

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента на диссертацию**

**Кожиховой Ксении Вадимовны на тему: «СИНТЕЗ НОВЫХ  
НОСИТЕЛЕЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ НА ОСНОВЕ  
ПОЛИСАХАРИДОВ И ФОСФОЛИПИДОВ»,**

представленную на соискание учёной степени кандидата химических наук по  
специальности

*02.00.03 – органическая химия*

Неконтролируемое (или контролируемое только собственными фармакокинетическими характеристиками) распределение терапевтического агента в органах и тканях является одним из основных источников побочных явлений и идиосинкратической токсичности. Последнее – одна из основных причин «провала» разрабатываемых препаратов на различных стадиях клинических испытаний, что ведет к финансовым потерям и часто затормаживает дальнейшее развитие эффективных терапевтических подходов и клиническую валидацию инновационных лекарственных мишеней. Решить эту проблему как раз способны обладающие тканевой специфичностью системы адресной доставки лекарств. Использование таких систем поможет решить и другую важную проблему: препараты, обладающие оптимальной эффективностью, оптимальным соотношением «риск/польза», не всегда оптимальны с точки зрения стабильности в нативном окружении человеческого организма, а также с точки зрения физико-химических характеристик (прежде всего, растворимости). Особенно это касается сложных и структурно уникальных природных веществ, наделенных также уникальным терапевтическим профилем. Такие вещества, в отличие от полностью синтетических малых молекул, очень редко можно «улучшить» общепринятой медицинско-химической оптимизацией. Единственным действенным подходом может оказаться разработка и использование специализированных, инновационных систем доставки. Представленная на соискание степени кандидата химических наук диссертация Кожиховой К.В. посвящена как раз дизайну и синтезу новых носителей для лекарственных препаратов. Отдельным, крайне примечательным аспектом представленной работы является ее пионерский характер в плане использования либо малоизученных, либо совсем не

использовавшихся в области дизайна биосовместимых лекарственных носителей подходов, а именно, многокомпонентной химии и динамической комбинаторной химии. И тот, и другой подход возникли и развивались преимущественно в области медицинской химии, поиска и разработки новых активных фармацевтических ингредиентов. А вот их применение к задачам разработки систем доставки является поистине инновационным.

С учётом всего вышеуказанного тему диссертации, представленную к защите Кожиховой К. В., следует признать актуальной.

Диссертационная работа Кожиховой К. В. написана по традиционному плану, она изложена на 153 страницах и состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка цитируемой литературы (159 наименований). Диссертация включает 17 таблиц, 47 рисунков и 20 схем.

Во *введении* кратко, но ёмко, сформулированы актуальность темы, цели и основные задачи диссертационной работы, подчеркнута ее научная новизна и практическая значимость.

*Обзор литературы* дает полное, сжатое и удобное для ознакомления изложение состояния науки в области разработки различных носителей лекарственных средств, в том числе, таковых на основе полисахаридов и фосфолипидов. При этом соискатель критически анализирует имеющееся обилие работ и приходит к выводу о том, что возможности химической модификации и настройки поверхности таких комплексных систем раскрыты на сегодняшний день слабо. Особенно важно то, что обзор литературы однозначно показывает отсутствие в литературе работ по использованию в дизайне систем доставки, основанных на использовании многокомпонентной химии и динамической комбинаторной химии. Таким образом, данный раздел однозначно задает контекст и актуальность описываемого далее исследования.

В главе 2, где представлено *обсуждение результатов*, автор дает полное и емкое изложение собственных результатов, которые изложены в четырех подглавах. Подглава, посвященная *синтезу липосомальных носителей*, раскрывает подходы к оптимизации состава липидной композиции и методики получения монодисперсных липосом. Для реализации разработанных методик были синтезированы вспомогательные липидные компоненты (стеариоиламидные и пальмитоиламидные аммонийные соли, а также соответствующие холиновые эфиры) и изучена нагрузка полученных липосомальных носителей модельным активным фармацевтическим ингредиентом (триазавирином). Выдающимися, с точки зрения

