

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу ВЕРЕМЕЕВОЙ Полины Николаевны «Синтез и исследование новых амфифильных соединений на основе производных 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана, представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03- Органическая химия

Идея встраивания в липидный бислой липосом амфифильных соединений, способных к значительным конформационным перестройкам при воздействии таких внешних факторов, как изменение рН, или образование комплекса с ионом металла, безусловно заслуживает внимания и разработки. При этом длинные алифатические заместители встроены в липофильную мембрану, а гидрофильные группы, способные к протонированию или комплексообразованию, лежат на внешней поверхности мембраны. Основная трудность в реализации такого подхода - конструкция центрального «ядра», несущего соответствующие заместители, и с этой точки зрения производные 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана являются вполне перспективными.

Диссертационная работа П.Н. Веремеевой посвящена синтезу липидоподобных соединений на основе 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана, способных, с одной стороны, адекватно встраиваться в липидный слой без нарушения его целостности, а с другой – испытывать индуцируемые изменением рН или комплексообразованием значительные конформационные

перестройки, приводящие к образованию пор и, в конечном счете, к разрушению липидной мембраны.

Научная новизна диссертационного исследования П.Н. Веремеевой состоит в разработке методов синтеза 3,7-диалкил-1,5-диметил (и 1,5-динитро-)3,7-диазабицикло[3.3.1]нонанов, а также 3,7-диацил-1,5-диметил-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонанов с длинными (от 7 до 16 атомов углерода) заместителями при атомах азота. Показана возможность встраивания таких соединений в липидный бислой, и исследовано поведение модифицированных липосом при изменении рН или комплексообразовании с ионом меди. Найдены условия стабильности и условия разрушения модифицированных липосом с высвобождением содержимого внутренней полости во внешнюю среду.

Практическая ценность работы П.Н. Веремеевой состоит в том, что сконструированы «молекулярные переключатели», способные при изменении внешних условий стимулировать быстрый выход водорастворимых соединений из липосомальных контейнеров во внешний раствор.

Автором разработаны несколько новых подходов к синтезу целевых соединений. В большинстве синтезов ключевым исходным соединением был вполне доступный в препаративных количествах 5,7-диметил-1,3-диазаадамantan-6-он. Диацильные производные (от 7 до 16 атомов углерода) получены непосредственным ацилированием его с вполне препаративными выходами (52-78 %). Соединение **10** (с концевыми диэтиламинными

группами и цепочке C<sub>11</sub>) получено из соответствующего концевоегo дибромида **9**. Несколько другой подход был использован автором для синтеза диалкильных производных : раскрытие аминаля действием уксусного ангидрида приводит к диацетамиду, ацетильные группы далее гидролизуют и полученный таким образом диамин (1,5-диметил-3,7-диазабицикло[3.3.1]-нонан-9-он) алкилируют алкилбромидами (от длиной цепи от C-11 до C-16). При этом соединение **12** получено с выходом всего 2 %, однако для его синтеза предложен альтернативный подход, основанный на реакции Манниха, при это целевое соединение **12** получено с выходом 54% !.

Необходимы 1,5-динитро-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонаны получены также по реакции Манниха с использованием нитрометана.

Синтезированные производные 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана далее были встроены в липидный бислой липосом. Оказалось, однако, что соединение с коротким радикалом (C-7) дает липосомы с дефектами, поэтому в дальнейшем работы проводили с соединениями с длинной углеродной цепи от 11 до 16 атомов. Автором определен гидродинамический диаметр (размер) получаемых липосом методом динамического светорассеяния, а также определена электрофоретическая подвижность липосом в зависимости от рН внешнего раствора. Показано, что уменьшение рН от 10 до 5 практически не влияет на размер липосом, но приводит к появлению на поверхности положительного заряда.

Исследование проницаемости липосом в зависимости от внешних условий проведено автором двумя способами. В первом – использовали липосомы, внутренняя полость которых заполнена раствором флуоресцеина и

проницаемость мембраны меняется при добавлении раствора сульфата меди (что сказывается на интенсивности флуоресценции внешнего раствора). Во втором способе внутренняя полость липосом была заполнена раствором хлорида натрия и разрушение липидной мембраны в зависимости от pH изучали по увеличению электропроводности внешнего раствора. Было обнаружено, что 1,5-динитро-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонаны обладают лучшими свойствами по сравнению с 1,5-диметил-производными и быстрое разрушение липосом наблюдается уже в интервале pH 5-7.

