

«УТВЕРЖДАЮ»

Зам. директора ИНХС РАН

С.В. Антонов

Иуста 2017 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ордена Трудового Красного Знамени Института нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева Российской академии наук (ИНХС РАН) о диссертационной работе Круппа Инны Сергеевны «Полисахаридные полимеры-носители для физиологически активных нафтальдегидов», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 05.17.06 – Технология и переработка полимеров и композитов

Использование полимеров в качестве носителей лекарственных средств является одним из актуальных и практически важных направлений химии высокомолекулярных соединений. Связыванием с полимером позволяет существенно снизить токсичность или побочную физиологическую активность лекарства. Наряду с развитием теоретических представлений, был создан ряд технологий получения лекарств на основе полимеров и методов контроля за их введением в организм человека. При разработке каждого такого препарата необходимо прежде всего провести комплексное исследование по выбору подходящего полимера, его возможной модификации, подбору условий взаимодействия с активной составляющей лекарства, анализу поведения лекарства внутри организма человека. В данной работе изучена возможность использования карбоксиметилцеллюлозы и декстрана как носителей госсипола для создания препарата, активного в отношении различных модификаций вируса гриппа. Каждое из этих веществ достаточно хорошо изучено, однако данные об их взаимодействии крайне отрывочны. Это обуславливает актуальность выполненных исследований, которые позволили получить новую фундаментальную информацию о химических взаимодействиях госсипола с модифицированными полисахаридами и модельными соединениями в различных условиях, а также о стабильности и особенностях деструкции прототипа полимерного лекарства в условиях, сходных с теми, которые существуют внутри организма.

Практическая значимость диссертации обусловлена необходимостью снижения токсичности госсипола при его использовании в качестве компонента лекарственного средства в уже существующей технологии, а также поиском новых путей его введения в организм.

Целью работы было изучение возможности и оптимизация условий иммобилизации молекул госсипола на макромолекулах диальдегидкарбоксиметилцеллюлозы (ДАКМЦ) и диальдегиддекстрана (ДАД), изучение расположения возникающих ковалентных связей с использованием низкомолекулярных моделей, оценка токсичности полученных веществ *in vitro* и идентификация продуктов их кислотного гидролиза в условиях, близких к физиологическим.

Диссертация, изложенная на 137 страницах, состоит из введения, обзора литературы, пяти разделов с результатами собственных исследований, экспериментальной части, выводов, списка сокращений и условных обозначений и списка использованной литературы. Список литературы содержит 119 наименований. Круппа И.С. имеет 11 публикаций по теме диссертации, в том числе четыре статьи в рекомендованных ВАК изданиях, является автором двух патентов.

Во введении соискатель излагает традиционные представления о получении физиологически активных полимеров прививочного типа, в которых активный компонент иммобилизован на инертном полимере-носителе с помощью ковалентной химической связи, гидролизуемой в условиях организма. Обсуждается степень разработанности темы, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Сформулировав цели и задачи диссертации, соискатель перечисляет использованные в работе методы исследования, положения, выносимые на защиту, а также научные конференции, на которых были апробированы полученные результаты.

В первой главе проведен анализ литературных данных, посвященных изучению целлюлозы, декстрана и госсипола. Приведены общие сведения о полисахаридах, их классификация. Сформулированы общие требования к полимерам – носителям лекарственных средств. Описаны способы химической активации полисахаридов, позволяющие прививать на них физиологически активные соединения. Наибольшее внимание уделено методу периодатного окисления, примененного в данной работе. Далее соискатель приводит подробные сведения о строении, свойствах и потенциальных реакционных центрах глюкозы, целлюлозы (включая продукты ее модификации путем последовательного метилирования, карбоксилирования и периодатного окисления),

декстрана и диальдегиддекстрана. Самая подробная информация посвящена природному полифенолу госсипол, химическому и пространственному строению его молекулы, в том числе в кристаллическом состоянии, возможности химических реакций с его участием в различных условиях. Перечислены известные подходы к снижению токсичности госсипола путем его химической модификации.

