

Отзыв официального оппонента

на диссертацию Антипиной Марии Николаевны **«ПОЛИМЕРНЫЕ МУЛЬТИСЛОЙНЫЕ КАПСУЛЫ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ОПТИМАЛЬНОГО БИОЭФФЕКТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ»**, представленную к защите на соискание учёной степени доктора физико-математических наук по специальности 03.01.02 – «Биофизика» в диссертационный совет Д 212.243.05

Диссертация М.Н. Антипиной посвящена изучению полимерных мультислойных капсул как микроскопической транспортной системы для доставки различных химических соединений в биологические объекты. Это направление исследований приобрело значимость благодаря развитию современных областей молекулярной биофизики. Новые горизонты в этом направлении открылись в два последних десятилетия благодаря интенсивному развитию методов получения наноструктурированных материалов и методов исследования их физико-химических свойств. Прежде всего, это современные физические методы визуализации, такие как конфокальная флуоресцентная и рамановская микроскопия, сканирующая электронная и зондовая микроскопия. Данные методы позволяют не только изучать биофизические и биохимические процессы, происходящие на клеточном уровне, но и корректировать их. Последнее стало возможным благодаря современным методам инкапсулирования биоактивных веществ.

Для получения наноструктурированных материалов большие перспективы имеет метод последовательной адсорбции противоположно заряженных полимерных молекул и/или наночастиц. Основоположником данного метода является Р.К. Айлер, который в 1966 году опубликовал результаты получения мультислойных покрытий на стеклянной подложке. Мультислой были сформированы в результате последовательной адсорбции положительно заряженных наночастиц оксида алюминия и отрицательно заряженных наночастиц оксида кремния. В 1992 г. Г. Деккер и Дж.-Д. Хонг распространили предложенный Айлером подход на полиэлектролиты – заряженные полимерные молекулы. В 1998 г. интернациональная группа в Макс Планк институте коллоидов и границ раздела фаз предложила использовать данный подход для формирования мультислойных покрытий поверхности микрочастиц с последующим растворением темплатов и, как следствие, возможностью получения полимерных и нанокомпозитных микрокапсул различного химического состава и молекулярного строения. В составе данной научной группы активную роль сыграл российский ученый Г.Б. Сухоруков, внёсший существенный вклад в изучение физико-химических свойств микрокапсул и

обеспечение их чувствительности к внешним воздействиям. В направлении создания, исследования и применения полиэлектролитных слоев и микрокапсул в мире в настоящее время активно работает около 100 научных групп. В России это направление успешно развивается учёными Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Института кристаллографии и Института биоорганической химии РАН, Курчатовского научного центра, Саратовского и Казанского государственных университетов.

Диссертационная работа М.Н. Антипиной посвящена решению одной из фундаментальных биофизических задач: разработке полимерных мультислойных капсул для обеспечения структурной стабильности и необходимого эффекта транспортируемых биологически активных веществ, и поэтому актуальность темы диссертации не вызывает сомнений. В постановке задачи работы отчетливо прослеживается стремление автора совместить оригинальное решение научных проблем с новаторскими биомедицинским применением разрабатываемых капсульных систем. Это во многом определило выбор объектов биофизического исследования, к которым относятся клетки следующих линий: L929 (мышинные фибробласты), RAW264.7 (мышинные макрофаги), HEK293T (клеточная линия, полученная из эмбриональных почек человека).

Основной текст диссертации состоит из семи глав, органично объединённых общей концепцией. Обзору литературы посвящены три главы, в которых диссертант провел подробный анализ современного состояния получения и практического применения полимерных мультислойных капсул как носителей биологически активных веществ. Первая глава посвящена наиболее важным аспектам получения полимерных мультислойных капсул, таким как природа взаимодействия между слоями, физические и физико-химические способы контроля проницаемости мультислоёв; в главе также дана оценка применимости капсульных темплатов в биомедицине. Во второй главе подробно описаны особенности инкапсуляции биоактивных веществ, а в третьей – теоретические и практические аспекты получения кристаллов фатерита, основного темплата для биосовместимых полимерных мультислойных капсул. Представленный диссертантом обзор литературы отчётливо показывает, что несмотря на высокий уровень фундаментальных биофизических исследований в данной области, практическое применение полимерных мультислойных капсул находится в существенно более ранней стадии. Этот факт логично определяет постановку цели диссертационной работы: разработка капсульных систем для последующих применений в биотехнологической и фармацевтической промышленности, изготовлении косметических средств и средств персонального пользования. Ввиду актуальности и новизны исследований диссертанта считаю

целесообразным опубликовать эти главы в виде отдельного обзора.

Диссертационная работа М.Н. Антипиной несомненно обладает научной новизной, которая обуславливает ее значимость для современной биофизики. Важными результатами являются разработанная капсульная система с защитной функцией, эффективно предотвращающая перекисидацию жирных кислот, и установленные параметры спонтанного высвобождения белка из биодegradируемых капсул.

Особо следует выделить впервые продемонстрированную возможность регулирования размеров капсулы (в сторону существенного уменьшения) путем применения полиолов при выращивании кристаллов фатерита и последующего термического сжатия полученной замкнутой полимерной мультислойной структуры. Большое практическое значение и новизну представляет разработанный соискателем метод инкапсулирования, позволяющий наполнять носители многокомпонентным молекулярным грузом, - перспективный метод доставки малостабильных лекарственных препаратов. Использование полифенолов в качестве структурного компонента капсулы является новым и оригинальным решением, нацеленным на получение активных оболочек с ограниченной проницаемостью для катионов переходных металлов – основных прооксидантов в биологических системах. Фундаментальный принцип стабилизации структур биополимеров высших порядков за счёт водородных связей впервые использован диссертантом для получения стабильных капсул белок/полифенол, что значительно снижает себестоимость носителей и открывает перспективы для разработок капсул, не вызывающих иммунный ответ.

