

ОТЗЫВ

официального оппонента Шапошниковой Веры Владимировны на диссертационную работу Гумниковой Валерии Игоревны «Синтез диальдегиддекстрана и диальдегидкарбоксиметилцеллюлозы и их химические превращения», представленную на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.06 – Высокомолекулярные соединения.

Диссертация Гумниковой В.И. посвящена решению актуальной проблемы химии высокомолекулярных соединений: синтезу синтетических полимерных носителей физиологически активных соединений медицинского назначения на основе диальдегиддекстрана и диальдегидкарбоксиметилцеллюлозы. Актуальность этого исследования определяется необходимостью создания частично или полностью синтетических костнозамещающих материалов для восстановительной хирургии, поскольку известно, что в большинстве стран мира использование для этой цели продуктов животного происхождения ограничено или запрещено.

Полисахариды - широко распространенная группа полимеров, применяемых в качестве носителей для различных классов лекарственных веществ (физиологически активных соединений). Диальдегидполисахариды являются хорошими биоразлагаемыми и безопасными носителями водорастворимых лекарственных средств, поэтому выбор их в качестве объектов исследования вполне обоснован. Однако, их использование в качестве основы биоразлагаемых имплантатов исследовано недостаточно. Исходя из этого, целью диссертационной работы являлся синтез и изучение свойств физиологически активных полимеров, содержащих ковалентно-связанные активные вещества инсулин и коллаген, с использованием диальдегиддекстрана и диальдегидкарбоксиметилцеллюлозы в качестве полимеров носителей; получение на их основе композитов для замещения костной ткани и оценка скорости их биодеградации и остеокондуктивных свойств.

Диссертационная работа скомпонована по схеме, одобренной стандартом и рекомендованной ВАК для работ, основанных на экспериментальных исследованиях. Она состоит из введения, трёх глав (обзор литературы, обсуждение результатов, экспериментальная часть), выводов, перечня сокращений и условных обозначений, списка

использованной литературы и приложения. Общий объем 137 страниц, включая 15 схем, 12 таблиц и 59 рисунков.

Во введении автор приводит обоснование актуальности работы и ставит основные задачи, решаемые при ее выполнении. Здесь же приводятся положения, выносимые на защиту, и формулируется практическая значимость работы.

Обзор литературы состоит из четырёх разделов: в них описаны основные свойства и известные области применения исходных полисахаридов: декстрана и карбоксиметилцеллюлозы; методы получения диальдегидполисахаридов и их основные характеристики; способы присоединения физиологически активных веществ к полимерам-носителям; приведен обзор соединений, которые входят в состав костнозамещающих композиций, и требований к этим композициям. Литературный обзор занимает 31 страницу текста и дает достаточно ясное представление о современном состоянии дел в данной области. Проведенный анализ литературы показывает, что синтез тканезамещающих синтетических полимерных композитов в настоящее время является актуальной задачей, а полученные соединения способны найти широкое применение в восстановительной хирургии. Однако, получение таких композиционных материалов сопряжено с рядом трудностей (например, для создания костнозамещающего материала, содержащего физиологически активные вещества и обладающего набором необходимых свойств, необходимо установить точное химическое строение полимеров-носителей: диальдегиддекстрана и диальдегидкарбоксиметилцеллюлозы, и изучить их молекулярно-massовые характеристики). Таким образом, анализ литературных данных еще раз позволяет сделать вывод об актуальности работы.

Вторая глава посвящена обсуждению полученных результатов и содержит десять разделов. В первых четырёх разделах приведены данные о синтезе и свойствах, синтезированных диальдегидполисахаридов. Установлено и подробно описано химическое строение окисленных звеньев диальдегиддекстрана и диальдегидкарбоксиметилцеллюлозы различных степеней окисления; изучено влияние структуры основной цепи сополимеров на скорость периодического окисления и молекулярно-массовые характеристики образующихся диальдегидполисахаридов. Обнаружено, что карбоксиметилцеллюлоза окисляется в 35 раз медленнее по сравнению с декстраном. Для объяснения большой разницы в скорости

реакции высказано предположение о дезактивирующем влиянии карбоксильной группы, связанным с образованием внутримолекулярной водородной связи с одним из окисляемых вицинальных гидроксилов ангидроглюкозного цикла. Показано, что молекулярная масса полисахаридов уменьшается с увеличением времени реакции периодатного окисления и не зависит от степени окисления полисахарида.

Фракционная однородность полимеров-носителей и однозначность химического строения продуктов их ковалентного связывания с белками являются одними из ключевых параметров, определяющих стабильность и воспроизводимость биологических свойств костнозамещающего материала. Без подробного изучения и однозначности химического строения невозможна регистрация и применение этих веществ в практической медицине. Поэтому автором проведено достаточно подробное исследование строения и фракционной однородности полимеров. Установлено, что в процессе окисления карбоксиметилцеллюзы на первой стадии образуется фракционно-неоднородный полимер. Хромофорные группы содержатся в основном в низкомолекулярных фракциях. И только на завершающих стадиях реакции происходит выравнивание фракционной однородности с одновременным уменьшением молекулярной массы. В случае окисления низковязких декстранов, обладающих средней молекулярной массой, фракционная неоднородность не наблюдается.

Результаты изучения химического строения продуктов присоединения пептидов к диальдегидполисахаридам изложены в пятом разделе второй главы диссертации. Это исследование выполнено автором на примере модельной реакции присоединения *п*-аминоазобензола к диальдегиддекстрану. Показано, что в случае циклических диальдегидов присоединяется только одна молекула амина с образованием циклического продукта.

