

ВІДГУК
офіційного опонента
на дисертаційну роботу **СКОРОХІД НАДІЇ РОМАНІВНИ**
«Біологічна ефективність багатофункціональних наноматеріалів для адресної доставки традиційних та експериментальних протипухлинних препаратів»,
представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань
09 «біологія» за спеціальністю 091 – Біологія

Актуальність теми дисертації. У роботі досліджено молекулярні механізми дії *in vitro* новітніх систем доставки лікарських засобів з іммобілізованими на них протипухлинними препаратами та вивчено біосумісність досліджуваних наноматеріалів різної природи як потенційних носіїв для адресної доставки лікарських засобів. Ефективна хіміотерапія повинна мати високу специфічність та ефективність щодо ракових клітин, відзначатися високою біодоступністю, мінімізованими побічними ефектами, зручністю застосування та невисокою вартістю, а використання природних сполук і їхніх хімічно модифікованих похідних є перспективною стратегією лікування раку та джерелом створення нових фармацевтичних препаратів. Поєднання таких сполук із сучасними технологіями доставки лікарських засобів, зокрема наноматеріалами, сприяє підвищенню їхньої специфічності, біодоступності та стійкості в організмі. Це відкриває нові можливості для розробки ефективних і безпечних терапевтичних стратегій, здатних подолати медикаментозну резистентність пухлин і покращити якість життя пацієнтів. Розробка нових форм відомих лікарських засобів є важливим напрямом сучасної фармакології, оскільки дозволяє підвищити їхню ефективність і зменшити токсичний вплив на нормальні тканини організму.

В роботі створене поєднання цитопротектора N-стеароїлетаноламіну та протипухлинного препарату Dx на одній платформі доставки медикаментозного препарату, що дало змогу знизити ефективну дозу хіміотерапевтичного агенту без втрати його терапевтичної дії та захистити нормальні клітини організму від токсичного впливу Dx завдяки цитопротекторним властивостям NSE. Також створені нанокомпозити берберину та 9-О-октил-берберину на полімерних наноносіях, що характеризуються високою розчинністю і стабільністю у водному

середовищі, рівномірним проникненням в пухлинні клітини та низькою токсичністю щодо здорових тканин та органів піддослідних мишей, при цьому зберігаючи ефективну терапевтичну активність щодо мишачої меланоми B16F10 дикого типу. Вивчено протипухлинну активність мінеральних наночастинок на основі оксиду феруму (III), функціоналізованих олеїною кислотою і полі(етиленоксид)-блок-полі(ε-капролактоном). Встановлено, що механізми клітинної загибелі включають як апоптоз, що супроводжується порушенням клітинного циклу та фрагментацією ДНК, так і некроз, підтверджений порушенням цілісності мембрани.

Таким чином, такий напрямок досліджень є актуальним на даний час у зв'язку з великим поширенням ракових захворювань та пошуком нових фармацевтичних препаратів і протоколів лікування раку.

Зв'язок роботи з державними науковими програмами, планами. Робота виконана як частина фундаментальних досліджень відділу регуляції проліферації клітин і апоптозу Інституту біології клітини НАН України за темами: «Роль імуномодуляторної активності у протипухлинній дії традиційних та експериментальних медикаментозних препаратів за їх доставки полімерними наноносіями до різних клітин-мішеней *in vitro* та *in vivo*» (відомча тема, № держреєстрації 0122U002240, 2022-2024 рр.), «Посилення біологічної активності берберин-подібних алкалоїдів шляхом їх ковалентної і нековалентної модифікації» (НДР за бюджетною програмою «Підтримка розвитку пріоритетних напрямів наукових досліджень», № держреєстрації 0122U002241, 2022 р.), «Підвищення ефективності дії традиційних та експериментальних лікарських препаратів *in vitro* та *in vivo* шляхом їх іммобілізації на нанорозмірних носіях і поєднання з антиоксидантами» (відомча тема, № держреєстрації 0117U000786, 2017-2021 рр).

Оцінка обґрунтованості наукових положень, висновків, сформованих у роботі. Дисертація Скорохід Н.Р. є завершеною науковою роботою, що містить всі необхідні структурні елементи від обґрунтування актуальності та стратегії дослідження до аналізу отриманих результатів та висновків. Частини дисертаційної роботи викладені послідовно та логічно пов'язані між собою.

