

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Антипиной Марии Николаевны «Полимерные мультислойные капсулы для обеспечения оптимального биоэффекта лекарственных препаратов и активных веществ», представленной на соискание ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 03.01.02 - биофизика

Современное развитие биомедицины и биотехнологии привело к созданию новых средств упаковки и доставки лекарственных веществ. Такие термины как «адресная доставка», «направленный транспорт» уже прочно вошли в обиход не только исследователей, но и врачей-практиков. Активный транспорт лекарств в очаг развития патологического процесса позволяет добиться повышения эффективности уже существующей фармакотерапии. Такая адресная доставка обеспечивает более эффективное действие лекарства и сохраняет окружающие здоровые ткани.

В настоящее время предложен целый ряд систем направленного транспорта лекарственных средств в органы-мишени. Представлены данные об использовании белковых векторов, наночастиц (полимерных, металлических, углеродных), искусственных и естественных контейнеров в адресной доставке лекарственных препаратов различных групп. Уже прошли все стадии клинических испытаний и внедрены в практику целый ряд лекарств в липосомальной и мицеллярной формах.

При этом к микро- и наночастицам, служащим для направленного транспорта, очевидно должны предъявляться определенные требования. Им надо найти в организме клетки-мишени, пройти через естественные (в том числе, иммунологические) барьеры, доставить к органам субстанцию для лечения или диагностики, затем проникнуть внутрь клетки и выгрузить содержимое. Для того чтобы обеспечить выполнение всех этих этапов, им надо обладать некоторыми обязательными свойствами: иметь рецепторы для направленного движения к цели, обладать способностью проходить через клеточные мембраны, высвобождать груз точно в нужное время и в нужном месте, быть нетоксичными.

Одним из популярных и активно развивающихся способов доставки лекарств является использование полимерных капсул. Такие капсулы рассматриваются в качестве носителей веществ, в том числе лекарственных, внутри организма с целью адресной и управляемой доставки лекарств. Сейчас эта тематика исследований является весьма актуальной, поскольку данный подход позволяет увеличить эффективность существующих лекарственных препаратов за счет точно-нацеленного воздействия на очаг заболевания, уменьшения побочных воздействий на организм,

возможности терапии на самых ранних стадиях развития болезни. Полимерные капсулы стали популярными инструментами не только в фармацевтической, но и в косметической и пищевой промышленности в качестве средств для адресной доставки лекарственных препаратов, нутрицевтиков и косметических веществ в определенные органы и ткани организма.

Среди потенциальных средств адресной доставки следует особо выделить полиэлектролитные мультислойные микрокапсулы, полученные посредством послойной супрамолекулярной самоорганизации биополимеров. Опубликовано множество данных, показывающих высокую эффективность применения полимерных мультислойных капсул *in vitro*. Однако имеется целый ряд нерешенных задач, препятствующих широкому внедрению мультислойных капсул в практику. Именно решению некоторых из этих нетривиальных задач и посвящено диссертационное исследование М.Н. Антипиной, что и определяет, на наш взгляд, его актуальность, научную новизну и практическую значимость.

Теперь позвольте перейти к содержательной части работы. Диссертация изложена на 210 страницах, иллюстрирована 80 рисунками, включает 6 таблиц и 2 схемы. Список использованных литературных источников содержит 326 наименований. Диссертация состоит из введения, 3-х глав обзора литературы, раздела собственных исследований, включающего четыре главы результатов и обсуждения. Далее следуют заключение (выводы), библиография и приложение (структуры химических соединений). Особенностью изложения материала является то, что нет выделенного в отдельную главу раздела «Материалы и методы» - применяемые методики излагаются вместе с обсуждением результатов экспериментов в конце каждой экспериментальной части. Хотя это и несколько непривычно, но, на мой взгляд, вполне допустимо и оправдано.

Во введении автор обосновывает актуальность выбранной темы и степень разработанности проблемы, формулирует цель и задачи исследования, положения, выносимые на защиту, характеризует научную новизну и практическую значимость работы.

