

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу В.А. Дідківського “Дослідження сполук калікс[4]аренового ряду як антитромботичних та проангіогенних агентів”, представленої на здобуття наукового ступеня доктора філософії у галузі знань 09 – Біологія зі спеціальності 091 – Біологія та біохімія

Дисертацію присвячено оцінці антитромботичної активності створеної в Інституті органічної хімії НАН України сполуки калікс[4]арену С-145. Робота продовжує започатковані у відділі структури та функції білка Інституту біохімії НАН України наукові дослідження, які виявили здатність калікс[4]арену С-145 безпосередньо взаємодіяти з центром полімеризації фібрину «А», пригнічувати формування протофібрил фібрину та запобігати утворенню полімерного фібрину. Метою представленої дисертації було детально охарактеризувати антитромботичний ефект калікс[4]арену С-145, підібрати умови для реалізації цього ефекту *in vivo* та за деяких патологічних станів системи гемостазу, а також здійснити доклінічні дослідження.

Новизна основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій, а також проведених наукових досліджень і одержаних результатів.

Проведено порівняльний скринінг подібних за структурою до С-145 калікс[4]аренів та підтверджено, що калікс[4]арен С-145 та його сульфур-модифікована форма С-145S є найбільш ефективними інгібіторами полімеризації фібрину *in vitro*.

Визначено напівлетальну дозу калікс[4]арену С-145 ($LD_{50} = 1420$ мг/кг), яка свідчить про його належність до низькотоксичних сполук, придатних для застосування *in vivo*.

Як ефективну терапевтичну дозу калікс[4]арену С-145 для зниження здатності крові до коагуляції було використано дозу на два порядки нижчу за напівлетальну - 12 мг/кг. Експериментально встановлено, що максимальна

антитромботична дія калікс[4]арену С-145 спостерігається на 4-6 годину після внутрішньовенного або перорального введення лабораторним тваринам та зникає через 24 год.

Доведено, що калікс[4]арен С-145 ефективно інгібує процес полімеризації фібрину в плазмі крові за умов експериментального передтромботичного стану у спонтанно гіпертензивних щурів, які отримували дієту з високим вмістом холестеролу або вісцерального жиру.

Вперше виявлено протекторну дію калікс[4]арену С-145 на стінку аорти та на серцевий м'яз за експериментального інфаркту міокарда.

Доклінічні дослідження, виконані за стандартами лабораторної практики засвідчили низьку токсичність, відсутність мутагенного та подразнювального ефектів калікс[4]арену С-145.

Практичне значення одержаних результатів.

Отримані у роботі комплексні дані дозволили створити прототип антитромботичного засобу на основі калікс[4]арену С-145, що відкриває перспективи його впровадження у клінічну практику.

Достовірність основних наукових положень, висновків, практичних рекомендацій та одержаних результатів.

Достовірність основних наукових положень, висновків, практичних рекомендацій та одержаних результатів не викликає сумнівів, оскільки проведена дисертантом робота є достатньо комплексною, всебічною, виконана на високому науковому рівні. Застосовані в роботі методи дозволили підтвердити висунуті дисертантом гіпотези. Отримані результати є якісними і не містять ознак підробки.

Повнота викладу основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій в опублікованих працях.

Основні наукові положення, висновки та практичні рекомендації в повній мірі відображені у 5 опублікованих статтях в наукових виданнях, 4 з яких належать до міжнародних наукометричних баз (2 статті в Українському біохімічному журналі, 2 в Biotechnologia Acta), а також 1 в зарубіжному виданні.

Публікації як за кількістю, так і за якістю відповідають нормативним вимогам.

Основні положення і висновки роботи пройшли апробацію на міжнародних наукових конференціях, а також через опублікування тез доповідей, які висвітлюють дисертаційні результати на численних загальноукраїнських і міжнародних конференціях з питань проблемного поля тематики дослідження.

Структура дисертаційної роботи.

Дисертація складається з вступу, огляду літератури, експериментальної частини, що містить опис матеріалів і методів дослідження, викладення результатів дослідження та їх обговорення, заключення, висновків, списку літератури, що містить 106 джерел. Дисертація містить 9 таблиць, 59 рисунків. Загальний обсяг дисертації становить 143 сторінки.

В огляді літератури узагальнено механізми внутрішньосудинного тромбоутворення, що є одною з головних причин смертності осіб працездатного віку у світі. У цілому огляд написано кваліфіковано та відповідно до сучасних уявлень про стан проблеми.

У розділі «Результати» наведено дані власних досліджень, для отримання яких автор застосував комплекс методів, таких як АЧТЧ, МТТ-

тест, методи аналітичної хімії, гістологічні та статистичні методи. Особливо важливими є модельні експерименти на тваринах (лабораторні щури та кролі) за умов перорального або внутрішньовенного введення калікс[4]арену C-145.

На основі одержаних результатів дисертантом сформульовано 8 висновків, які повністю відповідають поставленим у роботі завданням.

