

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу
Нестеркіної Марії Володимирівни
**«Нові похідні терпеноїдів з протисудомною, аналгетичною та
протизапальною активністю»,**
поданої до спеціалізованої Вченої ради Д 26.220.01
в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України
на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук
за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія

Дисертаційну роботу Нестеркіної М.В. присвячено пошуку нових біологічно активних речовин комбінованої дії, що водночас мають виражену аналгетичну та протизапальну дію і проявляють нейротропні властивості. Саме проблема розробки та створення лікарських препаратів комплексної дії, тобто таких речовин, що одночасно взаємодіють з різними типами рецепторів, посідає чільне місце серед пріоритетних напрямків розвитку сучасної біоорганічної, медичної хімії та фармакології. Зокрема, автором досліджена біологічна дія нових похідних моно- та біциклічних терпеноїдів, що містять фрагменти нейромедіаторних амінокислот – γ -аміномасляної (ГАМК) і гліцину. Основною рисою роботи є її міждисциплінарний характер, на що чітко вказують методи, використані при проведенні досліджень. У цьому контексті, дисертантом вдало поєднано методи органічного синтезу, цілу низку фізико-хімічних методів, частина з яких раціонально застосовано при вивченні біофізичних властивостей штучних мембран, а також методи експериментальної фармакології.

Роботу виконано в рамках науково-дослідних робіт Одеського національного університету імені І.І. Мечникова «Дослідження фізико-хімічних та фармакологічних властивостей нових природних та синтетичних речовин з протизапальними властивостями» (№ держреєстрації 0112U002387) та «Молекулярні механізми зв'язування нових лігандів з аналгетичною, протизапальною та нейротропною активністю з TRP, ГАМК та гліциновими рецепторами» (№ держреєстрації 0117U001102).

Дисертація побудована традиційно і складається із шести розділів, серед яких: огляд літератури, матеріали та методи дослідження, результати власних досліджень (викладені у трьох розділах), аналіз та обговорення результатів досліджень. Перший розділ присвячений огляду літератури, в якому висвітлено та критично проаналізовано сучасні підходи до створення сполук із широким спектром фармакологічної активності на основі терпеноїдів як модуляторів каналів перехідного рецепторного потенціалу (TRP рецепторів). У другому розділі відображено матеріали та методи, використані дисертантом при проведенні досліджень. Зокрема, наведено методики синтезу похідних терпеноїдів та калікс[4]арену, визначення гострої токсичності отриманих сполук при різних шляхах їхнього введення, дослідження протисудомної, анагетичної та протизапальної активності, а також методики, які застосовувались при вивченні впливу сполук на штучні біологічні мембрани. В цьому ж розділі описані методи статистичної обробки отриманих результатів.

Результати власних досліджень автором роботи послідовно та детально викладено у наступних трьох розділах. Зокрема, в 3-му розділі «Синтез та фізико-хімічні властивості отриманих сполук» продемонстрована можливість отримання та використання похідних моно/біциклічних терпеноїдів і функціоналізованих похідних калікс[4]арену як транспортувальників гідрофільних амінокислот (ГАМК та гліцину) крізь біологічні мембрани. Будову всіх синтезованих сполук підтверджено низкою сучасних методів дослідження: ^1H ЯМР спектроскопія, мас-спектрометрія, ІЧ- та УФ-спектроскопія, рентгеноструктурний аналіз, тонкошарова хроматографія.

У четвертому розділі «Вплив естерів терпеноїдів на структуру біологічних мембран» методом флуоресцентних зондів та ІЧ-спектроскопії вивчено механізм впливу синтезованих естерів на основі терпеноїдів із ГАМК на фосфоліпиди модельних мембран, а також на ліпиди, отримані із рогового шару експериментальних тварин. Запропоновано та обґрунтовано основний механізм дії естерів, який пов'язаний із зменшенням мікрров'язкості

мембран та, як наслідок, зменшенням щільності упаковки ліпідів. П'ятий розділ «Дослідження зв'язку між хімічною будовою та фармакологічною активністю синтезованих сполук» присвячений вивченню біологічної активності отриманих похідних терпеноїдів та калікс[4]арену. В цьому розділі дисертантом наведені результати експериментального дослідження гострої токсичності естерів терпеноїдів (LD_{50}) в умовах перорального та внутрішньовенного введення та встановлено, що дані сполуки відносяться до III класу токсичності – помірно небезпечні. Визначено, що естери терпеноїдів проявляють протисудомну активність в часовому інтервалі від 1 до 24 годин. Виявлено наявність аналгетичної та протизапальної дії у синтезованих естерів терпеноїдів при їхньому трансдермальному введенні. Спираючись на отримані експериментальні дані, автором запропоновано механізм комбінованої дії отриманих естерів, пов'язаний із взаємодією з TRP, ГАМК та гліциновими рецепторами.

Останній розділ «Аналіз та обговорення результатів досліджень» є логічним завершенням основної частини дисертаційної роботи, у якій автор, спираючись на експериментальні дані, підсумовує та критично аналізує отримані результати.

Висновки, представлені дисертантом, є обґрунтованими, чіткими, вони логічно випливають із експериментальних результатів та відповідають основній меті та задачам дослідження.

