

## Отзыв

официального оппонента на диссертационную работу

**Лосева Евгения Александровича**

«Исследование кристаллических фаз, образующихся в системах «глицин – карбоновая кислота» и «серин – карбоновая кислота», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.21 – химия твердого тела

Диссертационная работа Евгения Александровича Лосева посвящена изучению влияния методов и условий кристаллизации полиморфных модификаций глицина, молекулярных солей и со-кристаллов глицина и L-серина с карбоновыми кислотами на кристаллическую структуру образующихся соединений. Актуальность работы обусловлена выбором объектов исследования: глицин и L-серин, которые входят в состав огромного множества белков и биологически активных соединений, участвуют в разнообразных метаболических процессах, используются в составе лекарственных препаратов. Как простейшие звенья белков и пептидов эти аминокислоты являются удобными модельными объектами при изучении более сложных биологических систем. Исследования молекулярных солей и смешанных кристаллов в настоящее время интенсивно ведутся не только с целью улучшения свойств фармацевтических препаратов на их основе, но и для выявления возможностей создания новых функциональных материалов. Понятно, что подобные исследования являются направлением, открывающим пути для синтеза веществ с заданными свойствами, что является чрезвычайно актуальной задачей.

Научная новизна работы не вызывает сомнений и заключается в тех новых данных, которые получены диссертантом. Особо следует отметить впервые выявленную зависимость кристаллизации разных полиморфных модификаций глицина от добавок карбоновых кислот и от способов и

условий проведения кристаллизации. Впервые исследована роль воды в механохимическом синтезе молекулярных солей в системе L-серин – щавелевая кислота. Диссертантом с соавторами получены 5 патентов на способы получения  $\gamma$ -глицина, что тоже является несомненным доказательством новизны полученных результатов.

Диссертационная работа изложена на 116 страницах машинописного текста и состоит из следующих разделов: Введение, Обзор литературы (глава 1), Экспериментальная часть (глава 2), Результаты и обсуждения (главы 3 «Исследование кристаллизации глицина в присутствии карбоновых кислот» и 4 «Изучение системы «L-серин –щавелевая кислота»»), Заключение, Выводы, Благодарности, Список литературы (236 ссылок) и двух Приложений; содержит 39 рисунков, 7 таблиц.

Автореферат полностью отражает все основные положения диссертационной работы.

Во Введении обоснована актуальность и новизна работы, изложены цели и задачи исследования, основные положения, выносимые на защиту, приведен список публикаций по теме диссертации.

В Главе 1 представлен обзор литературы. Даны основные понятия и термины, касающиеся инженерии кристаллов, описаны типы межмолекулярных связей в молекулярных кристаллах, приведена классификация многокомпонентных твердых систем. Особое внимание уделено явлению полиморфизма - описаны типы полиморфизма молекулярных соединений и очень интересный феномен «исчезающих» полиморфных модификаций. Подробно рассмотрены методы кристаллизации полиморфных модификаций, молекулярных солей и со-кристаллов из растворов, расплавов и механохимические методы синтеза. Дан обзор примеров создания фармацевтических препаратов с заданными свойствами методами со-кристаллизации активного фармацевтического компонента с коформером. Исходя из анализа известных данных, автор обосновывает

выбор объектов и направления исследований. Следует отметить, что подавляющее большинство ссылок в литературном обзоре современные, а около тридцати датируются 2013 и 2014 гг., что подчеркивает актуальность тематики диссертационной работы Е.А. Лосева.

В экспериментальной части (Глава 2) охарактеризованы используемые в работе реактивы, описаны методы исследований, методики и условия проведения экспериментов. Приведено краткое описание специального оборудования (вибрационные мельницы Retsch Cryomill и Spex-8000), на котором проводили механохимический синтез и приборов, на которых проводились монокристалльные и порошковые рентгеновские эксперименты (в том числе при высоких давлениях и низких температурах).

Глава 3 разделена на 2 раздела. В первом описываются результаты экспериментов по изучению влияния добавок карбоновых кислот на процесс кристаллизации полиморфных модификаций глицина из растворов (при медленном испарении и быстром осаждении с помощью различных органических растворителей), в отсутствие жидкой фазы при механохимической обработке как смеси компонентов, так и отдельных компонентов, при высокотемпературной распылительной сушке.

При медленном испарении: показано, что небольшие добавки карбоновых кислот таких как щавелевая, малоновая, янтарная, малеиновая, L-яблочная к водному раствору глицина способствуют кристаллизации  $\gamma$ -глицина, тогда как глутаровая и ортофталевая кислоты не оказывают подобного воздействия.

Для механохимической обработки сухих смесей: установлено, что те же кислоты, которые инициировали кристаллизацию  $\gamma$ -глицина в растворе при медленном испарении (щавелевая, малоновая, янтарная, малеиновая, L-яблочная), способствовали превращению  $\alpha$ -глицина в  $\gamma$ -глицин при совместной механохимической обработке компонентов. Выявлено наличие индукционного периода на кинетических кривых превращения  $\alpha$ -глицина в

$\gamma$ -глицин в случае добавок малоновой и янтарной кислоты. На примере малоновой кислоты продемонстрировано, что факторами, влияющими на длительность индукционного периода, являются условия и параметры механохимической обработки, контролируя которые возможно значительно уменьшить индукционный период.

