

## ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата химических наук Соболевой Оксаны Анатольевны на диссертацию Мищенко Екатерины Валерьевны на тему «Разработка способов получения и изучение свойств липидных наночастиц для доставки лекарственных соединений», представленную на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 2.6.6. Нанотехнологии и наноматериалы.

Диссертационная работа Мищенко Екатерины Валерьевны посвящена вопросам теории и практики создания, изучения и применения прямых наноэмульсий (НЭ) и водных дисперсий твердых липидных наночастиц (ТЛН). **Практическая значимость** работы не вызывает сомнений, поскольку НЭ и ТЛН можно использовать, прежде всего, как средства доставки лекарств. Несомненным достоинством работы является использование полученных систем для инкапсулирования ряда лекарственных веществ и доказательство эффективности использования полученных систем в медицинских целях. **Актуальность** работы обусловлена как чрезвычайной востребованностью разработок методологии создания лекарственных форм из биосовместимых соединений, обладающих агрегативной и седиментационной устойчивостью в широком интервале температур, так и необходимостью решения ряда физико-химических задач для обеспечения целевых характеристик систем. Для установления причин устойчивости и механизмов разрушения НЭ и дисперсий ТЛН автором был успешно решен ряд задач, имеющих самостоятельную **научную ценность**. К числу таких задач следует отнести определение температуры инверсии фаз (ТИФ) изученных систем, изучение агрегативной и седиментационной устойчивости систем и применение имеющихся теорий кинетики разрушения коллоидных систем для определения механизма потери агрегативной устойчивости, установление взаимосвязи устойчивости систем с агрегатным состоянием адсорбционных слоев смесей ПАВ, стабилизирующих системы. Другой задачей исследования было установление влияния полярности и агрегатного

состояния как ядра наночастиц, так и адсорбционных слоев ПАВ на дисперсность и устойчивость изученных систем. Проблема устойчивости дисперсных систем остается одной из центральных в коллоидной химии, и установление природы устойчивости эмульсий и суспензий, стабилизированных смесями неионогенных ПАВ, является важным результатом с научной и методической точки зрения, поскольку предложенная методика исследования может быть использована для изучения различных эмульсий и суспензий, стабилизированных смесями ПАВ. Для решения поставленных задач проведен четко спланированный эксперимент по поиску оптимальных условий получения НЭ и дисперсий ТЛН – носителей лекарственных веществ с привлечением комплекса современных физико-химических методов исследования дисперсных систем. Полученные результаты достоверны и выводы, сделанные на основе их анализа, обоснованы.

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, раздела с результатами экспериментальных исследований и их обсуждением, заключения и списка цитируемой литературы. Материал изложен на 161 странице, содержит 67 рисунок и 21 таблицу, введение, 3 главы, заключение и список используемой литературы.

Во **введении** сформулирована цель работы, обсуждена актуальность, научная новизна и практическая значимость проводимого исследования. Приведены сведения, которые подтверждают достоверность полученных результатов и личный вклад автора, указано число публикаций и описана структура диссертации.

В **первой главе** содержится обзор литературы, в котором представлены различные способы получения НЭ и ТЛН, проведен анализ современных работ, относящихся к получению, изучению и способам стабилизации таких систем. Обоснованы преимущества использования метода инверсии фаз и принципы подбора стабилизаторов дисперсных систем. В отдельной главе дан обзор областей применения НЭ и дисперсий

ТЛН как платформ для доставки лекарственных веществ. Обзор литературы содержит ссылки на 188 источников, включая современные научные исследования в данной области 2020-2022 гг.

**Вторая глава** начинается с описания объектов и методов исследования. Рассмотрены методики экспериментов и их аппаратное оформление, включая методы динамического рассеяния света, просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) и крио-ПЭМ. Для определения температуры инверсии фаз был использован метод кондуктометрии. Для исследования устойчивости НЭ и дисперсий ТЛН к седиментации использовали оптические методы, основанные на пропускании и обратном светорассеянии. Для определения структуры липидных наночастиц были определены температуры фазовых переходов с помощью метода дифференциально-сканирующей калориметрии (ДСК) и микрокалориметрии. Богатая методическая часть является несомненным достоинством данной работы. Все использованные в работе методы адекватны поставленным задачам и объектам исследования, все измерения проведены на современном сертифицированном оборудовании. Содержание данного раздела позволяет считать, что полученные автором данные являются **достоверными**.

