

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

**Будянської Лілії Володимирівни**

«Ефекти спільної дії лікарських речовин у багатокомпонентних системах на основі модельних ліпідних мембран»,

подану на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 - біофізики (фізико-математичні науки)

Досить давно стало зрозумілим, що ефект спільної дії кількох лікарських препаратів може відрізнятися від суми ефектів, що викликає кожен препарат окремо. Це може бути викликано як безпосередньо взаємодією лікарських речовин між собою, так і опосередковано - наприклад, через зміну в структурі молекули-мішені. Такий опосередкований механізм впливу одного препарату на дію іншого досить важко передбачити. Тому експериментальні дослідження спільної дії кількох лікарських речовин є дуже актуальною задачею.

Біологічні мембрани – це необхідна структурна складова усіх клітин та органел. Перше, що потрібно зробити будь-якому лікарському препарату ще до того, як він почне виконувати свої безпосередні функції, це проникнути через мембрану. Від того, як препарат буде взаємодіяти з мембраною, може залежати його терапевтична дія. Крім того, існують препарати, терапевтичний ефект яких викликається саме взаємодією з мембранами. Тому вибір ліпідних мембран як об'єкту досліджень є також актуальним, як з практичної, так і з чисто наукової точки зору. В роботі використовувалися модельні мембрани від найпростіших, що складені з ліпідів тільки одного типу, до багатокомпонентних, які наближаються по складу до природних мембрани. Зрозуміло, що в багатокомпонентній мембрани на ефекти, які викликано лікарським препаратом, накладаються ефекти взаємодії компонентів мембран між собою. Компоненти мембрани також по різному можуть взаємодіяти з препаратом, що ще сильніше ускладнює задачу інтерпретації результатів.

Дисертаційну роботу виконано у рамках наукових тем Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України відповідно до НДР № 0115U003433 «Специфіка відгуку ліпідного наноматеріалу на присутність люмінесцентних зондів та біологічно активних субстанцій», № 0116U002612 «Створення наноматеріалів з керованою електро-, фото- та рентген-стимульованою активністю», № 0118U002295 «Визначення взаємодії наноносіїв фармпрепаратів з модельними фосфоліпідними мембранами», а також Харківського

національного університету ім. В. Н. Каразіна № 0118U002041 «Біофізичні моделі молекулярної взаємодії граміцидину S».

Дисертація оформлена згідно вимог МОН України і складається зі вступу, п'яти розділів, висновків, списку літератури та додатків. Список використаних джерел містить 250 посилань. Загальний обсяг дисертації складає 164 сторінки.

**У вступі** обґрунтовано актуальність обраної тематики досліджень, формулюється мета роботи, основні задачі, вказується новизна отриманих результатів та їхнє практичне значення.

**У першому розділі** дано огляд типів модельних мембрани, наведено відомості про вплив різних лікарських речовин на властивості ліпідного бішару. Показано зв'язок терапевтичної дії речовин з їхньою взаємодією з мембраними. Описано процеси, які відбуваються у мембрани при нагріванні та зв'язуванні з лікарськими речовинами. На основі аналізу літературних даних зроблено висновки про необхідність детального вивчення спільної дії лікарських речовин на модельні мембрани різного складу.

**У другому розділі** описано експериментальні методи та наведено характеристики використаних препаратів. Основним експериментальним методом, який використовувався в дисертації, був метод диференціальної скануючої калориметрії. При цьому досліджувалась залежність температури екстремуму температурної залежності теплового потоку при переході мембрани з гелевої фази до фази рідкого кристалу. Хоча, на мою думку, доцільніше було би використовувати термодинамічну температуру, тобто температуру, при якій вільна енергія Гіббса дорівнює 0. Але така температура визначається зі значно більшою похибою, а при однофазних переходах ці дві температури ( $T_{max}$  та  $T_G$ ) співпадають. Зміна температури фазового переходу хоча і відображає те, що в структурі мембрани відбуваються зміни, є досить комплексним параметром, який залежить від багатьох факторів. Тому більш інформативним було б визначення ентальпії та ентропії фазових переходів окремо, але це скоріше побажання для подальших досліджень. Як допоміжні методи використовувались також метод ІЧ спектроскопії (для оцінки змін гідратації та впорядкування мембрани у присутності лікарських речовин), оптичної мікроскопії (для дослідження морфології еритроцитів у присутності лікарських речовин), термогравіметрія (для дослідження процесів дегідратації лікарських речовин) та молекулярне моделювання (для оцінки об'єму та площин поверхні молекул лікарських речовин).

**В третьому, четвертому і п'ятому** розділах дисертації представлено оригінальні результати.

**Третій розділ** присвячено дослідженню зв'язування ДМСО тилорону та іонів з мембраними в стані рівноваги. Ці лікарські речовини є водорозчинними та зв'язуються переважно з поверхнею мембрани. В цьому розділі показано, що залежність температури фазового переходу мембрани від концентрації доданої речовини нелінійна та може бути описана рівнянням, подібним до рівняння адсорбції Фрейндліха. Зроблено спробу пов'язати параметри цього рівняння з біологічними ефектами, які викликає речовина. Також проведено дослідження спільної дії декількох пар лікарських речовин та лікарської речовини з допоміжною речовою лікарського препарату. Представлено модель, яка описує дію гідрофільних речовин на ліпідний бішар. Показано, що спільна дія лікарських речовин може бути як адитивною сумою дій цих препаратів окремо, так і відрізнятися від суми.

