

В диссертационный совет Д 212.144.07
на базе федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования
«Российский государственный университет
им. А. Н. Косыгина
(Технологии. Дизайн. Искусство)»
(ФГБОУ ВО «РГУ им. А. Н. Косыгина»)

О Т З Ы В

официального оппонента Жуковского Валерия Анатольевича
на диссертационную работу Фидоровской Юлии Сергеевны
«Разработка лечебных материалов на биополимерной основе комплексного
действия для лечения инфицированных ран»,
представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук
по специальности 05.17.06 – технология и переработка полимеров и
композитов

Актуальность темы. На сегодняшний день не снижается количество больных, страдающих от различных заболеваний, в том числе от гнойных ран, их лечение всегда отличалось большой сложностью и длительностью. Учитывая возрастающую резистентность возбудителей инфекций к лекарственным средствам, включая антибиотики, проблема лечения ран становится еще актуальнее. Поэтому разработка новых биополимерных материалов для лечения ран, позволяющая повысить эффективность лечения и сократить время нетрудоспособности пациентов, улучшить качество их жизни, является актуальной.

Диссертационная работа Фидоровской Ю. С. выполнена в соответствии с основными направлениями научно-исследовательской и практической деятельности ООО «Колетекс». Актуальность и социальная значимость исследований, выполненных диссертантом, подтверждены включением данной тематики в Федеральную целевую программу «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу». Предлагаемая диссертационная работа позволяет создать новые изделия на основе

гидрогелей биополимеров и текстильных материалов, способствующих очищению инфицированных ран и их заживлению.

Научная новизна работы. Впервые:

– разработан и научно обоснован состав биополимерной композиции, включающий одновременно протеолитический фермент папаин и антимикробный препарат на основе нитрата серебра, что обеспечивает эффективность использования композиции на I-II стадии раневого процесса; доказано одновременное присутствие в композиции как катионов, так и наночастиц серебра, которые образуются в реакции восстановления катионов в биополимере альгинате натрия в присутствии Na_2CO_3 ;

– предложен способ сохранения активности протеолитического фермента папаина в присутствии антимикробного препарата (нитрат серебра) в биополимерной гидрогелевой композиции: предварительно активные компоненты физически иммобилизованы в гидрогелях, а именно, нитрат серебра – в альгинате натрия, папаин – в гидроксипропилметилцеллюлозе. Установлены оптимальные количественные соотношения компонентов, позволяющие сохранить необходимую вязкость композиции после радиационной стерилизации и использовать ее при получении салфеток по технологии текстильной печати;

– изучено реологическими методами и методами светорассеяния взаимодействие биополимера альгината натрия (основа гидрогелевой композиции) и фермента папаина. Впервые определено распределение по размерам частиц комплекса альгината натрия и глобул папаина;

– с целью расширения спектра биологического действия материалов обосновано использование в качестве антимикробного компонента нитрата серебра; доказано спектрофотометрически и с помощью зондовой электронной микроскопии образование наночастиц серебра при введении нитрата серебра в гидрогель альгината натрия в присутствии фермента папаина. Показано что, введение фермента в альгинатный гидрогель не препятствует формированию наночастиц серебра; происходит стабилизация протеолитической активности папаина за счет распределения фермента в альгинате натрия, антимикробный эффект обеспечивают наночастицы и катионы серебра.

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработан научно-обоснованный подход к получению медицинских изделий на биополимерной основе, содержащих растительный фермент папаин и соль серебра, заключающийся в предварительной раздельной иммобилизации

активных компонентов в биополимерах. Разработан способ стабилизации папаина с использованием полисахаридов.

Представлены ранозаживляющие материалы на основе папаина и соли серебра в двух формах – гидрогеля и лечебной салфетки, что позволит расширить линейку средств для купирования раневого процесса на I-II стадиях; показана перспектива их применения. Разработана научно обоснованная технология получения лечебных материалов на гидрогелевой и текстильной основе, обладающих протеолитическим и антимикробным действием.

Цель работы заключалась в исследовании и разработке состава биополимерных медицинских изделий на текстильной и гидрогелевой основе для комплексного лечебного действия на I-II стадиях раневого процесса.

