

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук Маклаковой Светланы Юрьевны на тему: «Лиганды асиалогликопротеинового рецептора и конъюгаты на их основе с терапевтическими и диагностическими агентами» по специальности 02.00.03 – «органическая химия»

Оптимизация фармакокинетических и фармакодинамических свойств существующих противоопухолевых препаратов – важная проблема современной медицинской химии. Одним из подходов к ее решению является разработка систем избирательной доставки лекарственных препаратов в опухолевые клетки. Развитие данного направления напрямую связано с идентификацией подходящих мишеней на поверхности целевых клеток, а также с поиском новых структур, способных эффективно с ними взаимодействовать.

Диссертационная работа Маклаковой С.Ю. посвящена разработке методик получения и исследованию биологических свойств лигандов асиалогликопротеинового рецептора, а также отысканию условий синтеза ковалентных конъюгатов лигандов с *миРНК*, с противоопухолевым препаратом паклитакселом для направленного транспорта в опухолевые клетки печени или молекулой красителя с целью получения диагностических препаратов. Совершенствование методов синтеза структурных фрагментов для систем направленного транспорта терапевтических молекул в целевые клетки, как и разработка способов получения конъюгатов биологически активных соединений является **актуальным направлением исследований**, поскольку способствует созданию новых более эффективных и селективных лекарственных препаратов для лечения социально значимых заболеваний.

Диссертационная работа содержит все необходимые разделы: введение, обзор литературы, обсуждение результатов, экспериментальную часть, выводы, список литературы. Обзор литературы включает описание систем

направленного транспорта лекарственных препаратов в паренхимные и опухолевые клетки печени. Была собрана и проанализирована литература по ковалентным конъюгатам биологически активных веществ с лигандами асиалогликопротеинового рецептора, приведено описание структуры данного рецептора, представлены примеры его природных и синтетических лигандов.

Обсуждение результатов состоит из нескольких частей. В первой части решалась задача разработки синтеза лигандов ASGPR, комбинирующих в своем составе три остатка галактозы или *N*-ацетилгалактозамина, а также гидрофобный линкер с азидогруппой. Азидную группу в дальнейшем предполагалось использовать для конъюгации лигандов с другими функциональными соединениями с использованием медь-катализируемого 1,3-диполярного циклоприсоединения азидов к ацетиленам.

Вторая часть диссертационной работы посвящена поиску методов получения новых лигандов ASGPR, не содержащих в своем составе остатков галактозы или *N*-ацетилгалактозамина. В третьей части полученные лиганды использовались для создания ковалентных конъюгатов с олигонуклеотидами, противоопухолевым препаратом паклитакселом и флуоресцентным красителем *sulfo-Cy5*. На заключительных этапах работы оценивали потенциал разработанных соединений в *in vitro* и *in vivo* биологических экспериментах.

Следует отметить, что на всех этапах проведения исследовательской работы были, в основном, решены поставленные задачи, а **также получены новые оригинальные результаты**. Так, автором разработана стратегия многостадийного синтеза нескольких соединений, способных эффективно взаимодействовать с асиалогликопротеиновым рецептором. Предложенный подход позволил ввести в структуру известных фрагментов, отвечающих за связывание с рецептором, азидогруппу, что открывает возможность их соединения с лекарственными препаратами посредством азид-алкинового циклоприсоединения. В результате были выделены и охарактеризованы набором физико-химических методов анализа четыре новых

углеводсодержащих соединения: два на основе *N*-ацетилгалактозамина – потенциальные прекурсоры ковалентных конъюгатов лекарственных препаратов для направленного транспорта в клетки печени и два изомерных им производных *N*-ацетилглюкозамина, необходимых для проведения биологических испытаний.

Было предложено использовать в качестве новых лигандов асиалогликопротеинового рецептора 3-гидроксихинолин-4-карбоновые кислоты. Разработан синтетический подход к 3-гидрокси-2-(4-хлорбензил)хинолин-4-карбоновым кислотам, содержащим в шестом или восьмом положении этинильный заместитель, которые могут быть использованы для соединения с лекарственными препаратами.

На примере модельного олигонуклеотида, содержащего терминальный алкин на 5'-конце, проведена реакция медь-катализируемого азид-алкинового циклоприсоединения с использованием полученных лигандов.

