

ОТЗЫВ

официального оппонента Мелик-Нубарова Николая Сергеевича
на диссертацию Курьяновой Анастасии Сергеевны на тему:
«Активность бенгальского розового и метиленового синего в присутствии
амфифильных полимеров и полисахаридов в фотогенерации синглетного $^1\text{O}_2$
кислорода», представленную на соискание ученой степени кандидата
химических наук по специальности 1.4.7 – Высокомолекулярные соединения.

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является эффективным подходом к лечению поверхностных или полостных опухолей. В последние 10-15 лет этот метод с успехом нашел применение для лечения гнойных ран и раневых инфекций. Особенности применения ФДТ для этих целей является создание препаратов, совместимых с открытой поверхностью раны, и проявляющих при этом высокую фотокаталитическую активность. Настоящая работа посвящена созданию таких препаратов, исследованию их фотокаталитической активности и изучению их влияния на клетки раневого ложа. Таким образом, актуальность данной работы очевидна.

Для создания композиций хорошо совместимых с раневой поверхностью в состав включали полимеры, разрешенные к применению в медицине и благотворно влияющие на открытые раны. Известно, что некоторые полисахариды способствуют увлажнению раны и препятствуют развитию воспаления. Помимо полисахаридов, в состав включали также амфифильные полимеры, активирующее действие которых на фотокаталитическую активность различных фотосенсибилизаторов хорошо известно. В качестве фотосенсибилизаторов в настоящей работе впервые исследованы высокоактивные фотосенсибилизаторы ксантеновой и фенотиазиновой природы: бенгальский розовый и метиленовый синий. Оба этих красителя широко известны и давно используются в медицине.

Бенгальский розовый широко известен в качестве дипольного модификатора. Вследствие своей высокой гидрофобности, он эффективно встраивается в липидные мембраны. Поскольку в молекуле бенгальского розового присутствует четыре атома хлора и четыре атома иода он обладает высоким дипольным моментом. Вследствие этого он сильно уменьшает дипольный потенциал липидного бислоя – потенциал между центром бислоя, который заряжен положительно, и областью глицериновых остатков, которая заряжена отрицательно. Бенгальский розовый также используется в качестве красителя для окрашивания препаратов печени и эффективно связывается с различными микроорганизмами. Поэтому, несмотря на неоднократно

отмечаемую различными авторами высокую токсичность для клеток организма, использование этого препарата для наружного применения на инфицированных поверхностных ранах представляется вполне обоснованным.

В отличие от бенгальского розового, метиленовый синий в нейтральной среде несет положительный заряд. Поэтому он эффективно сорбируется на отрицательно заряженной поверхности бактериальных клеток. Метиленовый синий является чрезвычайно активным фотосенсибилизатором с высоким коэффициентом экстинкции и квантовым выходом синглетного кислорода. Поэтому, несмотря на высокую цитотоксичность, данный фотосенсибилизатор также целесообразно использовать для лечения поверхностных инфекций.

Диссертационная работа Курьяновой А.С. построена традиционным образом. В обзоре литературы приводятся современные данные о противомикробной ФДТ, о свойствах различных фотосенсибилизаторов, в том числе, свойствах, использованных в работе фениотиразиновых и ксантеновых фотосенсибилизаторов. Большое внимание уделено также литературе о структуре растворов амфифильных полимеров и полисахаридов, использованных в работе. Обзор достаточно полный и содержит актуальную информацию по теме работы.

Методический раздел диссертационной работы очень разнообразен, что отражает большое количество использованных в работе методов. Методы описаны достаточно подробно и могут быть воспроизведены в любой лаборатории.

В первой части главы Результаты и обсуждения автор приводит данные о влиянии амфифильных полимеров на кинетику фотоокисления триптофана в присутствии исследуемых фотосенсибилизаторов. Оказалось, что скорость фотоокисления заметно увеличивалась в присутствии поли-N-винилпирролидона и плюроники F-108, причем наибольшая активность наблюдалась при концентрации полимеров около 1 мг/мл. Интересно, что при увеличении концентрации полимера эффективность фотокатализа немного снижалась. Причины этого снижения не совсем понятны, и я не совсем согласен с интерпретацией автора, сводящейся к предположению о существовании слабо и сильно связанных фракций красителя. На мой взгляд, речь скорее может идти о совместном связывании триптофана и фотосенсибилизатора с полимером. Тогда в избытке полимера эффективность фотокатализа должна снижаться вследствие снижения содержания «тройных» комплексов типа «полимер-фотосенсибилизатор-субстрат» в пользу

неэффективных комплексов «полимер-субстрат» и «полимер-фотосенсибилизатор». Такие явления хорошо согласуются с хорошо известным механизмом мицеллярного катализа.