инновационности подхода, являются результаты, изложенные в подглаве, посвященной *синтезу модифицированных полисахаридов*. Здесь соискатель провел неописанный ранее синтез производных хитозана с помощью реакции Уги, синтез амидных производных пектина с применением гидразиноварианта реакции Уги (впервые детально изученного и опубликованного научной группой данного оппонента). Последний поход позволил получить различные микрогели и изучить их нагрузку модельным активным фармацевтическим ингредиентом (прокаином). Завершается вторая подглава описанием экспериментов по синтезу комбинаторных динамических библиотек на полисахаридном скелете. Отдельная (третья) подглава посвящена получению комплексных полисахарид-липосомальных систем и изучению их возможностей. В заключении главы 2 обобщены результаты, полученные в ходе изучения биологических свойств полученных носителей - в частности, цитотоксичности, мукоадгезивных свойств, биологического распределения (изученного при помощи флуоресцентных меток, синтез которых также был проведен и описан соискателем).

В *экспериментальной части* подробным образом описаны синтетические процедуры, разработанные и использованные для синтеза полученных соединений, методы получения и физико-химической характеристики липосомальных конструкций, а также представлены данные спектральной и физической характеристики таковых.

Завершается работа 9-ю *выводами*, кроме того приведен *список сокращений*, что значительно облегчает ознакомление с диссертацией.

Отличительной особенностью представленной диссертации является высокий профессиональный уровень представленных исследований, прекрасная систематизация полученных данных, надёжное экспериментальное подтверждение полученных результатов.

Основные итоги тщательно проведённой диссертационной работы сводятся к следующему:

- Для новых производных холина, полученных в этой работе, показана взаимосвязь между их структурой и размером, а также дзета-потенциалом получаемых из них липосом.
- Метод экструзии через неорганические мембраны адаптирован в воспроизводимую лабораторную методику получения липосомальных суспензий.
- Впервые применена как традиционная реакция Уги, так и ее гидразиновариант для модификации полисахаридных структур, а также кросс-сшивки, что позволило получить новые микрогели. Кроме того, эта

реакция впервые применена для получения ковалентно сшитой полисахаридной оболочки на поверхности липосомальных частиц.

- Для микрогелей и липосом однозначно показана их применимость к упаковке и доставке активных фармацевтических ингредиентов через слизистые оболочки и интраназально, соответственно, на примере известных модельных препаратов. Кроме того, изучены такие параметры биологической активности новых форм для доставки лекарств как цитотоксичность, мукоадгезивность и биораспределение (установлены сугубо положительные характеристики для новых форм, полученных в этой работе).
- Показана принципиальная возможность построения динамических комбинаторных библиотек, обладающих сродством к замещенным аминокислотам на основе полигалактуронилгидразонов.

В целом, сформулированные положения, выносимые на защиту, научная новизна работы, её выводы и практическая значимость существенных замечаний не вызывают.

С практической точки зрения полученные результаты могут быть значимы для создания новых лекарственных форм уже известных препаратов. Также существенно может быть расширен круг запатентованных формуляций уже известных препаратов. Кроме того, разработанные в плане как фундаментальных знаний, так и сугубо практической значимости, находки обладают высоким потенциалом коммерциализации и могут быть использованы российской и зарубежной фармацевтической индустрией.

Диссертационная работа имеет логическое изложение материала, прекрасно читается.

*По работе есть следующие вопросы и замечания:*

1. В автореферате не совсем удачно описан синтез производных 1 и 2 «методом активации карбоксильной группы жирных кислот гидроксисукцинимидом в присутствии циклогексилкарбодиимида в реакции с *N,N*-диметилэтан-1,2-диамином». Этот синтез было бы правильнее описать как реакцию *N,N*-диметилэтан-1,2-диамина с *N*-гидроксисукцинимидными производными жирных кислот, получаемыми из последних реакцией с *N*-гидроксисукцинимидом в присутствии циклогексилкарбодиимида.
2. В части, посвященной модификации хитозана по реакции Уги с водорастворимыми изоцианидами, следовало бы более подробно обсудить возможное протекание реакции Уги по трехкомпонентному варианту, т.е. без включения компоненты карбоновой кислоты. Это

часто наблюдаемое осложнение, особенно в среде нуклеофильного растворителя (каким является вода). Обращалось ли особое внимание на возможные отклонения относительного интеграла сигналов алифатического ацильного остатка и ароматических сигналов изоцианида в спектре  $^1\text{H}$  ЯМР от соотношения 1:1?