В дисертації крім рівноважних проведено також кінетичні дослідження, результати яких наведено у **четвертому розділі**. Кінетика проникнення лікарських речовин крізь ліпідні бішари є важливою характеристикою препарату, яка може впливати на фармакокінетику та фармакодинаміку. В цьому розділі показано, що додавання ДМСО суттєво прискорює проникнення тилорону крізь мембрани. Також в цьому розділі досліджено і розраховано енергії активації фазового переходу мембрани та дегідратації стеаратів кальцію і магнію.

**У п'ятому розділі** наведено результати дослідження дії лікарських речовин на мембрани різного складу. В цьому розділі використано 6 типів біомембрани та 12 різних лікарських речовин. Оцінювання велося за 8 параметрами (температура, ентальпія, гістерезис та напівширина двох піків). Така велика кількість отриманих експериментальних даних потребує дуже структурованого підходу до аналізу результатів та вибору критеріїв при оцінюванні ефектів. В іншому випадку такий великий масив даних заважає скласти результати досліджень в цілісну картину та зробити висновки. Але, тим не менш, ці результати дозволяють побачити складність процесів, що досліджуються, та дають привід до подальшого аналізу. В цьому розділі також зроблена спроба пов'язати отримані термодинамічні параметри мембрани з молекулярними параметрами лікарської речовини, такими як об'єм, площа поверхні та поверхневий заряд.

Найбільш вагомим та цікавим в дисертації, на мою думку, є те, що в ній повно та детально досліджена спільна дія ДМСО та тилорону. Розглянуто дії окремих лікарських речовин та спільна дія при різному співвідношенні концентрацій ДМСО та тилорону. Також

показано, що крім змін, які відбуваються у рівноважному стані, ці лікарські речовини впливають також і на кінетику взаємодії один одного з мембраною.

В дисертації запропоновано запропоновано методику вивчення кінетики спільної МД. Також в дисертації наведено багато експериментальних результатів про взаємодію великої кількості речовин з мембраними різноманітного складу. Подальший детальний аналіз цих результатів може бути завданням для подальшої роботи.

Водночас аналіз дисертаційної роботи викликає ряд запитань та зауважень:

1. Який фізичний зміст параметра із рівняння зв'язування  $k$ ? Адже він залежатиме й від константи зв'язування речовини з мембраною, і від того, наскільки кожна молекула зв'язаної речовини зміщує температуру плавлення. Чи можна порівнювати за цим параметром різні за природою речовини, наприклад, іони і тилорон?
2. На графіках залежності температури плавлення мембран від концентрації тилорону для подвійної системи (тилорон-ДПФХ) концентрація тилорону наведена в ммоль тилорону. А для потрійної системи тилорон-ДМСО-ДПФХ сказано, що сумарний вміст двох компонентів тилорон-ДМСО склав 5%. Це дещо ускладнює можливості порівняння. Також незрозуміло, степенева форма залежності викликана взаємодією тилорону і ДМСО? Або це можно пояснити просто зміною абсолютної концентрації тилорону в системі?
3. Формула 3-4 для оцінки спільної дії препаратів передбачає лінійну залежність зсуву температур від концентрації речовини. Але, як показано раніше для ДМСО і тилорону, вона степенева. Чи можна застосовувати цю формулу в такому випадку?
4. В таблиці 3.3. наведено критерії оцінювання спільної дії препаратів за трьома параметрами. При цьому значення цих параметрів для досліджуваних систем наведено просто у тексті. Можливо, експериментальні дані зручніше було б також звести у таблицю, щоб висновок про форму спільної дії був більш наочним.
5. Чи спостерігалося в рівновазі розщеплення піків основного переходу мембрани при додаванні тилорону, яке спостерігається на кінетичних дослідженнях? Концентрації тилорону в обох випадках практично однакові, а з рис 4.3 (крива 1) видно, що для системи мембрана – тилорон існує 2 піки навіть через 1500 хвилин.
6. Чому не було розраховано параметри зв'язування за рівнянням Фрейндліха для інших систем? Адже дія лауринової кислоти (див. малюнок 3.17) теж нелінійна за концентрацією.

7. Чому в деяких випадках залежність температури від концентрації залишається лінійною? Якщо вважати степеневу залежність фізично зумовленою, то вона повинна мати місце в будь-якому випадку.

8. Наскільки значущою є лінійна кореляція молекулярних параметрів кон'югатів бетулонової кислоті і параметрів плавлення мембрани? Наскільки зрозуміло з роботи, дані було отримано тільки для трьох різних кон'югатів.

Однак, наведені зауваження не ставлять під сумнів ані достовірність основних результатів роботи, ані зроблених на їхній основі висновків, та не впливають на загальну позитивну оцінку роботи. Основні результати роботи повністю опубліковано в 9 статтях в фахових вітчизняних та закордонних журналах та апробовано на 15 міжнародних і національних наукових конференціях. Автореферат оформлено згідно з правилами, та він надає повне уявлення про дослідження, що виконувалися в роботі. Зміст дисертації відповідає паспорту спеціальності 03.00.02 - біофізики (фізико-математичні науки).

Враховуючи актуальність теми, новизну, наукове та практичне значення одержаних результатів, вважаю, що дисертаційна робота «Ефекти спільної дії лікарських речовин у багатокомпонентних системах на основі модельних ліпідних мембрани», відповідає вимогам Порядку присудження наукових ступенів, затверджених Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. №567, щодо кандидатських дисертацій, а її авторка, **Будянська Лілія Володимирівна**, заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 - біофізики (фізико-математичні науки).

Офіційний опонент:

Старший науковий співробітник відділу біофізики

IPE ім. О.Я. Усикова

НАН України, к.ф.-м. наук,



Духопельников Е.В

Підпис старшого наукового співробітника, к.ф.-м. наук,

Духопельникова Е.В. засвідчую:

вчений секретар IPE ім. О.Я. Усикова

НАН України, к.ф.-м. наук



Почаніна І.Є.