

ВІДЗИВ

офіційного опонента на дисертаційну роботу Садченко Аліни Олегівни «Фізичні механізми впливу біологічно активних субстанцій на фазовий стан модельних фосфоліпідних мембран», представлені на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика

Дослідження взаємодій клітинних мембран з фармпрепаратами має важливе значення для сучасної фармакології, оскільки ця взаємодія безпосередньо або опосередковано пов'язана з механізмами дії лікарських препаратів. Проникнення більшості фармпрепаратів у клітину здійснюється шляхом пасивної дифузії через ліпідний бішар. Багато фармпрепаратів та їх активних субстанцій можуть тим чи іншим чином зв'язуватися з клітинними мембранами, змінюючи їх фізичні властивості. Зв'язок між мембранотропною дією і терапевтичною активністю встановлена для багатьох фармпрепаратів. Отже, важливим і **актуальним** є вивчення взаємодії біологічно активних субстанцій з біологічними мембранами. В той же час, для проведення всебічного дослідження корисно використовувати штучні модельні мембрани із наперед заданими властивостями. Дослідження впливу біологічно активних субстанцій на фазові стани модельних мембран дають важливу інформацію про їх взаємодію. Оскільки фармпрепарати зазвичай складаються як з активної діючої речовини, так і низки допоміжних речовин, дослідження сукупної мембранотропної дії пар речовин є важливою ланкою для з'ясування особливостей дії тих чи інших аналогів.

Наукова новизна представленої дисертаційної роботи полягає в тому, що вперше встановлена неадитивність зміни термодинамічних параметрів фазових переходів мембрани при сукупній дії низки пар речовин з можливістю зміни знаку мембранотропної активності. Показана інформативність методу диференціальної скануючої калориметрії при дослідженні впливу біологічно активних субстанцій на модельні мембрани. За допомогою цього методу досліджені відмінності між фармпрепаратами-аналогами за їх різним впливом на параметри фазових переходів модельної мембрани. Визначено вплив оксигетильованих похідних гліцерину на структурні параметри і термодинамічні характеристики фазових переходів модельної мембрани на основі ДПФХ.

Практичне значення отриманих у дисертаційній роботі Садченко А.О. даних полягають у тому, що показана можливість дослідження мембранотропної дії фармпрепаратів-аналогів, а також ефектів сукупної дії компонентів фармпрепаратів, що може бути використано в доклінічних

тестуваннях розроблюваних лікарських засобів. Розроблені підходи до вивчення взаємодії кріопротекторів, що мають різні фізико-хімічні властивості, з модельними та біологічними мембранами, які можуть бути використані в кріобіології для підбору кріопротекторів з визначеними характеристиками.

В розділі «Огляд літератури» детально розглянуто сучасний погляд на будову біологічних та модельних ліпідних мембран, фазові переходи в фосфоліпідних мембранах та вплив на них мембранотропних речовин, взаємодію мембрани з фармпрепаратами. Розглянуті також експериментальні підходи до вивчення цих процесів, біофізичні методи досліджень модельних мембран. Показано, що основним методом визначення мембранотропної дії біологічно активних субстанцій є диференціальна скануюча калориметрія. Поряд з цим, цінну інформацію отримують також методами ІЧ-спектроскопії, малокутового рентгенівського розсіювання, ядерного магнітного резонансу, а також методами з використанням люмінесцентних та парамагнітних міток.

У розділі «Матеріали і методи» наведено загальну характеристику матеріалів та методів дослідження, використаних в роботі. Описано методику отримання модельних ліпідних мембран на основі гідратованих фосфоліпідів. Розглянуто теорію диференціальної скануючої калориметрії та її практичне виконання. Описано методи вимірювання ІЧ спектрів, оптичної мікроскопії дослідження гемолізу еритроцитів, метод малокутового розсіювання рентгенівських променів та визначення коефіцієнтів проникності плазматичних мембран сперматозоїдів коропа для молекул води. Також подані алгоритми для оцінки коефіцієнта ліпофільності біологічно активних субстанцій, розрахунку геометричних параметрів та дипольного моменту їх молекул.

В основних розділах дисертаційної роботи Садченко А.О. надано великий об'єм результатів власних експериментальних досліджень. **В розділі 3** подані дані вивчення мембранотропної дії низки біологічно активних речовин різних хімічних класів. Встановлено, що більшість БАС знижують температуру основного фазового переходу модельної мембрани T_m пропорційно до їх вмісту в мембрані. Для деяких речовин (сукцинільхолін, гліцерин) спостерігається підвищення T_m , що відображає особливості міжмолекулярних взаємодій в системі. Для нітрату срібла та фенібуту встановлено появу додаткових піків на ДСК термограмах, що може бути ознакою фазового розділення. Показано, що ламелярна структура модельних мембран на основі ДПФХ зберігається при заміщенні води кріопротекторами на основі похідних гліцерину.

