

## РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд на тема:

**„Нанотехнологии за лекарствено доставяне:  
Получаване и охарактеризиране на полимерни наночастици  
за биомедицински приложения“,**

за получаване на научна степен „доктор на науките“  
в професионално направление 4.2 „Химически науки“ (Неорганична химия),  
от доц. д-р Георги Георгиев Йорданов

Рецензент: проф. д-р Маргарита Димитрова Попова - Институт по органична химия с  
Център по фитохимия – Българска Академия на Науките

### **Биографични данни**

Георги Георгиев Йорданов е завършил висшето си образование през 2006 г. като магистър по химия, (програма „Наноматериали и нанотехнологии“) в Химически Факултет на Софийски Университет „Св. Климент Охридски“. В периода 2006–2009 год. е редовен докторант в Химически Факултет на СУ „Св. Климент Охридски“ и през 2010 защитава докторска дисертация на тема: „Синтез и охарактеризиране на квантови точки от типа CdX (X=S, Se, Te) и CdSe/CdS“. През 2009 год. е назначен като асистент в Химически Факултет на Софийски Университет „Св. Климент Охридски“, а следващата година е избран за главен асистент. От 2014 год. е доцент в катедрата по Неорганична химия към Факултета по Химия и Фармация на СУ „Св. Климент Охридски“. Печелил е наградата за изявен млад учен в областта на полимерите „Проф. Иван Шопов“, 2011 год., най-добър млад учен на СУ „Св. Климент Охридски“, 2013 год. и награда Питагор за млад учен, 2015 год. Бил е на едномесечни специализации в Испания, Университет във Виго, 2007 год., Япония, Токио, Университет Мейджи, 2009 год., Словакия, Словашка Академия на Науките, 2011 год. и 2012 год.

### **Цел на дисертацията и актуалност на научната тематика**

Представените изследвания в дисертационния труд са в областта на наномедицината, изключително бързоразвиваща се и актуална през последните години научна област обединяваща химия, медицина, фармация и нанотехнологии. Използването на полимерни

наночастици като носители на различни лекарствени вещества е често използван подход, който може да доведе до повишаване на лекарствената бионаличност, да осигури целево и контролирано доставяне, както и намаляване на ефективната доза на използваните лекарствени вещества. Дисертационният труд разглежда ролята на носителите за постигане на целево доставяне на лекарствени вещества, както и фармацевтичните изисквания, на които трябва да отговарят. Направен е кратък анализ на състоянието на изследванията по тематиката и на негова основа ясно е дефинирана целта на дисертационния труд. Представени са собствените изследвания на кандидата, обхващащи девет годишен период на научни изследвания върху получаването и охарактеризирането на нови лекарствени формулировки на антибиотици (цефалексин и ципрофлоксацин), антимиотици (еконазал) и цитостатици (хлорамбуцил, етопозид и епирубицин) на основата на два типа полимерни наночастици: поли(алкил-цианоакрилат) и поли(стирен-съ-малеинова киселина).

### **Преглед на дисертационния труд и резултатите**

Дисертационният труд е написан на английски език и съдържа 230 страници, в които са включени 109 фигури и 17 таблици. Цитирани са 390 литературни източника. Авторефератът е представен на 74 страници и правилно отразява основните резултати и приносите на дисертационния труд. Дисертационният труд е базиран на изследвания, отразени в 26 публикации (включително две глави от книги и 15 научни статии в реферирани и индексирани издания), които са получили повече от 120 независими цитата в научната литература. В 19 от представените научни публикации кандидатът е на първо място, като в 13 е и автор за кореспонденция. В 5 публикации от останалите 7, в които не е първи автор, доц. д-р Г. Йорданов е автор за кореспонденция. Тези факти потвърждават неговата водеща роля в представените научни изследвания. Постигнатите научни резултати са представени на 30 научни форуми, като са изнесени 15 доклада (7 устни и 8 постерни) на национални и 15 доклада (8 устни и 7 постерни) на международни научни форуми.

Дисертационният труд е структуриран в следните основни раздели: списък на съкращенията (2 стр.), въведение (2 стр.), кратък преглед на основните проблеми при разработване на лекарство-доставящи системи (23 стр.), лекарствени системи на основата на поли(алкил-цианоакрилат) (126 стр.) и лекарствените системи на основата на поли(стирен-съ-малеинова киселина) (30 стр.), изводи (4 стр.), приноси (2 стр.), литературни източници (19 стр.), списък с публикации (3 стр.), списък с участия на конференции (4 стр.), цитати (1 стр.) и биографични данни (1 стр.).

