

## Відгук

**офіційного опонента** на дисертаційну роботу Г. В. Мальцева «Застосування люмінесцентного методу аналізу для вивчення взаємодії деяких лікарських речовин з ДНК та протеїнами», подану на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.02 -- аналітична хімія.

Флуоресценцію, яка має чутливість на рівні радіоізотопного та імуноферментного методів аналізу, в останні роки використовують для дослідження взаємодії між біологічно активними полімерами (зокрема, ДНК і протеїнами) та «малими» молекулами (у першу чергу лікарськими речовинами (ЛР), та іншими ксенобіотиками, токсичними речовинами). Дослідження взаємодії між білками, ДНК і молекулами ліків дозволяє отримувати важливу інформацію щодо фармакологічної дії, біоперетворень та біорозподілу лікарських засобів. На сьогодні люмінесцентний метод застосовують при дослідженнях інтеркаляції в ДНК різних ЛР з використанням органічних люмінесцентних зондів (в першу чергу етидію броміду), а також для вивчення взаємодії білків, зокрема сироваткового альбуміну людини (САЛ) за гасінням флуоресценції залишків триптофану (Trp214), що входить до складу САЛ. Але застосування люмінесцентного методу для вивчення реакцій біополімерів з «малими» молекулами має низку обмежень. Подальше вивчення взаємодії «малих» молекул з ДНК та альбуміном, включаючи механізми регуляції, роль конформаційних перебудов, а також дослідження нових типів взаємодій є надзвичайно значущою в практичному відношенні при створенні нових лікарських препаратів.

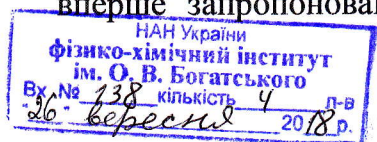
Тому дисертацію Г. В. Мальцева «Застосування люмінесцентного методу аналізу для вивчення взаємодії деяких лікарських речовин з ДНК та протеїнами», де знайдено низку рішень суттєвого розширення використання флуоресценції для дослідження реакцій ЛР з ДНК та білками, слід визнати актуальною.

Формулювання мети та завдань дослідження цілком коректні і практично відповідають всім досить успішно вирішеним задачам дисертанта.

Наведений у розділі I предметний аналіз літературних даних свідчить про достатньо високу хіміко-аналітичну кваліфікацію автора.

**До наукової новизни роботи Г.В.Мальцева слід віднести наступне:**

вперше запропоновано новий люмінесцентний зонд-комплекс тербію(III) з



похідним 2-оксо-4-гідроксохінолін-3-карбонової кислоти замість коштовного та токсичного етидію броміду для вивчення інтеркаляції в ДНК аміноалкокифлуоренонів (АФ);

– уперше для низки бенздіазепінів (БД) і противірусних препаратів люмінесцентним методом встановлено характер їх взаємодії зі САЛ, визначено число місць і константи зв'язування, відстані між донором (САЛ) і акцептором (БД);

– розроблено новий спосіб люмінесцентного визначення параметрів взаємодії сироваткового альбуміну людини з такими лікарськими препаратами, для яких є характерним перекривання їх спектрів флуоресценції зі спектрами емісії САЛ ;

– для підтвердження правильності визначення констант зв'язування з ДНК за допомогою люмінесцентного зонду на основі комплексу Tb(III)-L<sub>2</sub> проведено аналогічне дослідження для ряду АФ з етидію бромідом. Статистичним методом двохфакторного дисперсійного аналізу доведено, що розбіжність між значеннями констант інтеркаляції АФ з ДНК, отриманих двома методами, є незначною на рівні 99%-ої ймовірності ;

– встановлено, що зміна кількості метиленових ланок у ланцюзі лінкера у боковому фрагменті АФ призводить до достовірної зміни афінитету аміноалкоксифлуоренонів до ДНК;

– показано, що практично для всіх досліджених лікарських речовин спостерігаються зміни конформації білка поблизу залишків триптофану і практична відсутність зміни оточення залишку тирозину.

До позитивних якостей роботи слід віднести використання великого асортименту різних інструментальних методів аналізу. Це засвідчує високу хіміко-аналітичну кваліфікацію здобувача, а також підтверджує достовірність отриманих експериментальних даних.

**Не викликає сумнівів практичне значення дисертації Г. В. Мальцева, у якій вперше запропоновано люмінесцентний зонд на основі комплексної сполуки йона Tb(III) з похідним 2-оксо-4-гідроксохінолін-3-карбонової кислоти. Встановлено, що даний люмінесцентний зонд може бути застосований для високочутливого визначення ДНК, а також для вивчення зв'язування противірусних лікарських речовин з молекулами ДНК. Розроблено та валідовано високочутливу методику люмінесцентного визначення залишкових кількостей пропоксазепаму на поверхнях**

фармацевтичного обладнання з межою визначення 0,5 мкг/мл. Суттєво, що звіти про результати дослідження взаємодії тилорону, гідазепаму, феназепаму, левана, діазепаму та пропоксазепаму впроваджено у практику роботи фармацевтичного підприємства «ІНТЕРХІМ».

**Можна зробити висновок про достовірність отриманих автором експериментальних даних, а наукові узагальнення, зроблені на їх основі, визнати обґрунтованими та такими, що не викликають заперечень. В цілому необхідно визнати захищеність основних наукових положень роботи.**

**По дисертації слід зробити деякі зауваження.**

1. Принциповим досягненням роботи слід визнати створений автором новий метод люмінесцентного дослідження взаємодії деяких лікарських препаратів з протеїнами у випадку перекривання спектрів флуоресценції ЛП зі спектрами емісії залишків триптофану САЛ. Але новизну цього методу в дисертації не підкреслено. Крім того, недостатньо широко продемонстровано можливості нового методу.

2. Автор розробив практично новий метод синтезу аміноалкоксифлуоренонів. Залишається незрозумілим відсутність при цьому відповідного патенту України.

3. Афінітет аміноалкоксифлуоренонів до ДНК автор інколи називає інтеркаляцією. Проте відповідних доказів у роботі не наведено.

4. Автор наводить результати дослідження взаємодії низки ЛП з САЛ методом синхронної флуоресцентної спектроскопії. Але тлумачення отриманих даних проведено лише на підставі висновків літератури. Залишається незрозумілим, чому зміни конформації білка поблизу залишків триптофану супроводжуються батохромним зсувом при  $\Delta\lambda=60$  нм?

5. Необхідно було надати інформацію щодо вибіркової дії зонду Tb(III)-L<sub>2</sub> з ДНК, але не з РНК.

Наведені зауваження не мають характер принципів заперечень проти основних наукових положень та рекомендацій дисертації, яку можна визнати завершеним хіміко-аналітичним дослідженням кандидатського рівня.

Основні результати, наукові узагальнення та практичні рекомендації автора досить повно викладено в опублікованих працях. Зміст основних положень дисертації і автореферату за суттю 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 вимогам до кандидатських дисертацій, а її автор, Георгій Володимирович Мальцев заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.02 -- аналітична хімія.

Доцент кафедри харчової хімії та експертизи  
Одеської національної академії харчових технологій,  
кандидат хімічних наук, доцент



О.О.Лівенцова

Підпис О.О. Лівенцової засвідчую  
Вчений секретар Одеської національної  
академії харчових технологій,  
канд. фіз.-мат. наук, доцент



Ю.С. Федченко