Основними результатами, які безперечно відображають новизну представленої дисертаційної роботи, є: спрямований синтез нових естерів нейромедіаторних амінокислот (ГАМК, гліцин) з терпенами (ментол, тимол, карвакрол, гваякол, борнеол, еugenol); експериментальне підтвердження наявності у синтезованих естерів широкого спектру фармакологічної активності, а саме – протисудомної, аналгетичної та протизапальної активності; запропонований механізм комбінованого впливу синтезованих естерів як на ЦНС, так і на ноцицептивну систему, пов'язаний із впливом на ГАМК та TRP рецептори; запропонований механізм впливу отриманих

сполук на проникність шкіри шляхом підвищення плинності ліпідів рогового шару; синтез похідних *n*-трет-бутилкалікс[4]арену, що містять залишок γ -аміномасляної кислоти, приєднаної до макроциклічного каркасу за рахунок амідного та естерного фрагментів, із подальшим дослідженням протисудомної активності отриманих похідних *in vivo* на моделі гострих генералізованих судом. Таким чином, одержані результати, без сумніву, можуть мати безпосереднє практичне значення у галузі медичної та фармацевтичної хімії.

Результати роботи впроваджено у навчальний процес кафедри фармацевтичної хімії Одеського національного університету імені І.І.Мечникова і кафедри фармакогнозії та технології лікарських засобів Одеського національного медичного університету.

За матеріалами дисертації опубліковано 21 праця, в тому числі патент на винахід, 6 статей у наукових фахових журналах та 14 тез доповідей. Важливо, що більшість праць дисертанта опубліковано англійською мовою у міжнародних журналах, які індексуються у наукометричній базі *Scopus*, що підтверджує високий науковий рівень результатів даної роботи.

Таким чином, дисертаційна робота Нестеркіної М.В. виконана на високому сучасному експериментальному рівні та має високу наукову і практичну цінність. Результати, отримані автором при виконанні досліджень, вказують на масштабний та кропіткий об'єм експериментальної роботи. Дисертант вільно володіє як хімічними, фізико-хімічними, так і фармакологічними методами дослідження біологічно активних сполук, що характеризує його як міждисциплінарного спеціаліста високого рівня кваліфікації. Всі перелічені підходи є основою для будь-якого сучасного комплексного дослідження за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія, і таким чином, зміст дисертації повністю відповідає цій галузі, а одержані результати в сукупності є суттєвими для її розвитку.

Автореферат та опубліковані праці повністю відображають основний зміст дисертації.

Рецензована робота позбавлена суттєвих недоліків. Високо оцінюючи експериментальний рівень дисертаційної роботи, слід, однак, відмітити деякі зауваження та пропозиції.

1. Автором представлена наукова новизна роботи 1 патентом на винахід та 1 патентом на корисну модель (стор. 6). У подальшому (список публікацій (стор. 7), стор. 25) та в авторефераті мови про патент на корисну модель не ведеться.
2. Дисертантом не вказано загальну кількість синтезованих сполук, серед яких можливо є нові оригінальні.
3. Опис умов та прилади для зйомки спектрів доцільно віднести до другого розділу - методів досліджень (стор. 81, 82).
4. Для первинної скринінгової оцінки біологічної дії синтезованих сполук на предмет анагетичної дії необхідно проведення досліджень на моделі «оцтовокислих корчів». Крім того, при опису тесту «гаряча пластина» (стор. 59) відсутні дані про спосіб введення препаратів та часові характеристики проведення досліджень.
5. Не визначено сполуку-лідер і не показано можливі шляхи її модифікацій та оптимізації.
6. Деякі літературні джерела оформлено не за стандартами (стор.147, дж. 12, 13, 17).

Наведені вище зауваження та пропозиції носять лише другорядний характер і не применшують позитивну оцінку та високий загальний науковий рівень дисертаційної роботи. Робота є ґрунтовним і завершеним дослідженням та містить низку нових наукових результатів, які вирішують актуальну проблему біоорганічної хімії – пошук та створення лікарських препаратів комплексної дії.

Разом з тим, в ході дискусії доцільно було б обговорити наступні питання:

1. Структурні аналоги можуть бути як агоністами, так і антагоністами відповідних рецепторів. Тому було б доцільно для синтезованих речовин провести QSAR дослідження.

2. Яка необхідність при дослідженні антиноцицептивної активності у використанні як препарату порівняння анестезину (стор. 117), а не класичного анальгіню?

3. Чому дослідження гострої токсичності (стор. 103) проводяться перорально? Це зазвичай потребує значно більшої кількості речовин, що досліджується.

Таким чином, можна констатувати, що робота «Нові похідні терпеноїдів з протисудомною, аналгетичною та протизапальною активністю» за актуальністю, обсягом виконаних досліджень, науковою новизною та практичним значенням одержаних результатів повністю відповідає вимогам, що висуваються до кандидатських дисертацій пп. 11, 12, 13 Положення «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 року (зі змінами, внесеними згідно з постановою Кабінету Міністрів України № 656 від 19 серпня 2015 року), а її автор, Нестеркіна Марія Володимирівна, без сумніву, заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 02.00.10 - біоорганічна хімія.

Офіційний опонент
доктор біологічних наук, професор,
завідувач кафедри хімії,
завідувач лабораторії біотехнології
фізіологічно активних речовин
Запорізького національного університету
МОН України

О.А. Бражко

Підпис *Бражко*
засвідчую *О.А.*

НАЧАЛЬНИК
ВІДДІЛУ КАДРІВ



Handwritten signature

Handwritten signature: О. Триходченко

27.09.2017