

В диссертационный совет Д 501.001.42  
по защите докторских и кандидатских  
диссертаций по химическим наукам  
при ФГБОУ ВО «Московский  
государственный университет  
имени М.В. Ломоносова»

#### ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Егоровой Байирты Владимировны на тему «Комплексообразование  $As^{3+}$ ,  $Eu^{3+}$ ,  $Lu^{3+}$ ,  $Y^{3+}$ ,  $Bi^{3+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  пиридин- и фенил-содержащими азакраун-эфирами», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.14 - радиохимия.

В настоящее время разрабатывается значительное число различных инструментальных методов и подходов в диагностике и терапии, при этом доля использования радионуклидной диагностики и терапии также имеет тенденцию к быстрому росту. Для создания радиофармпрепаратов (РФП) необходим как радионуклид с подходящими ядерно-физическими характеристиками, так и метод его адресной доставки к месту поражения в организме. Чаще всего РФП включают в себя по меньшей мере три молекулярных фрагмента: вектор адресной доставки, бифункциональный хелатор радионуклидов и непосредственно радионуклид, причём комплекс металл-хелатор может быть транслирован на разные биологические векторы. Исследованию состава, структуры и устойчивости комплексных соединений новых бифункциональных хелаторов с различными радионуклидами посвящена данная диссертационная работа.

Представленная диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов, выводов и приложения, представлен на 124 страницах, включает 59 рисунков (+37 в приложении) и 15 таблиц. Список цитируемой литературы содержит 202 ссылки.

**Актуальность** данного исследования не вызывает сомнений ввиду того, что применяемые в настоящее время лиганды, не отвечают в полной мере требованиям ядерной медицины, что в том числе подтверждается малым числом зарегистрированных РФП на их основе. Большинство применяемых РФП представляет собой небольшие органические и неорганические молекулы, меченые диагностическими или терапевтическими радионуклидами. Кроме того, даже применяемые зарегистрированные

препараты имеют определённые недостатки, связанные с короткими периодами полураспада, разрешением получаемого изображения в ПЭТ или ОФЭКТ или точностью локализации в организме. Поэтому расширение класса хелаторов, пригодных для связывания радионуклидов, поможет увеличить число возможных комбинаций радионуклид-хелатор. В связи с этим в рамках разработки РФП большую часть исследований занимает экстенсивный поиск новых лигандов, что и определило поставленную в данной работе **цель**. В качестве объектов исследования был выбран класс макроциклических лигандов – азакраун-эфиров, представители которого уже зарекомендовали себя как перспективные лиганды для связывания радионуклидов в терапевтических и диагностических радиофармпрепаратах.

В первой главе **обзора литературы** рассмотрены различные медицинские радионуклиды, которые уже используются, проходят или прошли доклинические и клинические испытания. Приведены способы получения и наработки этих радионуклидов, их ядерно-физические характеристики и сравнение между собой, что демонстрирует широкие возможности РФП на их основе. Во второй главе обсуждаются макроциклические и ациклические лиганды, используемые и предлагаемые в настоящее время для связывания медицинских радионуклидов. Приводятся данные по *in vitro* стабильности соответствующих комплексных соединений, их распределение в организме мелких лабораторных животных. Кроме того, показаны последние тенденции в разработках новых макроциклических хелаторов для РФП. Представленные данные охватывают глубину проблемы поиска лигандов – проанализированы термодинамическая и кинетическая, в том числе *in vivo*, устойчивость соответствующих комплексов. Автором сделана попытка установить взаимосвязь между структурой комплексов на молекулярном уровне и их поведением в организме при клинических испытаниях или в биологических средах. Вывод из обзора литературы включает критическое обобщение всего рассмотренного материала и выделяет ключевые моменты, выбранные автором за основные для поиска перспективных лигандов.

**Экспериментальная часть** содержит описание использованных автором методов исследования комплексов катионов с новыми азакраун-эфирами. Стоит отметить, что **достоверность** полученных результатов по устойчивости комплексных соединений была подтверждена использованием разных подходов – с использованием методов радиоактивных индикаторов, лазерной флуоресцентной спектроскопии и потенциометрического титрования. При использовании метода радиоактивных индикаторов с актинием-225 и меткой висмута-207 автором была оптимизирована

известная методика: в качестве конкурирующих агентов выбраны в качестве экстрагента – 0,01М раствор ди-2-этил-гексил фосфорной кислоты и в качестве сорбента – силикагель.

Структуры комплексов в растворах охарактеризованы современными методами с использованием синхротронного и лазерного излучения: спектроскопией рентгеновского поглощения для катионов висмута и флуоресцентной спектроскопии на катионах европия для комплексов с РЗЭ (EXAFS и TRLIFS). Кроме того проведено теоретическое моделирование структур этих комплексов.

