

РЕЦЕНЗИЯ

на Дисертационен труд на тема: „Разработване на нови модифицирани мезопорести силикатни нанокompозити за контролирано доставяне на лекарствени вещества“
за присъждане на образователната и научна степен "доктор",
професионално направление 4.2 Химически науки (Органична химия)

докторант: Ивалина Огнянова Трендафилова

научни консултанти: проф. д-р Маргарита Попова, проф. д-р Деница Момекова,

рецензент: доц. дн Георги Йорданов, Факултет по химия и фармация, СУ

Биографични и наукометрични данни

Ивалина Трендафилова завършва висшето си образование като бакалавър по специалност „Химия” в Софийския университет „Св. Климент Охридски”, Факултет по химия и фармация, през 2011 г. След това продължава образованието си в същия факултет и през 2014 г. става магистър по „Медицинска химия”. В периода 01.11.2017-25.10.2018 г. е докторант на самостоятелна подготовка в лаборатория “Органични реакции върху мезопорести материали” към ИОХ-ЦФ, БАН. От 2014 г. Ивалина Трендафилова работи като асистент в същия институт. В системата Scopus са откриват общо 8 публикации с нейно участие, 11 независими цитата и h-индекс 3. Ивалина Трендафилова е отбелязана като участник в няколко национални и международни проекти, както и ръководител на младежки проект за подпомагане на младите учени от БАН.

Цел на дисертацията и актуалност на тематиката

Дисертационният труд разглежда ролята на мезопорестите наноносители на лекарствени вещества. Направен е обобщен анализ на състоянието на изследванията по темата и на негова основа ясно и конкретно е дефинирана целта на дисертационния труд: разработване на процедури за получаване на системи за контролирано доставяне на противовъзпалителни и противотуморни лекарствени вещества с орално, дермално или парентерално приложение на основата на нови модифицирани мезопорести силикатни наночастици с различна структура и модифицирани мезопорести магнитни желязооксидни/силикатни нанокompозити. Направеният литературен обзор и представените резултати в дисертационния труд са в пълно съответствие с поставената цел. Тематиката на изследванията попада в

областта на наномедицината, която е една изключително бързоразвиваща се, актуална и най-вече интердисциплинарна научна област, обединяваща различни дялове от химията, медицината и фармацията.

Преглед и оценка на дисертационния труд

Дисертационният труд е написан на български език и съдържа 130 страници, в които са включени 58 фигури и 11 таблици. Цитирани са 281 литературни източника. Авторефератът е представен на 37 страници и коректно отразява основните резултати и приноси на дисертационния труд. Дисертационният труд е основан на резултати, отразени в 5 публикации (от които 4 в индексирани издания), които вече са получили независими цитати в научната литература. Публикациите са с интердисциплинарен характер, което определя и относително големия брой автори - между 6 и 9 автора, като Ивалина Трендафилова е първи автор в две, и втори автор в три от публикациите, което предполага, че има водещ принос в представените разработки. Приложен е списък с 16 участия в научни конференции в страната и чужбина, свързани с темата на дисертацията, при които дисертантката е първи автор на всички представени доклади. Трябва да се отбележи, че Ивалина Трендафилова е получила общо три награди за отлично представяне на конференции.

Дисертационният труд е структуриран в следните части: увод (2 стр.), литературен обзор (46 стр., 22 фиг.), изводи от литературния обзор (1 стр.), цел и задачи (1 стр.), експериментална част (11 стр., 1 схема), резултати и дискусия (42 стр., 36 фиг., 11 таблици, 7 схеми), изводи и приноси (3 стр.), библиографско описание на цитираните литературни източници (24 стр.).

Литературният обзор разглежда в нужната дълбочина методите за получаване, функционализиране и физико-химично охарактеризиране на мезопорести силикатни материали, както и възможностите за биомедицински приложения. Описанието на принципите, на които са основани инструменталните методи за физикохимично охарактеризиране, е по-скоро с образователен характер, но не е излишно, тъй като това прави дисертацията по-разбираема за широк кръг читатели. В разделите 1.4 и 1.5 са разгледани в обобщен вид предимствата и недостатъците на различни лекарство-доставящи системи, в това число и мезопорестите силикати, с което се демонстрират познания в тази силно интердисциплинарна област. Като недостатък на този раздел може да се посочи липсата на обзор върху токсикологията на силикатните наноносители. Парентералното приложение на относително инертни и трудно елиминирани субстанции може да доведе до

нежелани хронични възпалителни процеси. От друга страна, биохимичната инертност на SiO₂ не изключва вероятността за остри реакции и имунотоксичност на парентерално приложени наночастици (*Int. J. Nanomedicine* 2014;9:2779).

