

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы

Сапожниковой Ксении Андреевны «Полифункциональные линкеры для синтеза флуоресцентных и терапевтических конъюгатов антител», представленный на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – «биоорганическая химия».

Диссертационная работа Сапожниковой К.А. посвящена разработке линкерных систем для модификации антител флуоресцентными красителями и цитотоксическими агентами. В качестве основы для структурной модификации выбран подход оксимного лигирования в комбинации с другими синтетическими подходами, например, реакцией азид-алкинового циклоприсоединения.

Разработка линкеров для биоконъюгации, позволяющих получать химически модифицированные функциональные антитела, является актуальным направлением, поскольку химически модифицированные антитела находят применение в клинической медицине и диагностике. Наиболее интересной моделью для применения разрабатываемых линкеров является получение конъюгатов антител с лекарствами (терапевтические конъюгаты антител). Практическое значение разработки таких препаратов исключительно велико, поскольку с ними сейчас связаны большие надежды в области терапии онкологических заболеваний. Методы получения ADC-препаратов разнообразны, но наиболее трудными задачами являются контроль стехиометрии и сохранение аффинности антитела. Линкер, соединяющий антитело с противоопухолевым антибиотиком (цитотоксическим агентом), должен быть гидрофильным, достаточно протяженным и биоразлагаемым; внутри клетки должно происходить высвобождение противоопухолевого препарата. Именно созданию линкерной системы, позволяющей контролировать стехиометрию создаваемых конъюгатов на основе антител, а также оптимизации способов получения таких конъюгатов антител посвящено данное исследование.

Автореферат работы построен по классической схеме, содержит все необходимые разделы, где последовательно и подробно изложены результаты исследования, которые сопровождаются наглядными иллюстрациями и обсуждениями. Автореферат дает полное представление о содержании диссертационной работы.

В своей работе Сапожникова К.А. показала, что модификация антител (для антител к белку PRAME,6H8) может быть эффективно проведена за счёт периодатного окисления иммуноглобулинов G с последующей реакцией *in situ* с N-защищёнными оксиаминами в

буферной системе с рН меньше 4.5. При этом данный подход не приводит к значительному снижению аффинности модифицированных антител.

Работа выполнена на очень высоком методическом уровне. Автор использовал современные методы как органической, так и биоорганической химии для получения бифункциональных линкерных систем на основе гидрофильных олигоэтиленгликолей и производных пентаэритрита для сайт-специфической модификации антител. В качестве функциональных групп были использованы оксиамины, азиды и терминальные алкины. Полученные автором терапевтические конъюгаты на основе монометил ауристатина E обладают достаточно высокой активностью в экспериментах *in vitro*.

Однако, к автореферату имеется несколько незначительных замечаний.

Авторами в качестве одной из ключевых задач при синтезе конъюгатов был контроль стехиометрии конъюгации. Для анализа данного показателя используется оценка спектров поглощения и флуоресценции полученных конъюгатов. При этом в литературных данных существуют и другие стандартные методы оценки данного показателя, например, масс-спектрометрия. Было бы целесообразно сравнить показатели DAR (соотношение лекарство-антитело), полученные разными методами. Тем более, что на примере конъюгатов, несущих несколько флуоресцентных меток наблюдаются эффекты отличные от ожидаемого, для которых автор к сожалению не даёт объяснения: «Несколько удивительно, что значение (0.91) оказалось намного выше ожидаемого ($[\epsilon_{548} \text{ sCy3} + \epsilon_{548} \text{ sCy5}] / \epsilon_{64611} \text{ sCy5} = (1.62 \times 10^5 + 1.20 \times 10^4) \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1} / (2.71 \times 10^5) \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1} = 0.64$)». Также авторами был показан и исследован FRET эффект на таких системах, что также может приводить к искаженной оценке реального показателя DAR, при отсутствии чёткой количественной оценки вклада данного эффекта.

В ряде случаев использованы не самые стилистически удачные, в том числе жаргонные формулировки: «...избыток периодата *гасили* 20%-ным раствором...», «...те же самые *краски*, несущие...», «...Кислотная *депротекция*...», «... интернализации с помощью *некоего* механизма эндоцитоза ...», «... бифункциональную *краску* ...».

Однако описанные замечания несколько не умаляют достоинства данной работы.

Считаю, что по актуальности, научной новизне, объёму выполненной работы и практической значимости диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук «Положением о порядке присуждения ученых степеней» (утверждено постановлением правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426), а её автор, Сапожникова Ксения Андреевна, безусловно, заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – «биоорганическая химия».

Научный сотрудник кафедры органической химии Химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»

к.х.н. Мачулкин Алексей Эдуардович

119899, г. Москва, Ленинские Горы, дом 1, стр. 40

e-mail: alekseymachulkin@rambler.ru

тел.: +7-985-224-22-37

Я согласен на обработку моих персональных данных.

30 мая 2023 г.

к.х.н. Мачулкин А.Э.

Подпись к.х.н. Мачулкина А. Э. удостоверяю

