

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА

РХТУ2.6.05 федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

аттестационное дело № 14/24
решение диссертационного совета
от 26 декабря 2024 г. № 11

О присуждении ученой степени кандидата химических наук Нечаевой Анне Михайловне, представившей диссертационную работу на тему «Электростатическое связывание доксорубина и бычьего сывороточного альбумина самоорганизующимися в водных средах сополимерами N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой» по научной специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения (химические науки).

Диссертация принята к защите 21 ноября 2024 г., протокол № 8 диссертационным советом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» (РХТУ им. Д.И. Менделеева).

Состав диссертационного совета утвержден в количестве 15 человек приказом и.о. ректора РХТУ им. Д.И. Менделеева от «25» мая 2022 года № 185А с изменениями, внесенными приказом и.о. ректора РХТУ им. Д.И. Менделеева от «05» июля 2024 года № 155А.

Соискатель Нечаева Анна Михайловна 1996 года рождения, в 2018 году окончила бакалавриат федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», диплом серия 107731 номер 0179038.

В 2020 году окончила магистратуру федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», диплом серия 107731 номер 0389557.

В 2024 году окончила аспирантуру федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», диплом серия 107734 номер 0245711.

Диссертация выполнена на кафедре биоматериалов РХТУ им. Д.И. Менделеева.

Научный руководитель доктор химических наук, доцент Межуев Ярослав Олегович, заведующий кафедрой биоматериалов Российского химико-технологического университета имени Д.И. Менделеева.

Официальные оппоненты:

Капустин Дмитрий Валерьевич - доктор химических наук, старший научный сотрудник лаборатории полимеров для биологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук;

Сыбачин Андрей Владимирович - кандидат химических наук, доцент кафедры высокомолекулярных соединений химического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

Ведущая организация - федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет» (ФГБОУ ВО «КНИТУ»).

Основные положения и выводы диссертационного исследования в полной мере изложены в 10 научных работах, опубликованных соискателем, в том числе в 4 публикациях в изданиях, индексируемых в международных базах данных. Общий объем публикаций составляет 55 страниц. Все публикации выполнены в соавторстве, личный вклад соискателя (от 50 до 80 %) состоит в анализе литературы, получении и анализе экспериментальных данных, обработке результатов, написании работы. Соискателем опубликовано 6 работ в материалах международных конференций. Монографий, депонированных рукописей не имеет. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. **Nechaeva A.M.** The Synthesis and Properties of a New Carrier for Paclitaxel and Doxorubicin Based on the Amphiphilic Copolymer of N-vinyl-2-pyrrolidone and Acrylic Acid / **A.M. Nechaeva**, A.A. Artyukhov, A.L. Luss, M.I. Shtilman, A.Y. Svistunova, M.V. Motyakin, I.I. Levina, E.G. Krivoborodov, I.Y. Toropygin, E.M. Chistyakov, A.M. Tsatsakis, L. Gurevich, Y.O. Mezhuev // *Macromolecular Chemistry and Physics*. – 2022. – V. 223. – № 17. – P. 2200081. DOI: 10.1002/macp.202200081 (*Scopus, Web of Science*)
2. Artyukhov A.A. Nanoaggregates of Biphilic Carboxyl-Containing Copolymers as Carriers for Ionically Bound Doxorubicin / A.A. Artyukhov, **A.M. Nechaeva**, M.I. Shtilman, E.M. Chistyakov, A.Y. Svistunova, D.V. Bagrov, A.N. Kuskov, A.O. Docea, A.M. Tsatsakis, L. Gurevich, Y.O. Mezhuev // *Materials*. – 2022. – V. 15. – № 20. – P. 7136. DOI: 10.3390/ma15207136 (*Scopus, Web of Science*)
3. Estifeeva T.M. Hybrid (bovine serum albumin)/poly (N-vinyl-2-pyrrolidone-co-acrylic acid)-shelled microbubbles as advanced ultrasound contrast agents / T.M. Estifeeva, R.A. Barmin, P.G. Rudakovskaya, **A.M. Nechaeva**, A.L. Luss, Y.O. Mezhuev, V.S. Chernyshev, E.G. Krivoborodov, O.A. Klimenko, O.A. Sindeeva, P.A. Demina, K.S. Petrov, R.N. Chuprov-Netochin, E.P. Fedotkina, O.E. Korotchenko, E.A. Sencha, A.N. Sencha, M.I. Shtilman, D.A. Gorin // *ACS Applied Bio Materials*. – 2022. – V. 5. – № 7. – P. 3338-3348. DOI: 10.1021/acsabm.2c00331 (*Scopus, Web of Science*)
4. Kuskov A.N. Kinetics and mechanism of synthesis of carboxyl-containing N-vinyl-2-pyrrolidone telechelics for pharmacological use / A.N. Kuskov, A.L. Luss, I.A. Gritskova, M.I. Shtilman, M.V. Motyakin, I.I. Levina, **A.M. Nechaeva**, O.Y. Sizova, A.M. Tsatsakis, Y.O. Mezhuev // *Polymers*. – 2021. – V. 13. – № 15. – P. 2569. DOI: 10.3390/polym13152569 (*Scopus, Web of Science*)

