

ОТЗЫВ

официального оппонента, кандидата фармацевтических наук, доцента, **Мустафина Руслана Ибрагимовича**, на диссертацию **Мирошкиной Анастасии Максимовны** «Получение наноструктурированных частиц для управляемой доставки и высвобождения действующего вещества для фотодинамической терапии», представленную в диссертационный совет ДСУ 208.002.01 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – Технология получения лекарств

Актуальность темы исследования

Одной из актуальных проблем современной фармацевтической технологии является разработка систем доставки лекарственных веществ на основе микро- и нано-носителей, что позволило бы увеличить эффективность действия лекарственных веществ и снизить количество системных побочных эффектов. Использование подобных систем доставки в химиотерапии и фотодинамической терапии способствует накоплению микрочастиц в опухоли и локализации цитотоксического действия лекарственного вещества, что, в свою очередь, позволяет избежать побочных системных эффектов при введении препарата в системный кровоток: в частности, проявления нежелательного фотодинамического эффекта фотосенсибилизатора на открытых участках кожи на свету. Инкапсулирование фотосенсибилизатора в составе микрочастиц также позволяет использовать такие частицы в качестве диагностирующих агентов, за счет наличия у фотосенсибилизатора собственной флуоресценции. Включение в полимерную матрицу микрочастиц магнитных наночастиц позволяет рассмотреть вопрос о контролируемой доставке лекарственных веществ, что значительно увеличит эффективность онко-терапий.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Все представленные результаты научных исследований в диссертационной работе **Мирошкиной А.М.** обоснованы и подтверждены логикой обработки первичных экспериментальных данных. Достоверность полученных результатов обеспечена достаточным объемом и повторностью проведенных исследований, их воспроизводимостью, использованием статистических и технологических методов.

Результаты проведенных исследований представлены в виде докладов и тезисов на научных мероприятиях международного и всероссийского уровня.

Все экспериментальные исследования выполнены лично автором или при ее непосредственном участии.

По материалам данного исследования подготовлено и опубликовано 8 научных работ, в изданиях из Перечня Университета/Перечня ВАК при Минобрнауки России – 2 статьи, в журналах, включенных в международную базу данных Scopus – 1 статья, в иных изданиях – 5 статей.

Опубликованные научные работы полностью отражают основное содержание диссертационной работы.

Достоверность полученных результатов и научная новизна исследования

При выполнении научной работы в ходе осуществления экспериментов и анализов использованы соответствующие физико-химические методы исследования; сертифицированное, современное оборудование, имеющее действующее свидетельство о проверке.

Воспроизводимость и правильность полученных экспериментальных данных подтверждена статистическими методами, что доказывает их эффективность.

Полученные с помощью различных методов данные согласуются между собой и взаимно дополняют друг друга. Выводы и положения, выносимые на защиту, обоснованы и логичны.

На основании проведенных теоретических и экспериментальных исследований и их результатах были разработаны три метода получения наноструктурированных микрочастиц с инкапсулированным фотосенсибилизатором: через множественные эмульсии вода/в масле/в воде (В/М/В) и вода/в масле/в масле (В/М/М), и через множественную дисперсию твердое/в масле/в воде (ТВ/М/В). Были изучены физико-химические и морфологические свойства полученных микрочастиц, доказано проявление ими фотодинамических свойств. Проведена оценка цитотоксичности микрочастиц на культуре клеток трех клеточных линий, изучен профиль высвобождения фотосенсибилизатора из полимерной матрицы. Теоретически и экспериментально обосновано применение таких микрочастиц в качестве терапевтических агентов пролонгированного действия для фотодинамической терапии опухолей.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

В ходе реализации задач исследования были разработаны три метода получения полимерных микрочастиц с инкапсулированным фотосенсибилизатором – Радахлорином, наработаны серии микрочастиц для оценки их морфологических, физико-химических, фотодинамических и цитотоксических свойств. Определена значимость их использования

в качестве терапевтических агентов для фотодинамической терапии, теоретически предложена и обоснована наиболее вероятная лекарственная форма. Представленные данные легли в основу спецификации полученных микрочастиц, дополняют научную литературу по этой теме и могут быть основой для дальнейшей разработки лекарственной формы и проведения доклинических исследований.