В последующих разделах второй главы подробно описаны способы приготовления образцов костнозамещающих композиций на основе полученных диальдегидполисахаридов; результаты исследования биодеградации и остеокондуктивных свойств методами *in vitro* и *in vivo*. Автором показано, что использование диальдегиддекстрана в качестве ингибитора биодеградации позволяет втрое снизить скорость ферментативного гидролиза, высокоокисленная диальдегидкарбоксиметилцеллюлоза снижает скорость в 10 раз, а

наибольший эффект (более, чем в 100 раз) достигается при использовании гекса-[п-карбоксилфенокси]циклотрифосфазена. Однако, в опытах *in vivo* установлено, что производное циклофосфазенов вызывает интенсивное нагноение по сравнению с диальдегидполисахаридами, при использовании которых нагноение не наблюдается. Присутствие в образце инсулина позволяет избежать воспаления, как на первой, так и на второй стадиях ранозаживления. Полученные новые биодеградирующие синтетические полимерные композиты могут быть рекомендованы для использования в качестве хорошей основы для костнозамещающих материалов. В приложении автор приводит результаты испытаний, проведенных в ФГБУ Центральный научно-исследовательский Институт травматологии и ортопедии (ЦНИТО) им. Приорова. Представленные результаты исследования остеокондуктивных свойств *in vivo* на модели критического анастомоза большеберцовой кости крысы и устойчивости образцов к биодеградации на модели подкожной имплантации подтвердили эффективность предложенной концепции и подходов к регулированию остеокондуктивных свойств и устойчивости к биоразложению материалов в физиологических условиях.

Таким образом, работа характеризуется необходимой для диссертации научной новизной и практической ценностью.

В третьей главе представлены физико-химические характеристики исходных и вспомогательных веществ, свойства растворителей; приведены методики синтеза и очистки исследуемых диальдегидполисахаридов и белково-полисахаридных поликонъюгатов на их основе, способы изготовления образцов для изучения свойств полученных композиций; описаны методы исследования основных характеристик диальдегидполисахаридов и костнозамещающих композиций на их основе. В работе использованы следующие основные методы исследований: ^{13}C ЯМР, ИК, УФ спектроскопия, гель-проникающая хроматография, атомно-силовая микроскопия, обратное иодометрическое титрование, методы исследования скорости биодеградации *in vitro* и *in vivo*, метод исследования остеокондуктивных свойств *in vivo*.

У оппонента нет принципиальных замечаний к диссертационной работе. Можно отметить следующие недостатки:

1. В работе не приведены ^1H ЯМР-спектры для синтезированных полимеров. В некоторых случаях комбинация ^{13}C и ^1H ЯМР-спектров полезна для более надежного установления строения диальдегиддекстрана

и диальдегидкарбоксиметилцеллюлозы с различными степенями окисления.

2. В диссертации отсутствуют масс-спектры, включая спектры MALDI-TOF. Эти данные могли быть полезными для описания продуктов присоединения инсулина к диальдегидполисахаридам.

3. В экспериментальной части диссертационной работе недостаточно подробно описаны методы очистки полученных полимеров. Очистка полимеров имеет принципиальное значение, в первую очередь, с точки зрения функционального назначения полимеров, а именно, их использования в качестве носителей физиологически активных веществ. Это обусловлено тем, что созданные полимерные композиты должны удовлетворять жестким требованиям, которые предъявляются к материалам, находящимся длительное время в непосредственном контакте с кровью в организме человека, и поэтому являются истинными имплантатами, относящимися к изделиям медицинской техники первого класса риска.

4. В тексте диссертации и автореферата имеется ряд неточностей и опечаток.

Однако, указанные недостатки не снижают высокой оценки диссертационной работы.

Достоверность результатов исследований и корректность сформулированных обобщений и выводов не вызывает сомнений. Работа выполнена на высоком научном и экспериментальном уровне, а её результаты представляют научный и практический интерес в области химии высокомолекулярных соединений и могут быть рекомендованы для использования в экспериментальной и практической хирургии, биотехнологии и других областях. Результаты исследований могут представлять интерес для целого ряда государственных организаций и частных компаний, работающих на рынке изделий медицинской техники, таких как Научный центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева, ЦИТО имени Н.Н. Приорова.

Диссертация Гумниковой В.И. является научно-исследовательской работой, имеющей важное фундаментальное значение.

Автореферат и публикации полностью отвечают содержанию диссертационной работы. По теме диссертации опубликованы 3 статьи в рецензируемых научных журналах и тезисы 5 докладов. Результаты работы были доложены на международных конференциях.

Диссертационная работа Валерии Игоревны Гумниковой «Синтез диальдегиддекстрана и диальдегидкарбоксиметилцеллюлозы и их химические превращения» отвечает всем требованиям пунктов 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Минобрнауки РФ (Постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842), предъявляемым к кандидатским диссертациям, и паспорту заявленной специальности 02.00.06 – Высокомолекулярные соединения в части «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», а ее автор Валерия Игоревна Гумникова заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата химических наук.

Официальный оппонент
доктор химических наук, доцент,
ведущий научный сотрудник
лаборатории полиариленов
ФГБУН Институт элементоорганических соединений
им. А. Н. Несмеянова
Российской академии наук
119991, ГСП-1, г. Москва, В-334, ул. Вавилова, д. 28
тел. +7 (499) 135-92-56
e-mail: vsh@ineos.ac.ru



В.В. Шапошникова

18.01.2015 г.

Подпись В.В. Шапошниковой удостоверяю:
Начальник отдела кадров ИНЭОС РАН

И.С. Овченкова