

## ВІДЗИВ

офіційного опонента дисертації Мальцева Георгія Володимировича *«Застосування люмінесцентного методу аналізу для вивчення взаємодії деяких лікарських речовин з ДНК та протеїнами»*, поданої до спеціалізованої вченої ради Д. 41.219.01 у Фізико-хімічному інституті ім. О.В. Богатського НАН України на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.02 – аналітична хімія.

**Актуальність теми дисертації.** Аналіз публікацій у провідних світових хіміко-аналітичних журналах свідчить, що люмінесцентний метод аналізу у теперішній час досить часто використовують для дослідження взаємодії між біологічно активними полімерами, зокрема природного походження, такими як ДНК та протеїни, та так званими «малими» молекулами – в першу чергу біологічно активними та лікарськими речовинами (ЛР). Зокрема метод люмінесценції широко застосовують під час досліджень інтеркаляції у ДНК різних ЛР з використанням органічних люмінесцентних зондів – переважно етидій броміду, а також для вивчення взаємодії білків, зокрема сироваткового альбуміну людини (САЛ), за гасінням флуоресценції залишків триптофану (Trp 214), котрі входять до складу САЛ. Однак застосування методу люмінесценції для вивчення реакцій біополімерів з ЛР має ряд обмежень, зокрема такі, котрі носять принциповий характер, що виникають внаслідок нерівноважного стану самого явища флуоресценції.

Виходячи з цього дисертаційну роботу дисертаційну роботу Георгія Мальцева *«Застосування люмінесцентного методу аналізу для вивчення взаємодії деяких лікарських речовин з ДНК та протеїнами»*, метою якої є розширення можливостей люмінесцентного методу аналізу для визначення констант зв'язування з ДНК низкою алкіламіноалкоксипохідних 2,7-діоксифлуоренону (АФ) та САЛ з деякими ЛР, слід вважати безумовно **актуальною**.

**Зв'язок теми дисертації з науковими програмами, планами, темами.**

Робота виконана у відділі аналітичної хімії та фізико-хімії координаційних сполук Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України у відповідності до науково-дослідної тематики відділу та відомчих тем «Біоаналітичне застосування люмінесцентних зондів на основі нових комплексних сполук лантанідів» (2013-2014 рр., номер держ. реєстрації 0113U000198); «Розробка та валідація методик визначення залишкових кількостей лікарських препаратів після очищення фармацевтичного обладнання» (2017-2018 рр., номер держ. реєстрації 0217U000101).

**Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків, сформульованих у дисертації.** До позитивних якостей роботи слід віднести використання сучасних приладів: люмінесцентних спектрометрів та спектрофотометрів. Відрадно, що вперше під час здійснення хіміко-аналітичних досліджень застосовані синхронні спектри флуоресценції для підтвердження взаємодії ЛР із залишками триптофану САЛ. Це також засвідчує достовірність отриманих експериментальних даних та переконливість висновків, котрі були зроблені на їхній основі.

Наведений у **розділі I** аналіз літературних даних висвітлює матеріали праць, котрі були опубліковані останнім часом. Це свідчить про пильну увагу дисертанта до результатів новітніх досліджень (головним чином закордонних вчених) в галузі механізму взаємодії біополімерів з «малими» молекулами, а отже дозволяє дійти висновку про достатньо високу хіміко-аналітичну кваліфікацію здобувача.

При характеристиці **наукової новизни одержаних результатів** в роботі, перш за все, слід зазначити коректність зроблених автором формулювань. На думку опонента до неї слід віднести таке:

- вперше застосовані та доведені переваги нового люмінесцентного зонду - комплексу тербію(III) з похідним 2-оксо-4-гідроксохінолін-3-карбонової кислоти для вивчення інтеркаляції в ДНК ряду аміноалкоксифлуоренонів;

- вперше для низки бенздіазепінів (БД) та противірусних препаратів (похідних аміксину) люмінесцентним методом встановлений характер їх взаємодії з САЛ, визначена кількість місць зв'язування, розраховані відповідні константи зв'язування, відстані між донором (САЛ) та акцептором (БД);

- розроблений принципово новий спосіб люмінесцентного визначення параметрів взаємодії сироваткового альбуміну людини з ЛР, які мають нативну флуоресценцію та для котрих характерне перекривання їхніх спектрів люмінесценції зі спектрами емісії сироваткового альбуміну людини;

- для підтвердження правильності визначення констант зв'язування з ДНК за допомогою нового запропонованого автором люмінесцентного зонду здійснене аналогічне дослідження для низки АФ з етидій бромідом. Статистичним методом двофакторного дисперсійного аналізу доведено, що розбіжність між значеннями величин констант інтеркаляції АФ з ДНК, отриманих двома методами, є незначною. Цей факт переконливо доводить можливість та ефективність застосування нового лантанідного зонду;

- люмінесцентним методом (в першу чергу за допомогою синхронних спектрів флуоресценції) доведено, що для всіх досліджених психотропних та противірусних лікарських речовин спостерігаються зміни конформації протеїну біля залишків триптофану і практично відсутні зміни оточення залишків тирозину САЛ.

