

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию **Скребковой 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 А.С. Скребковой «Особенности взаимодействия лизоцима с мирамистином, амикацином, левофлоксацином и даларгином по данным радиохимических и спектроскопических методов анализа» посвящена изучению взаимодействия биологически-активных соединений, используемых как лекарственные средства, с лизоцимом - достаточно распространенным в живых организмах белком-ферментом, выполняющим большое число функций, в том числе защитную. Исследование таких взаимодействий интересно как с практической, так и с фундаментальной точки зрения и заявленная **тема работы безусловно является актуальной**. В качестве объектов исследования выбраны 4 вещества: мирамистин, амикацин, левофлоксацин и даларгин – свойства которых сильно различаются, и взаимодействие с лизоцимом также может отличаться. Это является важной особенностью рассматриваемой работы и подчеркивает, какую непростую задачу пришлось решать диссертанту. С одной стороны, А.С. Скребкова продемонстрировала, что используемый подход позволяет получать полезную информацию для столь различных объектов. И здесь привлекает комбинация методов исследования, а использование радиохимических методов позволило выявить очень интересные свойства рассматриваемых систем. С другой стороны – заставляет провести тщательный анализ результатов для того, чтобы выявить общие черты и различия, что на мой взгляд, удалось тоже сделать, однако оставляет место для дальнейшей работы.

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

1. Получены с помощью метода термической активации трития меченые соединения с высокими характеристиками чистоты, что позволяет с их помощью получать достоверную информацию о их свойствах и изучать поведение в сложных системах, в том числе определить распределение между двумя несмешивающимися жидкостями и адсорбцию на межфазной границе.
2. Применен новый прием обработки атомами трития комплексов лизоцима с рассматриваемыми лекарственными средствами, позволивший увеличить радиоактивность аминокислотных остатков лизоцима и этим самым повысить достоверность результатов.
3. Комплексный подход, включающий метод сцинтиллирующей фазы, модифицированный метод тритиевой планиграфии и спектроскопические методы анализа, был впервые применен к амикацину и левофлоксацину, которые не обладают ярко выраженными поверхностно-инактивными свойствами в водных растворах.

Результаты работы 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.

Анализ содержания работы. Работа Скребковой А.С. изложена на 158 страницах текста, содержит 47 рисунков и 12 таблиц. Работа состоит из следующих глав: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и их обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список литературы». Приведен «Список сокращений». Список цитируемой литературы содержит 308 источников, из них 86 (28 %) – это работы, опубликованные за последние 5 лет.

Во «**Введении**» отражены актуальность работы, указана цель, поставлены задачи исследования, 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» обобщена информация о взаимодействии лизоцима с лекарственными средствами, а также уделено внимание адсорбции белков на межфазных границах и возможностям радиохимических методов, используемых в работе.

В Главе «Материалы и методы» приведены характеристики используемых исходных и меченных тритием веществ (лизоцим, мирамистин, амикацин, левофлоксацин и даларгин), методики работы с мечеными препаратами, а также методика определения ферментативной активности лизоцима.

Глава «Результаты и их обсуждение» состоит из пяти частей, в которых рассмотрены: получение меченных тритием препаратов и анализ их чистоты; адсорбция индивидуально лизоцима, лекарственных средств и их смесей на межфазных границах водный раствор/*n*-ксилол и водный раствор/воздух с помощью тензиометрии и метода сцинтиллирующей фазы; распределение трития по аминокислотам и пептидам лизоцима индивидуально и в присутствии лекарственных средств после воздействия атомами трития на соответствующие мишени; изменения флуоресценции, спектров кругового дихроизма и ферментативной активности лизоцима в присутствии лекарственных средств; возможные структуры комплексов лизоцим-лекарственное средство.

В «Заключении» перечислены основные результаты работы. Основная цель достигнута.