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтической технологии Института Фармации им А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первого Московского государственного медицинского университета им И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), акт о внедрении прилагается.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.04.01 – Технология получения лекарств. Результаты проведенных исследований соответствуют пунктам 1, 3 и 4 паспорта специальности.

Охарактеризовать кратко структуру и оценить содержание диссертации

Диссертационная работа Мирошкиной А.М. изложена на 133 страницах компьютерного текста. Работа имеет классическую структуру, состоит из оглавления, введения, обзора литературы, материалов и методов, трех глав экспериментальных исследований, общих выводов, списков сокращений и условных обозначений и литературы, а также двух приложений. Список цитируемой литературы содержит 171 источник, из них 155 на иностранных языках.

Во введении автором показана актуальность проведенного исследования и предшествующие достижения науки в этой области, сформулированы цель и задачи диссертационной работы, раскрыта ее научная новизна, теоретическая и практическая значимость, полученные результаты отражены в положениях, выносимых на защиту.

Основная часть диссертационной работы разделена на 5 глав.

Первая глава представляет собой обзор научной литературы по исследуемой теме. В работе приведена характеристика и оценка метода фотодинамической терапии, классификация используемых фотосенсибилизаторов, дан анализ существующих систем доставки на основе микро- и нано-носителей. Грамотно описаны методы получения микрочастиц, проведен анализ основных компонентов. В качестве выводов обоснована актуальность исследуемой темы.

В **главе 2. «Материалы и методы исследования»** представлены методы получения микрочастиц, а также описаны материалы и методы исследования.

Глава 3. «Характеристика морфологии и размеров микрочастиц» содержит сравнительную характеристику микрочастиц, полученных методом множественных

эмульсий В/М/В и В/М/М, а также характеристику микрочастиц, полученных по методу множественной дисперсии ТВ/М/В. Представлены микрофотографии частиц, в том числе фотографии с конфокального микроскопа, приведены данные содержания в микрочастицах Радахлорина и процент его включения в полимерную матрицу. В выводах к главе определена прямая зависимость между разницей в морфологии и структуре полученных микрочастиц, процента содержания в них действующего вещества и используемого метода получения. Обоснован дальнейший анализ микрочастиц, полученных только по методам множественной эмульсии В/М/М и множественной дисперсии ТВ/М/В.

В главе 4. «Оценка фотодинамических свойств полученных микрочастиц» описана способность микрочастиц к генерации синглетного кислорода при облучении красным светоизлучающим диодом с излучением в области длинноволновой полосы (660 нм). Определена зависимость увеличения образования частицами синглетного кислорода от включения в состав микрочастиц магнитных наночастиц и перфторуглеродов. Оценен профиль высвобождения Радахлорина из микрочастиц разного состава, и возможность использования таких микрочастиц в качестве систем доставки с пролонгированным высвобождением.

В главе 5. «Оценка цитотоксических свойств» представлены результаты испытания микрочастиц на цитотоксичность. Определено, что микрочастицы, полученные с помощью методов множественной эмульсии В/М/М и множественной дисперсии ТВ/М/В обладают выраженной цитотоксичностью по отношению к опухолевым клеткам. Доказано внутриклеточное нахождение микрочастиц у трех клеточных линий без существенного изменения в плотности монослоя. Значительное угнетение клеточного метаболизма показано у микрочастиц с включением в состав магнитных наночастиц и перфторуглеродов, что указывает на перспективу направления модернизации микрочастиц с помощью добавления дополнительных компонентов.

Общие выводы сформулированы четко, в соответствии с поставленными задачами.

В приложениях представлены спецификация на «Микрочастицы, полученные через метод множественной дисперсии ТВ/М/В» и акт внедрения.

Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям и выводам диссертации.

Отметить достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертационная работа Мирошкиной А.М. выполнена на высоком научном уровне с использованием необходимых современных методов исследования. Каждая глава резюмируется выводами, которые кратко описывают промежуточные результаты

исследования. Общие выводы в диссертации и автореферате полностью отражают итоги научной работы соискателя научной степени.

