

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФГБУН Института биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
*Российской академии наук

_____ академик Иванов В.Т.

___30 октября___ 2014 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации - Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук на диссертационную работу Л.С. Фотеевой «Капиллярный электрофорез как метод идентификации форм существования, оценки фармакологических свойств и анализа препаратов противоопухолевых комплексов металлов», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия

Оценка актуальности темы диссертационной работы

Создание новых химиотерапевтических средств, в частности, на основе соединений металлов является одним из важнейших компонентов успешной борьбы с онкологическими заболеваниями. Однако недостаточная изученность механизма действия и фармакологических свойств таких препаратов затрудняет их внедрение в клиническую практику. Для решения этой проблемы лимитирующим фактором является отсутствие общепризнанной аналитической методологии, способной выявлять активные метаболические металлосодержащие формы, а также анализировать сами действующие вещества. В этой связи диссертационная работа Л.С. Фотеевой, в которой в качестве эффективного метода для разработки противоопухолевых комплексов металлов предлагается использовать капиллярный электрофорез (КЭ), несомненно представляется актуальной.

Новизна исследования и полученных результатов

При выполнении данной работы диссертантом решен ряд задач по развитию методологии КЭ с целью исследования в условиях *in vitro* процессов, сопровождающих метаболизм противоопухолевых комплексов металлов. Автором развит комбинированный подход к анализу белковых форм металлов, сочетающий их разделение посредством КЭ с высокочувствительным детектированием методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС). Отметим, что в нашей стране этот мощный гибридный метод вещественного анализа практически не используется. Основные результаты диссертации, представляющие научную новизну, включают также продемонстрированную автором возможность применения электрокинетической хроматографии для надежной оценки параметров гидрофобности комплексов металлов и выбор оптимальной схемы анализа лекарственных веществ на их основе в зависимости от исходного содержания в анализируемом объекте.

Значение результатов диссертации для науки и производства

Результаты проведенного Л.С. Фотеевой исследования имеют практическую ценность, как минимум, в двух аспектах. В рамках аналитической химии это – получившее в диссертации развитие одного из самых эффективных современных методов разделения, КЭ, для случая анализа объектов сложного состава, причем анализа с идентификацией различных присутствующих биологических форм металлов. Оптимизированные диссертантом условия разделения и детектирования могут быть рекомендованы для анализа как других форм металлов, так более широкого круга биологических объектов. Не меньшую важность в практическом отношении представляют измеренный автором комплекс фармакологических свойств для разрабатываемых противоопухолевых комплексов металлов, заключения о механизме их транспорта по кровотоку и доставке в опухоль и выработанные на основании этих исследований рекомендации по выбору наиболее перспективных соединений для клинического тестирования. Эти результаты, безусловно, сделают более простым дизайн и скрининг новых цитотоксических соединений металлов. Важно также отметить, что три из изученных в работе комплексов уже находятся в клинических испытаниях. В этой связи можно задуматься над тем, чтобы организовать и провести с использованием разработанной Л.С. Фотеевой аналитической методологии аналогичные доклинические и клинические исследования у нас в стране.

Структура и содержание диссертации

Диссертационная работа общим объемом 134 страницы состоит из введения, обзора литературы, 6 глав с описанием проведенных экспериментов и полученных результатов, общих выводов и списка литературы. Содержит 17 таблиц и 31 рисунок, список литературы включает 96 наименований.

Во **введении** автором обосновывается актуальность, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, формулируются цели и задачи исследования.

Первая глава диссертационной работы содержит достаточно полный обзор литературы по соединениям металлов, применяемых в современной химиотерапии и медицинской диагностике, освещены проблемы разработки новых металлосодержащих противораковых соединений и аналитических методов для их изучения. Приведены примеры использования и обсуждены достоинства КЭ, как метода доклинических исследований и анализа металлосодержащих препаратов.

В **экспериментальной части (вторая глава)** описаны объекты исследований (комплексы галлия и рутения), методики экспериментов, реагенты и аппаратура, использованные в работе. Приведены также расчетные уравнения для обработки экспериментальных данных.

Третья, четвертая, пятая, шестая и седьмая глава построены в общем ключе и представляют собственно результаты проведенных экспериментов и их обсуждение.