В соответствии с поставленной целью в работе были решены следующие **задачи**:

– разработан научно обоснованный состав лечебной композиции, компоненты которой позволят достичь указанной цели;

– обоснован выбор фермента и антимикробного препарата, определен способ их иммобилизации на полимерной основе и нанесения на текстильный материал для обеспечения и сохранения требуемой протеолитической и антимикробной активности;

– изучен характер взаимодействия в системе фермент-биополимер и фермент-антимикробный препарат (нитрат серебра);

– оценена возможность ингибирующего действия ионов серебра на протеолитическую активность фермента, что необходимо для разработки научно-обоснованной технологии получения лечебных материалов;

– разработана технология получения стерильных форм лечебных изделий в виде гидрогеля и текстильной аппликации (салфетки) с поверхностным слоем из гидрогеля;

– изучено влияние радиационной стерилизации на протеолитическую активность и реологические свойства получаемых материалов;

– определены параметры и температурно-временной режим осуществления технологии получения указанных материалов;

– проведена оценка физико-химических свойств гидрогелевой композиции, свойств текстильных аппликаций, срока годности, а также санитарно-гигиенических и токсикологических показателей создаваемых медицинских изделий.

Структура и объем работы. По своей структуре диссертационная работа состоит из введения, трех глав, выводов по работе, списка литературы

и приложений. Работа изложена на 176 страницах машинописного текста, список литературы включает 175 библиографических источников.

Во введении обоснована актуальность темы, обозначены цели и задачи исследования, отражены научная новизна и практическая значимость работы.

В первой главе, представленной обзором литературы, показан спектр ферментных и антимикробных препаратов для лечения гнойных ран, а также обоснованы способы иммобилизации ферментов в гелях полимеров, доказана целесообразность применения изделий на биополимерной основе.

Разработаны биополимерные композиции на основе альгината натрия и гидроксипропилметилцеллюлозы с введенными активными компонентами – растительным ферментом папаином и антисептиком – нитратом серебра.

Изучена протеолитическая активность (ПА) фермента папаина на различных стадиях технологического процесса, влияния на ПА входящих в композицию компонентов (соли серебра) и определено время их действия, особенности технологии получения гелей и лечебных салфеток с гидрогелевым покрытием.

Во второй главе описаны материалы и методы исследования, доказывающие достоверность полученных результатов (подтверждается методами анализа основных и вспомогательных компонентов, используемых в разрабатываемых медицинских изделиях).

Наночастицы серебра широко известны своими антимикробными свойствами против таких организмов как патогенные бактерии, грибы и вирусы. В мембраны бактериальных клеток входят серосодержащие белки и аминокислоты. Серебро внутри и снаружи клеточной мембраны может взаимодействовать с ними.

Наносеребро благодаря своим химическим, физическим и биологическим свойствам в сочетании с их малыми объемными размерами привлекают пристальное внимание исследователей.

Особенностью лечебных материалов, применяемых на I-II стадиях раневого процесса, является необходимость воздействовать на поврежденные ткани и раневой экссудат, одновременно, создавая условия для регенерации (восстановления) поврежденных тканей. Для I стадии – это лизис (растворение), удаление белкового раневого отделяемого и антимикробное действие, II стадия – антимикробное действие и регенерация тканей.

В качестве активного компонента разрабатываемого лечебного изделия рассматривается протеолитический фермент, осуществляющий деструктивное воздействие на гнойное белковое содержимое ран (лизис) и облегчение удаления раневого экссудата. Ввиду возможности переноса ряда заболеваний

от животного к человеку, принято решение использовать ферменты растительного происхождения (папаин). Кроме того, папаин обладает такими преимуществами, как активность в широком диапазоне pH (4-12 ед., оптимум 5-8 ед.), и температуры (до 40-70 °С).

На начальном этапе оценивалась протеолитическая активность фермента папаина, взятого в нативной форме (порошок). Именно в этой форме он используется сегодня для лечения ран. Ферментативную активность определяли по методу Кунитца.

В качестве активного антимикробного компонента в работе рассматривались препараты мирамистин, хлоргексидин, нитрат серебра. Ввиду наиболее широкого спектра активности в отношении резистентных микроорганизмов, низкой аллергенности и отсутствии нежелательных побочных явлений из указанных препаратов был выбран нитрат серебра. В результате предварительных экспериментов установлено, что концентрация нитрата серебра в щелочной среде, оказывающая необходимый эффект, подтвержденный отсутствием роста на тест-подложках с культурами *E.Coli*, *St.Aureus* и др., а также в посевах на грибы/плесень и подходящий для реализации данной разработки, составляет 0,05 %.

