

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

Вайнера Юрия Григорьевича

на диссертационную работу Яценка Алексея Михайловича «Наноструктурированные многофункциональные системы для доставки и детектирования биологически активных веществ», представленную на соискание ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 03.01.02 – Биофизика

Представленная к защите диссертационная работа Яценка А.М. посвящена разработке и оптимизации новых подходов к созданию многофункциональных микро- и наноструктур и систем на их основе для биомедицинских приложений, исследованиям физико-химических свойств созданных структур, поиску способов управления их свойствами с помощью внешних воздействий, а также проверке возможности применения созданных структур для решения биомедицинских задач. В работе проводятся систематические исследования физических и химических свойств созданных микро- и наноструктур и осуществляется поиск экспериментальных и методических решений, направленных на реализацию новых возможностей по использованию этих структур. Основные усилия были направлены на реализацию возможности инкапсулирования нескольких молекулярных веществ в создаваемые многокомпонентные носители на основе микрочастиц и полиэлектролитных микрокапсул, на разработку методик управляемого высвобождения введенных веществ из объема созданных носителей с помощью внешних воздействий путем ферментативного разложения их оболочек, а также на поиск способов использования создаваемых наноструктурированных систем, на основе микрочастиц и полимерных нановолокон, для обнаружения и детектирования биологически активных веществ в биологическом растворе и во внутриклеточном пространстве. Диссертационная работа Яценка А.М. носит ярко выраженный междисциплинарный характер. Автор широко использует физические,

химические и биологические подходы и методики для решения поставленных в работе биофизических, биохимических и медицинских задач.

Актуальность и практическая значимость темы диссертации и полученных в ней результатов не вызывают сомнений, исследования, выполненные в данной работе, находятся в русле основных направлений современной науки в области биофизики, биохимии и медицины, а полученные результаты важны для развития физических методов биологической диагностики и создания новых способов направленного воздействия на биологические объекты. Это относится к развитым в данной работе подходам к формированию многокомпонентных носителей и реализации возможности капсулирования в них низко- и высокомолекулярных веществ с последующим контролируемым их высвобождением, к результатам исследования устойчивости оболочек созданных носителей к разрушающему воздействию биологической среды, к результатам исследования возможностей и перспективности использования разработанных для реализации метода Гигантского комбинационного Рассеяния (ГКР) структур и платформ и другим результатам.

Научная новизна данной диссертационной работы также не вызывает сомнений. Все основные подходы, разработанные в диссертации, являются оригинальными, а основные результаты получены впервые. В частности, оригинальной является разработанная в диссертации методика получения многокомпонентных носителей, адсорбированных на микроносителях, основанная на методе полиионной самосборки. Оригинальными являются развитые в работе подходы к созданию ГКР-структур и платформ. Результаты, представленные в данной диссертационной работе, несомненно, найдут отражение в фундаментальных и прикладных исследованиях в области современной биофизики и могут послужить базой для практического использования в этой области.

Достоверность и обоснованность полученных в работе результатов подтверждается высокой квалификацией диссертанта, тщательностью

проработки методик и выполнения измерений, широким обсуждением полученных результатов на международных и российских конференциях и их публикациями в престижных рецензируемых научных журналах.

Состав и содержание диссертации. Представленная диссертационная работа состоит из введения, шести глав и заключения. Работа включает также список литературы, в составе 604 наименований, и одно приложение. Объем диссертационной работы составляет 274 страницы, включая 97 рисунков и 4 таблицы.

Перейдем к краткому рассмотрению основного содержания работы.

Во введении формулируются основная цель и основные задачи проведенных исследований, описывается структура диссертационной работы, обосновываются актуальность, практическая значимость и научная новизна полученных результатов, приводятся основные защищаемые положения.

Первая и вторая главы посвящены аналитическому обзору литературы, направленному на анализ современного состояния исследований и разработок по теме диссертации. В первой главе анализируются работы по созданию многофункциональных микросистем и микрокапсул на их основе, обсуждаются вопросы формирования этих систем и способы введения в них молекулярных соединений, основанные на методе последовательной адсорбции. Подробно рассматриваются возможности использования внешних факторов для управления физико-химическими свойствами данных структур, в частности, для решения важной практической задачи по высвобождению капсулированных веществ, конечной целью которой является создание специализированных микросистем для доставки биологических активных веществ. В данной главе обсуждаются также перспективы использования выполненных в этой области разработок для биомедицинских целей и приводятся примеры практических приложений. Вторая глава посвящена рассмотрению существующих методов создания эффективных сенсорных ГКР-структур, предназначенных для

высококочувствительного молекулярного анализа в биологических средах. Рассматриваются преимущества и трудности использования таких структур в указанных применениях. Отдельно обсуждается одно из перспективных направлений создания ГКР-структур с требуемыми свойствами, основанное на использовании двух- и трехмерных неорганических структур, в совокупности с методами, позволяющими проводить модификацию их поверхности плазмонно-резонансными наночастицами.