Глава 2 является основной частью диссертационной работы и состоит из пяти разделов. В первом из них обсуждаются методики и результаты исследования молекулярно-массовых характеристик и степени окисления ДАКМЦ и ДАД методами ГПХ с использованием рефрактометрического и ультрафиолетового детекторов, ЯМР ^1H и ^{13}C спектроскопии, обратного иодометрического титрования, оксимным методом и вискозиметрически. Во втором разделе приведены ЯМР ^1H и ^{13}C , ИК-Фурье и УФ-спектры, MALDI-TOF масс-спектры госсипол уксусной кислоты в различных средах с подробным отнесением сигналов отдельных атомов (групп, веществ). Третий раздел содержит описание результатов модификации ДАД и ДАКМЦ госсиполом при различном соотношении компонентов и характеристики продуктов реакции методами ЯМР ^1H и ^{13}C , ИК-Фурье и УФ-спектроскопии. Для ДАКМЦ, истинные растворы которой обладают большой вязкостью, проведен сравнительный анализ электронных спектров поглощения продукта модификации, полученного в гомогенных и гетерогенных условиях, и чистого госсипола. Чрезвычайно подробно описаны результаты исследования строения модельных соединений глюкозы с госсиполом, синтезированных в региоселективных условиях, что позволило соискателю определить предпочтительные сайты связывания госсипола с полисахаридами, анализируя данные ЯМР ^{13}C спектроскопии и MALDI-TOF масс-спектрометрии. Четвертый раздел содержит результаты изучения продуктов кислотного гидролиза полимерных производных госсипола методами ГПХ, ЯМР ^{13}C и MALDI-TOF. В нем приведен важнейший вывод об отсутствии среди продуктов гидролиза свободного госсипола. Таким образом, исследованная система демонстрирует нетипичное поведение для физиологически активных полимеров прививочного типа: в условиях, близких к среде организма, низкомолекулярное активное вещество выделяется в измененном виде. Этот результат имеет существенное практическое значение, поскольку свидетельствует об отсутствии выраженной токсичности у прототипа лекарственного препарата. В последнем разделе основной главы диссертации обсуждаются результаты изучения *in vitro* цитотоксических свойств и противовирусного действия продукта взаимодействия госсипола с ДАКМЦ.

Глава 3 представляет собой экспериментальную часть работы и содержит характеристики исходных соединений, методики синтеза и определения степени окисления ДАКМЦ и ДАД, методику модификации этих полисахаридов и глюкозы госсиполом, методики кислотного гидролиза полученных соединений и исследования их цитотоксических и противовирусных свойств. Кратко изложены характеристики приборов и условия экспериментов методами ЯМР, ИК-Фурье и УФ – спектроскопии, ГПХ, MALDI-TOF масс-спектрометрии.

Подводя итоги, следует заключить, что Круппа И.С. выполнила содержательную квалификационную работу по синтезу и характеристике физиологически-активных веществ на основе природных полимеров. Результаты, полученные с использованием современных физико-химических методов, представляют существенный практический и научный интерес. Их анализ и интерпретация потребовали от соискателя значительных усилий, обусловленных сложностью исследованных систем. Достоверность полученных экспериментальных данных и результатов их анализа, а также обоснованность выводов не вызывают сомнений. Автореферат и опубликованные статьи полностью отражают содержание диссертации.

При общей положительной оценке диссертации имеется ряд замечаний:

1. Обзор литературы содержит много информации о полисахаридах, совершенно не нужной для целей диссертационной работы, например, об их использовании в пищевой промышленности. Обзор во многом основан на старой, еще советского времени, литературе. Характерна фраза на стр. 27 «В последние годы выполнен ряд работ...» со ссылкой на обзор в журнале «Успехи химии» 1975 года. Обзорная часть выглядела бы лучше при наличии выводов, показывающих, чем анализ литературы помог соискателю.
2. Диссертация содержит мало первичного экспериментального материала по характеристикам исследованных веществ. Это затрудняет оценку новизны разработанных соискателем физико-химических методов, например, «вискозиметрического экспресс метода с использованием уравнения Куна-Марка-Хаувинка» (стр. 57) и «метода количественного определения следовых количеств ковалентно связанного ГУК» по электронным спектрам поглощения (стр. 83). Даже при использовании известных подходов следовало бы привести более подробные данные, в частности, коэффициенты экстинкции при использовании ИК-спектроскопии для количественного анализа состава продукта (стр. 80). На стр. 97 упоминаются результаты квантовомеханических расчетов

пространственной структуры модельных соединений, однако нет информации, кем и когда они проводились.