Для подтверждения активности гидрогелевой композиции, содержащей выбранный антимикробный агент- AgNO_3 , был проведен эксперимент на референтном штамме *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Присутствие нитрата серебра в концентрации 0,05 % в композиции, нанесенной на лечебную салфетку, позволяет существенно снизить число КОЕ (колониеобразующих единиц) в экспериментальной среде на примере штамма *Staphylococcus aureus*.

Известно, что присутствие соли металла (серебра) оказывает влияние на протеолитическую активность фермента (папаина). Экспериментально автором проводилась оценка изменения активности фермента при добавлении водного раствора нитрата серебра к раствору папаина. С другой стороны, мертвые (некротизированные) ткани, являющиеся питательной средой для патогенных микроорганизмов, целесообразно убирать из раны с помощью протеолитических ферментов, в частности папаина.

С увеличением концентрации нитрата серебра в водном растворе происходит падение протеолитической активности папаина, что следует учитывать при разработке технологии.

Представляло интерес качественно оценить сохранение ПА папаина в ране в присутствии нитрата серебра.

В третьей главе представлены результаты экспериментальных исследований.

Экспериментальные данные по химической и физической иммобилизации показали преимущества и предпочтения физической иммобилизации папаина в растворе полимера с точки зрения простоты технического исполнения и сохранения ПА фермента (по сравнению с нативной формой). В качестве полимера для иммобилизации обоснован выбор альгината натрия – природного биополимера-полисахарида, обладающего комплексом важных для применения в медицине свойств.

Для совмещения лечебных функций в одном материале и достижения максимального терапевтического эффекта при лечении гнойных ран на I-II стадии решено было разработать два вида медицинских изделий: гидрогель для глубоких ран на основе природных полисахаридов с иммобилизованным ферментным препаратом и противомикробным компонентом, а также лечебную салфетку с нанесенным на текстильную основу гидрогелевым покрытием для поверхностных ран. Обе формы медицинских изделий представляют собой депо-материал, биоактивные составляющие которых диффундируют в раны под воздействием градиента концентраций между изделием и раневой средой.

Полимер также должен соответствовать ряду требований, таких как наличие разрешения для применения в медицине, отсутствие токсических и аллергических явлений, не должен снижать активность включенных компонентов, быть биодegradуемым и биоактивным.

Данным требованиям отвечает альгинат натрия.

Цель физической иммобилизации фермента в полимере – сохранение его активности и пролонгация действия, что позволяет избежать частых перевязок и травмирования раны. Анализ изменения ПА папаина при его растворении в воде в концентрации 4 % (рН 6,8) и введении в гель альгината натрия (рН 6,8) при комнатной температуре показал целесообразность физической иммобилизации с точки зрения пролонгации протеолитической активности фермента.

Полимеры должны выдерживать радиационную стерилизацию. Протеолитическая активность папаина при гамма-стерилизации падает на 61%. Поэтому при стерилизации требуется введение радиопротекторов.

Реологические исследования гелей альгината натрия с добавкой папаина и без него показали, что существенных изменений в вязкость добавка фермента не вносит. Поэтому можно сделать вывод о возможности применения субстанции папаина при нанесении лечебного гидрогеля на

текстильный материал методом плоскошаблонной печати, а также в ходе упаковки геля в тубы.

Значительное снижение вязкости альгината натрия после обязательной операции гамма-стерилизации заставляет рассмотреть пути ее стабилизации, один из которых – введение второго полимера. Лучшие результаты получены при использовании в качестве второго полимера в композиции ГПМЦ.

Увеличение исходной концентрации ГПМЦ в композиции с альгинатом натрия позволяет сохранить остаточную после стерилизации вязкость. Показано, что салфетка с нанесенной композицией на основе АН при введении в состав ГПМЦ демонстрирует показатель от 64 % до 77 %.

Учитывая в реальных условиях малый модуль раны, ($M=2\div 5$), можно ожидать пролонгацию лечебного эффекта до 36 и более часов.

