

УТВЕРЖДАЮ»

Директор ИХФ РАН

проф. В.А. Надточенко



\_\_\_\_\_ 2018 г.

## ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу Лусс Анны Леонидовны: "Наноразмерные агрегаты амфифильного поли-N-винилпирролидона как носители лекарственных веществ", представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.06 - Высокомолекулярные соединения

Диссертационная работа Лусс А.Л. относится к перспективной области исследований, посвященных созданию новых систем доставки лекарственных веществ. Разработка таких систем, обладающих оптимальными характеристиками, является одной из важнейших задач фармацевтической химии. В частности, в последнее время большое внимание уделяется получению наноразмерных носителей, различные типы которых описаны в многочисленных работах.

В то же время влияние строения и характеристик наноразмерных носителей на их эффективность недостаточно изучено. В этой связи работа А.Л.Лусс, посвященная синтезу и исследованию свойств наночастиц на основе агрегатов амфифильных олигомеров N-винилпирролидона, а также особенностей их взаимодействия с клетками, представляется весьма актуальной.

Диссертационная работа изложена на 121 странице и состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, обсуждения результатов, выводов, списка литературы (112 источников) и 1 приложения. Работа содержит 33 рисунка и 6 таблиц.

Во введении обоснована актуальность диссертации, сформулированы ее научная новизна, практическая значимость, цели и задачи, перечислены методы исследования, определены степень достоверности результатов и личный вклад автора.

Литературный обзор работы построен логично и состоит из трех основных разделов. В первой части обзора обсуждаются особенности строения и свойств амфифильных полимеров, их поведение в растворах и термодинамические аспекты процессов ассоциации в различных средах. Во втором разделе обсуждаются способы получения наночастиц на основе амфифильных полимеров. Третий раздел посвящен анализу механизмов транспорта наночастиц в живую клетку и способам ингибирования эндоцитоза. Приведенные данные позволяют получить представление об основных направлениях современных исследований, проводимых в области полимеров медико-биологического назначения, и свидетельствуют об актуальности проведения работ, направленных на создание новых методов получения амфифильных полимеров.

В экспериментальной части перечислены использованные в работе вещества, описаны разработанные методы синтеза и анализа амфифильных олигомеров и полимеров N-винилпирролидона контролируемого строения, получение на их основе наночастиц прямым растворением, диализным, суспензионным и эмульсионными методами, а также создание наночастиц с включенным биологически активным веществом куркумином и их тестирование на клеточных культурах. Следует отметить, что при выполнении диссертационной работы Лусс А.Л. использованы современные методы анализа, включая ИК- и ЯМР-спектроскопию, анализ траектории наночастиц, конфокальную и трансмиссионную микроскопию. Эксперименты на клеточных культурах проводились по стандартным методикам.

Глава «Обсуждение результатов» состоит из трех разделов, отражающих основные результаты работы. В первом разделе автор рассматривает получение амфифильных олигомеров N-винилпирролидона методом радикальной

полимеризации в присутствии длиноцепных меркаптанов в качестве передатчиков цепи. Строение полученных олигомеров N-винилпирролидона надежно доказано с использованием современных физико-химических методов исследования, включающих ЯМР  $^1\text{H}$ , ЯМР  $^{13}\text{C}$ , УФ и ИК спектроскопию. Среднечисловая молекулярная масса олигомеров N-винилпирролидона с одной концевой гидрофобной группой была определена классическим методом анализа концевых групп. Поверхностно-активные свойства модифицированных полимеров оценивались по величине критической концентрации мицеллообразования.

Второй раздел главы посвящен получению и исследованию наночастиц на основе полученных амфифильных олигомеров. Показано, что в зависимости от способа получения частиц на основе олигомеров N-винилпирролидона с концевой тиоокадецильной группой размер агрегатов варьируется от 30 до 200 нм.

В третьей части главы на примере нефагоцитирующих клеток фибробластов и фагоцитирующих клеток глиобластомы с использованием куркумина в качестве флуоресцентной метки, вортманнина и дайносора в качестве ингибиторов фагоцитоза установлено, что в зависимости от размера полученные агрегаты различным образом проникают в клеточные культуры. Показано, что агрегаты со средним диаметром от 50 до 200 нм поглощаются клетками культур тканей за счет фагоцитоза. Агрегаты малого гидродинамического радиуса (менее 50 нм) проникают внутрь большинства частей живой клетки, включая ядро, через мембраны.

