

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

На диссертацию **Скрёбковой 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 Скрёбковой А.С. «Особенности взаимодействия лизоцима с мирамистином, амикацином, левофлоксацином и даларгином по данным радиохимических и спектроскопических методов анализа» посвящена изучению взаимодействия глобулярного белка лизоцим с перечисленными в названии работы лекарственными средствами как в объеме водной фазы, так и на границах раздела фаз раствор-воздух и жидкость-жидкость.

Актуальность темы. Эффективность лекарственного средства зависит от степени его связывания с белками, терапевтический эффект оказывает лекарственный препарат в свободной, несвязанной с белками форме. При этом связывание лекарственного препарата с белком может быть обратимым и оказывать влияние не только на эффективность препарата, но и на его период полувыведения, так как метаболизму и элиминации подвергается препарат в несвязанной форме. Связывание лекарственного средства с белком также влияет на способность вещества проникать через клеточную мембрану в клетку. Данная работа представляется своевременной и актуальной, поскольку является примером комплексного исследования систем белок – лекарственное средство на молекулярном уровне, в которой центральное место занимает хорошо изученный лизоцим белка куриного яйца. При этом исследуется взаимодействие лизоцима с лекарственными средствами различной химической структуры: четвертичное аммониевое основание – мирамистин; аминогликозид – амикацин; фторхинолон – левофлоксацин; гексапептид – даларгин; что указывает на возможность широкого применения используемого в работе подхода и обуславливает практическую значимость работы.

Научная новизна настоящей диссертационной работы не вызывает сомнений. Разработана методика получения меченного тритием

левофлоксацина и его очистки с помощью ТСХ и ВЭЖХ анализа. Для исследования комплексов лизоцима с лекарственными средствами с помощью атомарного трития была усовершенствована методика, что привело к увеличению удельной радиоактивности лизоцима и позволило надежно определить распределение трития по аминокислотным остаткам и пептидам лизоцима и сопоставить результаты для препарата индивидуального белка и его смеси с лекарственными средствами. Методический комплекс, включающий метод радиоактивных индикаторов и спектроскопические методы анализа, был впервые применен для описания взаимодействия лизоцима с лекарственными средствами, обладающими различной химической структурой и свойствами, в том числе с поверхностно-инактивными веществами.

В диссертационной работе Скребкова А.С. использует метод радиоактивных индикаторов с применением меченных тритием веществ, что является надежным инструментом определения количества вещества, а совокупность современных физико-химических методов исследования, грамотная интерпретация и воспроизводимость полученных результатов обуславливает их достоверность.

Работа построена традиционным образом и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, а также выводов и списка литературы. Работа имеет значительный объем – 158 стр., а список цитированной литературы включает 308 источников, что дополнительно подчеркивает не только объем, но и скрупулёзность проделанной работы.

Во введении сформулированы основные пункты исследования: актуальность темы исследования, цель, научная новизна, положения, выносимые на защиту, теоретическая и практическая значимость, личный вклад автора и апробация результатов.

Обзор литературы хорошо структурирован и содержит разделы, посвященные взаимодействию белков с биологически активными веществами и адсорбции белков на межфазных границах. В одном из разделов рассмотрены

методы получения меченных тритием соединений, в частности метод термической активации трития, и радиохимические методы исследования: тритиевая планиграфия и метод сцинтиллирующей фазы.

В экспериментальной части подробно описаны методики получения меченных тритием лизоцима и выбранных лекарственных средств, а также их очистки от побочных продуктов, и методы, используемые в работе.

Третья глава «Результаты и обсуждения» состоит из пяти разделов, в первом разделе приведены особенности получения меченных тритием веществ, а также данные по их очистке от радиоактивных примесей. Во втором разделе приведены экспериментальные данные, полученные с помощью метода сцинтиллирующей фазы и тензиометрии: коэффициенты распределения лизоцима и лекарственных средств в двухфазной системе водный раствор/*n*-ксилол и адсорбция на межфазной границе как индивидуально, так и в составе бинарных смесей белок-лекарственное средство; изотермы поверхностного натяжения лизоцима и смесей лизоцима с лекарственными средствами на границах водный раствор-ксилол и водный раствор-воздух; зависимости заполнения смешанных адсорбционных слоев и рассчитанной, с помощью модели Файнермана, адсорбции на границе раздела PBS – воздух лизоцимом и исследуемыми лекарственными средствами. В третьем разделе приведены и сопоставлены результаты по распределению трития по аминокислотным остаткам и пептидам лизоцима индивидуально и в составе комплексов лизоцим-лекарственное средство (мирамистин, амикацин и левофлоксацин). В следующем разделе рассмотрено влияние комплексообразования с лекарственными средствами на структуру, флуоресценцию и ферментативную активность лизоцима. В последнем разделе приведены структуры комплексов лизоцима с лекарственными средствами, полученными с помощью молекулярного докинга с учетом результатов, полученных при пептидном анализе.

В «Заключении» перечислены основные результаты работы. Диссертация структурирована, написана грамотно. Сформулированные выводы согласуются

с поставленными в работе задачами, являются достоверными и обоснованными ввиду использования большого количества различных современных физико-химических методов исследования.

По материалу диссертации было опубликовано 10 научных работ, в том числе 3 статьи. Автореферат соответствует основному содержанию диссертации.

Тем не менее, есть несколько замечаний и вопросов:

1. В работе используются разные диапазоны концентраций исследуемых лекарственных средств, из текста не совсем понятно, чем обусловлен выбор диапазона концентраций для каждого лекарственного средства.

2. Насколько применим использованный в работе подход для изучения комплексов лекарственных средств с другими белками?

3. В Таблице 4 приведены коэффициенты распределения исследуемых веществ между органической и водной фазами, рассчитанные через тангенсы угла наклона зависимостей концентрации в ксилоле от концентрации в водной фазе. Наблюдались линейные зависимости, кроме как для даларгина, у которого обнаружили излом при концентрации в водной фазе 30 мкмоль/л, что показано на рис. 13. Однако можно было также показать графики с такими же зависимостями, полученными для других веществ как индивидуальных, так и в присутствии лизоцима, даже если они были линейными. Это важная первичная информация, демонстрирующая как число сделанных экспериментов, так и их воспроизводимость.

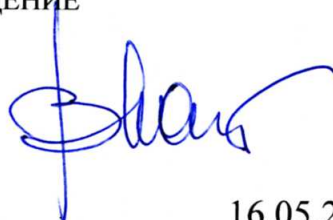
4. В работе встречаются опечатки или неудачное представление результатов. Например, на рис. 9, где демонстрируется изменение коэффициента распределения меченого амикацина между ксилолом и водой при экстракционной очистке амикацина, деления на шкале абсцисс «номер экстракции» кратны 0,5, что не имеет физического смысла. Вместе с этим из представленных на этом рисунке результатов следует, что следует провести 3 экстракции для очистки амикацина от радиоактивных примесей, а не 2, как указано в тексте. Вероятно, автор имел в виду две замены экстрагента.

Вместе с тем, указанные замечания совсем не умаляют значимости диссертационного исследования. На основании изложенного можно сделать вывод о том, что диссертационная работа Скробковой А.А. отвечает 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,
Профессор кафедры коллоидной химии
Химического факультета МГУ им.М.В.Ломоносова
«ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧЕБНО-НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ МОСКОВСКОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА
ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА»
МАТВЕЕНКО Владимир Николаевич



16.05.2023