

## ОТЗЫВ

официального оппонента Шухто Ольги Владимировны  
на диссертационную работу Садыковой Ольги Витальевны на тему:

«Влияние биологически активных молекул на фотосенсибилизирующую активность комплексов порфиринов с амфифильными полимерами в генерации синглетного кислорода», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.7 – Высокомолекулярные соединения.

Метод фотодинамической терапии (ФДТ), широко используемый в настоящее время для лечения злокачественных новообразований, представляющих собой одну из четырех наиболее распространенных причин смертности в мире, имеет перспективы и применяется в борьбе с локализованными инфекциями, вызываемыми антибиотикорезистентными бактериальными штаммами с множественной лекарственной устойчивостью. Безопасность и уникальная эффективность ФДТ заключается в ее многофункциональной способности вызывать целенаправленную гибель клеток микроорганизмов, при этом она является минимально инвазивной. Наилучшие результаты терапии могли бы быть достигнуты при одновременном воздействии на пораженные участки как традиционных средств, применяемых в лечении ран, так и обработке их фотосенсибилизатором (ФС) с последующим проведением сеансов облучения.

В связи с вышеперечисленным **целью диссертационной работы** Садыковой О. В., состоящую в создании порфиринсодержащих фотосенсибилизирующих композиций для антибактериальной фотодинамической терапии (АФДТ) на основе амфифильных полимеров, альгината натрия и динитрозильного комплекса железа с глутатионом, обладающих высокой активностью в генерации синглетного кислорода, и установлении влияния состава и соотношения компонентов системы на активность композиций в фотогенерации  $^1\text{O}_2$  в условиях *in vitro* (в модельной реакции фотоокисления триптофана), со всей очевидностью можно считать высокоактуальной и соответствующей общемировым тенденциям развития химических и медицинских наук.

Автором диссертации проанализирован широкий ряд литературных источников, отражающих успехи АФДТ к настоящему времени. Особое внимание уделено использованию различного вида амфифильных полимеров в синтезе фотосенсибилизаторов третьего поколения, которые представляют

собой макрогетероциклические соединения, включенные в средства доставки, что обеспечивает наилучший эффект от лечения, в том числе должно нивелировать такие побочные эффекты метода, как геморрагические реакции, происходящие в ране в присутствии ФС при фотовозбуждении. Получены системы с предполагаемой фотодинамической активностью на основе водорастворимых ФС хлоринового типа – трианионного хлорина  $e_6$  в виде натриевой соли и дианионного хлорина  $e_6$  в виде соли с димеглюмином, а также гидрофобного пентафторфенилпорфирина, с неионогенными ПАВ (поливинилпирролидон и Pluronic F127), включающие полисахарид альгинат натрия и источник биогенного азота – динитрозильный комплекс железа с органическим лигандом. Структура и свойства фотосенсибилизирующих систем изучены методами динамического рассеяния света,  $^1\text{H}$  ЯМР спектроскопии, рентгеновской дифракции, атомно-силовой микроскопии и термогравиметрического анализа. Установлена роль каждого из компонентов фотосенсибилизирующих систем, изучена эффективность этих систем в модельных реакциях фотоокисления триптофана и при лечении экспериментальных ран у лабораторных животных методом АФДТ. Показано, что ПАВ предотвращают разрушающее воздействие радикалов  $\text{NO}\cdot$ , образующихся при фоторазложении динитрозильного комплекса железа с органическим лигандом, на молекулы ФС, а альгинат натрия, не подавляя активность ФС в фотогенерации  $^1\text{O}_2$ , оказывает *in vivo* на раневую поверхность животных заживляющее действие в сеансах фотодинамической терапии.

Все вышесказанное определяет **новизну и практическую значимость** результатов, приведенных в диссертационной работе Садыковой О. В.

**Достоверность результатов, а также обоснованность научных положений и выводов**, изложенных автором работы, подтверждается использованием в ней современных методов исследования, взаимной согласованностью полученных с их помощью экспериментальных данных и высоким научным уровнем обсуждения, а также публикацией основных результатов исследований в журналах, входящих в перечень ВАК и международные базы цитирования.

Работа Садыковой О. В. построена традиционным образом, состоит из введения, обзора литературы (глава 1), методической части (глава 2), обсуждения результатов, представленного в главах 3, 4 и 5 работы, включает выводы, приложение и список цитированной литературы (205 наименований). Работа представлена на 132 страницах текста, проиллюстрированных 56 рисунками, 3 схемами и 11 таблицами.