В ходе выполнения биохимических экспериментов проведено исследование распределения в организме животных нескольких синтезированных лигандов с помощью интравитальной микроскопии. Для этих целей автором были получены и охарактеризованы необходимым набором физико-химических методов анализа конъюгаты лигандов с флуоресцентным красителем *sulfo*-Cy5 алкином. Показано, что конъюгат на основе *N*-ацетилгалактозамина быстро проникает из кровотока в гепатоциты, минуя эндотелиальные клетки печени и макрофаги.

На примере конъюгата одного из синтезированных лигандов с противоопухолевым препаратом паклитакселом показано, что предложенный автором способ модификации молекулы паклитаксела не влечет за собой снижения его биологической активности.

Строение и состав полученных в работе соединений подтверждены автором с помощью комплекса физико-химических методов анализа: ЯМР- и ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения и MALDI-

ТОФ. Основные результаты исследования опубликованы в рецензируемых российских и зарубежных журналах, что является гарантией их надежности.

Практическая значимость работы заключается в том, что в диссертационной работе предложен ряд новых соединений, способных эффективно взаимодействовать с асиалогликопротеиновым рецептором, оптимизированы методики их синтеза и исследованы биологические свойства. На примере нескольких терапевтических молекул показано, что предложенные в работе структуры могут быть использованы для получения конъюгатов лекарственных препаратов.

Таким образом, Маклаковой Светланой Юрьевной выполнено интересное и обстоятельное исследование, направленное на поиск новых противораковых препаратов. Автором предложены подходы к получению сложных конъюгатов, сочетающих несколько функций: молекулы-вектора, лекарственного или флуоресцентного препарата. **Основные положения и выводы диссертации обоснованы** и не вызывают сомнений.

По материалам диссертационной работы опубликовано 3 статьи в международных рецензируемых научных изданиях и 18 тезисов докладов на российских и международных научных конференциях.

Автореферат отражает в полной мере результаты, представленные в диссертации.

С результатами работы следует ознакомить химиков, работающих с гетероциклическими соединениями в МГУ, НИОПИК, РХТУ им. Д.И. Менделеева, Санкт-Петербургском Университете, Южном Федеральном Университете, Институтах органической химии в Москве и Екатеринбурге, ИНЭОС РАН.

Можно отметить, что при прочтении диссертации не обнаружено принципиальных замечаний, затрагивающих существо настоящей работы. Однако по работе можно сделать следующие замечания.

1. Синтез конъюгатов **32** и **33** кратко описан в Экспериментальной части, в Обсуждение указано, что «Образование конъюгатов подтверждали с помощью ВЭЖХ-МС». В работе не приводится ни одного экспериментального факта, подтверждающего образование конъюгата, например, хроматограмма с пиком продукта, молекулярный пик в масс-спектре.
2. В работе приведены данные *in vivo* экспериментов по распределению конъюгата **34a** по клеткам печени. Интересно было бы также проанализировать распределение конъюгата в органах мыши, чтобы подтвердить идею о направленной доставке в печень или преимущественном накоплении в печени синтезированных лигандов.
3. Глава 3.2 описывает синтез замещенных 3-гидроксихинолин-4-карбоновых кислот в качестве неуглеводных лигандов ASGPR, в следующей главе есть также описание их конъюгатов с паклитакселом. Статья автора, в которой представлены данные об этих соединениях, содержит и биологические исследования соединений. Почему же, хотя бы вкратце не привести их в диссертации?
4. Изображение производных паклитаксела в виде определенных стереоизомеров как-то установлено? Оно согласуется с литературными данными?

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Рецензируемая диссертационная работа соответствует паспорту специальности 02.00.03 – «органическая химия», а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям №5 и 6 Положения о диссертационном совете Московского Государственного университета имени М.В.Ломоносова. Ее автор, Маклакова Светлана

Юрьевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – «органическая химия».

Официальный оппонент:

доктор химических наук, профессор,

заведующая лабораторией фотоактивных супрамолекулярных систем

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова

Российской академии наук (ИНЭОС РАН)

О. А. Федорова

Контактные данные:

тел.: +

Специальность, по которой официальным
оппонентом защищена диссертация:

02.00.03 – Органическая химия

Адрес места работы:

Подпись Федоровой О. А. удостоверяю:

Ученый секретарь ИНЭОС РАН