Наведено обґрунтування для вибору кожного методу дослідження, всі експериментальні дані супроводжуються відповідним аналізом. Експериментальні результати було опрацьовано з використанням загально прийнятих методів статистичної обробки даних.

Також було проведено порівняння отриманих результатів з даними, описаними у світовій літературі іншими дослідниками. Виходячи з узагальнення результатів дисертації, було показано, що мета дисертаційної роботи була повністю досягнута в ході виконання дослідження, а дисертація є завершеною науковою кваліфікаційною працею. Завершується робота вичерпними розгорнутими висновками, які логічно описують отримані результати та відображають наукове та практичне значення дисертаційної роботи.

Повнота викладення основних результатів роботи в наукових фахових виданнях. Ключові положення дисертаційної роботи було висвітлено у наукових працях дисертанта. За темою дисертації опубліковано 2 наукові роботи у фахових міжнародних журналах із сумарним імпаکت-фактором 8,7 (згідно даних Thomson Reuters за 2025 рік), 1 розділ у монографії та п'ять тез доповідей на наукових конференціях, а також 15 публікацій, що додатково відображають наукові результати дисертації. Наукові публікації за темою дисертації відповідають чинним вимогам законодавства України.

Оцінка змісту дисертації та її завершеності. У дисертаційній роботі чітко та науково коректно сформульовано мету, яка відображається у поставлених завданнях, визначено об'єкт та предмет роботи. Обґрунтовано актуальність поставленої проблеми та використання тих чи інших експериментальних методів. Викладення експериментального матеріалу структурно та змістовно відповідає поставленим завданням.

Розглянувши звіт подібності за результатами перевірки дисертаційної роботи на текстові співпадіння, можна зробити висновок, що дисертаційна робота Скорохід Н.Р. є результатом самостійних досліджень здобувача і не містить елементів фальсифікації, компіляції, фабрикації, плагіату та запозичень. Використані ідеї, результати і тексти інших авторів мають належні посилання та відповідне джерело.

Дисертація складається з «Вступ», Розділ 1 «Огляд літератури», Розділ 2 «Матеріали і методи досліджень», Розділ 3 «Результати досліджень та їх обговорення», Розділ 4 «Аналіз та узагальнення результатів досліджень», «Висновки», «Список використаних джерел», Додатки (9). Текст дисертації викладено на 225 сторінках машинопису, з яких основна частина складає 136 сторінки. Робота містить 10 таблиць і 64 рисунки. Список літератури нараховує 202 найменувань.

Розділ 1 «Огляд літератури» розповідає про сучасні методи хіміотерапії раку, механізми виникнення множинної медикаментозної резистентності пухлин та шляхи її подолання, використання наноматеріалів у протипухлинній терапії, основні види наноматеріалів, які використовують для доставки ліків, багатофункціональні наноматеріали для доставки ліків в організмі, використання полімерних наноматеріалів у хіміотерапії раку, цільову доставку лікарських засобів за допомогою наночастинок та проблеми біобезпеки у застосуванні наноматеріалів.

Розділ 2 «Матеріали та методи» містить вичерпний та детальний опис матеріалів та методів, використаних в ході експериментального дослідження. Так, описано наноматеріали, використані в роботі, приготування водної доставки комплексів, приготування ліпідних частинок, культивування клітин *in vitro*, наведено методи оцінки цитотоксичної дії досліджуваних сполук, визначення апоптозу, аналіз клітинного циклу, дослідження проникнення досліджуваних сполук у клітини-мішені, оцінка продукції активних форм кисню (АФО) під впливом різних факторів, визначення вмісту тіолів в клітинах, оцінка функціонального статусу мітохондрій злоякісних клітин за дії різних чинників, вестерн-блот-аналіз білків, дослідження *in vivo*, дослідження гострої токсичності сполук, терапевтичної дії протипухлинних препаратів у складі нанокомплексів на моделях лімфоми NK/Ly, лейкозу L1210 і меланоми B16F10 дикого типу та статистичні методи аналізу.