Полученные значения констант устойчивости систематизированы в **обсуждении результатов** и создают общую картину комплексообразующих свойств рассматриваемого класса лигандов. В первую очередь охарактеризовано протонирование всех лигандов, рассчитаны константы кислотности, полученные значения объяснены с точки зрения электронных эффектов различных функциональных групп в лигандах: карбамидные, ароматические, карбоксильные.

Далее рассчитаны константы устойчивости всех образуемых комплексов, в зависимости от катионов выбран тот или иной метод. Комплексы с стабильными катионами меди, свинца, иттрия, европия, лютеция исследованы методом потенциометрического титрования. Ввиду радиоактивности актиния-225, его комплексообразование изучено с помощью метода конкурирующей реакции сорбции. Для корректного сопоставления результатов, полученных этим методом и методом потенциометрического титрования, были проведены эксперименты и рассчитаны константы комплексообразования для иттрия на разных сорбентах: целлюлозе и силикагеле с использованием изотопа иттрий-90. Сравнение полученных результатов с результатами потенциометрического титрования позволило выбрать более подходящий сорбент – силикагель.

Константы устойчивости комплексов с висмутом были рассчитаны с использованием радиоактивной метки висмута-207 и конкурирующих реакций образования нерастворимого гидроксида или экстракции свободного катиона. Все получаемые зависимости интерпретированы автором согласно приводимым математическим уравнениям. Отличие в получаемых стехиометриях комплексов обосновано согласно строению лигандов: отсутствие дополнительных функциональных групп приводит к возможности образования «сэндвичевых» комплексов, что характерно для такого рода соединений. В то время как наличие карбоксильных или пиколиловых подвесных фрагментов обуславливает только соотношение  $M:L=1:1$ . Изменение величин констант устойчивости в зависимости от рН связывается с образованием гидроксидных комплексов, учёт и описание которых также осуществляется математически. Причём

число гидроксидов, получаемое экспериментально, адекватно объясняется стремлением молекулы комплекса к электронейтральности.

Итоговые закономерности линейного соотношения реакций протонирования лиганда и комплексообразования подтверждают **достоверность** и **обоснованность** рассчитанных значений для каждого катиона, что в целом создаёт завершённое исследование комплексообразования катионов с краун-эфирами рассматриваемого типа. Важно отметить, что при обсуждении наблюдаемых закономерностей в изменении констант устойчивости с различными катионами проводится сравнение с литературными данными для других лигандов и объяснение наблюдаемых изменений с позиций структурных, электронных и стерических эффектов.

Автором проведено всестороннее рассмотрение исследуемых комплексов, включая термодинамическую и *in vitro* устойчивость, кинетику комплексообразования, их структуру. Помимо **устойчивости** в модельных водных растворах рассматриваются возможности диссоциации комплексов в физиологическом растворе и в среде сывороточных белков: комплексы демонстрируют высокую устойчивость в экспериментах *in vitro*. Явно использованный в данном случае метод автордиографии пластин после тонкослойной хроматографии, однако, совершенно не освещен в экспериментальной части. **Структура** наиболее устойчивых из рассмотренных комплексов – лиганда L3b с висмутом и европием – описана как теоретически с использованием квантово-химических расчётов, так и экспериментально. Полученная теоретическая модель геометрического строения комплекса хорошо согласуется с экспериментальными результатами описания структуры из спектров рентгеновского поглощения для висмута и числом молекул воды в комплексах с РЗЭ, определенным методом флуоресцентной спектроскопии с временным разрешением на катионах европия. В итоге несмотря на отсутствие монокристаллов удалось обоснованно предположить строение комплексов.

Несмотря на отсутствие количественной оценки **кинетики комплексообразования**, что ограничено возможностями приборов, показана высокая скорость связывания рассматриваемыми лигандами по сравнению с известными ДОТА и ДТРА, эксперименты с которыми были проведены параллельно. **Радиационная устойчивость** также является важной характеристикой РФП и использованный набор методов позволяет оценить стабильность рассматриваемого класса лигандов по отношению к радиолитизу. Продемонстрированное отсутствие токсичности самих лигандов также позволяет рассматривать их в качестве кандидатов для создания РФП.

По материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ: из них 3 статьи (2 из которых входят в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК) и 8 тезисов докладов в сборниках российских и международных конференций.

Работа Б.В. Егоровой соответствует всем требованиям ВАК к диссертациям на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.14-радиохимия, как научно-квалификационная работа, в которой получены данные по новому классу хелаторов для различных радионуклидов медицинского назначения.

По работе имеется ряд вопросов и замечаний, которые не влияют на положительное в целом отношение к работе:

- 1) Рассмотренный класс азакраун-эфиров позиционируется автором как объект последовательного рассмотрения макроциклических аналогов DOTA, однако логичным представляется обсуждение в обзоре литературы известных данных по комплексам более близких к ним соединений.
- 2) Касательно дальнейшего использования рассматриваемого класса лигандов - есть ли какие-либо предположения их бифункционализации для конъюгирования с биологическими векторами?
- 3) Рассмотрена устойчивость в физиологическом растворе и сыворотке комплекса с наибольшей константой устойчивости L3b с  $\text{Eu}^{3+}$ . Что можно сказать об устойчивости *in vitro* для комплексов с висмутом?
- 4) Цитотоксичность лигандов должна быть рассмотрена и для других классов раковых клеток.
- 5) Метод тонкослойной хроматографии с последующей авторадиографией, использованный для оценки *in vitro* устойчивости совершенно не освещен в экспериментальной части.
- 6) Встречаются опечатки и неточности в названиях.