Хочется отметить большой объем выполненных исследований, целенаправленность и тщательность в планировании эксперимента и анализе полученных данных. В работе дано подробное описание необходимых контрольных физических и биологических экспериментов. Исследования капсул *in vitro* предваряло тщательное изучение их структуры и стабильности с помощью современных физических методов анализа. Большое внимание уделяется отработке технологии получения капсул с воспроизводимыми параметрами. Клеточные эксперименты проводились по стандартным протоколам, что гарантировало получение статистически значимых результатов. В соответствии с поставленной задачей в работе были оптимизированы состав и размер капсул, а также методы их загрузки для целевых применений в биомедицине, продуктах питания и средствах персонального пользования.

Завершая отзыв, хочу подчеркнуть, что поставленные цели исследования были достигнуты и соответствующие задачи решены. Это отражено в двадцати публикациях по теме

диссертации в рейтинговых журналах, монографии, патентных заявках, а также в большом числе докладов на международных конференциях. Выводы диссертации отражают поставленные задачи и соответствуют содержанию работы и опубликованным результатам. Автореферат отвечает содержанию диссертации, раскрывает её новизну и актуальность и даёт полное представление об основных результатах и выводах. Выносимые на защиту положения полностью подтверждены экспериментальными результатами и не вызывают сомнения. В целом, диссертационная работа М.Н. Антипиной - это прорыв в области развития метода инкапсулирования в полимерные мультислои и применения микронных и субмикронных капсул как инструмента для решения широкого ряда биофизических задач *in vivo*, связанных с доставкой биологически активных веществ. Работа актуальна и содержит данные, которые несомненно имеют большое научное и практическое значение. Диссертация послужит эмпирической базой для создания новых систем доставки лекарств и технологий, применяемых в биомедицинской, косметической и пищевой промышленности. Диссертация написана хорошим профессиональным языком и должным образом оформлена. Рисунки хорошо иллюстрируют представляемый материал. Тем не менее, встречаются отдельные опечатки и стилистические неточности, например:

- стр. 43: «...груз может быть непосредственно синтезированы внутри капсул...» = синтезирован; - стр. 79: «Эффективностьзагрузки» - слитно; - стр. 89: «...последовательно смешивали с 1. мл деионизованной воды...» - лишняя точка; - Подписи к некоторым рисункам и фотографиям не имеют четкой идентификации компонентов графики (например, на Рис. 1.9 нет обозначений (а) и (б), и т.п.), что, по всей видимости, стало результатом многократного переформатирования подписей. Кроме того, некоторые термины представляются не совсем стилистически точными, например: «молекулярный груз», «предварительная загрузка», «последующая загрузка» и т.д. Отмеченные выше замечания частично отражают отсутствие адекватной общепринятой терминологии в русско- и англоязычной литературе в этой быстро развивающейся области биофизики. Они не имеют принципиального значения и совершенно не снижают общей высокой положительной оценки работы.

Поскольку работа имеет очевидную практическую значимость, хотелось бы узнать мнение диссертанта о воспроизводимости основных параметров получаемых капсул, таких как проницаемость и толщина оболочки, изменение линейных размеров при температурной обработке в зависимости от используемых в архитектуре капсул биополимеров. Изменяются ли свойства капсул при переходе в субмикронный диапазон? К сожалению автор не использовал малоугловое рассеяние рентгеновских лучей и метод Ритвельда для исследования

поликристаллов карбоната кальция. Это следует рассматривать как пожелание на будущее. А горизонты этого будущего широки, так как работа М.Н. Антипиной – это комплексное мультидисциплинарное исследование, продуктивно соединившее физические, физико-химические и биологические подходы для решения научных и прикладных задач.

Диссертационная работа Антипиной Марии Николаевны «Полимерные мультислойные капсулы для обеспечения оптимального биоэффекта лекарственных препаратов и активных веществ», представленная к защите на соискание учёной степени доктора физико-математических наук по специальности 03.01.02 – «Биофизика», является самостоятельной завершённой научно-квалификационной работой. Диссертация содержит ряд ценных научных и практических результатов в области биофизики, которые открывают новые важные перспективы для использования мультислойных полимерных капсул в биологических системах. По актуальности темы, новизне полученных результатов, теоретической и практической значимости работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а её автор – Антипина Мария Николаевна – заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 03.01.02 – Биофизика.

Главный научный сотрудник

доктор физико-математических наук, профессор

Федеральное государственное учреждение «Федеральный научно-исследовательский центр «Кристаллография и фотоника» Российской академии наук»

Л.А. Фейгин

Фейгин Лев Абрамович

Ленинский проспект 59, 119333 Москва; Тел 8499-135-6010; +79166039644, [feigin2@yandex.ru](mailto:feigin2@yandex.ru)

Подпись Л.А. Фейгина удостоверяю:

Ученый секретарь ФНИЦ «Кристаллография и фотоника РАН»

кандидат физико-математических наук

01.09.2016



О.А. Алексеева