Особо хочется отметить вводную часть диссертации, в которой автором обозначены основные современные тенденции и успехи метода ФДТ применительно к лечению устойчивых бактериальных инфекций, ограничения и проблемы, возникающие в ходе реализации метода, возможные пути их решения, обозначены цели и место настоящей работы в серии исследований, направленных на поиск новых ФС и фотосенсибилизирующих систем для АФДТ.

В главе 1 (стр. 10 – 56) приводятся данные о применении метода ФДТ в лечении резистентных к антибиотикам бактериальных инфекций, принципе метода, основных типах ФС, применяемых в настоящее время, их характеристиках в твердой фазе и растворах; обозначена проблема ассоциации макрогетероциклических ФС в водных растворах, ее негативное влияние на ФДТ и способы решения этой проблемы – введение в фотосенсибилизирующую систему амфифильных полимеров, а также использование альгината натрия и динитрозильных комплексов железа с органическими лигандами в качестве дополнительной поддержки для АФДТ.

В методической части работы (глава 2, стр. 57 – 66) представлена информация об объектах исследования – потенциальных ФС порфиринового и хлоринового типа, о применяемых в фотосенсибилизирующих системах полимерах, даны методики получения фотосенсибилизирующих систем, приведен расчет количественных характеристик модельной реакции фотоокисления триптофана, а также методы исследования их структуры (спектральные методы, рентгеновская дифракция, атомно-силовая микроскопия, термогравиметрический анализ, динамическое рассеяние света).

Главы 3, 4 и 5 представляют собой обсуждение полученных автором работы результатов, логически разделены на следующие части: глава 3 (стр. 67 – 91, посвящена количественному изучению модельной реакции фотоокисления триптофана посредством  $^1\text{O}_2$ , катализируемой фотосенсибилизирующими системами на основе тринатриевой соли хлорина  $e_6$  и фотодитазина, и влияния на такое окисление солюбилизации поливинилпирролидоном, а также присутствия альгината натрия), глава 4 (стр. 76 – 91, в которой представлены данные по изучению структуры тонких пленок рассматриваемых фотосенсибилизирующих систем методами динамического рассеяния света,  $^1\text{H}$  ЯМР спектроскопии, рентгеновской дифракции, атомно-силовой микроскопии и термогравиметрического анализа), глава 5 (стр. 92 – 108, в которой представлены полученные автором результаты изучения влияния динитрозильного комплекса железа на

фотокаталитическую активность водорастворимых, а также гидрофобного ФС, в присутствии амфифильных полимеров и альгината натрия).

Одним из наиболее существенных научных результатов, полученных в диссертационной работе Садыковой О. В. является, по нашему мнению, установление того факта, что ПВП предотвращает разрушающее воздействие радикалов  $\text{NO}\cdot$ , вырабатываемых при фоторазложении динитрозильного комплекса железа с органическим лигандом, на молекулы ФС, предотвращая тем самым их фотодеструкцию, а также факта отсутствия химического взаимодействия системы ФС-ПАВ и альгината натрия, который, не подавляя активность ФС в фотогенерации  $^1\text{O}_2$ , оказывает *in vivo* на раневую поверхность животных заживляющее действие в сеансах фотодинамической терапии.

Диссертационная работа написана грамотным научным языком, легко читается, в ней практически отсутствуют неудачные выражения, имеется очень небольшое число опечаток (стр. 11, 12, 21, 34 (и далее, в ЭСП ось Y обозначают не как D (density), а как A – (absorption)), 35, 40, 49, 50, 51, 57 (ошибки в обозначениях молекулярных масс), 78 и 93 (разделение рисунков по страницам приводит к усложнению восприятия при прочтении)); в работе в некоторых случаях используется различная символика, например, концентрация фотосенсибилизатора обозначается и как  $\text{C}^{\text{PPS}}$ , и как  $\text{C}^{\text{ФС}}$ .

Вместе с тем, в связи со сложностью (мультидисциплинарностью) решаемых в работе научных проблем, при её прочтении возникают некоторые вопросы и замечания:

1. С какой целью в работе были выбраны для тестирования в АФДТ анионные водорастворимые хлорины и анионный полисахарид альгинат натрия, тогда как повышенное сродство внешние бактериальные мембраны имеют к катионным ФС? Катионная природа должна усиливать связывание ФС с микробными клетками, что важно для эффективной фотоинактивации грамотрицательных патогенов.

