

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Лусс Анны Леонидовны на тему: "Наноразмерные агрегаты амфифильного поли-N-винилпирролидона, как носители лекарственных веществ" представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.06 - Высокомолекулярные соединения

Исследования полимерных носителей фармакологически активных препаратов, проводимые в последние годы, обозначили принципиально новые тенденции дальнейшего развития фармакологии. Стало очевидным, что подходы классической фармакологии во многом исчерпаны, особенно при терапии генетически обусловленных заболеваний. Этим обусловлен значительный интерес к использованию и развитию методов генной инженерии в качестве одного из приоритетных направлений медицины. Переход от классических методов лечения к генной терапии требует развития универсальных систем доставки химически нестойких лекарственных препаратов и генного материала внутрь ядра живых клеток. Несмотря на обилие работ в области физиологически активных полимеров, в настоящее время отсутствуют удобные универсальные системы внутриклеточной доставки лекарств и генного материала. Использование для внутриклеточного транспорта растворимых полимерных препаратов, снабженных векторами целевой доставки, требует применения весьма сложных химических методов, и до настоящего времени представляется подходом ограниченным, в первую очередь благодаря высокой лабильности такого рода систем. Кроме того, такие системы доставляют лекарство только до поверхности клетки, но не гарантируют проникновения через мембрану внутрь клетки без разложения лизосомальными ферментами. В последние годы широкие исследования в этой области привели к общему выводу о том, что наиболее подходящими для внутриклеточного транспорта являются не растворимые, а корпускулярные полимерные системы. К ним относятся жидкие мицеллярные препараты на основе полианионов, которые хорошо

работают в случае клеточных культур и успешно применяются в экспериментальной генной инженерии клеток и тканей. Однако, полианионные транспортные средства на основе жидких мицелл весьма ограничено применимы для внутриклеточного транспорта лекарств в первую очередь вследствие выраженной способности к слиянию друг с другом и обмену терапевтически активным содержимым с окружающими тканями и другими мицеллами, а также способности к захватыванию посторонних веществ из межклеточной жидкости. Требования, предъявляемые к носителям для генной терапии, а также к носителям пептидных лекарств предусматривают отсутствие способности образовывать прочные интерполимерные комплексы с пептидами и олигонуклеотидами, а также стабильность в растворе и невозможность обмена содержимым с другими мицеллами и тканями до момента доставки внутрь ядра. Созданию именно таких систем посвящена диссертационная работа Анны Леонидовны Лусс, что обеспечивает **ее безусловную актуальность.**

Диссертация построена традиционно и состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка литературы, включающего 112 библиографических ссылок. Работа изложена на 121 странице и включает 33 рисунка и 6 таблиц.

Во введении отражена актуальность работы, ее цель и задачи, сформулирована научная новизна и практическая значимость, а также положения, выносимые на защиту. Имеются данные о методах исследования, использованных в работе, а также приведена оценка достоверности полученных результатов. Имеются сведения об апробации результатов работы, публикациях, выполненных А.Л. Лусс по теме диссертации, а также отмечен личный вклад автора.

Обзор литературы является аналитическим, он объединяет в себе систематическое рассмотрение проблем синтеза полимеров, способных к образованию агрегатов и их применения в качестве систем доставки фармакологически активных веществ в клетку.

Обсуждение результатов является основной частью диссертации и включает интерпретацию всех полученных экспериментальных данных. Рассмотрены вопросы синтеза амфифильного поли-N-винил-2-пирролидона с концевыми жирными остатками методом радикальной полимеризации в присутствии меркаптанов в качестве регуляторов молекулярной массы. Строение всех полученных амфифильных олигомеров N-винил-2-пирролидона охарактеризовано методами ЯМР, ИК и УФ спектроскопии, определена их среднечисловая молекулярная масса и способность к образованию мицелл в водных растворах. Значительный интерес представляют данные по влиянию длины цепи меркаптана и его концентрации в системе на молекулярную массу образующегося продукта.

Проведено подробное исследование влияния выбора метода (суспензионный, эмульсионный, диализный) формирования агрегатов амфифильных олигомеров N-винил-2-пирролидона на распределение частиц по размерам полученных агрегатов.

С использованием ингибиторов эндоцитоза проведено систематическое исследование способности синтезированных агрегатов к проникновению в различные компартменты живых клеток двух линий U87 и CRL2429. Так было показано, что агрегаты с размером около 100 нм проникают в клетку за счет процесса эндоцитоза, тогда как агрегаты с размером менее 50 нм способны проникать в ядра клеток через реализацию механизма слияния с мембраной. Это обстоятельство открывает принципиально новые возможности использования предлагаемого подхода в терапии различных заболеваний и представляет собой новое фундаментальное свойство агрегатов амфифильных олигомеров N-винил-2-пирролидона.

