

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

доктора фармацевтических наук, профессора Алексева Константина Викторовича на диссертационную работу Гордеевой Дарьи Сергеевны «Разработка поликомплексных микро- и наноразмерных частиц на основе полимеров фармацевтического назначения для интраназальной доставки леводопы в мозг», представленную в диссертационный совет ДСУ 208.002.02 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств.

**Актуальность темы исследования.** Согласно Стратегии развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2030 года (утверждена распоряжением Правительства Российской Федерации от 7 июня 2023 г. № 1495-р), основной из целей государственной политики в сфере охраны здоровья граждан является внедрение в практику новых медицинских технологий и инновационных лекарственных средств, обладающих улучшенными характеристиками. К таким разработкам, безусловно, следует отнести лекарственные средства для интраназальной доставки в мозг, полученных на основе поликомплексных микро- и наноразмерных частиц.

Лекарственное средство (ЛС), введенное интраназально, через обонятельные луковички поступает в головной мозг напрямую, минуя защитные механизмы организма. Система мукоцилиарного клиренса приводит к снижению биодоступности, так как ЛС не успевает проникнуть в обонятельную область, смывается и заглатывается в ЖКТ. В связи с этим, перспективным направлением становится разработка и исследование носителей, обладающих мукопроницающими или мукоадгезивными свойствами, для их интраназального применения в терапии заболеваний ЦНС. Основными достоинствами подобных систем можно считать быстрое проявление фармакологического действия, увеличение биодоступности препарата и тем самым повышение эффективности фармакотерапии. Решение данных задач предложено в диссертационной работе Гордеевой Дарьи Сергеевны.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.** Диссертационную работу Гордеевой Дарьи Сергеевны характеризует высокий научно-методический уровень ее выполнения. Научные

положения, выводы и практические рекомендации, представленные в диссертации, обоснованы и подтверждены достаточным объемом проведенных испытаний, а также применением высокотехнологичных методов анализа и современного оборудования.

Научные положения и выводы диссертационной работы полностью соответствуют поставленным цели и задачам, четко аргументированы и логично следуют из полученных автором результатов.

**Достоверность полученных результатов и научная новизна исследования.** Автором получен необходимый объем экспериментального материала. Применение современных методов исследования и сертифицированного оборудования обеспечивают достоверность полученных результатов. Методами статистической обработки установлена воспроизводимость и правильность результатов исследований. Установлена взаимосвязь между критическими факторами и влиянием характеристик состава и процесса.

Научная новизна диссертационной работы Гордеевой Дарьи Сергеевны заключается в разработке и апробации методики получения химически модифицированного полимера ЕРО, производного поли(мет)акриловой кислоты, с применением 4-бромфенилбороновой кислоты (4БФБК), обладающего улучшенными мукоадгезивными свойствами – ВЕРО (Патент РФ «Способ получения носителя биологически активных соединений» № 2817985 от 23.04.2024 г. Приоритет от 11.08.2023 г.).

Методом ультразвукового электрораспыления получены альгинатные МК, покрытые ЕРО и ВЕРО, обладающие мукоадгезивными свойствами для их применения в системах интраназальной доставки леводопы в головной мозг.

Получены ПЭГилированные липосомы методом «гидратация липидной пленки». Доказано улучшение мукопроникающих свойств с применением липидов природного происхождения, что перспективно для их использования в системах доставки леводопы из носа в мозг.

**Значимость полученных результатов для науки и практики.** Научная значимость диссертационного исследования состоит в анализе имеющихся научных данных о мукоадгезивных и мукопроникающих систем интраназальной доставки ЛС для лечения нарушений ЦНС. Разработаны и научно-обоснованы подходы к получению и анализу интраназальной системы доставки леводопы для лечения болезни Паркинсона с применением микро- и наноразмерных частиц, которые внедрены в учебный процесс

ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России и работу молодежной научной лаборатории «Систем направленной доставки лекарственных средств» ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.

Практическая значимость работы заключается в том, что разработана технология получения нового носителя – модифицированного ЕРО с применением 4БФБК с улучшенными мукоадгезивными свойствами – ВЕРО.

Разработан проект НД по качеству на «Полимерный носитель биологически активных соединений на основе модифицированной формы катионного терполимера на основе производных метакриловой кислоты (диметиламиноэтилметакрилат, метилметакрилат и бутилметакрилат) с применением 4-бромфенилбороновой кислоты» для «ООО «ИнтерЛЕК».