На автореферат поступили 3 отзыва, все положительные.

В отзывах указано, что представленная работа имеет высокий теоретический и экспериментальный уровень, а также большое научное и практическое значение, по своей новизне и актуальности соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» и специальности 1.4.7. Высокмолекулярные соединения.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. **Отзыв официального оппонента**, доктора химических наук, старшего научного сотрудника лаборатории полимеров для биологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук **Капустина Дмитрий Валерьевича**.

Отзыв положительный. Имеются замечания:

- 1) Не лишним стало бы более детальное исследование вопросов, связанных с иммобилизацией паклитаксела агрегатами амфифильных сополимеров N-винил-2-пирролидона

с акриловой кислотой, например, полезно было бы определить выход при включении этого препарата в мицеллы. Также следовало провести анализ кинетики высвобождения, включенного в ядро агрегатов паклитаксела.

2) Хотя в диссертации вопросам синтеза и применения комплексов амфифильных сополимеров N-винил-2-пирролидона и акриловой кислоты с бычьим сывороточным альбумином уделено значительное внимание, механизм образования комплексов предложен лишь в качестве предположения. В этом отношении ценным дополнением диссертационной работы могло бы стать более детальное исследование механизма образования интерполимерных комплексов, включая установление сайтов связывания молекулы белка с макромолекулами амфифильных сополимеров N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой.

3) Обзор литературы достаточно полон, однако, в рамках обзора было бы уместным отдельно выделить положения, подчеркивающие значимость поставленных автором задач в рамках проведенного исследования.

В заключении указано, что по совокупности актуальности, научной новизны, теоретической и практической значимости, диссертация Анны Михайловны Нечаевой «Электростатическое связывание доксорубина и бычьего сывороточного альбумина самоорганизующимися в водных средах сополимерами N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук, является законченной научно-квалификационной работой в которой содержится решение научной задачи по установлению закономерностей самоорганизации цепей амфифильных сополимеров N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой в водных растворах с образованием агрегатов, электростатической иммобилизации короной последних гидрохлорида доксорубина, а также по получению интерполимерных комплексов амфифильных сополимеров N-винил-2-пирролидона и акриловой кислоты с бычьим сывороточным альбумином, имеющей существенное значение для развития химии и физической химии амфифильных высокомолекулярных соединений и их применения в биомедицине. Диссертация Нечаевой Анны Михайловны «Электростатическое связывание доксорубина и бычьего сывороточного альбумина самоорганизующимися в водных средах сополимерами N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой» соответствует требованиям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», утвержденным приказом и.о. ректора № 103 ОД от 14.09.2023 г., предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Нечаева Анна Михайловна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения.

2. **Отзыв официального оппонента**, кандидата химических наук, доцента кафедры высокомолекулярных соединений химического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» **Сыбачина Андрея Владимировича**.