Недоліки дисертації щодо їх змісту та оформлення.

Основні зауваження та запитання до роботи

1. Щодо мети та завдань.

Роботу присвячено C-145. Це виглядає цілком обґрунтованим, якщо врахувати попередньо отримані у відділі структури та функції білка Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна дані про встановлену пригнічувальну дію калікс[4]арена C-145 на полімеризацію фібрину (Lugovskoi, 2013). Тому було б логічним поставити за мету більш поглиблено і всебічно охарактеризувати ефекти саме C-145 (на агрегацію тромбоцитів, гідроліз фібринового згустку, проліферацію ендотеліоцитів, і т.д., і особливо *in vivo* за патологічних станів), щоб довести можливість його застосування на практиці як лікарського антитромботичного препарату.

У зв'язку з цим більш виправданою видається така назва роботи:

КАЛІКС[4]АРЕН C-145 ЯК АНТИТРОМБОТИЧНИЙ ТА ПРОАНГІОГЕННИЙ АГЕНТ

2. Огляд літератури.

А. Розділ 1.1. «Характеристика факторів системи зсідання крові» – найдовший і загальновідомий, але безпосередньо не стосується мети роботи. А от розділ з короткою характеристикою, що ж відбувається з системою гемостазу за патологій, які використано як модельні у роботі, відсутній, а був би дуже корисним.

Б. Розділ 1.5.2. «Функції калікс[4]аренів» - це штучно синтезовані сполуки, їм не притаманні функції, вони лише можуть якимось чином

впливати на певні біологічні процеси, тобто проявляти біологічну активність. Цей аспект у розділі описано недостатньо.

3. Результати.

А. Розділ 3. Якщо раніше вже було доведено високу ефективність С-145 як інгібітора полімеризації фібрину, то навіщо проводити скринінг подібних до нього сполук і знову повернутись до того ж С-145? Якщо вже такий скринінг інших каліксаренів робити, то слід пояснити необхідність цього – можливо, були сподівання посилити ефект С-145 якимось змінами у структурі. Тоді треба проаналізувати, чим саме ці сполуки відрізнялись, що таке є в структурі С-145, що робить його ефективнішим за подібні до нього сполуки?

Б. Чому обраний для досліджень *in vitro* діапазон концентрацій С-145 (0.6 – 30мМ) відрізняються на порядки від IC_{50} встановленої у роботі Луговського ($2,5 \times 10^{-6}$).

В. Чому С-145 став лікарською антитромботичною субстанцією вже у розділі 5? Чи не зарано, можливо, такий термін варто ввести після повного набору даних, які підтверджують його потенціал.

Д. Вважаю за важливі та такі, що потребують окремого висновка результати побудови калібрувального графіка залежності часу зсідання плазми крові від кількості калікс[4]арену С-145 (Рис. 6.6). Це дійсно надає змогу кількісно визначати вміст калікс[4]арену С-145 в плазмі крові тварин за антиполімеризаційним ефектом.

У зв'язку з цим виникає питання: після введення тваринам С-145 чи досягає його вміст у крові того діапазону концентрацій, за якого виявлено інгібування полімеризації фібрину *in vitro* - (0.6 – 30мМ)?

4. Заключение.

Очевидно, що біохімічні механізми дії С-145 залишаються неповністю з'ясованими і навіряд чи все зводиться лише до пригнічення полімеризації фібрину. Який механізм дії на ендотеліоцити? Як пояснити пригнічення агрегації тромбоцитів, зниження їх кількості, покращення стану судинної

стінки та показників запалення? Ці дані йдуть на користь основного висновка щодо перспективності терапевтичного застосування результатів дисертаційної роботи, проте викликають питання з біохімічної точки зору.

Вказані зауваження не впливають на загальну високу оцінку представленої дисертаційної роботи, у якій подано нові, сповна аргументовані дані, щодо антитромботичної дії калікс[4]арену C-145.

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам:

Дисертаційна робота Валентина ДІДКІВСЬКОГО “Дослідження сполук калікс[4]аренового ряду як антитромботичних та проангіогенних агентів”, що представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії (у галузі знань 09 – Біологія, зі спеціальністю 091 – Біологія та біохімія), є завершеною науковою працею, в якій одержано нові дані щодо антитромботичної дії калікс[4]арену C-145, умов його застосування *in vivo* та результатів доклінічних досліджень, які підтверджують перспективність його застосування як терапевтичного препарату. Робота відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12.01.2012 року № 44 та «Про внесення змін до деяких постанов Кабінету Міністрів України з питань підготовки та атестації здобувачів наукових ступенів», затвердженої Постановою Кабінету Міністрів України від 19.05.2023 року № 502.

Доктор біологічних наук,
професор,
провідний науковий співробітник
відділу науково-інформаційних та
інноваційних досліджень
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
НАН України



Підпис *Ольги Матишевської*
ЗАСВІДЧУЮ
Зав. канцелярією
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
національної академії наук України
27.08.2024 р.

Ольга Матишевська