Разработан лабораторный регламент на производство полимерного носителя биологически активных соединений на основе модифицированной формы Eudragit® ЕРО с применением 4-бромфенилбороновой кислоты. Проведена наработка экспериментальной партии «Носитель биологически активных соединений» на АО «Татхимфармпрепараты».

Разработана составы и технология микрокапсул, покрытых ЕРО и ВЕРО, обладающие мукоадгезивными свойствами, и ПЭГилированные липосомы, обладающие мукопроницающими свойствами, которые могут быть использованы в системах интраназальной доставки леводопы в головной мозг.

**Соответствие диссертации паспорту специальности.** Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 3.4.1. «Промышленная фармация и технология получения лекарств», а именно: пункту 3 – Исследование биофармацевтических аспектов в технологии получения лекарственных средств, их дизайн и изучение фармацевтических факторов, влияющих на биодоступность. Разработка и валидация биоаналитических методик. Исследование стабильности лекарственных средств.

**Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук.** Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России (№ гос. регистрации 0120.0805878). Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ №20-65-46007 «Инновационные подходы к созданию лекарственных форм для трансмукозальной доставки веществ в мозг», руководитель – доц. Мустафин Р.И. (2020 – 2022 гг.), гранта РНФ №23-15-00263 «Разработка

поликомплексных систем доставки для создания инновационных лекарственных препаратов с модифицированным высвобождением», руководитель – доц. Мустафин Р.И. (2023 – 2025 гг.), гранта некоммерческой организации «Благотворительный фонд поддержки молодых ученых-медиков» № 1 «Интраназальная система доставки леводопы для лечения болезни Паркинсона», руководитель – Гордеева Д.С. (2023 г.) и в рамках плана работ молодежной научной лаборатории «Систем направленной доставки лекарственных средств» (2022-2024 гг.).

**Полнота освещения результатов диссертации.** По теме диссертационного исследования опубликовано 18 печатных работ, в том числе: 3 оригинальные научные статьи в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus; 14 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций, 1 патент на изобретение.

Основные результаты исследования представлены и доложены на 9 конференциях и 3 конкурсах, где отмечены призовыми местами и дипломами победителя: VIII – XII Международный молодежный научный медицинский форум «Белые цветы» (Казань, 2021, 2022, 2023, 2024, 2025 г.г.), UK-Russia Conference «Advanced biomaterials to combat cancer» (Ланкастер, 2021 г.), XI Конгресс молодых ученых ИТМО, секция «Химия функциональных наноматериалов и систем» (Санкт-Петербург, 2022 г.), XXVIII Конкурс научно-исследовательских и научно-практических работ на соискание именных стипендий Мэра Казани среди студентов и аспирантов (Казань, 2022 г.), XIII Всероссийская научная конференция студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2023 г.), Конкурс Всероссийская научная школа «Медицина молодая» (Москва, 2023 г.), Конкурс «Лучший молодой ученый» Республики Татарстан (Казань, 2024 г.), II Междисциплинарная всероссийская молодежная научная школа-конференция с международным участием «Молекулярный дизайн биологически активных веществ: биохимические и медицинские аспекты» (Казань, 2024 г.).

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа состоит из введения, шести глав и выводов, изложенных на 159 странице машинописного текста, содержит 20 таблиц, 42 рисунка. Список литературы включает 243 источников, в том числе 197 на иностранных языках.

**Введение** содержит сведения об актуальности, цели и задачах исследования, степени разработанности темы исследования, научной новизне работы, теоретической и практической значимости результатов, а также внедрении их в практику.

**Первая глава** диссертации представляет собой исчерпывающий обзор литературы по вопросам ретроспективы исследований связанных с интраназальным путем введения ЛС в головной мозг. Подробно рассмотрены мукоадгезивные и мукуспронирующие системы доставки ЛС, а также применение для них микро- и наноразмерных частиц.

**Вторая глава** исследования включает полный перечень используемых материалов и реактивов, а также описание методик и оборудования, использованных при оценке качества и стандартизации получаемых лекарственных средств.