3. Интересно было бы узнать мнение соискателя о том, почему при периодатном окислении карбоксиметилцеллюлозы основное падение молекулярной массы наблюдается при степени окисления до 10%, а в случае декстрана – при заметной большей степени окисления (стр. 59-60).

4. Непонятно, как продукт присоединения госсипола к полисахариду «можно представить как смесь двух основных полимеров» (стр. 73). Монозамещенный госсипол превращает полисахарид в сополимер, а дизамещенный играет роль внутри- или межцепной сшивки. Также неясно, почему «равновероятно взаимодействие молекулы госсипола со звеньями ДАКМЦ одной и той же макромолекулы или двух соседних цепей» (стр. 77). Даже в отсутствие химических факторов, эта вероятность должна существенно зависеть от концентрации полимерного раствора.

5. В работе сопоставлены гомогенный и гетерогенный процессы модификации целлюлозы, в том числе госсиполом. В частности, показано, что в гетерогенных, т.е. промышленных, условиях содержание связанного госсипола в ДАКМЦ не превышает 3 мол.% (стр. 79). Какие выводы в отношении разработки технологии можно сделать из такого сопоставления?

6. В работе неоднократно (например, на стр. 73 и 76) указывается, что С-О связь, по которой осуществляется присоединение госсипола к полисахариду, очень прочная. На каких экспериментах или расчетах основано это утверждение?

7. Утверждается, что для существенного снижения цитотоксичности госсипола необходимо добиться его присоединения к полимеру по обеим альдегидным группам (стр. 77). Получены ли данные о том, какой избыток полисахарида необходим для этого? Следовало привести ЯМР-спектр, полученный в соответствующих условиях.

8. Кислотный гидролиз полимерных производных госсипола проанализирован недостаточно подробно. Были ли уже опубликованы эти данные? В экспериментальной части (стр. 119) не указано время реакции. Как оно соотносится с типичным временем пребывания лекарственного средства в желудке человека?

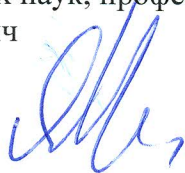
9. Текст изобилует орфографическими и пунктуационными ошибками, содержит много опечаток. Даже название ключевого для работы вещества «госсипол» можно встретить с одной, двумя и тремя буквами «с». Есть проблемы с иллюстрациями. Например, на рис. 8 перепутаны лактольная и кетольная формы госсипола, таблицы на стр. 59 и 60 имеют

одинаковый номер 3, таблица 1 в автореферате и таблица 6 в диссертации содержат повторяющиеся строки. Ряд ссылок содержит неполную информацию: отсутствуют сведения об издательстве (ссылки 3, 5, 11, 12, 14, 17, 18, 20, 24, 27, 31-36, 46-49, 57, 68) названии работы (22, 28) и издания (84), годе издания (20, 24, 27), номере страницы (58).

Несмотря на отмеченные недостатки, в целом диссертация Круппа И.С. является законченной научно-квалификационной работой, в которой получены новые результаты, имеющие важное значение для создания новых лекарств на основе полимеров. Представленная работа выполнена на хорошем теоретическом и экспериментальном уровне, по своей новизне, актуальности, научной и практической значимости она соответствует паспорту специальности 05.17.06 – Технология и переработка полимеров и композитов, удовлетворяет всем требованиям, включая пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. с изменениями постановления Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Круппа Инна Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 05.17.06 – Технология и переработка полимеров и композитов.

Данный отзыв был заслушан и одобрен на заседании расширенного коллоквиума лаборатории модификации полимеров им. Н.А. Платэ (№ 21) ИНХС РАН 26 июня 2017 г., протокол № 1.

Заведующий лабораторией модификации полимеров (№ 21)
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Ордена Трудового Красного Знамени
Института нефтехимического синтеза им. А. В. Топчиева
Российской академии наук (ИНХС РАН)
доктор физико-математических наук, профессор РАН
Кудрявцев Ярослав Викторович



« 28 » августа 2017 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ордена Трудового Красного Знамени Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева Российской академии наук 119991, Российская Федерация, ГСП-1, Москва, Ленинский проспект, 29
Тел. (495) 955 42 01, факс (495) 633 85 20, e-mail: tips@ips.ac.ru

Зам. директора ИНХС РАН кандидат химических наук Антонов Сергей Вячеславович, специальности 02.00.06 «Высокомолекулярные соединения», 05.17.06 «Технология и переработка полимеров и композитов»