В следующем разделе автор убедительно доказывает формирование комплексов между фотосенсибилизаторами и амфифильными полимерами. Для этого был использован целый ряд физических методов: флуоресцентная и электронная спектроскопия, анизотропия флуоресценции и ядерный магнитный резонанс. Данные различных методов согласуются между собой и свидетельствуют о взаимодействии фотосенсибилизаторов с полимерными носителями. Полученные данные указывают на преимущественно вандерваальсов характер этих взаимодействий, причем гидрофобные силы вносят наибольший вклад в образование комплексов фотосенсибилизаторов с амфифильными полимерами. Интересно, что данные атомно-силовой микроскопии указывают на разделение фазы полимера и метиленового синего при высушивании образцов.

В качестве третьего компонента препарата для противомикробной ФДТ автор предполагает использовать полимеры полисахаридной природы, в качестве которых в работе исследовались полиэлектролиты углеводной природы – поликатион хитозан и полианион альгинат натрия. При этом альгинат натрия использовался в комбинации с катионным фотосенсибилизатором метиленовым синим, а хитозан – в паре с анионным фотосенсибилизатором бенгальским розовым. В обоих случаях автор наблюдал примерно двукратное снижение фотокаталитической активности при образовании комплекса с полимерами, но избыток полиэлектролита не менял фотокаталитическую активность. По всей видимости, в присутствии противоположно заряженного полимера происходит агрегация фотосенсибилизатора на полимере, однако существенная фотокаталитическая активность при этом сохраняется. При этом в присутствии амфифильного полимера фотокаталитическая активность увеличивается, по всей видимости за счет дезагрегации молекул фотосенсибилизатора.

Таким образом, в работе продемонстрировано, что композиции на основе амфифильных полимеров и заряженных полисахаридов могут проявлять высокую фотокаталитическую активность в модельных системах. Приведенные в приложении к диссертации данных предклинических исследований разработанных составов свидетельствуют о повышении скорости заживления ран (образовании грануляций) при совместном воздействии света и предложенных фармакологических форм фотосенсибилизаторов.

В то же время при прочтении работы возникает ряд замечаний.

- 1) На рисунках 24 и 31 приводятся данные о снижении фотокаталитической активности бенгальского розового и метиленового синего при увеличении их концентрации в растворе. Очевидно, что данный эффект связан с автоокислением фотокатализатора в условиях эксперимента. Об этом также свидетельствуют данные о влиянии амфифильных полимеров на фотокаталитическую активность бенгальского розового при различных концентрациях фотокатализатора (рисунок 26а-в). В последнем случае степень воздействия полимеров на активность фотосенсибилизатора заметно снижается при увеличении его концентрации. Скорее всего, кинетика фотоокисления триптофана, показанная на рисунке 23, является результатом двух процессов, происходящих со сравнимыми скоростями – окислением субстрата (Trp) и фотосенсибилизатора. Последний процесс вызывает снижение скорости образования синглетного кислорода. Описание кинетики этого процесса одной константой скорости возможно лишь с очень серьезными оговорками. В идеале, надо было бы рассмотреть оба этих процесса и всего лишь решить систему трех дифференциальных уравнений. Кроме того, следовало бы привести кинетику фотоокисления самого фотосенсибилизатора и исследовать, как эта кинетика зависит от концентрации субстрата. Можно полагать, что по мере увеличения концентрации субстрата и уменьшения концентрации фотосенсибилизатора вклад нежелательного процесса, фотоинактивации фотокатализатора можно было бы существенно снизить. И только в таких условиях корректно измерять кинетику фотоокисления модельного субстрата.
- 2) В работе отсутствуют спектры ^1H ЯМР. Думаю, их наличие существенно облегчило бы восприятие результатов, приведенных в разделе 4.3.
- 3) К сожалению, медицинские исследования полученных в работе препаратов приведены излишне лапидарно. Отсутствуют данные об обсемененности ран бактериями до и после воздействия препаратов, а также времена заживления раны. Такие данные требуются для оценки эффективности препарата.
- 4) Еще одно не очень существенное замечание касается формулировки положений, выносимых на защиту. Насколько мне известно, в данном пункте обычно указывается конкретный научный результат, а не «...

Данные ЯМР спектроскопии...», или «...Данные ЯМР...». Звучит так, как будто все эти данные имеют самостоятельную ценность. На мой взгляд, на защиту следует выносить выводы, сделанные на основании использования конкретного метода или подхода.

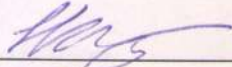
Несмотря на сделанные замечания, работа производит прекрасное впечатление и содержит новые оригинальные данные. Она прекрасно оформлена. На мой взгляд, рецензируемая диссертационная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым ВАК России к кандидатским диссертациям, а её автор, Курьянова Анастасия Сергеевна, заслуживает присвоения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.7 – Высокомолекулярные соединения.

Официальный оппонент

Ведущий научный сотрудник Химического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

Доктор химических наук (1.4.7 – Высокомолекулярные соединения)

Мелик-Нубаров Николай Сергеевич

 / Н.С. Мелик-Нубаров
« 23 » января 2024 г.

119234, г. Москва, лабораторный корпус "А", Ленинские горы, д.1, корп.40
Тел.: (495) 939-31-27, e-mail: melik.nubarov@belozersky.msu.ru

Подпись д.х.н. Мелик-Нубарова Николая Сергеевича заверяю