Литературный обзор разбит на три главы. В первой рассматриваются вопросы получения и общие свойства полимерных мультислойных капсул для контролируемой доставки активных веществ. Во второй главе автор концентрирует внимание на инкапсулировании некоторых классов биологически активных веществ. Третья глава обзора посвящена особенностям получения фатерита методом смешивания растворов солей. Каждая глава сопровождается собственными введением и выводами, что значительно облегчает чтение материала и свидетельствует об уважении к читателю. С

большим удовольствием отмечу, что и каждая из последующих глав, в которых описываются собственные результаты диссертанта, начинается с дополнительного рассмотрения литературных данных, тесно связанных с конкретным разделом, а заканчивается выводами и, зачастую, графическим представлением основных результатов.

Литературный обзор в достаточной степени вводит читателя в контекст исследований в этой области и подводит к направлению, выбранному диссертантом. Обзор, в целом, написан хорошим литературным научным языком, прозрачно и логично и служит основой для ознакомления с основной частью диссертации.

Тем не менее, у меня есть замечание к этой части работы. На мой взгляд, в самом начале литературного обзора автору следовало бы остановиться на других предложенных контейнерах для доставки лекарств, в частности, на липосомах (тем более что липосомальные формы лекарств уже используются в практической медицине, например Доксил и др.). Только рассмотрев их достоинства и недостатки, было бы логично перейти собственно к полимерным мультислойным капсулам, отметив их преимущества и сформулировав, чем они привлекли автора, и почему она посвятила именно им свое исследование.

Глава 4 посвящена задаче инкапсулирования активных веществ, чувствительных к условиям окружающей среды. Автором предложен способ защиты активных веществ в процессе инкапсулирования - метод «молекулярных коктейлей». С его помощью были получены и охарактеризованы капсулы, содержащие мРНК, а также основной фактор роста фибробластов. Были определены оптимальная нагрузка целевым веществом, оценены цитотоксичность полученных капсул, скорость высвобождения веществ и эффективность препаратов *in vitro*. На следующем этапе работы для предотвращения перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот были разработаны капсулы, обладающие антиоксидантными свойствами, с использованием таниновой кислоты в качестве защитного барьера.

Оценивая 4 главу в целом, можно констатировать, что автором предложен ряд оригинальных подходов к получению полимерных мультислойных капсул. Следует с уважением отметить, что М.Н. Антипиной осуществлен очень большой объем экспериментальной работы, вследствие чего были получены интересные результаты, обладающие как фундаментальным, так и прикладным значением.

Единственное, чего мне не хватило в этой главе, это собственно протокола получения полимерных мультислойных капсул.

В главе 5 рассмотрены механизмы спонтанного высвобождения заряженных биополимеров из капсул, стабилизированных электростатическими взаимодействиями. Было проведена оценка количества загружаемого белка, изучено влияние различных факторов (полимерная композиция и толщина капсулы, градиент концентрации, способ инкапсулирования) на скорость высвобождения белка, исследован механизм включения/высвобождения белка.

Опять следует отметить весьма большой объем экспериментальных исследований, проведенных самыми современными адекватными методами с использованием разнообразных биофизических методик, что свидетельствует о большой экспериментальной эрудиции автора.

Глава 6 посвящена разработке капсул, подверженных деградации посредством протеолитических ферментов. В данной главе диссертационной работы были успешно получены мультислойные комплексы посредством самоорганизации молекул белка (бычьего сывороточного альбумина; БСА) и полифенола (таниновой кислоты; ТК). Высказано предположение о том, что основными взаимодействиями, стабилизирующими структуру комплекса, являются водородные связи. Получаемые мультислойные пленки БСА/ТК были применены для инкапсулирования модельных гидрофильных и гидрофобных лекарственных препаратов. Показано их высвобождение из капсул посредством энзиматической деградации комплекса белок/полифенол.