Отзыв положительный. Имеются замечания:

1. При анализе литературы стоило бы рассмотреть теоретические работы по предсказыванию самосборки амфифильных сополимеров в ассоциаты различной морфологии в зависимости от соотношения гидрофильных и гидрофобных блоков;

2. Следовало экспериментально установить константы сополимеризации N-винил-2-пирролидона и акриловой кислоты;

3. Не ясно к какому из распределений по размерам относится индекс полидисперсности, представленный в таблицах 3,4, 6. На рисунках 34 и 37 не стоило искать линейные участки зависимостей. К какому процессу относится кривая «без полимера» на рисунке 48?;
4. Для малых фракций, обнаруженных светорассеянием, следовало бы провести оценочное сравнение со среднеквадратичным расстоянием между концами цепи у единичных макромолекул;
5. Количество включенного в мицеллы паклитаксела не было установлено;
6. Следовало установить детали механизма образования интерполимерных комплексов между цепями амфифильного N-винил-2-пирролидона и акриловой кислоты с бычьим сывороточным альбумином. Не происходило ли денатурации БСА в процессе синтеза комплексов с сополимерами при 50 °С;
7. В диссертации имеются стилистические неточности.

В заключении указано, что диссертация Нечаевой Анны Михайловны «Электростатическое связывание доксорубина и бычьего сывороточного альбумина самоорганизующимися в водных средах сополимерами N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук, является научно-квалификационной работой в которой содержится решение научной задачи по исследованию закономерностей ионной иммобилизации водорастворимого гидрохлорида доксорубина, а также созданию микропузырьков для ультразвуковой диагностики на основе амфифильных сополимеров N-винил-2-пирролидона и акриловой кислоты и их комплексов с бычьим сывороточным альбумином, которая имеет существенное значение для развития химии высокомолекулярных соединений в отрасли исследования свойств амфифильных макромолекул и соответствует требованиям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», утвержденным приказом и.о. ректора № 103 ОД от 14.09.2023 г., предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Нечаева Анна Михайловна достойна присуждения искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения.

3. Отзыв ведущей организации - федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет» (ФГБОУ ВО «КНИТУ»).

Отзыв положительный. Имеются замечания:

1. Возможно ли использование интерполиэлектролитных комплексов бычьего сывороточного альбумина и амфифильного сополимера N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой в качестве самостоятельного материала для иммобилизации и доставки лекарств?
2. Выбор состава и среднечисловой молекулярной массы амфифильного сополимера N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой для получения интерполимерных комплексов с бычьим сывороточным альбумином представляется недостаточно обоснованным. Возможно ли было использование для этой цели сополимеров N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой не содержащих концевой гидрофобной группы?
3. Для вычисленных значений энергий активации связывания и высвобождения доксорубина, а также для термодинамических параметров высвобождения доксорубина не лишним было бы определение погрешности.
4. Диссертацию украсило бы экспериментальное определение не только значений среднечисловых молекулярных масс методом анализа концевых групп синтезированных

амфифильных сополимеров, но и их молекулярно-массового распределения с использованием метода гель-проникающей хроматографии.

5. Диссертация не лишена опечаток и некоторых терминологических неточностей.

В заключении указано, что диссертационная работа Нечаевой Анны Михайловны «Электростатическое связывание доксорубина и бычьего сывороточного альбумина самоорганизующимися в водных средах сополимерами N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой» по своей актуальности, научной новизне, достоверности результатов, теоретической и практической значимости, личному вкладу автора и уровню публикаций является завершённым научным исследованием, в котором содержится решение научной задачи, имеющей значение для развития соответствующей отрасли знаний, а именно установление закономерностей электростатического связывания доксорубина и бычьего сывороточного альбумина самоорганизующимися в водных средах амфифильными сополимерами N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой. Результаты диссертации, представляющие собой решение этой задачи, значимы для развития области высокомолекулярных соединений, представленной в паспорте специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения в пунктах 2, 4, 5 и 9. Диссертационная работа Нечаевой Анны Михайловны соответствует требованиям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», утвержденным приказом и.о. ректора №103 ОД от 14.09.2023 г., а ее автор, Нечаева Анна Михайловна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения. Диссертационная работа Нечаевой Анны Михайловны и отзыв на нее обсуждались на заседании кафедры общей химической технологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет» (протокол №12 от 3 декабря 2024 г.). Отзыв подготовлен кандидатом химических наук, старшим преподавателем кафедры общей химической технологии ФГБОУ ВО «КНИТУ» Максимовым Алексеем Федоровичем, подписан доктором химических наук, профессором, заведующим кафедрой общей химической технологии ФГБОУ ВО «КНИТУ» Улитиным Николаем Викторовичем и утвержден доктором технических наук, доцентом, ректором ФГБОУ ВО «КНИТУ» Казаковым Юрием Михайловичем.