В ходе выполнения диссертационной работы применен комплекс физико-химических (ИК-, ЯМР-спектроскопия, мДСК, ТГА, оптическая микроскопия, УФ-спектрофотометрия, ДРС), фармацевтических (тест «Растворение»: «Проточная ячейка», метод IV (ГФ РФ XV); тест диффузии: «Вертикальная ячейка Франца») и фармакологических (оценка противопаркинсонической активности) методов исследований, проведено исследование мукоадгезивных и мукуспронирующих свойств частиц с применением изолированной слизистой носовой перегородки овцы. Валидация аналитической методики контроля количественного определения методом УФ-спектрофотометрии статистически обработана с применением ПО Microsoft Excel и выполнялась в соответствии с требованиями Решения Коллегии ЕЭК от 17 июля 2018 г. № 113, ГФ РФ, ФЕАЭС. Статистический анализ проводился с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и двустороннего *t*-критерия Стьюдента в программном обеспечении Microsoft Excel, где  $p < 0,05$  считалось значимым. Все результаты представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. Оценка стабильности полученных носителей проводилась в соответствии с ГФ РФ ОФС.1.1.0009 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств» и ФЕАЭС, 2.3.17.0 «Стабильность лекарственных средств».

**В третьей главе** диссертационной работы приведена разработанная соискателем методика получения полимерного носителя на основе Eudragit® ЕРО и 4-бромфенилбороновой кислоты для применения в интраназальной доставке лекарственных средств. Соискателем получен химически модифицированный терполимер – ВЕРО25 и

ВЕРО50, обладающий улучшенными мукоадгезивными свойствами за счет наличия в структуре 4БФБК гидроксильных групп, с замещением диметиламиногрупп ЕРО на 25% и 50%. Методами ИК- и ЯМР-спектроскопии подтверждено образование химически модифицированного ЕРО. Методом ТГА доказана термическая стабильность ВЕРО.

В ходе исследования мукоадгезивных свойств с применением изолированной слизистой носа овцы свободный ЕРО смывается ИНЖ в течение первых 5 минут эксперимента, в то время как, ВЕРО удерживается на поверхности слизистой в течение 30 минут. Гидроксильные группы в составе ФБК образуют ковалентные связи с остатками олигосахаридов слизистой, что и придает ВЕРО мукоадгезивные свойства.

Предложена технологическая схема и разработана спецификация носителя на основе модифицированной формы ЕРО с применением 4БФБК – ВЕРО.

**В главе 4** приведены результаты разработки и исследования мукоадгезивной системы интраназальной доставки лекарственных средств с применением микрочастиц. Методом УЗ-электрораспыления разработана методика получения простых микрокапсул (МК) и МК, покрытых ЕРО. Соискателем обоснован оптимальный состав МК, покрытых ЕРО: 1,0% альгинат натрия (пленкообразующий раствор)/0,5% CaCl<sub>2</sub> + 0,5% ЕРО с pH 6,0 (ретикуляционный раствор) Методом оптической микроскопии установлено, что средний диаметр простых МК составил  $0,365 \pm 0,018$  мм, МК, покрытых ЕРО –  $0,426 \pm 0,017$  мм.

В ходе исследования мукоадгезивных свойств доказано, что наличие ЕРО на поверхности МК способствует задержке микрочастиц на поверхности слизистой, за счет того, что диметиламино группы связываются с муцинами слизистой и обеспечивают задержку частиц: через 5 минут после орошения ИНЖ наблюдается значительная разница между образцами удерживаемости частиц на поверхности слизистой. Через 10 минут эксперимента простые МК почти полностью смываются ИНЖ, в то время как, МК, покрытые ЕРО, остаются на слизистой носа через 1 ч.

Результаты ЭИ,% простых МК леводопой –  $94,3 \pm 0,9$ ; МК, покрытых ЕРО –  $95,5 \pm 0,8$ . ЗЕ,% простых МК леводопой –  $18,2 \pm 2,9$ ; МК, покрытых ЕРО –  $33,6 \pm 9,9$ , что указывает на перспективность использования МК в качестве носителей леводопы.

Выход леводопы из МК, покрытых ЕРО, в среду ИНЖ через 30 мин эксперимента составил  $100 \pm 13,1\%$ , в то время как, высвобождение леводопы из простых МК – не более  $60 \pm 6,1\%$ .

Разработке и исследованию мукоадгезивной системы интраназальной доставки лекарственных средств с применением микрокапсул, покрытых модифицированным Eudragit® EPO посвящена **глава 5**.

Соискателем методом УЗ-электрораспыления получены МК, покрытые ВЕРО. Показано, что МК, покрытые ВЕРО, имеют, практически в 5 раз, меньший размер частиц ( $0,087 \pm 0,008$  мм), чем МК, покрытые ЕРО ( $0,426 \pm 0,017$  мм), что является большим преимуществом при интраназальной доставке ЛС.

