

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Заборовой Ольги Владимировны «Комплексы катионных полимерных микросфер с отрицательно заряженными липосомами: Формирование, строение и свойства», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.06 – высокомолекулярные соединения, химические науки.

Создание и исследование макромолекулярных систем, обладающих биологической активностью, является важной задачей, решаемой рядом наук и технологий. В этом отношении диссертационная работа О.В.Заборовой, посвященная исследованию новых комплексов, содержащих полимерные микросферы и отрицательно заряженные липосомы, является вполне **актуальной**.

Основное содержание работы составляет исследование электростатической адсорбции анионных липосом на поверхности полимерных микросфер, содержащих привитые поликатионные цепи и исследование полученных систем. Одними из важных задач работы была разработка подхода к иммобилизации липосом, не сопровождавшейся их разрушением и преждевременным выходом включенного активного вещества, и создание систем с повышенной склонностью к эндоцитозу.

Диссертационная работа О.В.Заборовой построена традиционно и состоит из введения (с.5), обзора литературы (с.6-34), экспериментальной части (с.35-42), раздела «Результаты и их обсуждение» (с.43-83), выводов (с.84), списка сокращений и условных обозначений (с.85-86) и списка использованных литературных источников (с.87-100). Диссертация изложена на 100 страницах и включает 33 рисунка и 1 таблицу. Библиография включает 136 наименований литературных источников.

Во Введении диссертации (стр.5) и автореферата (с.3-5) отражены актуальность работы, сформирована ее цель и приведены основные характеристики структуры работы.

В разделе «2. Обзор литературы» (с.6-34) диссертант рассмотрела принципиальные подходы к использованию носителей лекарственных и биологически активных веществ, уделив основное внимание липосомальному транспорту.

В обзоре детально рассмотрено влияние строения липидов на образование ими организованных структур, в первую очередь липосом, что сказывается на их устойчивости к действию различных факторов, а следовательно, на эффективности их использования в качестве носителей биологически активных веществ, а также в качестве моделей природных липидных бислоев. Определенное внимание в обзоре уделено взаимодействию липосом с водорастворимыми полимерами, в частности, поликатионами. Обращает на себя внимание значительное количество рассмотренных работ, опубликованных в последние годы, что позволяет судить о достаточно высоком умении диссертанта работать с литературой.

В разделе «3.Экспериментальная часть» (с.35-42) диссертант привела описание использованных веществ и методов исследования, примененных в работе. Следует отметить, что использованные методы находятся на самом современном уровне – флуоресцентные методы, динамическое светорассеяние, исследование электрофоретической подвижности, флуориметрия, УФ-спектроскопия, кондуктометрия, препаративное центрифугирование, потенциометрия, криогенная трансмиссионная электронная микроскопия, дифференциальная сканирующая калориметрия. Причем в этих случаях была использована современная аппаратура.

Такой широкий набор современных экспериментальных подходов позволяет считать приведенные в работе результаты вполне достоверными.

Раздел “4. Результаты и обсуждения” (стр.43-83) начинается с рассмотрения изучения образования комплексов поликатионных привитых систем с липосомами, содержащими анионные группы (раздел 4.1.1). При этом использовался электрофоретический метод, показавший зависимость электрофоретической подвижности от доли анионных групп в мембране липосом и выявлен факт минимальной подвижности при эквивалентном содержании анионных групп в липосомах и катионных групп в микрочастицах. Параллельное определение среднего гидродинамического радиуса образующихся комплексов показало его увеличение с максимумом, соответствующим нейтральному комплексу.

Проведенные исследования позволили рассчитать предельное количество липосом, связавшихся с одной частицей, содержащей привитые поликатионные цепи.

Использование в составе липосомальной мембраны липида, меченного флуоресцинизиотиоцианатом позволило исследовать влияние на полученные системы введения в раствор соли (NaCl). Были выявлены диапазоны

концентраций соли определяющие необратимое связывание липосом с поликатионными частицами.

Изучение морфологии полученных систем методом криогенной трансмиссионной электронной микроскопии позволило подтвердить моноламенальную структуру комплексов без дополнительного контрастирования.

Исследования, проведенные в этом разделе диссертации, дали возможность выявить оптимальные свойства комплексов, позволяющие использовать их в качестве носителей для доставки лекарственных систем.

В следующем разделе обсуждения результатов (4.1.2) диссертант рассмотрела образование и свойства комплексов липосом, содержащих в мембране различные липиды, и частиц с привитыми поликатионными цепями. В этом разделе было выявлено влияние геометрической формы анионного липида на целостность липосом, заполненных раствором хлористого натрия. При этом было установлено, что замена в липосомальной мембране «несимметричного» кардиолипина, имеющего четыре длинноцепные алкильные группы, на «симметричный» фосфатидилхолин, содержащий две длинноцепные алкильные группы, повышает стабильность комплексов.

В разделе 4.2. рассмотрено влияние на устойчивость системы структурной перестройки мембран липосом, адсорбированных на поверхности микрочастиц с привитыми поликатионами. В качестве методов исследования в этом разделе использовали лазерный микроэлектрофорез и дифференциальную сканирующую калориметрию. В этом разделе работы продемонстрирован интересный факт неравномерного распределения отрицательного заряженного липида в липосомальной мембране в зависимости от того какой стороной она обращена к частице с привитыми поликатионными цепями.