с. 69, таблица 3.5: в названии фигурирует только L4, а приведены значения для многих лигандов, включая L4

таблица 3.7 на двух страницах с.79, с.81, причём на первую нет явной ссылки в тексте, хотя ясно к чему она относится.

Сделанные замечания, однако, не снижают общей высокой оценки проведенного исследования.

Диссертационная работа Егоровой Байирты Владимировны на тему «Комплексообразование  $\text{As}^{3+}$ ,  $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Lu}^{3+}$ ,  $\text{Y}^{3+}$ ,  $\text{Bi}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  пиридин- и фенилсодержащими азакраун-эфирами», представленная к защите на соискание ученой степени

кандидата химических наук по специальности 02.00.14 – радиохимия, является по своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований, практической значимости полученных результатов завершённым научным исследованием. Она полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук. Содержание представленной диссертации соответствует паспорту специальности 02.00.14 – радиохимия, а ее автор Егорова Б.В. заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по указанной специальности.

Доктор фармацевтических наук, доцент,  
заведующая кафедрой фармацевтической и радиофармацевтической химии Обнинского института атомной энергетики Национального исследовательского ядерного университета МИФИ (ИАТЭ НИЯУ МИФИ)

*Эпштейн*  
15.12.2016г

Эпштейн Наталья Борисовна

Адрес: 249040, Обнинск, Студгородок, 1

Телефон: +7(910)518-14-54

e-mail: [NBepshtejn@mephi.ru](mailto:NBepshtejn@mephi.ru)

Подпись Н.Б. Эпштейн заверяю

Проректор НИЯУ МИФИ,  
и.о. директора ИАТЭ НИЯУ МИФИ



Леонова Татьяна Николаевна

### Сведения об оппоненте

по диссертационной работе Егоровой Б.В. на тему: «Комплексообразование  $As^{3+}$ ,  $Eu^{3+}$ ,  $Lu^{3+}$ ,  $Y^{3+}$ ,  $Bi^{3+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  пиридин- и фенил-содержащими азакраун-эфирами» представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.14 – радиохимия

Фамилия Имя Отчество оппонента	Эпштейн Наталья Борисовна
Шифр и наименование специальностей, по которым защищена диссертация	15.00.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия»
Ученая степень и отрасль науки	Доктор фармацевтических наук, фармацевтические науки
Ученое звание	Доцент
Полное наименование организации, являющейся основным местом работы оппонента	Обнинский институт атомной энергетики – филиал федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» ( ИАТЭ НИЯУ МИФИ)
Занимаемая должность	Заведующий кафедрой
Почтовый индекс, адрес	249040, г. Обнинск, Студгородок, 1
Телефон	+7(910)5181454
Адрес электронной почты	nbepshtejn@mephi.ru
Список основных публикаций официального оппонента по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15 публикаций)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Определение аскорбиновой кислоты в радиофармацевтическом препарате для лечения костных метастазов. Эпштейн Н.Б., Артамонова Л.Д., Скворцов В.Г., Хомушку Г.М., Шилина А.С., Харитонов Ю.Я. // Химико-фармацевтический журнал. 2013. Т. 47. № 8. С. 49-53.</li> <li>2. Unification of procedures for determining pharmaceutical substances bearing ionogenic acidic and basic groups, tranexamic acid, ampasse, and</li> </ol>

	<p>ethylmethylhydroxypyridine succinate by reversed-phase HPLC. Khomushku G.M., Brezhneva Yu.S., Epshtein N.B., Puchnin V.S., Moiseeva S.M. // Journal of Analytical Chemistry. 2014. V. 69. № 2. P. 194-199.</p> <p>3. Новые радиофармпрепараты для диагностики и лечения метастатического рака предстательной железы на основе ингибиторов простатспецифического мембранного антигена. Власова О.П., Герман К.Э., Крылов В.В., Петриев В.М., Эпштейн Н.Б. // Вестник Российской академии медицинских наук. 2015. Т. 70. № 3. С. 360-365.</p>
--	--

Официальный оппонент,  
Заведующая кафедрой  
фармацевтической и  
радиофармацевтической  
химии ИАТЭ НИЯУ МИФИ  
д.фарм.н., доцент

*Эпштейн*

Н.Б. Эпштейн

Подпись Н.Б. Эпштейн  
заверяю

Проректор НИЯУ МИФИ,  
и.о. директора ИАТЭ НИЯУ МИФИ



Т.Н. Леонова

« 15 » декабрь 2016 г.