На основании представленных результатов с целью стабилизации свойств активных компонентов предложены две схемы научно обоснованных технологических процессов, предусматривающих на начальном этапе «изоляцию» фермента и нитрата серебра друг от друга и защиту их свойств от возможного воздействия при совместном присутствии с помощью иммобилизации в различных полимерах, после чего их объединяют в единой композиции.

Приготовление композиции проводили по описанному выше способу с отдельным введением активных компонентов в полимере АН и ГПМЦ. Нанесение композиции проводили через сетчатый шаблон на выбранное в результате ряда экспериментов текстильное полотно. Число проходов ракля установлено экспериментально и равно 6, что обеспечивает необходимую концентрацию компонентов на текстильном материале.

Сушка проводилась двумя способами: при комнатной температуре и при 60 °С с обдувом горячим воздухом, что принципиально возможно для папаина. Это сокращало время полного высыхания материала и позволило получить величину ПА фермента на 30 % больше, по сравнению с ПА фермента в лечебном изделии.

Выводы по работе обоснованы, что подтверждается надежностью и правильной интерпретацией полученных экспериментальных результатов, и соответствует поставленным целям и проведенным исследованиям.

Автореферат достаточно полно отражает основное содержание диссертационной работы. Текст диссертации и автореферата оформлен в соответствии с требованиями ВАК.

В качестве замечаний к диссертационной работе можно отметить следующее:

1. Обзор литературы, представленный в главе 1, изложен на 47 страницах из 176, можно было сократить до традиционных 20 % от основного текста.

2. На стр. 93 автором допущена ошибка: доза стерилизации не 6 Гр, а 6 кГр.

3. Не понятно, почему для геля (глубокие раны) достаточна доза стерилизации 6 кГр, хотя во всем мире для медицинских изделий рекомендована доза 25 кГр.

4. Большинство полимеров не светостойки, поэтому хранят их априори в местах, защищенных от прямого воздействия света. Но в диссертационной работе можно было бы подтвердить это экспериментально.

5. В тексте работы присутствуют стилистические ошибки, например, «...к пораженному очагу» (стр. 80), «...6% и 7% альгинат натрия», а также имеются опечатки.

6. В списке литературы не все ссылки оформлены по одному ГОСТ, отсутствует единообразие.

Все перечисленные замечания не имеют принципиального значения и не умаляют достоинства работы в целом, а именно ее актуальность, научную новизну и практическую значимость.

Таким образом, представленная диссертация является научно-квалификационной работой, в которой, на основании самостоятельно проведенных диссертантом исследований представлены результаты, совокупность которых можно квалифицировать как решение научной задачи обоснования и разработки состава биополимерных медицинских изделий пролонгированного действия на текстильной и гидрогелевой основе для комплексного лечения инфицированных ран на I-II стадиях раневого процесса, вносящей значимый вклад в развитие физико-химических основ создания новых полимерных материалов медицинского назначения.

Рассмотренные в диссертации вопросы соответствуют областям исследований, включенных в паспорт специальности 05.17.06 – «Технология и переработка полимеров и композитов», а именно: п.2 «Физико-химические основы технологии получения и переработки полимеров, композитов и изделий на их основе, включающие стадии синтеза полимеров и связующих, смешение и гомогенизацию композиции, изготовление заготовок или изделий, их последующей обработки с целью придания специфических свойств и формы.

По актуальности, новизне, уровню выполнения, объему, научной и практической ценности полученных результатов диссертационная работа отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (пункты 9-14 «Положение о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г.).

Соискатель Фидоровская Юлия Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.17.06 – «Технология и переработка полимеров и композитов».

Отзыв подготовил:

Жуковский Валерий Анатольевич

Доктор технических наук по специальности:

05. 17. 06 – Технология и переработка полимеров и композитов,

доцент, профессор кафедры наноструктурных, волокнистых и композиционных материалов им. А.И. Меоса федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет промышленных технологий и дизайна»

191186, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, д. 18

Мобильный телефон: 8 (921) 943 40 33,

Электронная почта: sekretar@lintex.ru

Профессор кафедры наноструктурных,
волокнистых и композиционных
материалов им. А.И. Меоса
федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Санкт-Петербургский
государственный университет
промышленных
технологий и дизайна»



Жуковский В.А.
Семенов Е.А.
9
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный
университет промышленных технологий и дизайна»

Жуковский В.А. / Жуковский В. А. /

11.05.2022 г.