Оппонируемая работа в целом заслуживает положительной оценки, однако имеется ряд вопросов и комментариев:

1. Соискатель использует много сокращений, список которых приведен в диссертации, однако, по нашему мнению, их использование в тексте работы не только затрудняет восприятие работы, но, порою явно ошибочно. Так, например, сокращение «НЧ» - наночастицы и «МЧ» - микрочастицы частенько используются как равнозначные и, в силу приведенных их размеров, скорее относятся к микрочастицам.
2. Вашей работе разработаны три метода получения полимерных микрочастиц, однако в качестве основного метода получения Вы указываете метод получения через множественную дисперсию твёрдое/в масле/в воде. Поясните, чем обусловлен выбор именно этого метода.
3. Не могли бы Вы пояснить, чем обусловлен выбор соотношения лецитин: полимер (1 : 25) в случае получения микрочастиц через метод множественной дисперсии?
4. Прошу пояснить значительное увеличение содержания радахлорина у микрочастиц, в состав которых были введены магнитные наночастицы. Чем, по Вашему мнению, это может быть обусловлено?
5. Почему для оценки высвобождения был выбран столь многостадийный и сложный в исполнении метод экстракции радахлорина, а не куда более простой метод диффузии через полупроницаемую мембрану с помощью вертикальной ячейка Франца и/или с помощью стандартизованных наноадапторов Float-A-Lyzer[®] G2, рекомендованные USP для оценки высвобождения из наноразмерных систем доставки лекарств?
6. Не очень понятно, почему при оценке цитотоксичности микрочастиц (обычно в литературе подобная оценка проводится для наноразмерных частиц) используются клеточные линии яичников, меланомы и аденокарциномы, различающиеся источником их происхождения: китайский хомячок, мышь и человек, соответственно. Кроме того, почему, одна из клеточных линий (яичники китайского хомячка), представляет здоровые клетки (если это так), в то время как две другие с онкопатологией (меланома мыши и аденокарциномы человека)? Являются ли в данном случае здоровые клетки контролем?
7. Почему, приведенные на рисунках 23 и 27 фотографии исследования монослоев клеток с помощью двух видов микроскопии (в проходящем свете и

флуоресцентной) показаны в монохромном варианте, при рассмотрении которых, к сожалению, оценить видимые изменения затруднительно? Кроме того, в случае флуоресцентной микроскопии, не был, по всей видимости, корректно выставлен фокус, в результате чего на приведенных фото отсутствует контрастность и произвести их оценку не представляется возможным.

8. В работе встречается ряд неудачных выражений типа: «неполимерные носители играют роль в сшивании полимерных цепей, таким образом формируя и укрепляя полимерную сеть», «взрывное высвобождение» (стр. 46), «кислота-полиэтиленгликоль» (стр. 48), «протеиновых фармацевтических субстанций» (стр. 50), «созревшие частицы» (стр. 61), «рассматривать МЧ в качестве перспективной ЛФ с пролонгированным высвобождением», «наноструктурированных МЧ» (стр. 104) и т.п.

Указанные замечания не носят принципиального характера и не снижают ценности проведенного исследования, достоверности и несомненных достоинств данной диссертационной работы.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Мирошкиной А.М. на тему «Получение наноструктурированных частиц для управляемой доставки и высвобождения действующего вещества для фотодинамической терапии» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – Технология получения лекарств является законченной научно-квалификационной работой, в основе которой заложена одна из актуальных для фармацевтической отрасли задач по разработке систем доставки фотосенсибилизатора на основе полимерных микро- и нано- носителей с возможностью управляемой доставки, накопления частиц в клетках опухоли, и пролонгированного высвобождения действующего вещества.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов, диссертационная работа Мирошкиной А.М. соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора от 31.01.2020 г. № 0094/Р,

предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Мирошкина Анастасия Максимовна, заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 14.04.01 – Технология получения лекарств.

Официальный оппонент

кандидат фармацевтических наук,
(15.00.01 – Технология лекарств и организация фармацевтического дела), доцент,
директор Института Фармации
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Казанский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,



Мустафин Руслан Ибрагимович

«08» июня 2022 г.

Адрес: Российская Федерация, 420126, Республика Татарстан, г. Казань,
ул. Ф.Аминова, 16, телефон: 8 (917) 399-90-48, эл.почта: ruslan.mustafin@kazangmu.ru

Подпись И. Г. Мустафин
Мустафин Руслан Ибрагимович заверяю.
Учёный секретарь Учёного Совета ФГБОУ
ВО Казанский ГМУ Минздрава России,
д.м.н. И. Г. Мустафин
« 08 » июня 2022 г.