

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

На диссертацию Скробковой Анны Сергеевны

«Особенности взаимодействия лизоцима с мирамистином, амикацином, левофлоксацином и даларгином по данным радиохимических и спектроскопических методов анализа» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.13. – «Радиохимия».

Диссертационная работа Скробковой А.С. «Особенности взаимодействия лизоцима с мирамистином, амикацином, левофлоксацином и даларгином по данным радиохимических и спектроскопических методов анализа» посвящена исследованию взаимодействия указанных в названии работы лекарственных средств с относительно небольшим глобулярным белком лизоцимом, который широко распространен в живых организмах.

Актуальность работы связана с тем, что комплексы белок-лиганд активно исследуются в последние годы и количество публикаций на эту тему только возрастает. Использование радиохимических методов открывает новые возможности в таких исследованиях. Для проникновения лекарственных средств в клетку необходимо преодолеть мембрану, и важной информацией является способность веществ в свободном виде или в комплексе с белками взаимодействовать с гидрофобными средами. В работе Скробковой А.С. рассматривается межфазная граница водный раствор/*n*-ксилол как простейшая модель клеточной мембраны. С помощью меченных тритием веществ определено содержание веществ в органической фазе и на межфазной границе. Рассмотрено взаимное влияние лекарственных средств и лизоцима, что в совокупности со спектроскопическими методами исследования позволило получить новые данные об образовании комплексов и их поведении в рассматриваемых системах.

Анализ содержания работы. Полный объем работы Скробковой А.С. составляет 158 страниц машинописного текста, содержит 47 рисунков и 12 таблиц. Работа включает следующие главы: Введение, Обзор литературы,

Материалы и методы, Результаты и их обсуждение, Заключение, Выводы, Список литературы. Приведен Список сокращений. Список цитируемой литературы включает 308 ссылок, что свидетельствует о тщательном анализе современной литературы по исследуемой тематике.

Во Введении отражены актуальность, цель и задачи работы, сформулированы положения, выносимые на защиту, рассмотрены новизна работы и ее практическая значимость. Цель работы и задачи сформулированы четко и выполнены в достаточной степени.

В Обзоре литературы приведена информация об исследованиях взаимодействий белков с биологически-активными веществами, об адсорбции белков на межфазных границах, рассмотрены методы получения меченых веществ, метод сцинтиллирующей фазы и тритиевая планиграфия.

В Главе «Материалы и методы» описаны используемые вещества, процессы получения и очистки меченных тритием веществ, а также методики, используемые в работе.

В Главе «Результаты и их обсуждение» описаны особенности получения и результаты анализа меченных тритием веществ, взаимное влияние лизоцима и лекарственных средств при конкурентной адсорбции на межфазных границах водный раствор/*n*-ксилол и водный раствор/воздух, которое было изучено с помощью тензиометрии и метода сцинтиллирующей фазы, приведены составы адсорбционных слоев. Описано исследование комплексов лизоцим-лекарственное средство с помощью атомарного трития. Показано влияние исследуемых веществ на флуоресценцию и ферментативную активность лизоцима, с помощью молекулярного докинга определены наиболее вероятные сайты взаимодействия лекарственных средств с лизоцимом, приведена их структура.

Полученные результаты соответствуют современному научному уровню и обладают **научной новизной**, а именно:

1. С помощью метода термической активации трития получены меченые соединения с очень низким содержанием примесей, меченый

левофлоксацин получили впервые, разработан метод доочистки меченого амикацина.

2. При исследовании комплексов лизоцим-лекарственное средство с помощью атомарного трития, использовали не только водные растворы смесей лизоцима с лекарственными средствами, но также применили новый прием, где использовали лиофильно-высушенные мишени, что позволило повысить удельную радиоактивность лизоцима и достоверность получаемых результатов.
3. Используемый в работе комплексный подход впервые применен для описания взаимодействия лизоцима с поверхностно-инактивными веществами амикацином и левофлоксацином.

Полученные результаты имеют **практическую значимость**, так как полученная информация о взаимодействии белков с лекарственными средствами как в объеме водной фазы, так и на границе раздела водный раствор/*n*-ксилол может быть использована в биологических и медицинских целях при разработки новых препаратов.

Все научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, в полной мере обоснованы, их достоверность не вызывает сомнения. Автореферат соответствует основному содержанию диссертации.

Вопросы и замечания по работе Скребковой А.С. следующие:

1. В разделе «Материалы и методы» не приведены условия ВЭЖХ разделения пептидов и их идентификации после ферментативного гидролиза лизоцима.
2. Почему при проведении аминокислотного анализа тотального гидролизата лизоцима не удалось разделить пики радиоактивности аминокислот: аспарагиновая кислота, треонин, серин и глутаминовая кислота? В работах по сходной тематике обычно приводят удельные радиоактивности каждой из этих аминокислот.
3. На рис. 10 представлены результаты получения меченого тритием левофлоксацина при различных температурах вольфрамовой проволоки.

Автор разместил рядом три составных части рисунка маленького размера. При этом на рис. 10(а) указано только изменение радиоактивности меченого препарата после удаления лабильной метки (сумма активностей левофлоксацина и побочных продуктов), а информация о зависимости радиоактивности именно [^3H]левофлоксацина находится только в тексте диссертации. Нагляднее было бы привести обе зависимости на одном рисунке. На рис. 10(б) совмещены три профиля радиоактивности при ТСХ анализе, причем в тексте указано, что R_f 0,53. Однако для всех трех препаратов максимумы пика по радиоактивности левофлоксацина не совпадают, и для препарата L3 максимум радиоактивности находится при R_f 0,65. С чем это связано?

4. Для очищенного препарата [^3H]левофлоксацина не приведены результаты проверки его радиохимической чистоты, хотя доочистка с помощью экстракции наверняка подтверждает высокие показатели чистоты препарата.

Однако высказанные замечания не снижают общего высокого научного уровня работы и не умаляют значимость полученных результатов. На основании ознакомления с содержанием диссертации, автореферата, опубликованных автором работ можно сделать следующее заключение:

Диссертация Скребковой А.С. является законченным научным исследованием, по своей актуальности, научной новизне, практической значимости полностью отвечает критериям и требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.4.13 – «Радиохимия» (по химическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена согласно Положению о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Скробкова Анна Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.13 – «Радиохимия».

Официальный оппонент:

доктор химических наук,

ведущий научный сотрудник,

Лаборатория молекулярной фармакологии пептидов

«НИЦ «Курчатовский институт»»

Шевченко Валерий Павлович

Дата подписания: 19.05.2023

Контактные данные:

тел.: 8(499)196-02-12, e-mail: ATCarma@mail.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 02.00.14 – Радиохимия и 02.00.10 – Биоорганическая химия

Адрес места работы:

123182, г. Москва, пл. Курчатова, д. 2,

НИЦ «Курчатовский институт»,

Лаборатория молекулярной фармакологии пептидов

Тел.: 8(499)196-02-12; e-mail: ATCarma@mail.ru

Подпись Шевченко В.П. заверяю

Главный ученый секретарь

НИЦ «Курчатовский институт»

К.Е. Борисов

