

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационния труд на доц. д-р Георги Георгиев Йорданов
на тема „*Нанотехнологии за лекарствено доставяне: Получаване и
охарактеризиране на полимерни наночастици за биомедицински приложения*“,
представен за присъждане на научната степен „доктор на науките“

Рецензент: проф. дхн Иван Панайотов

Броят на предложените и изследвани наноразмерни молекулни ансамбли като везикули, полимерни матрици и други структури с потенциално приложение в наномедицината нараства лавинообразно. Цел на настоящата дисертация е получаването и охарактеризирането на наночастици от полиалкил-цианоакрилати (PECA и PBCA) и полистирен малеинова киселина (PSMA) като лекарствени носители на някои антибиотици (цефалексин, ципрофлоксацин), антимиотици (еконазол) и цитостатици (хлорамбуцил, етопозид, епирубицин). Изследванията на избраните наноразмерни полимерни структури, представени в дисертационния труд следват традиционния прагматичен подход – рецепти за получаването им, охарактеризиране, поведение *in vivo*, водещ директно към възможности за приложението им. Що се отнася до механизмите на процесите в сложната микрохетерогенна среда, се изказват повече или по-малко достоверни представи. Изкушавам се да отбележа в исторически аспект, че този подход само привидно наподобява на рецептурния подход за получаване и охарактеризиране на лиофобните колоиди в зората на колоидната наука преди теоретичните идеи да въведат ред в областта. Съществуващите днес експериментални методи и теоретични идеи дават по-голяма достоверност на изказаните хипотези относно механизмите на получаване и свойствата на изследваните наночастици.

Изчерпателен обзор от общо 42 (от 7 до 44 и от 158 до 163) страници и 390 цитирани работи представя пълно областта на изследванията. Акцентите са върху получаването, избирателно насочване на различни видове наноструктури, взаимодействието им с биомолекули и клетки и тяхното токсично действие. Специално внимание в него е отделено

на известното за главните обекти на изследването PBCA и PSMA наночастици (NP) относно механизмите на полимеризация, получаването на колоидните им водни дисперсии чрез дисперсионна полимеризация и нанопреципитация, методите за охарактеризирането и изследването на цитотоксичността им.

Ще изложи някои най-съществени резултати в дисертацията, заедно с бележките и коментарите си към тях.

I. В същинската част на дисертацията най-напред се обръща внимание на ролята на множество фактори (pH, концентрациите на прекурсора BSA, на лимонена киселина, на стабилизатора полуксамер 188 и пр.) при получаването им. Наночастиците от полибутилцианоакрилат заедно с тези от полилактати – гликолати са със сигурност измежду най-успешно използваните в наномедицината, особено с оглед на добре известния проблем за преодоляване на мозъчната бариера (BBB). В литературата от 70-те години насетне съществуват много изследвания на получаването и свойствата на наночастици от PBCA с оглед на използването им като лекарство доставящи системи (DDS). Независимо от това, с помощта на познатите към днешна дата техники (динамично светоразсейване, сканираща и трансмисионна електронна микроскопия, ИЧ, ЯМР спектроскопия и др.) е проведен пълен контрол на получените и стабилизирани с полуксамер 188 PBCA наночастици чрез емулсионна полимеризация и са изучени ефектите на различните параметри върху характеристиките им.

Без това да е главната цел на изследвания, в дисертацията се представят също и разсъждения относно механизмите на получаване и структура на колоидните дисперсии от PBCA наночастици. Ето някои бележки и въпроси, породени от представените разсъждения:

- При образуването на наночастиците чрез полимеризация са съществени двата последователно протичащи процеса на нуклеация и на нарастване. С цел контролиране на полидисперсността на получаване на NP е необходимо да се анализират и разграничат тези два процеса. Едно изследване на кинетиката на получаване на NP в подходящи моделни системи би било полезно за целта.

- Дали дифузията на молекулите на прекурсора BSA в хода на полимеризацията може да бъде при достатъчно ниски концентрации на BSA скорост определящ процес?

- Би било добре да се подкрепят с количествени оценки изказаните механизми относно влиянието на рН задавано фино от СА.

II. За разбиране на поведението на NP *in vivo* PECA частици са маркирани флуоресцентно с флуорофора Родамин 6G, като е оценено влиянието му върху свойствата на наночасиците.