Експерименталната част дава подробно и коректно описание на синтезните процедури и анализи. Мезопорестите силикатни носители (SBA-16, SBA-15 и MCM-41) са получени от докторанта чрез модифицирани зол-гелни методи на основата на контролирана хидролиза и поликондензация на TEOS в присъствие на структуроопределящ сърфактант и последващо калциниране, които са успешно следсинтезно функционализирани с аминок групи или цинк. Нов е методът за синтез на сферични нанопорести магнитни желязооксидни/силикатни частици със структура ядро/обвивка и размер около 100 nm. Определени са условията за следсинтезно функционализиране на магнитните нанопорести композити със сулфонови групи. Установени са оптималните условия за ефективно натоварване на месалазин в порите на аминок-модифицирани SBA-16, SBA-15 и MCM-41 чрез мокро смилане и е показано, че натоварването на лекарственото вещество в тези носители и изграждането на полиелектролитен слой от два полимера (Eudragit S и Eudragit RL) около частиците води до получаване на доставящи системи с pH-контролируемо освобождаване. Важен резултат е постигнатата висока степен на натоварване (над 40 тегл.%) на кверцетин в порите на изходните и модифицираните мезопорести силикатни материали (MCM-41 и SBA-16) чрез импрегниране с омокряне. При това за първи път е доказано формирането на комплекс Zn-кверцетин, което удължава освобождаването на натовареното вещество при pH=5.5 (използвано като модел за изследване на дермални системи). Интересен резултат е установената значима разлика в цитотоксичния ефект на получените лекарствени форми на кверцетин по отношение на клетки от кожен лимфом (HUT-78) и ембрионален бъбрек (HEK-293). При тези експерименти е установена относително по-висока цитотоксичност на кверцетина включен в носител по отношение на чистия кверцетин при HUT-78 клетките. В това отношение смятам за основателно тези ефекти да бъдат изследвани по-детайлно в бъдещи проучвания. Значим също така резултат е разработването на двукомпонентна доставяща система с митоксантрон и преднизолон на основата на сулфон-модифицирани магнитни желязооксидни/силикатни наночастици, при които е показано, че изграждането на полимерен полиелектролитен слой около частиците води до оптимизиране профила на освобождаване на двете лекарствени вещества при запазване на тяхната фармакологична активност.

Приноси на дисертационния труд

Приносите на дисертационния труд са групирани в три точки.

1. Разработени са лекарствени системи с противовъзпалителното вещество месалазин и неговото предлекаство сулфасалазин на основата на аминок-модифицирани мезопорести сферични наноносители, при което е постигнато рН-зависимо лекарствено освобождаване чрез полиелектролитен слой от два полимера (Eudragit S и Eudragit RL) около силикатните наночастици.
2. Демонстрирано е образуването на комплекс Zn-кверцетин в мезопорести силикати, при което е постигната висока степен на натоварване (над 40 тегл.%) на кверцетин в изходните и Zn-модифицирани мезопорести силикатни материали, както и контролирано освобождаване на лекарственото вещество. Наблюдавана е понижена инхибираща концентрация (IC_{50}) в сравнение с чистия кверцетин при клетъчна линия HUT-78 (от кожен Т-клетъчен лимфом), което е предпоставка за потенциалното приложение на получените носители в дермални доставящи системи.
3. Разработена е двукомпонентна система с цитостатика митоксантрон и противовъзпалителното вещество преднизолон на основата на модифицирани със сулфонови групи сферични мезопорести магнитни желязооксидни/силикатни наночастици със структура ядро/обвивка и допълнително обвити с полимерен полиелектролитен слой от хитозан и алгинат, осигуряващ контролираното освобождаване и по-високата стабилност на частиците при физиологични условия.

Приносите са подкрепени от представения доказателствен материал и съдържат полезна информация. С по-голяма фундаментална значимост се отличава принос 3, който представя получаването на наноносител с две активни субстанции и с интересна нано-архитектура.