В заключительной, седьмой главе, описываются результаты разработки биосовместимых наноразмерных капсул для применения в наномедицине. Особое внимание уделено получению наночастиц фатерита посредством смешивания растворов солей и влиянию различных факторов на размер частиц. В результате проведенных исследований создана обширная экспериментальная платформа, позволяющая разрабатывать капсулы для биомедицины, функциональных пищевых продуктов и косметических средств, учитывающая особенности структуры и функций активных веществ, условия их высвобождения, а также требования, предъявляемые к капсульным системам в конкретных задачах.

Раздел «Заключение», по существу, представляет собой шесть расширенных выводов, обоснованно резюмирующих основные результаты диссертационной работы.

В целом, диссертация написана грамотно, ясно и логично, очень хорошо проиллюстрирована. Хотя не могу не отметить, что встречаются некоторые стилистические погрешности, орфографические ошибки, необоснованные англицизмы (промотировать, темплат, релиз, интерфейс и т.п.), терминологические неточности

(нанотрубки (nanotubs) не тождественны наностержням (nanorods)). Автореферат диссертации полностью отражает ее основные положения.

У меня имеется один вопрос к автору, вызванный процитированной работой De Geest с соавт. (2012), посвященной созданию вакцин на основе полимерных мультислойных капсул. Не приведет ли использование разработанных М.Н. Антипиной капсул к иммунному ответу на инкапсулированное вещество и, соответственно, к выработке против него антител? Что, безусловно, может снизить эффективность действующего вещества и вызвать аллергическую реакцию при повторном введении препарата.

Переходя к итоговой оценке диссертации, хочу подчеркнуть, что высказанные в отзыве некоторые критические замечания не касаются сути исследования и в существенной степени могут рассматриваться как пожелания автору.

Таким образом, можно констатировать, что диссертационная работа Марии Николаевны Антипиной, успешно сочетающая как фундаментальное, так и прикладное направление, является первоклассным исследованием, выполненным на весьма высоком современном методическом уровне. Полученные экспериментальные данные интерпретированы на основе тщательного осмысления литературного материала и представляют безусловный интерес для широкого круга исследователей и практиков в области биофизики, биотехнологии и биомедицины. Не вызывают сомнения ни научная, ни методическая значимость работы. Материалы диссертации весьма широко представлены в печати (20 статей в ведущих рецензируемых журналах и 1 глава в монографии), прошли апробацию на ряде международных научных конференциях. Исследования были поддержаны тремя российскими и международными грантами. О важной практической значимости работы М.Н. Антипиной свидетельствуют три международных патента.

Оценивая диссертационную работу М.Н. Антипиной в целом, следует заключить, что она является актуальным исследованием, направленным на развитие важной фундаментально проблемы - направленного транспорта лекарственных препаратов. Кроме того, совокупность полученных результатов следует квалифицировать как новое крупное достижение в исследовании получения и использования полимерных мультислойных капсул для усиления эффективности доставки биологически активных веществ.

Изложенное выше дает основание заключить, что диссертационная работа «Полимерные мультислойные капсулы для обеспечения оптимального биоэффекта лекарственных препаратов и активных веществ» представляет собой целостное

оригинальное экспериментальное исследование, которое по актуальности, достоверности, научной и практической значимости соответствует критериям, предъявляемым к докторской диссертации «Положением о присуждении ученых степеней» (п. 9), утвержденным постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор Мария Николаевна Антипина, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 03.01.02 - биофизика.

Ведущий научный сотрудник  
лаборатории иммунохимии  
Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки  
Института биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов  
Российской академии наук  
доктор биологических наук  
старший научный сотрудник

Л.А. Дыкман

E-mail: [dykman\\_l@ibppm.ru](mailto:dykman_l@ibppm.ru)

410049, г. Саратов, просп. Энтузиастов, 13

Тел.: +7(8452)970403

Подпись Л.А. Дыкмана «ЗАВЕРЯЮ»  
Ученый секретарь ИБФРМ РАН, к.б.н.



Т.Е. Пылаев

31.08.2016 г.