Экспериментальная часть включает подробное описание свойств исходных веществ, методик проведения эксперимента, а также методов, использованных А.Л. Лусс при выполнении экспериментальной работы.

Выводы, сформулированные А.Л. Лусс, являются корректными, обобщают полученные результаты и не имеют внутренних противоречий.

Достоверность результатов работы и ее выводов подтверждается применением комплекса современных методов исследования, правильностью интерпретации результатов и адекватностью методов поставленным задачам.

Научная новизна диссертационной работы А.Л. Лусс состоит в следующем:

- впервые дано систематическое описание закономерностей радикальной теломеризации N-винил-2-пирролидона в присутствии алкилмеркаптанов различного строения, а также установлена взаимосвязь между строением продуктов теломеризации, их молекулярно-массовыми характеристиками и способностью к образованию агрегатов;
- установлена взаимосвязь методов формирования агрегатов на основе амфифильных продуктов теломеризации N-винил-2-пирролидона, распределением агрегатов по размерам и их свойствами;
- впервые показано, что изменение размеров агрегатов теломеров N-винил-2-пирролидона с концевыми гидрофобными группами приводит к изменению способности агрегатов к проникновению во внутриклеточные структуры; при размере агрегатов более 50 нм включенный в агрегаты куркумин доставляется в фагосомы клеток, тогда как при размере менее 50 нм, проникает в цитозоль и нуклеоплазму.

Практическая значимость диссертационной работы А.Л. Лусс состоит в разработке метода доставки фармакологически активных веществ в ядро клетки без деструкции ферментами фагосом, что имеет ключевое значение для развития терапии генетически обусловленных заболеваний, в том числе и онкологических.

Вместе с тем, **имеются следующие замечания:**

- 1) Очевидно, что изменение характера доставки куркумина при варьировании размеров частиц носителя является следствием изменения механизма транспорта в клетку. Вместе с тем, хотя изменение механизма транспорта констатируется автором, подробного исследования самой сути механизмов в работе не приведено. Если для

агрегатов больших размеров механизм транспорта в клетку связан с реализацией эндоцитоза, то при размерах меньших 50 нм, механизм не вполне ясен и не рассмотрен автором.

2) В качестве доставляемого соединения рассмотрен лишь куркумин, локализация которого в пределах клетки поддается простой визуализации. При этом не рассмотрены другие фармакологически активные вещества, поэтому не вполне ясно на сколько общим является подход, предложенный А.Л. Лусс, к направленной доставке веществ внутрь клетки.

3) Из текста работы не ясно, проникает ли в клетку только куркумин или куркумин вместе с носителем. Установление этого обстоятельства позволило бы сделать предположение о механизме проникновения в клетку при использовании агрегатов мало размера.

Указанные замечания носят характер рекомендаций и не снижают научной и прикладной ценности работы А.Л. Лусс, в которой впервые продемонстрировано принципиально новое явление транспорта в нуклеоплазму при использовании полимерных носителей.

Автореферат полностью отражает основное содержание диссертации. По материалам диссертационной работы А.Л. Лусс, опубликовано 11 печатных научных трудов, три из которых опубликовано в изданиях входящих в перечень ВАК и индексируемых Web of Science и Scopus.

По своему содержанию, методам и объектам исследования диссертация А.Л. Лусс соответствует паспорту специальности 02.00.06 – Высокомолекулярные соединения в пунктах 2 и 9.

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости диссертация А.Л. Лусс «Наноразмерные агрегаты амфифильного поли-N-винилпирролидона, как носители лекарственных веществ», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук, является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющей существенное значение для развития химии высокомолекулярных соединений в отрасли разработки новых амфифильных полимеров для целевой доставки биологически активных веществ, и соответствует критериям п. 9. Постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013г № 842 «О порядке присуждения ученых степеней» (с изменениями и дополнениями), а ее Автор – Анна Леонидовна Лусс достойна присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.06 – Высокомолекулярные соединения.

Официальный оппонент:

доктор химических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории гетероцепных полимеров ФГБУН Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН.



Ямсков Игорь Александрович

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской Академии Наук (ИНЭОС РАН). Адрес: 119991, ГСП-1, Москва, 119334, ул. Вавилова, 28.

Тел.: 8(499)135-50-37;
e-mail: yamskov@mail.ru

Подпись Ямскова Игоря Александровича удостоверяю

Ученый секретарь
ИНЭОС РАН
К.Х.Н.



Гулакова Е.Н.

19 ноября 2018 г.