В розділі 3 «Результати та обговорення» досліджено магнітні наночастинок як багатофункціональні наноматеріали та зроблено наступні висновки: розроблені магнітні тверді ліпідні наночастинок володіють значним

протипухлинним потенціалом щодо суспензійних клітин лейкозного походження; потенційний механізм цитотоксичності, спричиненої mag.SLPs пов'язаний із утворенням АФО, що індукують клітинну загибель. Встановлено, що лише магнітні частинки mag. SLPs індукували продукцію як H_2O_2 , так і $O_2^{\cdot -}$ -радикалів; механізми індукції клітинної загибелі включають апоптоз (експресія білків, пов'язаних з апоптозом, міжнуклеосомна фрагментація ДНК і зміни клітинного циклу) та некроз (екстерналізація фосфатидилсерину в плазматичній мембрані, забарвленій за допомогою анексіну V і розрив мембрани, виявлений за допомогою забарвлення клітин PI; магнітні тверді ліпідні частинки (mag.SLPs) є перспективними багатofункціональними наноматеріалами, які можуть бути використані як системи для доставки ліків.

Розділ 4 «Аналіз та узагальнення результатів» містить порівняння отриманих результатів із сучасними світовими розробкам у галузі використання багатofункціональних наноматеріалів для покращення ефективності лікування злоякісних новоутворень. У висновках розкрито як наукове, так і практичне значення дисертації. Всі розділи дисертаційної роботи логічно відповідають поставленим завданням. Ознайомлення з текстом дисертації дає підстави стверджувати, що за структурою та змістом він відповідає вимогам, що висуваються МОН України. У тексті відображено основні положення, зміст, результати і висновки здійсненого Скорохід Н.Р. дисертаційного дослідження.

Мова та стиль викладення дисертаційної роботи. Дисертаційна робота написана українською мовою, використовується загальноприйнята термінологія. Стиль мовлення відзначається доступністю викладення та послідовністю.

Наукова новизна. Оцінено здатність нових полімерних гребенеподібних носіїв знижувати лікувальну дозу традиційних протипухлинних препаратів (доксорубіцин) та підвищувати біодоступність експериментальних лікарських засобів (берберину, похідне 9-О-октил-берберину) у піддослідних лабораторних тварин (миші). Встановлено, що застосування нанорозмірних полімерних носіїв для доставки доксорубіцину посилює його протипухлинну дію та зменшує негативні побічні ефекти в організмі. Досліджено молекулярні механізми, що визначають здатність нанокомпозитів на основі N-вінілпіролідону,

функціоналізованих цитопротекторним ліпідом N-стеароїлетаноламіном, посилювати цілеспрямовану дію протипухлинного препарату доксорубіцину *in vitro* та *in vivo*. Виявлено унікальну бі-функціональність синтетичного канабіміметика NSE, який виявляє проапоптотичну дію на пухлинні клітини *in vitro* та пригнічує ріст пухлин *in vivo*. Водночас, у комплексі з полімерним носієм, NSE проявляє біопротекторний ефект щодо токсичної дії доксорубіцину в організмі мишей, зокрема зменшує його кардіотоксичність у мишей. Застосування нанокомплексів значно покращує розчинність водонерозчинних протипухлинних препаратів, підвищує їхню біодоступність і пролонгує терапевтичний ефект. Це особливо актуально для напівсинтетичних похідних алкалоїдів, зокрема у лікуванні меланоми B16/F10 у мишей.

Результати дослідження біосумісності різних наноматеріалів, зокрема полімерних носіїв різної хімічної будови та молекулярної маси, вказують на безпечність їхньої дії як *in vitro*, так і на рівні організму.

Розроблені mag.SLPs частинки на основі оксиду феруму продемонстрували багатообіцяючі характеристики, що робить їх перспективними для застосування у протипухлинній терапії, зокрема для подолання множинної резистентності пухлин до дії медикаментів.