Приведенный в первой и второй главах обширный обзор литературы, выполненный на основе 437 публикаций, дает объективное представление о современном состоянии исследований и разработок по теме диссертации и позволяет объективно судить об актуальности темы диссертационной работы.

В последующих, с третьей по шестой, главах описываются оригинальные результаты, полученные в ходе работы над диссертацией, и проводится их обсуждение. **Третья глава** посвящена изложению разработанного оригинального подхода для капсулирования низко- и высокомолекулярных веществ в созданные в ходе выполнения работы многокомпонентные микроносители. В главе описываются разработанные для этой цели методики, приводятся результаты проведенных исследований. **В четвертой главе** обсуждаются результаты исследований, направленных на разработку и оптимизацию методов синтеза биоразлагаемых полиэлектролитных оболочек микрокапсул, предназначенных для доставки вводимых в них низко- и высокомолекулярных веществ. **Пятая и шестая главы** диссертации посвящены вопросам создания эффективных ГКР-структур и платформ и результатам исследования их свойств и возможностей применения в биофизических задачах.

В заключении диссертационной работы формулируются основные результаты, полученные в ходе проведенных исследований.

Перейдем к изложению основных положений составленного отзыва.

Среди **основных результатов**, имеющих большое научно-практическое значение следует выделить:

способ построения многокомпонентных носителей, предназначенных для капсулирования различных веществ одновременно в один носитель, и методика их использования в качестве микрореакторов биохимических реакций;

методики сохранения протеолитической и температурной активности терапевтического фермента, его введения и высвобождения из биodeградируемых микрокапсул;

серию подходов к получению ГКР-структур для создания воспроизводимых и стабильных сенсоров ГКР, предназначенных для обнаружения молекулярных веществ в биологических средах;

синергетические эффекты в структурах, состоящих из углеродных нанотрубок и золотых наночастиц, взаимодействие лазерного излучения с такими структурами и изучение превращения лазерного излучения в тепловую энергию.

Основные результаты работы были широко представлены научной общественности. Они многократно докладывались на научных семинарах, научных школах, всероссийских и международных конференциях (13 устных докладов, в том числе 5 приглашенных). По теме диссертации опубликованы 42 научные работы, в том числе 33 статьи в изданиях, включенных в перечень публикаций рекомендованных ВАК, 7 статей в сборниках научных трудов, 2 учебно-методических пособия.

Существенных возражений по работе не имеется. Отметим лишь следующие **замечания**, возникшие в ходе ознакомления с диссертационной работой:

Первое замечание относится к качеству изложения материала. В тексте диссертации допущено много опечаток, орфографических и стилистических ошибок, а также плохо сформулированных фраз и предложений, которые встречаются в каждом разделе диссертации. Например, следующее

предложение из текста на стр. 30: “Инкапсуляция прямыми методами проводят непосредственно при формировании микрочастиц, на которые впоследствии могут быть нанесено необходимое число полиэлектролитных слоев” или следующая фраза на стр. 70: “При этом радиус зонда является определяющим для получения высокого пространственного разрешения”. В обширном обзоре по литературе приводится большое количество интересной и важной информации, которая, на наш взгляд, недостаточно подробно обсуждается и сопровождается чересчур краткими комментариями и выводами, что сильно затрудняет ознакомление с приведенным материалом и понимание его значения и связи с темой и задачами диссертационной работы. Аналогичное замечание относится и к изложению остальных глав диссертации, которые также характеризуются изложением большого объема материала и информации, но недостаточным, на наш взгляд, обсуждением. Трудности при ознакомлении с материалом часто возникают также из-за очень кратких пояснений по ходу изложения.