Так, в **третьей и четвертой главах** изложены результаты по применению капиллярного зонного электрофореза для оценки фармакологических свойств комплексов металлов, таких как полярность заряда в среде физиологического буферного раствора и гидролитическая устойчивость, и для исследования форм существования комплекса галлия в соке тонкого кишечника. Представлены и обсуждены результаты по применению метода для идентификации возможных метаболитических форм противоопухолевых комплексов металлов при связывании с сывороточными белками.

В **пятой, шестой и седьмой главах** обсуждаются исследования по развитию метода электрокинетической хроматографии. Рассмотрено ее применение для оценки некоторых фармакологических свойств (липофильности и устойчивости в составе лекарственного препарата) и для определения нейтральных комплексов металлов в сочетании с разработанным автором методом in-line концентрирования.

Продемонстрирована принципиальная возможность такого способа концентрирования для анализа реальных объектов.

Выводы диссертационного исследования в полной мере обоснованы, работа выполнена на хорошем научном уровне, написана последовательно и логично.

Однако несколько вопросов остаются неясными и требуют разъяснения:

1. Автором убедительно продемонстрированы аналитические достоинства КЭ в сочетании с детектированием методом ИСП-МС. Однако это сочетание было реализовано только в варианте зарубежного прибора «Agilent». Каковы при этом возможности приборов для КЭ отечественного производства, например, производства фирмы «Люмекс» или Института аналитического приборостроения РАН?
2. В качестве одного из преимуществ КЭ отмечена совместимость с физиологическими условиями, для которых характерен высокий солевой фон. Однако большинство электрофореграмм, представленных в работе, были получены в отсутствие хлорида натрия в составе фонового электролита. Как это сказывается на надежности результатов и, в частности, на устойчивости анализируемых форм металлов?
3. Основными противоопухолевыми соединениями, исследованными автором, являлись комплексы рутения и галлия. С точки зрения общих требований к лекарственным препаратам, они обладают существенными недостатками: недостаточными устойчивостью и растворимостью. Насколько правомерен был выбор именно этих соединений?
4. Убеждает своей простотой предложенный в диссертации способ оценки параметров $\log k'$ с использованием различных вариантов КЭ. Однако автор не прокомментировал, какими должны быть значения этого параметра гидрофобности для успешной разработки соединения.
5. Разработанный метод концентрирования, несмотря на свою оригинальность и простоту практической реализации, не позволяет достичь высоких факторов концентрирования. Чем это объясняется и какими видятся пути дальнейшего совершенствования метода.

Заключение о соответствии работы требованиям ВАК и ее общая оценка

Поставленные в диссертации задачи решены автором в достаточном объеме и на современном экспериментальном и теоретическом уровне, диссертационная работа выполнена на высоком научном уровне. Положения, вынесенные автором на защиту, представляются надежно и убедительно доказанными. Основные материалы диссертационной работы опубликованы в 38 публикациях (14 статей и 24 тезиса докладов). Структура и объем диссертационной работы, выводы и рекомендации, научные статьи, а также автореферат полностью отражают и подтверждают научные положения, рассматриваемые в диссертации. Следует подчеркнуть, что указанные выше замечания не затрагивают основных результатов и выводов автора и нисколько не влияют на общую высокую оценку диссертационной работы Л.С. Фотеевой.

На основании всего этого считаем, что диссертационная работа «Капиллярный электрофорез как метод идентификации форм существования, оценки фармакологических свойств и анализа препаратов противоопухолевых комплексов металлов» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научном уровне соответствует и критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, установленным п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842, а ее автор, Фотеева Лидия Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Отзыв заслушан и одобрен в качестве официального на заседании межлабораторного семинара на базе группы аналитической химии белка ИБХ РАН (протокол № 2... от 30.10.2014 г)

Руководитель подразделения
(группа аналитической химии белка)
ФГБУН ИБХ РАН
кандидат химических наук
Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10
ФГБУН ИБХ РАН, корп. 51, комн. 463
Тел.: +7 (495) 330-75-92
Эл. почта: nazimov@ibk.ru



личную подпись:
УДОСТОВЕРЯЮ

И.В. Назимов

СПЕЦИАЛИСТ ОТДЕЛА
КАДРОВ ИБХ РАН
НАЗИМОВА Е.Б.

311014