

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Мусина Егора Валиевича
на тему: «Изучение физико-химических свойств полиэлектролитных
микрокапсул и разработка технологии их разрушения для создания
микроконтейнеров» по специальности 1.5.6. Биотехнология**

Микрокапсулирование – один из подходов современной биотехнологии, используемый для повышения эффективности доставки лекарств и диагностических средств, создания инновационных материалов. В конце 1990-х – начале 2000-х годов большое научное внимание среди технологий формирования устойчивых полимерных капсул привлек метод послойной адсорбции полиэлектролитов на коллоидные частицы (так называемый метод “layer-by-layer”) благодаря своей универсальности, простоте, возможности получения монодисперсных систем контролируемого состава и проницаемости оболочки. За свою более чем двадцатилетнюю историю полиэлектролитные микрокапсулы (ПМК) были всесторонне исследованы, однако в последнее время большинство работ посвящено инкапсулированию тех или иных лекарственных препаратов и изучению возможностей биомедицинского применения создаваемых систем. При этом физико-химические аспекты формирования часто отходят на второй план, а для успешной разработки новых эффективных микро- и наноносителей требуется глубокое понимание их структуры на молекулярном уровне. В связи с вышесказанным работа Е.В. Мусина, целью которой было изучение физико-химических свойств ПМК и разработка технологии их разрушения для создания микроконтейнеров на их основе, несомненно важна и актуальна.

В объемном и подробном литературном обзоре перечислены применения микроконтейнеров в медицине, биотехнологиях и других областях, подтверждающие перспективность микрокапсулирования, описаны принципы получения полимерных микроконтейнеров и подробно рассмотрены формирование и свойства полиэлектролитных микрокапсул. В соответствии с тематикой экспериментов особое внимание уделено влиянию

факторов среды на ПМК и способам высвобождения инкапсулированных веществ.

Результаты работы разбиты на пять частей, все они посвящены изучению одного и того же объекта – полиэлектролитных микрокапсул из полиаллиламина (ПАА) в качестве поликатиона и полистиролсульфоната (ПСС) в качестве полианиона (эта пара полиэлектролитов с 1998 г. наиболее распространена для формирования оболочек капсул методом послойной адсорбции). Слабость ПАА во многом определяет взаимодействие между полиэлектролитами и обеспечивает стабильность и свойства исследуемых оболочек.

В первой части экспериментального исследования оценивали стабильность ПМК во времени (до 500 ч.) по проценту десорбции меченого полиэлектролита с поверхности оболочки. При этом впервые сопоставлена такая стабильность микрокапсул, сформированных на сферолите CaCO_3 и составном сферолите CaCO_3 -белок, в воде и растворах солей различной концентрации при пониженной, комнатной и физиологической температурах. Показано, что в 2 М растворе NaCl может десорбироваться до 35% от внешнего слоя полиэлектролита капсул состава $(\text{ПАА/ПСС})_3\text{ПАА}$, полученных на CaCO_3 -сферолите. Важным выводом этой части работы стало обнаруженное некоторое повышение стабильности капсул, содержащих белок, к отслаиванию полимера оболочки в концентрированных растворах солей при температуре 37°C .

Новизна результатов второй части работы заключается в том, что на примере капсул с бычьим сывороточным альбумином впервые показано высвобождение белка под действием ионной силы раствора из ПМК при включении белка методом сорбции и его инкапсулирование без высвобождения в этих же условиях при формировании микрокапсул на составном сферолите CaCO_3 -белок (т.е. при включении белка методом копреципитации). Эти результаты важны для разработок новых перспективных носителей биологически активных веществ с их контролируемым высвобождением.

Хотелось бы особенно отметить интересные выводы, сделанные в результате экспериментальных исследований третьей части работы. Обнаруженное перемешивание полиэлектролитов оболочки в результате удаления пористого ядра, несомненно, привлечет внимание исследователей, которые в настоящее время часто используют сферолиты ватерита в качестве частиц-темплатов для формирования различных полиэлектролитных объектов.

Четвертая часть результатов работы посвящена изучению буферной ёмкости ПМК. Буферная ёмкость полиэлектролитных микрокапсул из ПАА/ПСС, обусловленная вхождением в состав оболочки слабого полиэлектролита, прогнозируема, однако впервые проведены такие подробные исследования этого явления. Показано повышение буферной ёмкости с ростом концентрации соли и ее снижение при повышении температуры, что связано соответственно с увеличением или уменьшением количества свободных групп ПАА. Эти результаты необходимо учитывать при создании рН-сенсоров на основе ПМК и при использовании инкапсулирования для защиты соединений от рН-опосредованной деградации.