В разделе 4.3. Обсуждения результатов показаны результаты исследования систем, содержащих липосомы с различными включенными веществами. В качестве таких веществ были использованы лакмус, включающийся во внутреннюю полость липосом, 1,1-диоктадецил-3,3,3',3'-тетраметилиндокарбоцианин, локализующийся в гидрофобной части липидного слоя, и дипальмитоилфосфатидилэтаноламин, меченный карбоксифлуоресцеином, локализующийся на внешней стороне липосомальной мембраны.

Было показано, что соотношение липосом различного состава в адсорбционном слое совпадало с их соотношением в исходной смеси. Этот факт рассматривается автором как простой способ получения мультилипосомальных контейнеров с различными включенными веществами.

Раздел 4.4 посвящен исследованию комплексов частиц с привитыми поликатионными цепями с рН-чувствительными липосомами. В этом разделе рассмотрены конструкции, позволяющие обеспечить выделение содержимого липосом в слабокислых средах, характерных для воспаленных тканей и опухолей.

Все изложенное позволяет сформулировать положения, характеризующие **научную новизну** рецензируемой диссертации:

- Впервые получены комплексы липосом различного строения с полистирольными микросферами, содержащими привитые поликатионные цепи.
- Впервые получены мультикомплексы, содержащие липосомы с включенными в них веществами различной природы.
- Показано влияние различных факторов, в том числе конформации липидов липосомальных мембран на устойчивость получаемых систем.
- Показано, что придание адсорбированным липосомам рН-чувствительности позволяет обеспечить выход включенных в них веществ в среды с заданным уровнем кислотности.

Практическая значимость работы заключается в разработке методики создания новых систем доставки лекарственных препаратов.

Выводы, сформулированные диссертантом, корректны и непротиворечивы.

Диссертация и автореферат хорошо оформлены.

По работе можно сделать следующие замечания:

1. К сожалению, синтетическая составляющая работы изложена весьма скромно. Например, не приведены методики синтеза микросфер с привитыми поликатионными цепями и некоторых низкомолекулярных веществ, а даны только ссылки на некие первичные работы, и эти данные невозможно проанализировать. Не определялась чистота использовавшихся веществ.

2. Диссертант при рассмотрении взаимодействия липосом и привитых к полистирольным частицам поликатионных цепей не учитывает конформационное состояние последних, которое, очевидно, должно играть

существенную роль. В диссертации полимерные системы с привитыми цепями поликатиона трактуются как «щетки» с достаточно прямой конформацией цепей. Однако, известно, что при рассматриваемых длинах таких цепей (около 65 нм) они образованы более чем 400 мономерными звеньями. А при такой степени полимеризации жесткий стержень трансформирован в макромолекулярный клубок, что, очевидно, должно сказаться на пространственной доступности взаимодействующих групп.

3. Работа перегружена сокращениями, количество которых легко можно было бы избежать.

4. Имеется ряд мелких замечаний. Например, почему-то, в отличие от других рассмотренных липидов, не приведена формула кардиолипина, использовавшегося во многих экспериментах.

Указанные замечания не снижают научной новизны и практической значимости работы, которая выполнена на высоком экспериментальном и теоретическом уровне. В целом, общая оценка диссертационной работы О.В.Заборовой положительная.

Автореферат и публикации в полной мере отражают содержание диссертации. По теме диссертации О.В.Заборовой опубликовано 10 печатных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК.

Работа обладает внутренним единством и содержит новые научные результаты. Результаты диссертационной работы прошли апробацию на конференциях различного уровня.

По своему содержанию, объектам и методам исследования диссертация О.В.Заборовой соответствует пунктам 1, 2, 3, 7, 8. паспорта специальности 02.00.06 – высокомолекулярные соединения.

Таким образом, диссертация Заборовой Ольги Владимировны является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, имеющей существенное значение для отрасли знаний «высокомолекулярные соединения» в области получения и исследования строения и свойств макромолекулярных комплексов, на основе функциональных микрочастиц и липосом.

По критериям актуальности, научной новизны, теоретической и практической значимости результатов, диссертация О.В.Заборовой, соответствует пункту 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации за № 842 от 24 сентября 2013г., а соискатель Заборова Ольга Владимировна

заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.06 – Высокомолекулярные соединения, химические науки.

Автореферат и опубликованные труды отражают содержание диссертации.

Официальный оппонент,
доктор химических наук, профессор,
Руководитель учебно-научного центра
«Биоматериалы»
ФГБОУ ВПО «Российский химико-
технологический университет
им. Д. И. Менделеева»
shtilmanm@yandex.ru

М.И. Штильман

тел. +7 (499) 978-87-40
адрес: 125047, Россия, Москва,
Миусская площадь, д. 9

Подпись проф. Штильмана М.И.
у д о с т о в е р я ю
Ученый секретарь РХТУ
им. Д.И.Менделеева, д.т.н., проф.



Т.В. Гусева