



МИНОБРНАУКИ РОССИИ

**федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение
высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный
технологический институт
(технический университет)»
(СПбГТИ(ТУ))**

Московский пр., д.26, г.Санкт-Петербург, 190013,
телеграф: Санкт-Петербург, Л-13, Технолог,
факс: ректор (812) 710-6285, общий отдел (812) 712-
7791,
телефон: (812) 710-1356,
E-mail: office@technolog.edu.ru

30.09.2016 № 2216

Председателю совета Д 501.001.90 по
защите диссертации на соискание
ученой степени кандидата наук,
ученой степени доктора наук, на базе
МГУ имени М.В. Ломоносова,
академику РАН Лунину В.В.

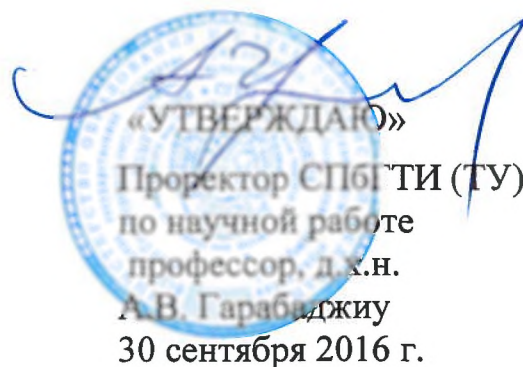
Глубокоуважаемый Валерий Васильевич!

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)» направляет Вам отзыв ведущей организации на диссертационную работу Яковлева Руслана Юрьевича на тему «Детонационный наноалмаз как перспективный носитель биологически активных веществ», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.04 – физическая химия, 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия и представить официальный отзыв.

Приложение: отзыв (2 экз.) – 7 л.

Проректор по научной работе СПбГТИ (ТУ)
д.х.н., профессор


А.В. Гарабаджиу



«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор СПбГТИ (ТУ)
по научной работе
профессор, д.х.н.
А.В. Гарабджигу
30 сентября 2016 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о диссертации Р.Ю. Яковлева «Детонационный наноалмаз как перспективный носитель биологически активных веществ», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.04 – физическая химия и 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертационная работа Руслана Юрьевича Яковлева посвящена детонационному алмазу (ДНА) как носителю биологически активных и лекарственных веществ (БАВ и ЛВ). Актуальность её сомнению не подлежит, поскольку задача создания систем активной адресной доставки БАВ и ЛВ представляет собой сегодня генеральное направление медицины и фармакологии. Вместе с тем понятно, что для решения этой задачи, локализованной на стыке нескольких областей знания, необходимо объединение усилий физико-химиков, нанотехнологов, медиков и фармацевтов. Это обстоятельство является обоснованием защиты рецензируемой работы по двум специальностям – 02.00.04 и 14.04.02 – химической и фармацевтической.

Научная новизна диссертационной работы Р.Ю. Яковлева заключается в решении актуальной научной задачи – разработке физико-химических основ применения ДНА в качестве носителя БАВ.

Основные научные результаты работы:

- обнаружено повышение специфической активности лекарственных веществ, привитых на ДНА;

- разработаны методы синтеза конъюгатов ДНА с БАВ (глицин, цистеин, амикацин, трипсин, химотрипсин, папаин, пирофосфатаза);
- определены примеси в ДНА разных марок (метод гамма-активационного анализа) и разработан способ стандартизации поверхности частиц ДНА путём высокотемпературного гидрирования;
- предложены способы визуализации частиц наноалмаза *in vitro* и *ex vivo*, что позволило изучить трансмембранную диффузию ДНА, его накопление и выведение из организма;
- впервые синтезирован наноалмаз с тритиевой меткой с активностью 2,6 ГБк/г и разработаны методы дальнейшего повышения удельной активности получаемых образцов.

Практическая значимость диссертации Р.Ю. Яковлева заключается в создании базы для разработки лекарственных и диагностических препаратов на основе конъюгатов ДНА-БАВ. При этом в работе установлено, что конъюгаты ДНА-глицин проявляют фармакологическую активность, превышающую активность известных аналогов.

Диссертационная работа изложена на 287 страницах (227 страниц основной текст плюс приложение). Текст включает введение, три главы, заключение, выводы и библиографический список (390 источников), 42 таблицы и 90 рисунков.