Для процессов «быстрого» осаждения из растворов (с помощью органических растворителей таких как ацетон, этанол, тетрагидрофуран, 1,4-диоксан): показано, что в большинстве случаев (особенно наглядно это продемонстрировано при использовании этанола и 1,4-диоксана) добавка 5 мол.% исследуемых кислот (за исключением щавелевой, вызывающей образование  $\gamma$ -глицина) способствует образованию  $\beta$ -глицина. Анализ результатов этой серии экспериментов и серии экспериментов по быстрому осаждению из растворов с введением затравок определенных полиморфных модификаций глицина позволил сделать вывод, что при кристаллизации  $\beta$ -глицина определяющим фактором является скорость зародышеобразования, а в случае кристаллизации  $\alpha$ - и  $\gamma$ -глицина — скорость роста кристаллов.

При высокотемпературной распылительной сушке растворов глицина с добавкой карбоновых кислот доминировало образование  $\gamma$ -модификации глицина (кроме раствора с глутаровой кислотой), что в целом согласуется с данными по изотермической кристаллизации.

По результатам этого раздела работы сформулированы первое, второе, третье защищаемые положения и 1, 2 и 3 выводы.

Второй раздел Главы 3 посвящен изучению влияния условий кристаллизации (выбраны те же 4 метода кристаллизации, которые использовались при изучении кристаллизации полиморфных модификаций глицина) на процесс получения молекулярных солей и смешанных кристаллов глицина с щавелевой, малоновой, малеиновой и глутаровой кислотой при стехиометрическом соотношении глицин – карбоновая кислота. Установлено, что три метода синтеза (медленное испарение, совместная

механическая обработка и высокотемпературная распылительная сушка) для каждой из кислот за исключением щавелевой приводят к одинаковым результатам: кристаллизуются молекулярные соли кислый малонат и кислый малеат глициния и со-кристалл глициния с глутаровой кислотой. В случае щавелевой кислоты исход кристаллизации зависел от выбранного метода синтеза. При кристаллизации медленным испарением образуется кислый оксалат глициния формы I, а его форма II - при высокотемпературной распылительной сушке; при совместной механической обработке получили смесь кислого оксалата глициния формы I и оксалат бис-глициния. Изучение процессов быстрого осаждения (с использованием ацетона и тетрагидрофурана) показало, что в большинстве случаев кристаллизуются полиморфные модификации глицина, а не соли или со-кристаллы. Проведено сравнение структур кислого оксалата глициния формы I и II.

В этом же разделе содержится сравнительный анализ трех известных на сегодня структур со-кристаллов глицина с глутаровой, D,L-винной и ортофталевой кислотой, который показал различие упаковок молекул в этих кристаллах — наличие только гетеромолекулярных взаимодействий в со-кристалле глицина с глутаровой кислотой и гетеромолекулярных и гомомолекулярных взаимодействий в со-кристаллах глицина с D,L-винной и ортофталевой кислотой. Получены данные по изменению параметров и объемов элементарных ячеек, длин водородных связей для со-кристаллов глицина с D,L-винной и ортофталевой кислотой при понижении температуры от 293 до 100 К, свидетельствующие об отсутствии фазовых переходов и неизменности цвиттерионного состояния глицина в этом диапазоне температур. Был изучен отклик структуры со-кристалла глицина с D,L-винной кислотой на повышение давления. Обнаружено наличие фазового перехода (примерно при 0.4 ГПа) с понижением симметрии структуры и скачкообразным изменением параметров элементарной ячейки.

Эксперименты с циклированием давления показали, что этот фазовый переход является обратимым.

По результатам второго раздела главы 3 сформулированы 4, 5 и 6 защищаемые положения.

В главе 4 описаны эксперименты по изучению влияния способов введения воды (либо в составе кристаллогидратов L-серина и щавелевой кислоты, либо в виде жидкой воды) при проведении механохимического синтеза молекулярных солей L-серина со щавелевой кислотой. Использовано пять различных комбинаций введения воды. Эксперименты при комнатной температуре показали, что результат механохимического синтеза зависит от относительного количества воды, введенной в систему. Для сравнения проведен механохимический синтез при температуре жидкого азота и показано, что образование I и II формы молекулярной соли дигидрата оксалата бис-L-сериния  $[L-serH]_2[ox] \cdot 2H_2O$  происходит даже в присутствии замороженной воды. Показан постепенный переход II формы дигидрата оксалата бис-L-сериния  $[L-serH]_2[ox] \cdot 2H_2O$  в форму I при хранении смеси моногидрата L-серина и дигидрата щавелевой кислоты. Для сопоставления результатов проведен синтез молекулярных солей L-серина и щавелевой кислоты методом высокотемпературной распылительной сушки и высаливания. Выполнен детальный анализ кристаллических структур этих двух полиморфных модификаций. Результаты всех этих экспериментов позволили сделать вывод, что полиморфная модификация II  $[L-serH]_2[ox] \cdot 2H_2O$  является кинетически контролируемым промежуточным продуктом в реакции образования I полиморфной модификации из гидратов L-серина и щавелевой кислоты.