3. В этой же части сделано следующее утверждение «Спектры  $^1\text{H}$  ЯМР позволяют рассчитать процент замещения аминокрупп хитозана благодаря тому, что сигналы протонов полисахарида (3,30-4,89 м.д.) не перекрываются с сигналами протонов ароматического кольца изоцианидов (6,35-8,55 м.д.) и алифатических радикалов кислот (2,10-2,15 м.д.)». А как поступили в случае производных, в синтезе которых использовался (тетрагидрофуран-2-ил)метилизоцианид?
4. Вопрос сродни второму: кросс-сшивки при получении производных, которым присвоена структура **28** и **29**, возможна, если растворитель не интерферирует с реакцией Уги, и последняя протекает в четырехкомпонентном формате. Если же есть какой-то вклад трехкомпонентной реакции Уги, т. е. без включения карбоксильной компоненты, кросс-сшивки не будет. Оценивалось ли как-то полученное соотношение модификаций по четырехкомпонентному пути к таковым по трехкомпонентному? Возможно, следовало упомянуть вероятность модифицированных изоцианидом и альдегидом сайтов, которые могут быть не сшиты с соседней полисахаридной цепью ввиду отсутствия участия карбоксильной группы.
5. Хотелось бы попросить соискателя дополнительно прояснить рационал отбора членов комбинаторной библиотеки на полисахаридом скелете по взаимодействию с производными аминокислот. Обычно таким образом отбираются, по степени сродства к конкретной макромолекулярной мишени (белку), динамично перераспределяемые компоненты малых молекул в присутствии самой биомишени. Здесь, судя по всему, решается обратная задача: более удачные модификации макромолекулы (полисахарида) по гидразидной группе отбираются в присутствии малой молекулы (замещенной аминокислоты). Есть ли у соискателя какие-то идеи относительно того, как именно может происходить связывание модифицируемого фрагмента полисахарида с выбранным набором аминокислот, за счет чего одни ацилгидразоны могут оказаться более предпочтительными для взаимодействия с аминокислотами? Наличие некой модели, хотя бы в умозрительном виде, сильно помогло бы понять релевантность такой динамической комбинаторной библиотеки в свете задач по лекарственной доставке.

Указанные замечания не затрагивают основных выводов и итогов работы. Последние основаны на тщательных экспериментальных данных, обобщениях собственного материала и данных, имеющихся в литературе. Автореферат диссертации и опубликованные работы отражают основное содержание работы. Материалы диссертации отражены в 3 статьях в рецензируемых научных изданиях, рекомендуемых ВАК, 3 тезисах докладов, входящих в международные базы цитирования, 1 главе монографии и 16 других сборниках тезисов докладов.

Диссертационная работа Кожиховой К.В. соответствует паспорту специальности 02.00.03 –*органическая химия*. Считаю, что диссертационная работа заслуживает высокой оценки и полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней» утвержденного Постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842, а ее автор, Кожихова Ксения Вадимовна, заслуживает присуждения ему учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 –*органическая химия*.

Официальный оппонент,  
доктор химических наук  
профессор РАН,  
заведующий Лабораторией  
химической фармакологии  
Санкт-Петербургского  
Государственного университета

Красавин Михаил Юрьевич

Адрес: 198504, Санкт-Петербург, г. Петергоф, Университетский просп., д. 26.  
Телефон: +7 (931) 361 7872. E-mail: m.krasavin@spbu.ru

12 ноября 2018 г.

Подпись Красавина М.Ю. заверяю:

Личную подпись заверяю  
НАЧАЛЬНИК СЛУЖБЫ КАДРОВ №3



2018

РАСПИСКАНИЕ  
ПОДГОТОВЛЕН  
В РАМКАХ ИСПОЛНЕНИЯ  
СЛУЖЕБНЫХ ОБЯЗАННОСТЕЙ