Наличие ФБК на поверхности микрочастиц усиливает мукоадгезивные свойства, но при этом не влияет на скорость и степень выхода леводопы из МК. Выход леводопы из МК, покрытых ВЕРО, в среду ИНЖ через 30 мин эксперимента составил  $100 \pm 23\%$ . Покрытие противоположно-заряженным терполимером ЕРО альгинатных МК приводит к увеличению длительности удерживания на поверхности слизистой и к немедленному высвобождению включенного ЛС.

Предложена технологическая схема и разработана спецификация носителя в виде МК, покрытых ВЕРО. Проведены исследования по оценке стабильности МК, покрытых ВЕРО.

**В главе 6** «Получение и исследование наночастиц для их использования в мукопроникающих системах интраназальной доставки лекарственных средств» соискатель разрабатывает технологию наноразмерных частиц – липосом.

Методом «гидратация липидной пленки» получено 5 видов липосом: традиционных и функционализированных ПЭГом разной М.м. – 1000, 2000, 3000 и 5000 Да. Методом ДРС установлено, что диаметр липосом варьирует от 81 до  $91 \pm 1$  нм, индекс полидисперсности не превышает 0,300, что свидетельствует о том, что система монодисперсна и в растворе присутствуют частицы преимущественно одного размера. Дзета-потенциал – отрицательный, что дает возможность дополнительно взаимодействовать с положительно заряженными группами на поверхности слизистой носа. Наличие ПЭГа не оказывает большого влияния на физико-химические свойства липосом. При хранении суспензии липосом в холодильнике с температурным режимом от 2 до 8°C дзета-потенциал (мВ) не изменяется, индекс полидисперсности уменьшается, а диаметр частиц (нм) увеличивается. Это может быть связано с тем, что липосомы агрегируют, тем самым образуются частицы большего диаметра.

В ходе оценки мукопроницающих свойств липосом установлено, что на 5-й минуте лучшие показатели проницаемости продемонстрировали ПЭГилированные липосомы с М.м. 2000 и 3000 Да. На 15-й минуте проницаемость ПЭГилированных<sub>3000</sub> и ПЭГилированных<sub>5000</sub> липосом происходит лучше, чем других типов наночастиц. Через 30 минут отмечено, что ПЭГилированные<sub>5000</sub> липосомы проникают глубже в изолированную слизистую носа овцы ввиду большой М.м. ПЭГа.

Больших различий эффективности инкапсуляции (ЭИ,%) и загрузочной ёмкости (ЗЁ,%) разных типов липосом не наблюдается. ЭИ,% варьирует в пределах от 80,3 до 87,1%. Показатели ЭИ,% ПЭГилированных липосом выше, чем у традиционных. Наилучший показатель наблюдается у ПЭГилированных липосом с М.м. ПЭГа 5000 Да – 87,1%. ЗЁ,% составила от 9,2 до 10,6%, при этом наивысший показатель также отмечается у ПЭГилированных<sub>5000</sub> липосом.

Диффузия раствора леводопы в ИНЖ через диализную мембрану в течение 3-х ч. демонстрирует аналогичные результаты, что и ЛС в составе суспензии липосом ( $6,7 \pm 0,1\%$ ). Максимальный выход леводопы составил  $9,9 \pm 1,3\%$  из ПЭГилированных<sub>2000</sub> липосом. Высвобождение леводопы через изолированную слизистую носа овцы показало увеличение концентрации ЛС в среде ИНЖ до  $17,5 \pm 1,5\%$ . Наибольший выход ЛС наблюдался из ПЭГилированных<sub>5000</sub> липосом, что может быть связано с наибольшей М.м. ПЭГа в составе липосомы. Профиль высвобождения леводопы не соответствует моделям нулевого и первого порядка. Модель Корсмейера-Пеппаса может использоваться для описания и анализа высвобождения ЛС из наночастиц или в случае комбинации более чем одного типа механизма высвобождения. Высвобождение леводопы из липосом  $n \leq 0,45$ , что соответствует диффузии Фика.

Предложена технологическая схема получения и разработана спецификация носителя в виде традиционных и ПЭГилированных липосом. Доказана стабильность суспензии липосом в течение 3-х месяцев.

Проведена оценка противовоспалительной активности *in vivo* в группе крыс, получавших леводопу интраназально, ингибирование каталептогенного состояния наблюдалось через 60 минут, которое было наиболее выражено через 120 минут после введения.