2. В работе говорится о том, что амфифильные полимеры образуют с порфириновыми фотосенсибилизаторами «комплексы», что в конечном итоге приводит к дезагрегации ФС в водных растворах. Какова химическая природа этих комплексов? Что можно сказать на основе полученных автором данных о структуре ФС об их стереохимии, составе и устойчивости? Есть ли различие между ПВП и Pluronic F127 с точки зрения солубилизации водорастворимых либо гидрофобных ФС?

3. Насколько оправданно использование триптофана в качестве ловушки – акцептора  $^1\text{O}_2$  в настоящем исследовании? Является ли его

окисление синглетным кислородом единственно возможным путем окисления в изученных системах?

4. Для получения тринатриевой соли хлорина  $e_6$  соответствующий хлорин растворяли в водном растворе  $\text{NaHCO}_3$ . Каким образом контролировали процесс солеобразования по всем трем карбоксильным группам хлорина? При каком значении рН происходила их диссоциация?

5. В фотосенсибилизирующих системах, содержащих анионные формы хлорина  $e_6$  в присутствии ПВП, молярное соотношение ПВП/ФС составляет от 4 до 80. Достаточно ли этого избытка для полного включения относительно гидрофобной молекулы в полимерную матрицу? В случае гидрофобного пентафторфенилпорфирина это соотношение для системы Pluronic F127/ФС составляло от 4 до 200, т.е. минимальная концентрация его при переводе из хлороформа в воду была очень низкой,  $1 \cdot 10^{-5}$  моль/л. Как это согласуется со значением ККМ Pluronic F127? Как контролировали отсутствие агрегированных форм?

6. С какой целью необходимо вводить альгинат натрия именно в фотосенсибилизирующую систему? Возможно, его терапевтический эффект был бы выше при независимом нанесении на раневую поверхность до или после непосредственно сеанса ФДТ, при этом пределы концентраций, в которых используется этот полисахарид, не были бы ограничены необходимостью нахождения его в совместном с ФС лекарственном препарате?

7. Для разработанных фотосенсибилизирующих систем приведены молярные концентрации компонентов, тогда как оптимально было бы использовать молярность, что дало бы некоторые преимущества, например, отсутствие фактора различия температуры при приготовлении систем.

8. Какова необходимость исследовать фотокаталитическую активность гидрофобного пентафторфенилпорфирина в присутствии Pluronic F127, если остальные объекты были солюбилизированы ПВП?

9. Данные по исследованию эффективности разрабатываемых систем при АФДТ модельных ран у лабораторных животных целесообразно было бы представить не в виде приложения, а в виде самостоятельного раздела, т.к. этот вопрос представляет значительный интерес при прочтении работы и является важным прикладным аспектом. Какие штаммы микроорганизмов использовались в исследовании? В каких соотношениях компонентов применяли разработанные фотосенсибилизирующие системы (табл. 11)? В какой форме лекарственных препаратов наносили системы на раневые поверхности? Какими методами оценивали эффективность препаратов?

Высказанные замечания ни в коей мере не снижают позитивного впечатления от выполненной автором диссертационной работы, являющейся завершенным научным исследованием.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Результаты, полученные в работе, опубликованы в виде 5 статей в журналах, входящих в перечень ВАК РФ и 1 патента, положения диссертационной работы обсуждались на конференциях всероссийского и международного уровня и были опубликованы в качестве тезисов 13 докладов.

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, Садыкова Ольга Витальевна заслуживает присвоения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.7 – Высокомолекулярные соединения.

Официальный оппонент

ФИО оппонента:



Шухто Ольга Владимировна

Почтовый адрес:

153000, г. Иваново,  
Шереметевский пр-т, 7.

Телефон:

+7 (4932) 30-73-46

Адрес электронной почты:

shukhto@isuct.ru

Наименование организации:

Федеральное государственное  
бюджетное образовательное  
учреждение высшего  
образования «Ивановский  
государственный химико-  
технологический университет»

Должность:

Кандидат химических наук,  
доцент кафедры органической  
химии

10.05.2023

Подпись Шухто О.В. подтверждаю  
Ученый секретарь ФГБОУ ВО «ИГХТУ», к.э.н.

Хомякова Анна Александровна