Първоначално са синтезирани натоварени с лекарствени вещества полибутилцианоакрилат (РВСА) наночастици чрез емулсионна полимеризация и са изучени ефектите на различни реакционни параметри върху характеристиките на получените наночастици. Установено е, че размерът на частиците може да се контролира чрез концентрациите на използвания мономер и лимонена киселина. Изследванията са показали, че получените натоварени наночастици са цитотоксични спрямо клетки от цервикален карцином (HeLa). Тази предварителна информация е послужила за отправна точка при разработката на различни лекарство-доставящи системи. За да проследи ефекта от различните реакционни параметри върху процеса на натоварване с лекарствено вещество първоначално са изследвани формулировки с флуоресцентно вещество – родамин 6G. Синтезираните полиетилцианоакрилат (РЕСА) наночастици чрез емулсионна полимеризация са натоварени с флуоресцентното багрило Родамин 6G. Установено е, че багрилото се вгражда в РЕСА частиците, като степента на натоварване се увеличава с повишаване на концентрацията на мономер при полимеризационния процес. Бавното освобождаване на багрилото във физиологичен буфер е добра предпоставка за потенциалното приложение на РЕСА наночастиците като лекарствени носители.

На базата на първоначалните изследвания върху полимерните носители и формулировките с багрило са разработени доставящи системи на антибиотици (цефалексин и ципрофлоксацин). През последните години се работи много активно върху преодоляване на резистентността на редица антибиотици чрез включването им в ефективни наноразмерни носители. Цефалексинът е натоварен в РЕСА наночастици, а ципрофлоксацинът в РВСА наночастици. Натоварването на цефалексин по време на полимеризация е с по-висока ефективност (21 тегл. %) в сравнение с натоварването му чрез адсорбция. Степента на лекарствено натоварване достига до 45 тегл. % и зависи от концентрациите на антибиотика и изходния мономер. Получените формулировки са стабилни при съхранение при 4°C и показват запазена антибактериална активност на лекарственото вещество. Профилът на освобождаване зависи от рН на използвания буфер. Разработени са формулировки на антимикотика еконазол на основата на РВСА наночастици чрез нанопреципитация и емулсионна полимеризация в присъствие на различни стабилизатори (декстран 40, полисорбат 80 и полуксамер 188). Формулировките, получени чрез нанопреципитация и стабилизирани с полуксамер 188 и полисорбат 80 са с по-голям размер на частиците (~230 nm) и относително по-висока стабилност от тези, получени чрез полимеризация.

Значителна част от изследванията в дисертационния труд са насочени към разработване на лекарствени системи за контролирано доставяне на цитостатици. Оптимизиране на

химиотерапията при онкологични заболявания е трудна задача, обединяваща усилията на химици, фармацевти и медици. Общ проблем при повечето цитостатици е тяхната ниска разтворимост във вода, химичната нестабилност и тежките странични реакции при терапията. Разработването на ефективни доставящи системи може да реши някои от тези проблеми. В представените научни изследвания са включени три противотуморни лекарствени вещества – хлорамбуцил, етопозид и епирубицин. На основата на PBCA наночастици са получени нови формулировки на противотуморните лекарствени вещества хлорамбуцил и етопозид. Доставящите системи с хлорамбуцил са получени чрез емулсионна полимеризация или чрез нанопреципитация от предварително синтезиран полимер, тези с етопозид са получени чрез емулсионна полимеризация. Установена е зависимост на размера на частиците от вида на използвания стабилизатор при метода на емулсионната полимеризация. Постигнато е 6–10 % натоварване с хлорамбуцил, но дори натоварено във формулировките лекарственото вещество не е стабилно и е необходимо съхраняване при  $-20^{\circ}\text{C}$ . В сравнение с полимеризационните методи, нанопреципитацията позволява прецизен контрол на размера на частиците чрез концентрацията на използвания полимер. Получените формулировки с етопозид проявяват висока цитотоксичност спрямо аденокарциномни клетки (A549).

Разработени са формулировки с епирубицин на основата на PBCA чрез емулсионна полимеризация в система вода/ацетон, чрез нанопреципитационен метод и чрез преполимеризация. Забавеното освобождаване на епирубицин е поради здравата връзка с PBCA наночастици. Показано е, че формулировките с епирубицин са по-цитотоксични към A549 клетки и по-малко токсични спрямо EPI при HeLa клетки в сравнение с чистото лекарствено вещество.

Чрез измервания с повърхностен плазмон резонанс техника (SPR) е изследвано взаимодействието между PBCA и натоварени с епирубицин PBCA наночастици с протеин и е установено по-силно взаимодействие с фибриноген отколкото с албумин и IgG. Тази информация е особено важна с оглед по-точното описване на фармакологичните свойства на доставящите системи.

Разработени са и формулировки на епирубицин на основата на наночастици от поли(стирен-съ-малеинова киселина) (PSMA) чрез нанопреципитация, при които е установен прецизен контрол на размера на частиците (от 100 до 320 nm). Получените формулировки са стабилни при pH от 4,5 до 9,3.

Предложена е и оригинална композитна система от типа ядро/обвивка от PBCA/PSMA наночастици за натоварване на епирубицин чрез нанопреципитация или чрез сорбция и стабилизиране с албумин. Изследвана е ролята на съотношението PSMA/PBCA в състава

на формулировките върху размера на частиците. Установено е, че адсорбцията на човешки серумен албумин води до подобряване на тяхната стабилност във физиологичен буфер. Постигнато е забавено освобождаване на епирубицин от доставящите системи на основата на PBCA/PSMA наночастици.