В Литературном обзоре объективно и в лаконичной форме рассмотрены основные носители, используемые в системах направленного транспорта лекарственных веществ. Описаны углеродные наноносители – фуллерены, нанотрубки, графен и ДНА. Обсуждены модели строения частиц ДНА и их физико-химические характеристики, приведены известные способы химического модифицирования поверхности ДНА, рассмотрены гидрозоли ДНА, обсуждено использование различных методов *in vitro* и *in vivo* визуализации ДНА. Подробно рассмотрены процессы накопления ДНА в организме экспериментальных животных и его выведения. Выявлены основные проблемы и нерешенные задачи в соответствующих областях.

Критическое рассмотрение литературных данных позволило диссертанту сделать вывод о перспективности применения ДНА как носителя в системах целевой доставки БАВ и ЛВ, и сформулировать цели и задачи предстоящей диссертационной работы. Литературный обзор написан хорошим литературным стилем и несомненно носит аналитический характер.

В **Экспериментальной части** диссертационной работы приведено подробное описание используемых в работе физических методов анализа с применением современной инструментальной техники. Автор грамотно и эффективно использовал широкий арсенал методов (ИК-, УФ-, КР-, РФЭ-спектроскопия, РФА, ПЭМ, СЭМ, ДСК, ИСП-МС, ВЭЖХ, ЖСС, ДРС, ГАА).

Подробно описаны параметры процесса получения гидрозолей ДНА, ДНА с тритиевой меткой ($[^3\text{H}]$ -ДНА) и методики функционализации поверхности ДНА и присоединения к ней исследуемых БАВ. Приводятся методики изучения диффузии ДНА через мембраны, его биораспределение с двумя видами меток, специфической активности конъюгатов ДНА-БАВ и их острой токсичности на экспериментальных животных.

Сведения, приведенные в экспериментальной части, позволяют в полной мере воспроизвести полученные в работе результаты.

В третьей главе **«Результаты и обсуждение»** приведены основные результаты работы. Показано, что промышленные ДНА разных торговых марок различаются по составу входящих в них примесей, а также по природе поверхностных функциональных групп. Для унификации поверхности ДНА автор разработал метод очистки промышленных ДНА от примесей железа, серы, нитрат-анионов и др. и предложил метод гидрирования при повышенной температуре (но ниже температуры графитизации). Далее диссертант оптимизировал методики химического модифицирования поверхности ДНА (продолжительность гидрирования, температурный интервал хлорирования, набор окислителей), что позволило ему получить конъюгаты ДНА с глицином (без фтора), цистеином, амикацином, а также с несколькими ферментами. Полученный автором конъюгат ДНА-глицин имел

более высокую чистоту по сравнению с ранее синтезированным в США. Показано, что прививка линкеров с разной длиной углеродной цепи, как и следовало ожидать, позволяет варьировать подвижность БАВ на ДНА.

Для практического применения конъюгатов ДНА необходимо уметь готовить их устойчивые водные дисперсии. С этой целью диссертантом был разработан способ перевода порошка ДНА в устойчивую коллоидную форму с размерами частиц менее 100 нм с последующим определением их концентрации методами спектрофотометрии и флуориметрии.

Для изучения поведения ДНА *in vitro* и *in vivo* был разработан оригинальный способ визуализации ДНА с использованием тритиевой (с удельной активностью до 2600 ГБк/г) и иодной (триидбензиловый спирт) меток.

В работе исследована способность проникновения ДНА через биомембраны, а также получены данные о биораспределении и степени выведения из организма экспериментальных животных. Это позволило автору сделать важное заключение о способности ДНА проникать в отдельные ткани и органы, временно в них накапливаться и, что особенно важно, почти количественно выводиться из организма.

В третьей главе приведены данные о биофармацевтических свойствах конъюгатов ДНА:

- бóльшая устойчивость конъюгатов ДНА-ферменты по сравнению с гомогенными аналогами;
- динамика проникновения конъюгатов в клетки зависит от природы БАВ, а сами конъюгаты не оказывают цитотоксического действия;
- повышенная активность конъюгатов с привитыми амикацином и глицином.

Важный вывод состоит в том, что конъюгаты ДНА-БАВ более эффективны чем исходные БАВ, а спектр их фармакологической применимости шире.

Таким образом можно заключить, что Р.Ю. Яковлев выполнил большое, разностороннее и важное исследование, заслуживающее высокой оценки. Выводы обоснованы и сомнений не вызывают. Диссертация и

автореферат написаны ясным русским языком и легко читаются. Автореферат отражает основные научные результаты, приведенные в диссертации.

При общей, безусловно, положительной оценке работы необходимо сделать некоторые **замечания и высказать пожелания.**

Замечания:

1. В диссертации и в автореферате имеются расхождения в количестве публикаций соискателя.