4. **Отзыв на автореферат диссертации**, доктора химических наук, доцента, заместителя директора по науке Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева Российской академии наук» (ИНХС РАН) **Бермешева Максима Владимировича**.

Отзыв положительный. Имеются замечания:

В качестве недостатка работы следует отметить лишь незначительное внимание уделенное включению нерастворимых в воде лекарств (например паклитаксела), хотя это представляется важным, особенно для проведения комбинированной терапии опухолевых заболеваний.

5. **Отзыв на автореферат диссертации**, доктора физико-математических наук, директора Института биомедицинской инженерии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС» **Сенатова Фёдора Святославовича**.

Отзыв положительный. Имеются замечания:

Вместе с тем, не следовало ограничиваться одним лишь препаратом – доксорубином, в качестве модельного водорастворимого лекарства для кинетических исследований. Поэтому возникает вопрос на сколько общими являются установленные кинетические закономерности?

Каким условиям должно отвечать лекарство, для обеспечения его способности к связыванию с гидрофильной короной амфифильных сополимеров N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой?

6. Отзыв на автореферат диссертации, доктора химических наук, заведующего лабораторией инженерии биополимеров Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН) **Варламова Валерия Петровича**.

Отзыв положительный. Имеются замечания:

В качестве замечания рекомендательного характера, возникшего при ознакомлении с авторефератом, хотелось бы отметить, что кинетика высвобождения доксорубина в кислой среде исследована только для одного сополимера, и нелишним было бы провести аналогичные эксперименты с сополимерами с большим содержанием звеньев акриловой кислоты.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

установлены тензиометрическим методом закономерности изменения критических концентраций агрегации (мицеллообразования) амфифильных сополимеров N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой при варьировании состава цепи, а также длин гидрофильного и гидрофобного фрагментов;

выявлены закономерности изменения распределения агрегатов по диаметрам при варьировании концентрации, среднечисловой молекулярной массы и состава синтезированных амфифильных сополимеров N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой;

разработаны подходы к электростатической иммобилизации доксорубина короной агрегатов амфифильных сополимеров N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой, а также оценена их цитотоксичность в экспериментах *in vitro* на клеточных линиях С6 (глиома крысы) и U87 (глиобластома человека);

предложен подход к количественному описанию кинетических и термодинамических закономерностей высвобождения доксорубина, иммобилизованного гидрофильной короной агрегатов цепей амфифильных сополимеров N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой посредством электростатических (межионных) взаимодействий;

получены комплексы бычьего сывороточного альбумина и амфифильных сополимеров N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой, а также газонаполненные микропузырьки на их основе.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

установлено, что высвобождение электростатически иммобилизованного доксорубина подчиняется кинетическому уравнению для обратимых реакций первого порядка, рассчитаны константы скорости высвобождения и связывания доксорубина при различных концентрациях и составах амфифильных сополимеров N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой, а также оценены значения стандартных термодинамических параметров для процесса высвобождения доксорубина в нейтральной среде;

выявлено, что равновесная конверсия высвобождения доксорубина значительно возрастает в кислой среде, что может служить фактором таргетирования доставки этого лекарства в раковые клетки;

выявлены взаимосвязи между строением цепей амфифильных сополимеров N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой и их способностью к образованию наноразмерных агрегатов в водных средах, а также их средними диаметрами;

предложены пути контроля частичной концентрации, размеров и толщины стенок газонаполненных микропузырьков на основе интерполимерных комплексов N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой и бычьего сывороточного альбумина.