### **Приноси на дисертационния труд**

Приносите са разделени в две групи: I. Лекарствени формулировки на основата на полиалкилцианоакрилатни наночастици и II. Разработването на лекарствени формулировки на основата на поли(стирен-съ-малеинова киселина).

1. На основата на полиалкилцианоакрилатни наночастици са разработени нови лекарство-доставящи системи на антибиотици (цефалексин, ципрофлоксацин) чрез адсорбция и емулсионна полимеризация и на антимиотика еконазол чрез преципитация и емулсионна полимеризация. Установено е влиянието на различни експериментални параметри и условия на получаването върху характеристиките на лекарствените формулировки.

2. Разработени са лекарствени системи на цитостатици (хлорамбуцил, етопозид и епирубицин) чрез емулсионна полимеризация, нанопреципитация или преполимеризация. Използваните методи позволяват контрол върху характеристиките на полимера, взаимодействията между мономерите и лекарствените молекули, което осигурява по-добро диспергиране на мономера и получаване на натоварени с лекарствено вещество наночастици с тясно разпределение по размер.

3. Разработени са нови доставящи системи с епирубицин на основата на PSMA чрез нанопреципитация и на основата на PBCA/PSMA нанокомпозити чрез сорбция и стабилизиране с албумин, като последните са показали висока ефективност за натоварване с епирубицин и забавено освобождаване на лекарственото вещество.

Получените научни резултати са принос към разработването на нови лекарство-доставящи системи за целево и контролирано доставяне на проблемни лекарствени вещества като антибиотици, антимиототици и цитостатици. Дисертационният труд отговаря по обем и качество на изискванията за придобиване на научната степен „доктор на науките“. Основните научно-изследователски постижения са публикувани в реномирани списания с висок импакт фактор като *Colloids Surfaces B: Biointerfaces*, *Colloids Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* и др., като в повечето от тях ясно се вижда водещата роля на кандидата. Постигнатите резултати са получени при изпълнението на научно-изследователски проекти финансирани от Фонд „Научни Изследвания“ (проект ДМУ 03/111), като и от проекти финансирани от Европейската Научна Фондация (CMST COST Action D43 (Colloid and Interface Chemistry for Nanotechnology) и CMST COST Action

CM1101 (Colloidal Aspects of Nanoscience for Innovative Processes and Materials). Високото ниво на проведените изследвания се дължи и на правилното подбиране и използване на съвременни и класически инструментални техники като ЯМР спектроскопия, СЕМ, повърхностен плазмон резонанс (SPR) и др. За успешното развитие на интердисциплинарна тематика допринасят и сътрудничествата на доц. д-р Г. Йорданов с наши (д-р Р. Скробанска и д-р А. Евангелатов в Биологическия факултет на СУ) и чуждестранни учени (д-р Jaroslav Katrlík и д-р Peter Gemeiner от Института по Химия към Словашката Академия на Науките).

### **Забележки и препоръки**

Трябва да се отбележат някои технически пропуски и неточности. Например, в някои от представените фигури с  $^1\text{H}$  ЯМР спектри не е отбелязано, че спектрите са протонни, количеството на натоварено лекарствено вещество не винаги е написано, че е в тегл. %. Тези забележки касаят по-скоро оформлението на резултатите и нямат отношение към научната стойност на изследванията.

Бих искала да отправя някои препоръки към бъдещите изследвания на кандидата. За по-детайлни изследвания на взаимодействието на лекарственото вещество и полимерния носител в разработените лекарствени системи е добре да се използват възможностите на дифузионната ЯМР спектроскопия. Допълнително чрез атомно-силова микроскопия може да се проследи ефектът на лекарственото натоварване върху морфологията на полимерните наночастици.

### **Заклучение**

Дисертационният труд представя доц. д-р Георги Йорданов като задълбочен учен със собствен подход към формулиране на изследователските задачи и методите за тяхното разрешаване. Приносът на кандидата в извършените изследвания и получените резултати е безспорен. Личните ми впечатления от доц. д-р Георги Йорданов са отлични и те са свързани с неговите участия на ежегодните национални конференции с международно участие Nanoscience and Nanotechnology. Представената научна продукция на кандидата е в интердисциплинарна област включваща полимерна химия, биохимия, както и умело използване на съвременни и класически инструментални методи за изучаване на обектите.

**Представеният дисертационен труд, авторефератът, научни публикации в наши и международни издания, както и броят на цитиранията, напълно удовлетворяват**

**изискванията на ЗРАСРБ и Правилника на СУ за научната степен „доктор на науките“.**

Въз основа на гореизложеното давам своята положителна оценка на дисертационния труд на доц. д-р Георги Йорданов и с удоволствие препоръчвам на Уважаемото Научно жури да му присъди научна степен “Доктор на химическите науки” в професионално направление 4.2. „Химически науки” (Неорганична химия).

02.03.2018 год.

гр. София

Рецензент:



/проф. д-р Маргарита Попова/