Не викликає сумнівів **практичне значення результатів дисертаційної праці** Мальцева Георгія Володимировича. У роботі вперше запропонований люмінесцентний зонд на основі комплексної сполуки йону Tb(III) з похідним 2-оксо-4-гідроксохінолін-3-карбонової кислоти, який застосований для високочутливого визначення ДНК, для вивчення зв'язування противірусних лікарських речовин з молекулами ДНК. Розроблена, провалідована та впроваджена у практику високочутлива методика люмінесцентного визначення залишкових кількостей пропоксазепаму на поверхнях фармацевтичного обладнання. Звіти про результати дослідження взаємодії тилорону, гідазепаму, феназепаму, левана, діазепаму та пропоксазепаму впроваджені у практику роботи фармацевтичного підприємства «ІНТЕРХІМ». Відрадно, що це практично всі оригінальні вітчизняні лікарські препарати, опрацювання та дослідження котрих отримало високу оцінку: Державну премію України у галузі науки і техніки за 2017 рік.

## **Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації та автореферату, завершеності дисертації в цілому.**

Дисертаційна робота складається з анотації укр. та англ. мовами (10 стор.), списку публікацій здобувача (13 найменувань на 3 стор.), змісту та переліку умовних позначень, традиційного вступу на 5 стор. та чотирьох розділів на 106 стор., висновків на 2 стор., переліку використаних джерел (179 бібліографічних найменувань) та 2 додатків (2 акти впровадження та список публікацій здобувача). Зміст досліджень викладений на 156 сторінках, включаючи текстовий матеріал на 136 сторінках, містить 65 рисунки (52 рис. на окремих сторінках) та 18 таблиць (1 повністю на окремій сторінці, 2 – містять інформацію частково на окремих сторінках). Літературний огляд займає 32 сторінки (31 текстових сторінок). Список використаних джерел, викладений на 20 сторінках. Два додатки займають 5 сторінок.

Однак список використаних джерел оформлений за «старими правилами».

Додаток 2 дублює аналогічну інформацію, наведену у «Списку публікацій здобувача» на сторінці 12. Крім того, на сторінці 40 і на сторінці 50 – однакова нумерація «рис. 1.5». Низка рисунків містить один підпис до рисунка, хоча на них зображено одночасно декілька окремих зі своїми підписаними осями. Наприклад, у розділі 3 рис. 3.2 (містить два окремих рис. і один спільний підпис до рис.) та рис. 3.6; 3.7 та 3.10 (містить окремих чотири рис. і спільний один підпис до рис.); рис. 3.14; 3.15; 3.17 та 3.18 (містить шість окремих рис. і один спільний підпис до рис.) та ін.

За матеріалами дисертації опубліковано 6 статей у фахових виданнях, 6 тез доповідей в матеріалах наукових конференцій. Отриманий 1 патент на винахід України на корисну модель.

До роботи є такі зауваження :

1. До важливих досягнень роботи Георгія Мальцева, безумовно, слід віднести суттєве розширення можливостей дослідження взаємодії САЛ та таких ЛР, для яких спостерігається нативна (власна) люмінесценція, особливо при перекриванні спектрів емісії триптофану білка та лікарської речовини. Але цей метод був опрацьований лише на прикладі індометацину (Інд). Можливо, це було зроблено наумисне та обумовлене можливістю співставлення даних, отриманих в літературі з такими, новоотриманими експериментально за гасінням люмінесценції САЛ, за гасінням емісії Інд (дані дисертанта). Але опонент вважає недоліком ілюстрацію можливостей принципово нового методу на одному прикладі (Інд).

2. Автор розробив новий метод синтезу аміноалкоксифлуоренонів, але, на жаль, не захистив його патентом України.

3. У роботі лише для однієї ЛР наведені дані щодо середньої відстані між залишком Trp214 і діазепамом, що було встановлено методами рентгеноструктурного (1,91 нм) та люмінесцентного (FRET, 1,76 нм) аналізу. Проте, загальновідомо що РСА та флуоресцентна спектроскопія не завжди дають результати, які добре узгоджуються. Але чомусь у дисертації подібні випадки не обговорюються.

4. Залишається незрозумілим питання відсутності валідації методики визначення ДНК за допомогою нового люмінесцентного зонду.

5. Новий люмінесцентний зонд на основі комплексу Tb(III)-L2 застосований у роботі як нова аналітична форма для визначення ДНК. Але не досліджена його вибірковість щодо РНК, а також інших можливих компонентів біорідин.

6. У висновках до розділу 4 у 6 пункті зазначається, що розроблено методику люмінесцентного визначення залишкових кількостей пропоксазепаму, однак для її характеристики не вказаний такий важливий валідаційний показник чутливості, як «межа кількісного визначення» (МКВ)?

Наведені зауваження практично не впливають на цілком позитивне враження від дисертації, яку можна визнати завершеним хіміко-аналітичним дослідженням кандидатського рівня.

Основні результати, наукові узагальнення та практичні рекомендації автора досить повно викладені в опублікованих працях. Зміст основних положень дисертації і автореферату є ідентичними. Робота цілком відповідає паспорту спеціальності «Аналітична хімія» та профілю спеціалізованої вченої ради К 41.219.01. Стиль викладення матеріалу можна визнати задовільним.

За своєю актуальністю, науковим рівнем та новизною, практичною цінністю, достовірністю експериментальних даних та обґрунтованістю висновків робота відповідає всім вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567 зі змінами, внесених згідно з Постановою КМУ № 656 від 19.08.2015, щодо кандидатських дисертацій, а її автор, Георгій Володимирович Мальцев, безумовно заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.02 -- аналітична хімія.

Офіційний опонент:

професор кафедри фізичної та колоїдної хімії  
Національного фармацевтичного університету,  
доктор хімічних наук, професор

М.Є. Блажеєвський

Підпис Блажеєвського М.Є. засвідчую:

Начальник відділу кадрів НФаУ



Подстрелова З.Ф.