2. Не на всех графиках в диссертации (например, рис. 24, 48) и в автореферате диссертации приведены значения доверительных интервалов.

3. В автореферате диссертации на стр. 13 при упоминании изучения биораспределения ДНА *in vivo* методом РКТ указаны только экспериментальные животные – кролики. Но не указана использованная для этого метка. Метка указывается только далее при описании метода ИСП-МС (трийодбензиловый спирт).

4. Некоторые ссылки на опубликованные работы в автореферате не соответствуют ГОСТу: цитируется сборник тезисов перед названием конференции.

Пожелания:

1. В работе получены убедительные данные о распределении ДНА по органам и тканям экспериментальных животных. Однако ни откуда не следует, что конъюгаты ДНА-БАВ будут вести себя также как «голый» ДНА. Полагаем, что в дальнейшем этому вопросу должно быть уделено серьезное внимание.

2. Дальнейшее развитие работы, по нашему мнению, должно быть связано с разработкой методов активного направленного транспорта конъюгатов ДНА-БАВ. Направленной адресной доставке конъюгатов может способствовать прививка на ДНА векторных молекул.

3. Обнаруженный в диссертации чрезвычайно интересный эффект изменения спектра фармакологической активности иммобилизованного

глицина по сравнению с гомогенным аналогом нуждается в объяснении. Понятно, что эта проблема выходит за рамки рецензируемой диссертации, но в последующей работе ей следует заняться.

Перечисленные замечания и пожелания не влияют на высокую оценку проведенного научного исследования, они представляют собой рекомендации по развитию работы.

Результаты, полученные в диссертационной работе Р.Ю. Яковлева, опубликованы в 16 статьях (из них 14 в журналах из списка ВАК) и обсуждены на ведущих международных и всероссийских конференциях в том числе на таких престижных как Diamond and Carbon Materials, Advanced Carbon Nanostructures, MRS Spring Meeting. Особо следует отметить, что результаты работы защищены 22 патентами, в том числе 19 патентами РФ, 2- Европейского союза, 1- США. Получено положительное решение на выдачу еще одного патента США.

Рецензируемая диссертация может использоваться в Институте химии твердого тела и механохимии СО РАН, Институте проблем переработки углеводородов СО РАН, Институте биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН, Институте проблем химической физики РАН, Институте физической химии и электрохимии им. А.Н.Фрумкина РАН, НИИ Фармакологии им. В.В. Закусова, а также в химических и фармакологических подразделениях медицинских университетов.

Диссертационная работа Р.Ю. Яковлева выполнена на современном теоретическом и экспериментальном уровне полностью соответствует требованиям п. 9 Положения ВАК РФ «О порядке присуждения ученых степеней» (постановление Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 года в редакции от 21.04.2016 года), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор – Яковлев Руслан Юрьевич – безусловно заслуживает присуждения ему учёной степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.04 – физическая химия, 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Следует особо подчеркнуть, что работа Яковлева Р.Ю., имеющая решение важных научных задач по использованию наноалмаза как носителя биологических веществ и созданию новых инновационных лекарств на основе ДНА, по объему исследований, их актуальности, научно-практической результативности, оформленной в большом количестве публикаций и патентов, имеет важное значение для развития Российской Федерации и отвечает требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям и в соответствии с п. 36 Положения ВАК РФ (постановление Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 года в редакции от 21.04.2016 года) может быть представлена как докторская диссертация, а ее автор – Яковлев Руслан Юрьевич – заслуживает присуждения ему учёной степени доктора химических наук по специальностям 02.00.04 – физическая химия, 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

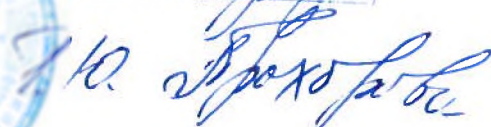
Отзыв заслушан и обсужден на заседании кафедры технологии микробиологического синтеза СПбГТИ (ТУ) «14» сентября 2016 г., протокол № 2.

Профессор кафедры технологии
Микробиологического синтеза СПбГТИ (ТУ)
профессор, д.х.н.

