитотоксической активностью в комбинации с аскорбиновой кислотой. Наиболее перспективная комбинация, состоящая из полимерных частиц с мезо-тетрафенилпорфирином марганца и аскорбиновой кислоты, стимулировала образование активных форм кислорода в клетках. Данные активные формы кислорода обнаруживались в тестах с 2,7-дихлорфлуоресцеиндиацетатом и приводили к фрагментации ДНК, снижению потенциала мембраны митохондрий, снижению колониеобразующей активности и к гибели опухолевых клеток по пути апоптоза. В ходе экспериментов *in vivo* обнаружен высокий уровень накопления частиц в опухоли, приводящий к снижению скорости роста новообразования и повышению продолжительности жизни мышей BALB/c. Таким образом, в ходе выполнения диссертационной работы Моллаевой М.Р. были получены важные результаты, обладающие научной новизной. Разработанные в

диссертации подходы могут быть использованы при проведении доклинических исследований и при получении инкапсулированных противоопухолевых каталитических систем и имеют важное практическое значение.

По работе имеется несколько замечаний:

1. В работе отсутствует информация о получении и анализе используемых металлопорфиринов, являющихся основным объектом исследований. Не приведены структуры этих соединений, реакции их синтеза, данные, подтверждающие их основные характеристики, свойства и строение.
2. Исследование цитотоксичности препаратов проводилось в отношении клеток линий HeLa (карцинома шейки матки человека), MCF-7 (аденокарцинома молочной железы человека), K562 (хронический миелогенный лейкоз человека) и SK-OV-3 (аденокарцинома яичника человека). Все эти линии клеток являются опухолевыми. При этом не была исследована цитотоксичность препаратов на линиях нормальных, здоровых клеток, что важно для оценки возможности применения разрабатываемых препаратов. Кроме того, результаты исследования цитотоксичности представлены значениями средних ингибирующих концентраций, что позволяет сравнить только исследованные препараты между собой. Для более объективной картины, следовало бы представить результаты цитотоксических исследований в виде стандартных диаграмм с выживаемостью клеток.
3. При оценке токсичности препаратов на экспериментальных животных по среднесмертельным дозам, следовало бы классифицировать их по токсичности, с использованием какой-то из общепринятых классификаций, а также сравнить полученные

значения токсикометрических параметров, со значениями уже существующих и используемых лекарственных препаратов.

4. В работе не обсужден выбор готовой лекарственной формы и способ введения в организм новой каталитической системы на основе полимерных частиц с металлопорфиринами в комбинации с аскорбиновой кислотой, а также способы стерилизации данных препаратов.
5. В литературном обзоре отсутствуют выводы из проведенного анализа литературы. Также, некоторые разделы обзора, прежде всего, касающиеся методов исследования, очень маленького объема (состоят всего из одного абзаца). Возможно, их стоило бы объединить в один раздел, или убрать из обзора, так как они несут небольшой объем информации.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости данного диссертационного исследования. Диссертация 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 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Моллаева Мария Романовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Официальный оппонент:

Доктор химических наук, доцент
Заведующий кафедрой технологии
химико-фармацевтических и косметических средств
Российского химико-технологического университета
имени Д.И. Менделеева

Кусков Андрей Николаевич

15.05.2024

Контактные данные:

Тел.: 7(495)495-24-06, e-mail: kuskov.a.n@muctr.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), 02.00.06 –
высокомолекулярные соединения

Адрес места работы:

125047, Россия, г. Москва, ул. Миусская площадь, д. 9

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Российский химико-технологический университет
имени Д.И. Менделеева»

Тел.: +7 (499) 978-86-60, e-mail: pochta@muctr.ru

Подпись А.Н. Кускова заверяю