Несомненной заслугой автора является разработка методов синтеза новых амфифильных полимеров N-винилпирролидона, позволяющих регулировать молекулярную массу гидрофильного фрагмента полимера, природу алифатического гидрофобного фрагмента и массового соотношения гидрофобной и гидрофильной частей синтезируемых полимеров для оптимизации свойств наноразмерных форм, созданных на их основе. Особо следует отметить впервые продемонстрированную возможность использования с

высокой эффективностью наноразмерных частиц на основе амфифильных полимеров N-винилпирролидона в качестве носителей биологически активных веществ. В работе в условиях *in vitro* впервые показано, что в зависимости от размера новых полимерных наноразмерных форм с иммобилизованным куркумином может изменяться характер их взаимодействия с живыми культурами клеток. Все это составляет научную новизну диссертационной работы Лусс Анны Леонидовны.

Практическая значимость работы состоит в обнаружении возможности доставки биологически активных веществ внутрь ядра живых клеток, что обеспечивает новые перспективы лечения различных заболеваний, в том числе с нарушениями генетического характера.

Выводы диссертации А.Л.Лусс логичны, отражают полученные результатов и подтверждены достоверными экспериментальными данными, полученными с привлечением современных методов исследования.

Результаты диссертации достаточно полно опубликованы в 11 печатных работах, в том числе трех работах в журналах из перечня изданий рекомендованных ВАК и индексируемых в Web of Science. Автореферат и публикации соответствуют основному содержанию диссертации.

По содержанию, научной новизне, практической значимости, сформулированным выводам, объектам и методам исследования диссертация Лусс Анны Леонидовны соответствует паспорту специальности 02.00.06 – Высокомолекулярные соединения в областях исследования 2 и 9.

По диссертации Лусс А.Л. следует сделать следующие замечания:

1. Не на всех рисунках и таблицах приведены доверительные интервалы значений (рис. 16, 18 и др., табл.1, табл.3 и др.). Проведение более детальной статистической обработки экспериментальных результатов было бы не лишним.
2. Определенный в работе поверхностный заряд полученных наночастиц составляет около -4мВ. При этом известно, что коллоидные системы с поверхностным зарядом частиц менее +25 мВ и более -25 мВ, как правило,

являются нестабильными. Поэтому желательно было бы провести анализ механизма, обеспечивающего стабилизацию описанных в работе агрегатов, что украсило бы работу.

3. Следовало было бы провести определение числовых значений относительных констант передачи цепи на различные использованные в работе тиолы, которые, собственно, и являются количественной оценкой их активности в передаче цепи.
4. Хотя подход, предложенный А.Л. Лусс к доставке биологически активных веществ в ядро живой клетки, по всей видимости, является универсальным, следовало бы использовать в качестве доставляемого вещества не только куркумин, но и еще какие-либо другие вещества.

Сделанные замечания, не умаляют научной и практической значимости рассматриваемой работы и не затрагивают ее основных положений.

В целом диссертационная работа Анны Леонидовны Лусс, является законченной научно-квалификационной работой, обладающей бесспорной научной новизной, практической значимостью и актуальностью.

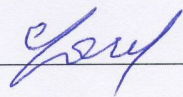
Результаты работы могут быть использованы специалистами, работающими в области полимеров медико-биологического назначения, в первую очередь следующих организаций: Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Сибирский федеральный университет, МИРЭА - Российский технологический университет, Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова и ряд других организаций.

Диссертация Лусс Анны Леонидовны на тему "Наноразмерные агрегаты амфифильного поли-N-винилпирролидон, как носители лекарственных веществ", является законченной научно-квалификационной работой, соответствующей требованиям п. 9-14 "Положения о присуждении ученых степеней", утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, в

которой в результате выполненных исследований решена актуальная задача создания наноразмерных носителей на основе олигомеров N-винилпирролидона для доставки лекарственных веществ непосредственно в ядро клеток, а ее автор Лусс Анна Леонидовна заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.06 - Высокомолекулярные соединения.

Диссертационная работа Лусс Анны Леонидовны " Наноразмерные агрегаты амфифильного поли-N-винилпирролидона как носители лекарственных веществ" была рассмотрена и обсуждена на семинаре лаборатории физических и химических процессов в полимерных системах Института химической физики им. Н. Н. Семенова РАН протокол № 2 от «28» ноября 2018 г.

Д.х.н.02.00.06-Высокомолекулярные соединения,  
Ведущий научный сотрудник Института химической физики  
им. Н.Н. Семенова РАН



Роговина Светлана Захаровна

28.11.2018

119991, Россия, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4  
тел.: 84959397155, e-mail: s.rogovina@mail.ru



Подпись Роговиной С.З. заверяю \_\_\_\_\_

Ученый секретарь ИХФ РАН

Кандидат химических наук



Л.Н. Стрекова