По результатам этой главы работы сформулированы седьмое, восьмое и девятое защищаемые положения, 4 и 5 выводы.

Не могу не отметить важный раздел диссертации (хотя Евгений Александрович и поместил его в Приложение I), касающийся испытаний

биологической активности порошков и полученных из него растворов  $\gamma$ -глицина в экспериментах *in vivo in vitro*, которые показали улучшенную по сравнению с  $\alpha$ -глицином биоактивность. Для исследования были предоставлены порошки, полученные с учетом результатов настоящей работы. Это яркая иллюстрация практической значимости выполненных исследований.

Следует отметить широкий охват используемых в работе методов синтеза и варьирование условий их проведения, что позволило получить огромный массив экспериментальных данных. Достоверность полученных результатов и обоснованность выводов не вызывает никаких сомнений.

По результатам работы опубликовано 7 статей в отечественных и международных научных журналах. Представлено 15 докладов на международных конференциях. Е.А. Лосев является соавтором 5 патентов РФ.

Вопросы и комментарии:

1. Во Введении при характеристике новизны работы (стр. 6) автор пишет: «Впервые синтезированы и структурно охарактеризованы двухкомпонентные молекулярные кристаллы глицина с малоновой и глутаровой кислотами [18, 23]». К сожалению, далее в тексте диссертации мы не находим структурных характеристик этих соединений и их подробного описания.
2. Чем обусловлен выбор той или иной вибрационных мельниц при проведении механохимических экспериментов?
3. Из описания экспериментов по кристаллизации методом изотермического испарения из раствора (стр.45, 46) следует, что в качестве добавок были выбраны восемь карбоновых кислот: уксусная, щавелевая, малоновая, янтарная, глутаровая, малеиновая, L-яблочная и орто-фталевая (табл. 3). Выводы сделаны относительно семи кислот: щавелевой, малоновой, янтарной, малеиновой, L-яблочной, которые

способствуют кристаллизации  $\gamma$ -полиморфной модификации глицина и глутаровой и орто-фталевой, не оказывающих подобного действия. Каково воздействие уксусной кислоты остается только гадать.

4. Чем обусловлен выбор именно этих кислот в качестве добавок?
5. Хотя все результаты 3 главы диссертации основываются на рентгенофазовом анализе, в этой главе не приведена ни одна порошковая диаграмма. Очевидно, что их огромное количество, но хотя бы какие-то типичные следовало привести. Здесь же вопрос: какова погрешность определения относительного содержания разных фаз по порошковым дифрактограммам?
6. Какова воспроизводимость результатов в экспериментах по «быстрому» осаждению из растворов с помощью органических растворителей?
7. Стр. 55. «...Варьирование параметров процесса распылительной сушки, таких как скорость потока раствора, температура распыления и концентрация раствора помогает создать благоприятные условия для кристаллизации требуемой полиморфной модификации». Следует сказать, что в этом параграфе описана одна серия экспериментов, с совершенно определенным набором параметров, без какого-либо их варьирования, поэтому остается только верить автору на слово.
8. Рисунок 30, стр. 74. Рисунок призван продемонстрировать увеличение скорости дегидратации моногидрата L-серина при контакте с порошком дигидрата щавелевой кислоты по сравнению со скоростью дегидратации при хранении, но не указаны временные промежутки между снимками, что не позволяет оценить увеличение скорости дегидратации.
9. При написании пространственных групп симметрии общепринято буквы обозначать курсивом.



Кроме орфографических ошибок, которых немало, есть и фактические, допущенные явно из-за невнимательности. Приведу несколько примеров: в подписи к рис. 30 мы читаем: «...(б) порошок дигидрата щавелевой кислоты приводится в контакт с дигидратом щавелевой кислоты»; в подписи к рис. 22 пропущена нумерация водородных связей; в таблице 6 многократно указана ошибочная формула L-серина; на рис. 36(а), (б) приведены ИК спектры двух форм дигидрата оксалата бис-L-сериния  $[L-serH]_2[ox] \cdot 2H_2O$ , но не обозначено, какой из них на рис. 36 (а), а какой на 36 (б).

Возникшие вопросы и замечания не снижают ценности диссертационной работы Е.А. Лосева, представляющей собой законченное научное исследование, важное как с фундаментальной, так и с практической точки зрения.

Диссертация «Исследование кристаллических фаз, образующихся в системах «глицин – карбоновая кислота» и «серин – карбоновая кислота» отвечает требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 24.09.13 №842), а ее автор Евгений Александрович Лосев заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.21 – химия твердого тела.

Официальный оппонент,  
старший научный сотрудник лаборатории клатратных соединений ИХХ СО  
РАН, к.х.н.

Т.В. Родионова

05.12.14

Подпись Т.В. Родионовой заверяю  
И.о. ученого секретаря ИХХ СО РАН,  
к.х.н.



П.П. Самойлов

630090, г. Новосибирск, просп. ак. Лаврентьева, 3; e-mail: tvr@niic.nsc.ru