Основные результаты и их обсуждение представлены в **третьей главе** диссертации. Получены прямые НА, в которых дисперсной фазой являются парафиновое масло или олеиновая кислота и ТНЧ, ядро которых состоит из парафина или стеариновой кислоты. В качестве стабилизаторов использовали смесь водо- и маслорастворимых ПАВ: Tween 80 + Span 80 или Tween 60 + Span 60. В молекулах первой смеси ПАВ неполярным является олеиновый фрагмент, во втором – стеариновый. Определена агрегативная и седиментационная устойчивость полученных систем и сделан вывод, что наибольшим стабилизирующим действием обладают смеси Tween 60 + Span 60. Из анализа зависимостей размеров частиц от времени показано, что разрушение эмульсий на начальной стадии происходит по механизму

коалесценции, а затем – по смешанному механизму, включающему коалесценцию и освальдово созревание. Из анализа термического поведения систем сделан вывод, что эффективным стабилизатором являются твердообразные адсорбционные слои Tween 60 + Span 60.

В устойчивые НЭ и дисперсии ТЛН на стадии их получения были инкорпорированы лекарственные соединения (доксорубин и тимохинон) и продемонстрирована высокая эффективность полученных композиций. На основании определения температурных характеристик НЭ и ТЛН с инкапсулированными лекарственными соединениями, а также исследования изменения межфазного натяжения на границе системе вода / парафиновое масло / лекарственное соединение, был сделан вывод, что данные лекарственные соединения могут встраиваться в адсорбционный слой ПАВ во время получения липидных наночастиц. При этом тимохинон в большей степени, а доксорубин в меньшей степени растворяются в липидном ядре.

А работе также были изучены потенциальные области применения липидных наночастиц. Были исследованы эффективности накопления и локализации НЭ и ТЛН в раковых клетках *in vitro*. Был продемонстрирован размерный эффект, который проявлялся в том, что более мелкие липидные наночастицы быстрее проникали внутрь клеток и накапливались в ядрах. Также была проведена оценка цитотоксичности НЭ и ТЛН ненагруженных и нагруженных доксорубином и тимохиноном на раковых клеточных монослойных линиях и опухолевых сфероидах. Показано, что ненагруженные НЭ и ТЛН проявляли низкую цитотоксичность. Цитотоксичность нагруженных лекарственными соединениями липидных наночастиц резко возрастала.

Было проведено исследование противовоспалительной активности модифицированных катионогенными ПАВ наноэмульсий, содержащих индометацин. Получены устойчивые к агрегации и седиментации в течение более 20 суток НЭ с дисперсной фазой из олеиновой кислоты, стабилизированные смесью ПАВ Tween 80 и Span 80 с добавлением 1 мас.%

цнтилтриметиламмоний бромида или УР-16. Исследован выход индометацина во внешний фосфатный буферный раствор из диализного мешка. Полученные данные свидетельствуют о том, что процесс диффузии индометацина, инкапсулированного в НЭ, протекал значительно медленнее, чем при использовании раствора индометацина. Исследована противовоспалительная активность НЭ с инкапсулированным индометацином. Максимальный противовоспалительный эффект был достигнут при использовании НЭ с добавлением 1 мас.% УР-16. Таким образом, был сделан вывод, что НЭ и ТЛН могут быть использованы как системы доставки разных типов лекарственных соединений.

В заключительной части работы рассмотрено альтернативное использование дисперсий: показана возможность получения красок на основе дисперсий ТЛН из пчелиного воска и минеральных пигментов. На основании проделанной работы сформулировано заключение, содержащее основные выводы, вытекающие из результатов исследования.

Несмотря на общее положительное впечатление, по диссертационной работе Мищенко Е.В. есть несколько замечаний и вопросов, требующих пояснения.

1. В работе отсутствует какие-либо характеристики используемых ПАВ: химическое строение, числа ГЛБ, молекулярная масса, растворимость в воде, точка помутнения. В той или иной степени эти данные могут быть привлечены для объяснения полученных результатов. Это же замечание относится к лекарственным веществам. Для лучшего понимания их локализации в изученных системах и обнаруженной автором поверхностной активности лекарственных веществ, следовало бы привести их химические формулы.