Значение полученных сонскателем результатов исследования для практики состоит в обнаружении зависимости равновесной конверсии высвобождения электростатически иммобилизованного доксорубина от pH среды, что может представлять интерес для таргетной терапии опухолевых заболеваний, а также в разработке подходов к формированию микропузырьков на основе комплексов бычьего сывороточного альбумина и амфифильных сополимеров N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой, представляющих интерес для ультразвуковой диагностики.

Оценка достоверности результатов исследования **выявила:**

обоснованность и достоверность полученных результатов работы обеспечивается большим объемом экспериментальных данных, использованием современных методик эксперимента и статистической обработки данных;

обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций подтверждена их внутренней непротиворечивостью, а также воспроизводимостью результатов экспериментальных исследований;

использованы современные физико-химические методы, адекватные поставленным задачам, такие как ЯМР-спектроскопия, ИК-спектроскопия, УФ-спектроскопия, MALDI-TOF масс-спектрометрия, тензиометрия, динамическое светорассеяние, МТТ-тест, атомно-силовая микроскопия и просвечивающая электронная микроскопия.

Личный вклад автора был основополагающим на всех этапах выполнения работы, включая выбор темы исследования, постановку цели и задач, выполнение экспериментальных исследований, написание публикаций и текста диссертации, формулирование выводов.

Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной задачи и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, непротиворечивой методологической платформы, концептуальности и взаимосвязи выводов. По своему содержанию диссертация отвечает паспорту научной специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения в направления исследования 2 «Синтез олигомеров, в том числе специальных мономеров, связь их строения и реакционной способности. Катализ и механизмы реакций полимеризации, сополимеризации и поликонденсации с применением радикальных, ионных и ионно-координационных инициаторов, их кинетика и динамика. Разработка новых и усовершенствование существующих методов синтеза полимеров и полимерных форм», 4 «Химические превращения полимеров – внутримолекулярные и полимераналоговые, их следствия», 5 «Исследование молекулярной и надмолекулярной структуры биоорганических полимеров. Выявление специфических факторов, обуславливающих их самоорганизацию, и распространение найденных закономерностей на область синтетических полимеров», 9 «Целенаправленная разработка полимерных материалов с новыми функциями и интеллектуальных структур с их применением, обладающих характеристиками, определяющими области их использования в заинтересованных отраслях науки и техники».

Диссертационный совет пришёл к выводу о том, что диссертация Нечаевой Анны Михайловны представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, которая направлена на установление закономерностей электростатического связывания модельного противоопухолевого препарата доксорубина и бычьего сывороточного альбумина самоорганизующимися в водных средах сополимерами N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой для возможного применения в терапии онкологических заболеваний и получения

контрастных агентов, востребованных в ультразвуковой диагностике.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости диссертация Нечаевой Анны Михайловны «Электростатическое связывание доксорубина и бычьего сывороточного альбумина самоорганизующимися в водных средах сополимерами N-винил-2-пирролидона с акриловой кислотой» соответствует требованиям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», утвержденном приказом и.о. ректора РХТУ им. Д.И. Менделеева от 14 сентября 2023 года № 103 ОД.

На заседании диссертационного совета РХТУ 2.6.05 РХТУ им. Д.И. Менделеева 26.12.2024 принято решение о присуждении ученой степени кандидата химических наук Нечаевой Анне Михайловне по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения.

Присутствовало на заседании – 13 членов совета, в том числе в режиме видеоконференции – 3.

Докторов наук по профилю рассматриваемой диссертации – 5.

Результаты голосования по вопросу присуждения ученой степени:

Результаты тайного голосования:

«за» – 10,

«против» – нет,

«воздержались» – нет.

Проголосовало 3 члена диссертационного совета, присутствовавшие на заседании в режиме видеоконференции:

«за» – 3,

«против» – нет,

«воздержались» – нет.

Итоги голосования:

«за» – 13,

«против» – нет,

«воздержались» – нет.

Председатель диссертационного совета

С.Н.

Ученый секретарь диссертационного совета

Ю.В.

Дата «26» декабря 2024 г.