Впервые получен меченный тритием левофлоксацин с помощью метода термической активации трития. Для проведения исследования также были получены меченные тритием лизоцим, мирамистин, амикацин и даларгин. Из-за изменения коэффициентов распределения меченых амикацина и левофлоксацина между водной и органической фазой с увеличением числа

экстракций была проведена дополнительная экстракционная очистка препаратов для удаления радиоактивных гидрофобных примесей.

Использование меченных тритием лизоцима и лекарственных средств в сочетании с жидкостной сцинтилляционной спектрометрии позволило определить коэффициенты распределения вещества между фазами и адсорбцию на межфазной границе, как индивидуально, так для смесей белка с лигандами. Полученные данные в комплексе с информацией о поверхностном натяжении на границах водный раствор/ксилол и водный раствор/воздух определенной в данной работе с помощью метода висящей капли позволили с использованием модели Файнермана рассчитать адсорбцию лизоцима и лекарственных средств (мирамистина, амикацина, левофлоксацина, даларгина) в составе сложного адсорбционного слоя на границе с воздухом, что было сделано впервые для поверхностно-инактивных веществ.

К работе Скребковой А.С. есть несколько вопросов и замечаний:

1. При получении меченого тритием даларгина использовали две температуры мишени 77 и 295 К и провели сопоставление распределения трития по аминокислотным остаткам пептида. Однако сумма % содержания трития в эксперименте при 77 К равна 99% (таблица 3). Вероятно, надо было указать еще одну значащую цифру в результатах, чтобы не возникала неточность из-за округления значений. Вывод из представленных результатов о том, что температура мишени не оказывает существенного влияния на распределение трития в целом правильный, однако автор работы не обратил внимания на то, что доля активности в аминокислотных остатках тирозина и фенилаланина изменяется в 3 и 4 раза (от 1 до 3 и 4%) при изменении температуры мишени от 295 до 77 К. Такое изменение – в пределах ошибки эксперимента или значимое? Если значимое, то какое может быть объяснение в таком изменении распределения трития?

2. В разделе 3.3 сказано, что для определения структурных особенностей лизоцима в смешанном адсорбционном слое с ионогенными и неионогенными ПАВ использовали метод тритиевой планиграфии и приведены ссылки на

литературные источники. Однако в указанных литературных источниках, а также в формулировках задач исследования и в заключении диссертации говорится о применении метода тритиевого зонда. Насколько термин «тритиевая планиграфия» может быть использован как синоним метода «тритиевого зонда» в представленной работе?

3. Насколько универсальным является использованный в работе подход? Есть ли ограничения по молекулярной массе белков и химической структуре лекарственных средств?

4. В работе есть небольшое число опечаток (стр. 84, 87, подпись к рис. 16).

Сделанные замечания не снижают положительного впечатления о работе. В целом диссертационная работа Скребковой А.С. выполнена на современном экспериментальном уровне с привлечением оригинальных радиохимических приемов. Использованный комплексный подход и большое число использованных методов анализа не позволяют сомневаться в достоверности результатов. **Выводы обоснованы** и соответствуют поставленным задачам. Результаты работы опубликованы в 3 статьях в рецензируемых научных журналах, индексируемых в базах РИНЦ, Web of Science и Scopus. Работа прошла апробацию на российских и международных конференциях. Автореферат соответствует основному содержанию диссертации.

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к диссертационным 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 приложениям Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

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

Официальный оппонент:

доктор химических наук,
ведущий научный сотрудник (заведующий) лабораторией химии технеция
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института
физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина Российской академии
наук (ИФХЭ РАН)

Герман Константин Эдуардович

Адрес организации: 119071, г. Москва, Ленинский пр., 31, корп. 4
Тел: +7 495 333 85 22,
E-mail: guerman_k@mail.ru
Специальность, по которой официальным оппонентом защищена
диссертация:

1.4.13. – «Радиохимия».

Дата 15.05. 2023

Подпись Германа Константина Эдуардовича удостоверяю:

Зав. канцелярией
тел. +7495-955 46 01,
e-mail: office@phyche.ac.ru
Дата 15.05. 2023



Емельянова Наталья Александровна,