Розділ 4 присвячений дослідженню сукупної дії БАС у квазібінарних системах на основі модельних ліпідних мембран. Показано, що сукупна мембранотропна дія окремих пар БАС може істотно відрізнятися від дії індивідуальних речовин внаслідок взаємодії молекул БАС у ліпідній мембрані. Оскільки фармакологічні препарати є багатокомпонентними та складаються з одного або кількох активних компонентів та низки допоміжних речовин, логічно було припустити можливість ефектів антагонізму або синергізму дії фармакологічних субстанцій, що дуже важливо в клінічній практиці. Ідея підходу автора дисертації полягає у визначенні індивідуальної мембранотропної дії фармакологічних субстанцій та порівняння її з їх сукупною мембранотропною дією. Зміни фазового стану модельних ліпідних мембран були аналітичним критерієм, який дозволяє виявити ефекти антагонізму або синергізму сумісної дії фармпрепаратів. Показано, що в досліджуваних фармпрепаратах визначальну мембранотропну дію має основна діюча речовина. Показано, що внесок допоміжних речовин у мембранотропну дію фармпрепаратів виявлявся в зміні температури основного фазового переходу модельної мембрани (підвищенні або зниженні), появи додаткових піків на ДСК-термограмах та зміні параметрів гідратації в системі. Також проведені порівняльні дослідження мембранотропної дії фармацевтичних препаратів-аналогів та аналіз ролі допоміжних речовин у мембранотропній дії фармпрепаратів. Виявлено відмінності мембранотропні дії для низки фармпрепаратів-аналогів, які обумовлені внеском допоміжних речовин. Розглянуто особливості взаємодії з мембранами гідрофобних та гідрофільних молекул.

У **5 Розділі** проведено теоретичний аналіз кореляцій між молекулярними параметрами біологічно активних субстанцій та їх мембранотропною активністю. Встановлено кореляції між розрахованими квантово-хімічними методами молекулярними параметрами БАС та їх експериментально визначеним впливом на температури фазових переходів. Встановлено високу лінійну кореляцію між ступенем ліпофільності БАС та їх мембранотропною активністю, а також між мембранотропною активністю і часткою полярної поверхні молекули для великої групи досліджених речовин різних хімічних класів.

Таким чином, в роботі отримано низку нових даних щодо механізмів індивідуальної та сукупної дії БАС на термодинамічні та структурні параметри модельних ліпідних мембран - зміну термодинамічних параметрів фазових переходів, періоду повторюваності ламелярної структури, латерального фазового розділення, а також гідратації модельних ліпідних мембран. Показана неадитивність змін термодинамічних параметрів фазових

переходів мембрани при введенні окремих пар БАС, що може бути пов'язано з утворенням міжмолекулярних комплексів

До дисертаційної роботи є такі зауваження.

1. На стор. 39 (розд. Мат. і методи) у рівнянні 2.12 дано визначення масового параметра мембранотропної активності $a_{\text{мас}} = \Delta T / c_{\text{мас}}$

На стор. 46, Розд 3, у рівнянні 3.1 також подається визначення цього параметру повторно з деякими відмінностями у позначеннях

$$a = (T_m - T_m^0) / c$$

2. На стор. 45 йдеться про розрахування розміру кооперативного домену (CU), але визначення цього параметру подається лише на наступній сторінці. Чому це зроблено не в Розділі 2. (Мат. і методи)?

$$CU = 4RT_m^2 / \Delta T^{1/2} \Delta H_m$$

Індекс $1/2$ для величини ΔT вгорі є невдалим, оскільки вводить в оману, можна подумати, що мається на увазі степінь величини ΔT .

3. У підрозділі 3.1. на Рис. 3.3 подана концентраційна залежність зсуву температури та ентальпії основного фазового переходу для мірамістину в діапазоні концентрації 0-6 мас.%, тоді як на рис. 3.4 такі ж залежності для Азітроміцину подані в діапазоні концентрації 0-30 мас.%. Але основна зміна T_m для нього також відбувається в області концентрацій – 0-6 мас.%. Якщо взяти цей концентраційний діапазон, то, як і мірамістин, азітроміцин дуже слабо впливає на значення ентальпії основного фазового переходу. Те ж саме можна сказати про ландоміцин Е, для якого ентальпія переходу починає змінюватись тільки після перевищення концентрації 3 мас.% . Якщо вибрані концентраційні діапазони для цих речовин обумовлені їх активними концентраціями у якості лікарських субстанцій, це треба було окремо указати. Інакше не зрозуміло, чому дія цих субстанцій розглядається не в однакових діапазонах.

4. На Стор. 54 автор пише: «...Транквілар у концентрації до 5% майже не впливає на значення T_p , T_m , але призводить до зростання ентальпії основного переходу, що говорить про підвищення енергії взаємодії ліпід-ліпід» Термограми, що ілюструють це твердження подані на рис. 3.10. Далі автор стверджує «Зі збільшенням концентрації транквілару в мембрані спостерігається тенденція до підвищення гистерезису основного фазового переходу.» Але ілюстрацій або цифр до другої половини твердження немає.

Названі зауваження не впливають на позитивну оцінку представленої дисертаційної роботи. В роботі застосовані сучасні інформативні та адекватні поставленим задачам експериментальні методи досліджень. Отримані результати докладно аналізуються і обговорюються із залученням відомих наразі даних наукової літератури та теоретичних підходів. Робота Садченко А.О. є цілісним закінченим дослідженням, виконаним на високому методичному рівні. Матеріали дисертаційної роботи у повному обсязі опубліковані в спеціалізованих наукових виданнях, відомих рейтингових міжнародних журналах, обговорені на наукових конференціях. За об'ємом, методичним рівнем досліджень та важливістю отриманих результатів, актуальністю, науковою новизною та практичною значимістю дисертаційна робота Садченко Аліни Олегівни «Фізичні механізми впливу біологічно активних субстанцій на фазовий стан модельних фосфоліпідних мембран», відповідає вимогам Порядку присудження наукових ступенів, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 N 567, а її авторка заслуговує присудження їй наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02– біофізика.

Доктор фіз.-мат. наук, проф,
в.о. зав. відділу НТК ІПКіК НАНУ
09.01. 2017 .р.

О.І. Гордієнко

Особисту міркує з. ф. м. н. проф. Гордієнко
Засвідчую
Чесний секретар



Горбуз В.С.

09.01.2017 р.