Практичне значення одержаних результатів. Результати дослідження мають важливе значення у сфері експериментальної онкотерапії. Розроблено та обґрунтовано нові підходи для підвищення ефективності протипухлинних препаратів, створених за допомогою нанотехнологій. Зокрема, встановлено, що іммобілізація доксорубіцину на нанорозмірному носії, функціоналізованому ліпофільним цитопротектором N-стеароїлетаноламіном, сприяє збільшенню проникності протипухлинного препарату у клітини-мішені та подоланню набутої медикаментозної резистентності. Також доведено, що амфіфільні полімерні носії значно підвищують біодоступність і терапевтичну активність алкалоїду берберину, що відкриває нові можливості для його застосування в лікуванні онкозахворювань.

Практичне значення дослідження також полягає у розробці перспективних нанокомпозитних лікарських форм, які можуть бути використані у клінічній

онкології. Запропоновані підходи дозволяють зменшити негативні побічні ефекти хіміотерапії (кардіотоксичність, гепатотоксичність), підвищити ефективність протипухлинних засобів та покращити результати лікування. Оцінка безпечності розроблених полімерних наноматеріалів підтвердила їхню високу біосумісність, що є важливим критерієм для подальшого впровадження у медичну практику. Результати роботи сприяють розвитку наномедицини та можуть бути використані для вдосконалення методів доставки протипухлинних препаратів для застосування у персоналізованій терапії онкологічних хворих.

Зауваження та побажання.

1. У роботі згадується поширений компонент транспортних систем (DDS) – поліетиленгліколь (ПЕГ, PEG), який може викликати імунні реакції і непередбачувані побічні ефекти у деяких людей, тому пропонується використовувати інші біосумісні матеріали, зокрема, карбоксиметилхітин, поліоксазолін та актин. Необхідно було чітко роз'яснити механізм дії цих компонентів і чому саме їх обрали. Для довідки: *на сьогодні для ліпосомальної форми вакцин активно використовується полі(карбоксибетаїн).*

2. У роботі відзначається, що поверхня запропонованих систем є важливим фактором для оцінки безпеки, але не пояснюється в чому це проявляється і не наведено відповідні характеристики (окрім зарядів). Чи можна говорити, що ці системи є достатньо сумісні з мембранами клітин.

3. Необхідно було чітко показати чим саме обумовлена зміна розмірів (механізм) комплексу наведених в Таблиці 1.

4. На Рис. 3 представлено загальну схему утворення комплексу, але не показано як саме відбувається поетапне утворення комплексу.

5. На Рис. 6 представлено гідродинамічні радіуси міцелярних структур, але не наведено так звані «вагові функції», тобто скільки частинок мають відповідний розмір.

6. Стосовно процесу вивільнення доксирубіцину (D_x). Не зовсім зрозуміло яка кількість D_x завантажується в міцеліальну структуру і скільки вивільняється. Для цієї процедури краще підійде застосування вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

7. У роботі згадуються спектри флюорисценції, але не наведено жодного графіка.

8. В дисертації наводяться скорочення і латиною і кирилицею. Необхідно було зробити скорочення українською мовою і поряд надати англійською мовою. Зустрічаються вислови, які не зовсім відповідають науковому стилю, а саме: «висока специфічність», «висока біодоступність», «унікальне поєднання цитопротекторів», «хороші системи доставки», «хороша відтворюваність» без пояснень що мається на увазі.

Однак, зазначені зауваження не впливають на загальне позитивне враження від роботи та мають в тому числі дискусійний характер. Загалом дисертаційна робота написана на достатньо високому науковому рівні.

Загальний висновок. Таким чином, дисертаційна робота Скорохід Надії Романівни «Біологічна ефективність багатофункціональних наноматеріалів для адресної доставки традиційних та експериментальних протипухлинних препаратів» являє собою закінчену науково-дослідну роботу. Актуальність обраної проблеми, високий методичний рівень проведених досліджень, наукове й практичне значення отриманих результатів дозволяє вважати, що дисертаційна робота Скорохід Н.Р. відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» (Постанова Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44) та Постанови Кабінету Міністрів України від 19 травня 2023 р. №502 і наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації». Здобувач заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «біологія» за спеціальністю **091 – біологія.**

Офіційний опонент:

Заступник директора «Інституту харчової біотехнології та геноміки НАН України»,
доктор біологічних наук, професор

Сергій ШУЛЬГА