Следующее замечание связано с одной из важных особенностей метода ГКР и его учетом в рассматриваемой диссертационной работе. Это наличие сильного влияния условий возбуждения ГКР спектров на наблюдаемые спектры и сами анализируемые молекулы, что связано с возбуждением высокоинтенсивного локального электромагнитного поля и электрохимическими эффектами в области возникновения усиленных сигналов ГКР от наблюдаемых молекул. Это может приводить к выраженным изменениям спектра ГКР по сравнению со спектром обычного спонтанного комбинационного рассеяния света (КР) для таких же молекул: сдвигу спектральных линий, изменению их относительных интенсивностей, появлению линий запрещенных в спектре КР и другим заметным изменениям и отличиям. Существенно, что изменения спектров, заметно проявляющиеся для одного вида молекул, могут практически не проявляться или проявляться по иному для молекул другого вида. Кроме того, наблюдаемые изменения могут меняться во времени, а также от измерения к измерению, при схожих

условиях измерений. Указанная особенность метода ГКР делает вопрос воспроизводимости и достоверности интерпретации измеряемых с использованием этого метода спектров очень важным для выяснения возможностей реальной применимости разработанных ГКР структур и соответствующих методик. Поэтому, с одной стороны, хочу отметить, что сам факт получения спектров ГКР с использованием созданных структур и платформ, что удалось сделать в данной работе, является большим научным достижением. С другой стороны, считаю нужным заметить, что вопросы воспроизводимости и достоверности измерения спектров ГКР с применением созданных структур на изучаемых в данной работе объектах, обсуждаются недостаточно. В частности, на мой взгляд, неясным остался вопрос временной стабильности основных параметров измеряемых спектров ГКР.

Еще одно замечание относится к вопросу о предельной концентрации, достигаемой с применением разработанных ГКР-структур и методик в разных применениях. В силу сложной природы процесса усиления интенсивности спектров ГКР и возможной зависимости возникающих эффектов от мощности возбуждающего излучения анализ величины предельно достижимой концентрации с применением метода ГКР в каждой конкретном применении является непростой задачей и требует тщательного исследования. На мой взгляд, кажутся не достаточно убедительными результаты исследования предельно достижимой чувствительности при детектировании глюкозы. Это видно, например, из приведенных на рис.5.13 (раздел 5.3) спектров ГКР глюкозы для случая трех концентраций. Спектры для случая концентраций 1мг/л и 0.01мг/л и случая концентрации 0.001мг/л сильно отличаются не только по интенсивности сигналов, но и по виду самого спектра, что не позволяет, на мой взгляд, делать достоверный вывод о возможности достоверной регистрации столь низких по концентрации растворов глюкозы. Отмеченные особенности метода ГКР требуют также внимательно относиться к вопросу о возможном нежелательном влиянии ГКР-структур на исследуемые объекты и делают необходимым специальное

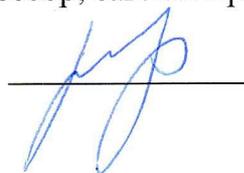
рассмотрение этого аспекта в каждом конкретном применении. В данной работе этот вопрос, на мой взгляд, обсуждается недостаточно.

Однако сделанные замечания не носят принципиального характера и не умоляют достоинства и значения диссертационной работы.

Ознакомившись с диссертационной работой, считаю, что представленная к защите по специальности 03.01.02 – Биофизика диссертация Яценка А.М. на тему «Наноструктурированные многофункциональные системы для доставки и детектирования биологически активных веществ» представляет собой законченную научную работу, выполненную на высоком научном уровне, в которой получены новые, важные и интересные результаты, и которая подтверждает высокую научную квалификацию диссертанта. Научная и практическая значимость полученных в диссертационной работе результатов и сделанных выводов не вызывает сомнений. Материал диссертации подробно изложен и наглядно проиллюстрирован. Полученные в ней результаты доведены до сведения российской и международной научной общественности. Основное содержание выполненной работы правильно и полно отражено в цитированной литературе. Автореферат полно и правильно отражает основные результаты и выводы работы и соответствует содержанию диссертации.

По своей научной новизне, актуальности темы исследований, научно-методическому уровню, объему и достоверности полученных экспериментальных результатов и практической значимости диссертация Яценка Алексея Михайловича полностью соответствует требованиям пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утверждённым постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени доктора физико-математических наук по специальности 03.01.02 – Биофизика.

Доктор физико-математических наук, профессор, зав. лабораторией
электронных спектров молекул
ФГБУН Института спектроскопии РАН
e-mail: vainer@isan.troitsk.ru



Ю.Г. Вайнер

« 8 » декабря 2016 г.

Подпись Вайнера Ю.Г. заверяю:

Ученый секретарь
ФГБУН Института спектроскопии РАН
к.ф.-м.н.



Е.Б. Перминов