Забележки и препоръки

Към представената ми за рецензия дисертация и автореферат имам някои забележки по техническото оформление на резултатите, които не понижават иначе високите научни качества на дисертационния труд. В представената ми дисертация на хартиен носител липсват последните 6 страници, а в електронния вариант липсва номерация на страниците. Не са цитирани източниците на фигурите от литературния обзор (в текста под фигурите) и не става ясно дали са авторско дело на докторанта или са взаймствани (и/или частично преработени) от литературни източници. Картинките на стр. 63, 79 и 91 от дисертацията не са обозначени като фигури или като схеми (при проверка в sciencedirect.com беше установено, че това

са “graphical abstracts” на някои от публикациите, включени в дисертацията). Забелязват се някои правописни грешки в текста на дисертацията и в означенията на абсцисите на някои графики (например, при Фиг. 23, 42, 43). На няколко места има несъответствия между номерацията на цитираните литературни източници (на стр. 51: Martins и съав. е всъщност източник 228, а не 229; Katiyar и съав. е източник 229, а не 230). От представените ТЕМ изображения на Фиг. 49 не е означено на кои точно образци съответстват изображенията представени като „А” и „В”. На схема 6 в структурата на Комплекс 1 е показана координационна връзка между силициев атом от носителя и кислородните атоми от кверцетина, докато в текста се твърди, че се осъществяват водородни връзки между фенолните групи (от кверцетина) и силанолните групи (от силикатната повърхност). На диаграмата на Фиг. 31 не са дадени средноквадратичните отклонения и не може да се прецени статистическата значимост на разликата в цитотоксичността на месалазиновите формулировки при двете различни концентрации. В списъка със забелязаните цитати (в автореферата) на статията в *Microporus Mesoporous Mater.* 228:256 има дублиращи се цитати (3 и 4).

Въпроси и коментари към резултатите от дисертационния труд

Към докторанта имам следните въпроси и коментари:

1. Има ли данни от литературата за токсикокинетиката на парентерално приложени наноносители от SiO₂? Биоразградими ли са тези материали, каква е тяхната съдба след парентерално приложение, отделят ли се от организма, предизвикват ли възпалителни и други нежелани реакции *in vivo*?
2. При някои от експериментите за оценка на цитотоксичността се наблюдава „плато” на токсичността при най-високите тествани концентрации (например, Фиг. 58). В литературата са наблюдавани подобни резултати с други клетъчни линии и лекарствени носители. Авторите на такива изследвания обясняват това с хетерогенността на клетъчната популация – в популацията има клетки, които са чувствителни на тестваната субстанция и отмират още при относително ниските концентрации, но има и клетки, които са резистентни, и именно тези клетки остават жизнеспособни и при най-високите тествани концентрации (*Biochem. Pharm.* 44:509). Съгласни ли сте с такова обяснение на Вашите резултати или бихте предложили друго обяснение?
3. В дисертацията клетките НЕК-293 са определени като “нормални” и „здрави”, което е спорно. От литературата е известно, че това са клетки с бъбречен произход, получени чрез трансфекция с нуклеинова киселина от аденовирус,

характеризиращи се с практически неограничен пролиферативен потенциал и атипичен хипотриплоиден кариотип, включващ две или повече копия на всяка хромозома, като броят на хромозомите им е около 64 (нормалният брой хромозоми в човешките диплоидни клетки е 46) (*Nature Communications* 5:4767). Клетките НЕК-293 дори могат да образуват тумори след имплантация в имунодефицитни мишки (*Biologicals* 36:263). Може би е по-целесъобразно в качеството на „нормална” контрола да се използват нетуморогенни клетки с кожен произход при евентуални бъдещи тестове на лекарствени форми за дермално приложение?

Заключение

Всичко изложено дотук, големият обем на извършените изследвания, познанията и опита на дисертанта в използването на различни експериментални методи и подходи, както и качеството на основните изводи ме убеждават, че представения дисертационен труд е изпълнил своята научна и образователна цел и отговаря напълно на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника на ИОХ-ЦФ при БАН, поради което убедено препоръчам на уважаемите членове на научното жури да присъди на Ивалина Огнянова Трендафилова образователната и научна степен „доктор” в професионално направление 4.2 *Химически науки* (Органична химия).

София, 03.12.2018

Изготвил рецензията:.....

/ доц. дн Георги Йорданов/