III. Получени са нови колоидни формулировки на антибиотици, антимицотици и цитостатици и са подробно изследвани характеристиките на тези препарации. Една важна получена характеристика е скоростта и степента на освобождаването във водната дисперсия на антибиотиците цефалексин и ципрофлоксацин от PECA, съотв. PVCА наночастици. Кинетичните криви от фиг. 33 съответстват на наличие на два механизма на освобождаване на лекарственото вещество – бавен и бърз. Що се отнася до възможния механизъм на ерозия на частиците чрез хидролиза на естерните групи, допълнителни 3D и 2D моделни изследвания могат да донесат необходимата информация. Една възможност е изследване на кинетиката на разграждане до етанол, съотв. бутанол в резултат на хидролизата. В 3D моделна система (Sullivan CO, Birkinshaw C, *Biomaterials*, Aug 25(18) (2004) 4375) може да се проследи освобождаването на бутанол от PV частици в два етапа под действие на естераза. В 2D моделна система (Tz. Ivanova, I. Panaiotov, F. Boury, J.E. Proust, J.P. Benoit, R. Verger, *Coll. and Surfaces B: Biointerfaces*, 8 (1997) 217; Tz. Ivanova, A. Svendsen, R. Verger, I. Panaiotov, *Coll. Polym. Sci.* 278 (2000) 719) хидролизата на естерните групи на полилактати се проследява експериментално в PLA монослой по освобождаването на разтворимите продукти на хидролизата. От такъв род моделни експерименти може да се разбере дали отделянето на етанола съотв. на бутанола, протича по механизма на „random” или “end” разграждане на полимера и да се изгради достоверен модел на ерозията на частиците.

Да отбележа все пак, че възпроизводимостта на данните от фиг. 33 прави трудно различими експоненциалната и биекспоненциалната зависимости.

IV. Особено внимание е отделено на измерванията на ζ -потенциал, предвид решаващата роля на електричните свойства на повърхностите на NP-те при взаимодействията им *in vivo*. Едно независимо моделно изследване на проникваемостта на биологични мембрани с Transwell система (A.C. Groo, K. Mircheva, J.Bejaud, C. Ailhas, I.Panaiotov, P. Saulnier, Tz. Ivanova, F. Lagarce, *Pharmaceutical Research*, 31 (7) (2014) 1753)

би допринесло за изясняване на ролята на електричните и механични свойства на предложените наноразмерни носители.

V. Изследванията на цитотоксичността на натоварени с епирубицин PBCA наночастици и на свободен епирубицин показват различната локализация на лекарственото вещество в двата случая. Дали ендцитозата е главния механизъм отговорен за локализацията на натоварените PBCA частици?

VI. Особен интерес представляват експериментите за получаване без допълнителен колоиден стабилизатор и охарактеризиране на наночастици от PSMA и от смес PBCA/PSMA. Получени са и нови стабилизирани с албумин PBCA/PSMA наночастици с висока ефективност на натоварване с епирубицин. Наблюдаваните свойства на тези наночастици говорят в полза на изказаната представа за мултиструктурната им организация. Допълнителни моделни изследвания на взаимодействията между химичните компоненти, изграждащи предполагаемата структура и техните повърхностно активни свойства биха могли да позволят уточняване на представата за архитектурата ѝ.

В заключение, дисертацията на г-н Георги Георгиев Йорданов е в областта на фармацевтичните технологии и представя изследвания върху нови колоидни формулировки на голям брой антибиотици, антимицитици и цитостатици. Тя е обобщение на част от резултатите, публикувани в 26 статии, 17 от които в индексирани (по SCOPUS) списания и 2 в глави от книги в международни редактирани издания. Резултати от дисертационния труд са представени на 30 конференции, 11 от които в чужбина, на 2 поканени лекции в университети в Япония и Словакия и една в Института по полимери на БАН. Към 31.10.2017 г. са забелязани 108 по Scopus и 27 по Google Scholar цитирания. Общото заключение е, че дисертационния труд съдържа голям обем изследвания, които представляват принос в науката с важно приложно значение. Изследванията са проведени като са използвани голям брой модерни методи. Получените с тяхна помощ резултати са напълно достоверни. Направените в дисертацията разсъждения относно механизмите на разглежданите явления поставят някои въпроси за бъдещото развитие и предизвикват дискусия, което всъщност е знак за оригиналността и значимостта им.

Дисертацията е написана на английски език. Харесва ли ни или не, английският е съвременния *lingua franca* на научната общност. Авторефератът е написан на български и е

направен съгласно изискванията. Изводите правилно отразяват основните резултати и приноси на дисертационния труд.

Представената ми за рецензия дисертация напълно отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за приложението му и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ „Св. Климент Охридски“. Дисертационният труд е подготвен самостоятелно и не повтаря темата и съдържанието на този, представен за придобиване на образователната и научна степен „доктор“. Въз основа на всичко изложено до тук препоръчвам на Уважаемото жури да присъди единодушно на **г-н Георги Георгиев Йорданов научната степен „доктор на науките“**.

София,

26.02.2018 г.

проф. дхн Ив. Панайотов