 И.В. Шугалей

Подпись  И.В.
нач. _____ удостоверяю
кач. _____ кадров 







МИНОБРНАУКИ РОССИИ

федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение
высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный
технологический институт
(технический университет)»
(СПбГТИ(ТУ))

Московский пр., д.26, г.Санкт-Петербург, 190013,
телеграф: Санкт-Петербург, Л-13, Технолог,
факс: ректор (812) 710-6285, общий отдел (812) 712-7791,
телефон: (812) 710-1356,
E-mail: office@technolog.edu.ru

22.06.2016 № 1421

Председателю совета Д 501.001.90 по
защите диссертации на соискание
ученой степени кандидата наук,
ученой степени доктора наук, на базе
МГУ имени М.В. Ломоносова,
академику РАН Лунину В.В.

Глубокоуважаемый Валерий Васильевич!

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)» выражает согласие выступить в качестве ведущей организации по диссертационной работе Яковлева Руслана Юрьевича тему «Детонационный наноалмаз как перспективный носитель биологически активных веществ», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.00.04 – физическая химия, 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия и представить официальный отзыв. Лицо, ответственное за отзыв – доктор химических наук, профессор Шугалей Ирина Владимировна.

Приложение: сведения о ведущей организации – 2 л.

Проректор по научной работе
д.х.н., профессор


А.В. Гарабазжину




**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный
технологический институт (технический университет)» (СПбГТИ(ТУ))**

Московский пр., д.26, г.Санкт-Петербург, 190013, телеграф: Санкт-Петербург, Л-13, Технолог,
факс: ректор (812) 710-6285, общий отдел (812) 712-7791, телефон: (812) 710-1356, E-mail:
office@technolog.edu.ru

Сведения о ведущей организации

1. Полное наименование организации:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный
технологический институт (технический университет)»,

2. Сокращенное наименование организации

1.СПбГТИ(ТУ)

2.Санкт-Петербургский государственный технологический
институт (технический университет)

3. Место нахождения: г. Санкт-Петербург

4. Почтовый адрес: 190013, Россия, Санкт-Петербург, Московский проспект,
дом 26.

5. Телефон: +7 (812) 316-13-12

6. Электронная почта: office@technolog.edu.ru

7. Интернет-сайт: <http://technolog.edu.ru/>

8. Список публикаций работников по теме диссертации за последние 5 лет:

1. Шугалей И.В., Боровикова А.С., Возняковский А.П., Илюшин М.А.
Оценка антиоксидантных свойств детонационных наноалмазов в различных
тест-системах // Известия СПбГТИ(ТУ). 2016. №33. С. 46-52.

2. Semenov K.N., Murin I.V., Charykov N.A., Pukharenko Y.V. Physico-
chemical properties of the c60-tris-malonic derivative water solutions // Journal of
Molecular Liquids. 2015. Т. 201. С. 50-58.

3. Semenov K.N., Murin I.V., Charykov N.A., Pukharenko Y.V. physico-
chemical properties of the fullerenol-70 water solutions // Journal of Molecular
Liquids. 2015. Т. 202. С.1-8.

4. Shugalei I.V., Voznyakovskii A.P., Garabadzhiu A.V., Tselinskii I.V.,
Sudarikov A.M., Ilyushin M.A. Biological activity of detonation nanodiamond and
prospects in its medical and biological applications // Russian Journal of General
Chemistry. 2013. Т. 83. № 5. С.851-883.

5. Voznyakovskii A.P., Shumilov F.A., Ibatullina A.K., Shugalei I.V.
Environmental issues related to preparation of detonation nanodiamonds. Surface and
functionalization // Russian Journal of General Chemistry. 2012. Т. 82. № 13. С.
2253-2255.



**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный
технологический институт (технический университет)» (СПбГТИ(ТУ))**

Московский пр., д.26, г.Санкт-Петербург, 190013, телеграф: Санкт-Петербург, Л-13, Технолог, факс: ректор
(812) 710-6285, общий отдел (812) 712-7791, телефон: (812) 710-1356, E-mail: office@technolog.edu.ru

6. Abyzov A.M., Kidalov S.V., Shakhov F.M. High thermal conductivity composite of diamond particles with tungsten coating in a copper matrix for heat sink application // Applied Thermal Engineering. 2012. Т. 48. С. 72-80.

7. Шугалей И.В., Гарабаджиу А.В., Илюшин М.А., Судариков А.М. Некоторые аспекты влияния алюминия и его соединений на живые организмы. Экологическая химия. 2012. Т. 21. № 3. С. 172-168.

8. Abyzov A.M., Kidalov S.V., Shakhov F.M. Thermal conductivity of the diamond-paraffin wax composite // Physics of the Solid State. 2011. Т. 53. № 1. С.48-52.

Ученый секретарь
доктор технических наук, профессор



И.Б. Пантелеев