Для каждой частной методологии разработки оценены риски, а также предложены пути их решения и минимизации.

**Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации.** Автореферат в полной мере отражает содержание диссертационной работы и раскрывает ее основные положения. Приводимые автором выводы логически вытекают из проведенных исследований, четко взаимосвязаны с поставленными задачами исследования и свидетельствуют о том, что цель и задачи диссертационного исследования достигнуты.

#### **Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации**

В целом, работа заслуживает положительной оценки, однако отмечая новизну исследования и полученные результаты, а также практическую значимость диссертационной работы, позволим дать некоторые рекомендации, сделать замечания и поставить вопросы:

#### **Вопросы:**

- касательно технологии лиофильной сушки. Соискатель отмечает, что «полученные растворы и осадок замораживают *отдельно* при  $-50^{\circ}\text{C}$  в течение 24 ч». Требуется пояснения почему «отдельно» и каковы манипуляции с ними после лиофилизации.

- «замороженные образцы высушивают лиофильно при  $-50^{\circ}\text{C}$  и 0,05 мБар в сушилке.... в течение 5 дней». Вопрос - чем обусловлено время сушки. Какие критерии завершения процесса принимались во внимание.

- «в результате лиофильной сушки образуется аморфный порошок, который не требует дополнительной обработки». Возвращаемся к первому вопросу – судьба лиофилизатов «раствора и осадка».

- в Таблице 7 соискатель приводит спецификацию ВЕРО. Проводилась ли оценка «гигроскопичности» и «потеря в массе при высушивании» лиофилизата (Ф ЕАЭС 2.1.2.31. Потеря в массе при высушивании (201020031-2019).

- согласно материальному балансу получения выход ВЕРО25 (таблица 4) и ВЕРО50 (таблица 5) составил 1,3795 г и 1,4751 г соответственно. Каковы перспективы масштабирования производства ВЕРО.

### **Замечания:**

- формулы расчета выхода, эффективности инкапсуляции и загрузочной ёмкости простых микрокапсул (пп.4.3) и расчета эффективности инкапсуляции и загрузочной ёмкости традиционных и ПЭГилированных липосом (пп.6.3) надо было привести в главе 2.

- в Таблице 12 – Спецификация МК, покрытых ВЕРО, загруженных леводопой и Таблице 13 – Оценка стабильности суспензии ПЭГилированных липосом соискатель оценивает «Высвобождение леводопы 100 от заявленного содержания  $\pm 20\%$  через 30 минут в среду ИНЖ» и не корректно называет этот показатель «Количественное определение леводопы».

- представленные в автореферате Рисунки 5 и 14 «Технологическая схема получения...» отличаются от рисунков в тексте диссертационной работы, проигрывают последним в информативности и имеют неточности (например, «получение воды» имеет «потери»).

- контрольные точки технологического процесса и оценка рисков основных стадий (Таблицы 6, 11, 18) имеют разные понятия.

- в Приложении не представлен лабораторный регламент, на который ссылается соискатель.

- в диссертации имеют место использование устаревших терминов: лекарственных веществ (с. 17), ЛВ (с. 98).

Вышеперечисленные замечания не носят принципиального характера, не снижают научную ценность проведенного исследования и не оказывают существенного влияния на представленные результаты и положительную оценку диссертационной работы.

### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Гордеевой Дарьи Сергеевны на тему: «Разработка поликомплексных микро- и наноразмерных частиц на основе полимеров фармацевтического назначения для интраназальной доставки леводопы в мозг» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны технология нового модифицированного носителя для микрокапсул с улучшенными мукоадгезивными свойствами и ПЭГилированные липосомы, обладающие

мукуспроникающими свойствами, которые могут быть использованы в системах интраназальной доставки леводопы в головной мозг, что имеет важное значение для медицинской практики и фармацевтической технологии.

По актуальности, степени научной новизны, теоретической и практической значимости, диссертационная работа 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 06.06.2022 г. № 0692/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Гордеева Дарья Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических по специальности – 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств.

**Официальный оппонент:**

доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», лаборатория технологии лекарственных препаратов, отдел качества и технологии лекарственных средств, главный научный сотрудник



Алексеев Константин Викторович

Подпись Алексеева Константина Викторовича «заверяю»  
Ученый секретарь ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»  
кандидат биологических наук  
«17» сентября 2025 г.



Васильева Екатерина Валерьевна