2. Отсутствие внятного и четкого описания основной методики получения изученных систем. Что собой представляют исходные системы, которые автор называет «смесь компонентов»? Это просто смесь или дисперсная система? Как добавляли ПАВ, растворяли ли компоненты в

водной и неполярной фазах или сразу использовали смесь ПАВ? До какой температуры эти системы нагревали, как охлаждали (медленно или быстро) и до какой температуры. Все эти данные в работе отсутствуют, что затрудняет воспроизведение использованных автором методик.

3. Требуется более четко ответить на вопрос о локализации ПАВ в системах и о взаимодействиях поверхностно-активных компонентов в адсорбционных слоях, о роли олеиновой и стеариновой кислот как со-ПАВ. Происходит ли перераспределение ПАВ между фазами, в частности, их растворение в олеиновой кислоте? Следовало бы также более четко обосновать выбранную концентрацию ПАВ. Соответствует ли эта концентрация формированию насыщенного монослоя на поверхности частиц?

4. В чем причина отрицательного значения  $\zeta$ -потенциала капель НЭ, стабилизированных НП АВ, особенно капель парафинового масла? В методической части указано, что был измерен  $\zeta$ -потенциал НЭ и ТЛН, однако данные о  $\zeta$ -потенциалах твердых наночастиц в диссертации отсутствуют.

5. Из текста работы не понятна роль катионных ПАВ в повышении устойчивости НЭ, поскольку электростатическое отталкивание в системах при добавлении катионных ПАВ остается очень небольшим ( $\zeta$ -потенциал близок к нулю при добавлении УР-16 и составляет 2 мВ при добавлении цетилтриметиламмоний бромида).

6. Для НЭ полученные значения ТИФ (70-80°C) примерно на 50°C выше температуры хранения эмульсий. Известно, что минимальное значение поверхностного натяжения достигается при ТИФ и поверхностное натяжение увеличивается при отклонении от ТИФ в ту или иную сторону. Не следует ли для обеспечения большей устойчивости подбирать композиции ПАВ с меньшим значением, ТИФ? К тому же высокие значения ТИФ требуют нагрева лекарственных веществ для их инкорпорирования в НЭ. Высокая температура может вызвать деструкцию молекул, что ограничивает круг использования предложенных композиций.

7. Диссертация в целом написана хорошим, ясным языком, прекрасно иллюстрирована. Тем не менее, в тексте содержится несколько опечаток (на стр. 27, 63, 76, 89), на стр.33 перепутаны описания прямой и обратной седиментации. На стр.58, по-видимому, ошибочно написано, что «агрегативная устойчивость будет снижаться при увеличении сродства дисперсной фазы к дисперсионной среде».

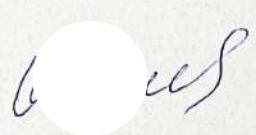
Перечисленные замечания не влияют на общую положительную оценку диссертации. Диссертация Е.В.Мищенко представляет собой законченную научно-квалификационную работу. Основные научные положения и выводы, изложенные в диссертации, оригинальны, перспективны для дальнейшего практического использования и являются результатом самостоятельной научно-исследовательской работы автора.

Автореферат и публикации, включающие 3 статьи в рецензируемых периодических изданиях и 14 тезисов докладов на международных и всероссийских конференциях, в полной мере отражают содержание диссертации.

Можно заключить, что диссертационная работа Мищенко Екатерины Валерьевны «Разработка способов получения и изучение свойств липидных наночастиц для доставки лекарственных соединений» является завершенным научным исследованием, по своей актуальности, научной новизне, объему и практической значимости полученных результатов соответствует требованиям, установленным Положением о порядке присуждения степеней в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», утверждённым приказом ректора №1523с от 17.09.2021 г., предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, и соответствует паспорту специальности 2.6.6 «Нанотехнологии и наноматериалы» в части 1 (Методы получения наноматериалов, композитных структур, структур пониженной размерности, приборов и интегральных устройств на их основе.) и 2 (Структурные,

морфологические и механические свойства наноматериалов и композитных структур на их основе), а автор работы Мищенко Екатерина Валерьевна достойна присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 2.6.6 нанотехнологии и наноматериалы.

Официальный оппонент, кандидат химических наук (кандидатская диссертация по специальности 02.00.11 – коллоидная химия), доцент, доцент кафедры коллоидной химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

  
Соболева Оксана Анатольевна

Декан Химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова, доктор химических наук, профессор   
Карпенко Сергей Сергеевич

11.08.2023 г.