В последней части диссертационного исследования разработан новый способ разрушения ПМК и высвобождения заключенного в них вещества с использованием инкапсулированных спор *B.subtilis*. **При этом триггером выступает** попадание ПМК в условия, благоприятные для роста выбранных бактерий. **Так как *B.subtilis*** используются в медицине и ветеринарии в качестве пробиотической культуры с антибактериальным и противогрибковым действием, разработанная система может стать основой для создания новых перорально вводимых лекарственных форм биологически активных веществ.

Достоверность полученных в работе результатов определяется использованием современных методов исследования, а также сопоставлением и корреляцией полученных данных с литературными. Следует отметить целостность представленной работы и логичность

изложения материалов диссертации. Основные результаты диссертационного исследования опубликованы в научной печати (7 статей в высокорейтинговых журналах) и апробированы на 7 российских и международных конференциях. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

По работе имеются следующие замечания:

1) В выводах диссертации не упоминается о том, что исследуемые ПМК сформированы парой «сильный полианион/ слабый поликатион», а между тем влияние условий среды на свойства капсул во многом определяется именно этим.

2) Исследования стабильности микрокапсул, сформированных на сферолите CaCO_3 и составном сферолите CaCO_3 -белок, проведены при составе оболочек $(\text{ПАА/ПСС})_3\text{ПАА}$ и $(\text{ПСС/ПАА})_3$, соответственно. Различный состав оболочки не принят во внимание, хотя помимо структуры и состава ядра капсулы, он тоже может влиять на десорбцию полиэлектролита с поверхности оболочки.

3) И в литобзоре (стр. 23-24), и в результатах (стр. 58) при описании сложной внутриобъемной организации ПМК, сформированной на пористой частице CaCO_3 , а также методов сорбции и копреципитации для включения веществ в ПМК автор в основном ссылается на работы коллег из своей лаборатории (Дубровский и др., 2008; Kochetkova et al., 2013). Однако впервые эти структуры и подходы разработаны и описаны Д.В. Володькиным в его кандидатской диссертации (МГУ, химический факультет, 2005 г.), а также в статьях Volodkin et al., 2004 и Petrov et al., 2008. Диссертант цитирует первую из этих статей только в п. 5.3 про организацию полиэлектролитных слоев, а вторую – во введении и схеме получения капсул со спорами с использованием метода копреципитации.

4) Часть диссертации, посвященная способу разрушения ПМК с использованием спор *B.subtilis*, выглядит несколько сжатой. Ни в методической части, ни в результатах не приведены подробности включения спор, а именно количественные данные (соотношение количества

спор/концентраций солей). Кроме того, нет результатов исследования частиц карбоната кальция с включенными бактериальными спорами, а сразу продемонстрированы ПМК, полученные на их основе.

5) Ряд замечаний по оформлению диссертации:

Заголовок Таблицы 2: Результаты исследования поверхностного заряда полиэлектролитных микрокапсул. При этом в таблице приведены средние значения дзета-потенциала ПМК. Конечно, дзета-потенциал пропорционален величине поверхностного заряда, но нигде в таблице не написано, что представляют собой приведенные данные.

В экспериментальной части диссертации имеется довольно много опечаток. Например, в описании метода получения составных микросферолитов методом копреципитации (стр. 52-53), автор дважды пишет о включении амиодарона, но в диссертации инкапсулирование этого препарата не изучалось. На стр. 60 указано, что «Десорбция полимера оценивалось спектрофотометрически». Однако согласно методической части (стр. 55) десорбцию оболочки регистрировали методом флуоресцентной спектроскопии. Стр. 79: «...на стадии приготовления ПМК количество адсорбированных полиэлектролитных слоев уменьшается с увеличением количества слоев». В списке литературы ссылки 118-120 – это одна и та же статья.

На рис. 17Б и 19, представляющих собой микрофотографии, отсутствуют метки масштаба.

Приведенные замечания не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы. По актуальности, научной новизне, методическому уровню и практической значимости результатов, объему проведенных исследований диссертационная работа полностью соответствует требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.6. Биотехнология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете

имени М.В. Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Мусин Егор Валиевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Официальный оппонент:

доктор химических наук, доцент,

Зав. лабораторией биоорганических структур

отдела рентгеновских и синхротронных исследований,

Института кристаллографии им. А.В. Шубникова

ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН

БУКРЕЕВА Татьяна Владимировна

12.10.2023

Контактные данные:

тел.: (499)135-40-20, E-mail: bukreeva@crys.ras.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

02.00.11 – коллоидная химия

Адрес места работы:

119333, Москва, Ленинский проспект, 59

ФНИЦ "Кристаллография и фотоника" РАН, Институт кристаллографии им.

А.В. Шубникова РАН, отдел рентгеновских и синхротронных исследований

Тел.: (499)135-40-20, E-mail: bukreeva@crys.ras.ru

Подпись Т.В. Букреевой удостоверяю.

Ученый секретарь ФНИЦ

«Кристаллография и фотоника» РАН

кандидат физико-математических наук

А.Е. Крюкова