В диссертационной работе П.Н. Веремеева продемонстрировала незаурядное экспериментальное мастерство, как в подборе условий синтеза, так и в выделении и очистке целевых соединений. Все синтезированные соединения охарактеризованы необходимыми аналитическими и спектральными методами, сделанные структурные отнесения не вызывают сомнений. Кроме того, автор вполне уверенно владеет современными методами исследования липосомальных частиц.

Диссертационная работа П.Н. Веремеевой построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка использованной литературы. Во введении обозначена общая проблематика модификации липосом и сформулирована цель работы. Литературный обзор состоит из двух частей – первая посвящена разнообразным аспектам химии 3,7-диазабицикло[3.3.1]–нонанов – от методов синтеза до конформационного анализа, вторая часть

посвящена липосомам. В целом литературный обзор полностью соответствует теме диссертации.

Раздел «Обсуждение результатов» также состоит из двух частей, в первой детально обсуждены собственно синтетические результаты, вторая часть – обсуждение экспериментов с липосомами. Сам синтез детально описан в разделе «Экспериментальная часть», там же приведены данные о формировании модифицированных липосом и их свойствах, что позволяет оценить выводы из работы как вполне достоверные и обоснованные.

Диссертация П.Н. Веремеевой написана хорошим русским языком и аккуратно оформлена. По материалам диссертации опубликовано 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ, работа неоднократно докладывалась на различных конференциях. Автореферат в полной мере отражает содержание диссертации.

Принципиальных замечаний по работе у меня нет.

Несколько замечаний, касающихся, главным образом, оформления работы и стиля изложения:

1. Не очень удачна таблица в Литературном обзоре (стр. 10): - под одним номером (20в, 20 г, 2-е и т.д. представлены несколько соединений), не вполне понятно, что такое Ph-ethyl (20 ж)). Аналогичное замечание к таблице на стр. 12 и стр. 23.
2. Нет нумерации схем, что, на мой взгляд, было бы полезно.

3. На схемах в большинстве случаев не указаны выходы целевых соединений, что не позволяет оценить пригодность данного подхода как метода препаративного синтеза.
4. При описании конформационного состояния (КК или КВ) 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонанов автор апеллирует к данным РСА, хотя реальное состояние в растворе в значительной степени зависит от растворителя и может сильно отличаться от такого в кристалле, где сильны эффекты упаковки.
5. Для увеличения продолжительности жизни липосом в кровотоке автор упоминает только покрытие ПЭГ (стр. 37, 38), хотя известны примеры использования и других соединений, в частности, фосфатидилинозита.
6. Два замечания по тексту автореферата: на мой взгляд, термин «закисление раствора» является жаргонным (стр. 13);  
На стр. 10 – первая строка сверху: Синтез ...3,7-диазабицикло[3.3.1]нонанов», хотя ниже описан синтез единственного соединения **20**.

Сделанные замечания ни в малейшей степени не снижают общего хорошего впечатления от диссертационной работы П.Н. Веремеевой, которая представляет собой законченную научно-исследовательскую работу, выполненную на самом современном уровне. По объему, актуальности, научной новизне целостности, законченности и практической значимости Диссертация П.Н. Веремеевой полностью соответствует критериям, установленным в п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ от 30.01.02 г. № 74, с учетом изменений № 227 от 20.04.06 г. и изменений и дополнений от

2011 и 2012 гг. , предъявляемым к кандидатским диссертациям. Ее автор, П.Н. Веремева, безусловно заслуживает присуждения ей искомой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – Органическая химия.

Заведующий лабораторией органического синтеза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, доктор химических наук

12 мая 2014 года

А.А. Формановский

ПОДАТЬ ЗАЯВКУ  
УЧЕНЫМ СОВЕТАМ  
ИБХ РАН  
Д.Ф.М.Ш. В.А. Олейников

