

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА НА ДИСЕРТАЦІЙНУ РОБОТУ  
Ю.Ю.МАЗУР "КАЛІКС[4]АРЕН С-90 ЯК СЕЛЕКТИВНИЙ ІНГІБІТОР  
 $Mg^{2+}$ , АТР-ЗАЛЕЖНОЇ КАЛЬЦІЄВОЇ ПОМПИ ПЛАЗМАТИЧНОЇ МЕМБРАНИ  
КЛІТИН МІОМЕТРІЯ", ПРЕДСТАВЛЕНУ НА ЗДОБУТТЯ НАУКОВОГО  
СТУПЕНЯ КАНДИДАТА БІОЛОГІЧНИХ НАУК ЗА СПЕЦІАЛЬНІСТЮ  
03.00.04 – БІОХІМІЯ

Дисертаційна робота Ю.Ю. Мазур присвячена дослідженню біохімічних закономірностей впливу функціоналізованих калікс[4]аренів на каталітичну і транспортну активність активність  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ -АТРази плазматичних мембран клітин міометрія. Відомо, що завдяки концентраційним змінам іонів кальцію відбувається регуляція багатьох біохімічних процесів, в тому числі активація ензимів, транскрипція генів, клітинний ріст, апоптоз тощо. Іони кальцію в гладеньком'язових клітинах регулюють активність скоротливих протеїнів, а транспортери цих іонів залучені у спряження скорочення і розслаблення гладеньких м'язів. При вивченні кальцієвої помпи плазматичних мембран надзвичайно важливим є використання специфічних інгібіторів та активаторів, які здатні регулювати біохімічні процеси, пов'язані з вилученням іонів кальцію з цитозолу. Такі дослідження механізмів скоротливих функцій гладеньких м'язів за наявності екзогенних біорегуляторів дозволяють з'ясувати причини виникнення та можливість корекції патологій, таких як артеріальна гіпертензія, ішемія, інфаркт, репродуктивні порушення тощо. Однак, на сьогодні інформація про низькомолекулярні ефектори скоротливої функції гладеньком'язових клітин є досить обмеженою, нові дані про специфічну дію органічних сполук часто взагалі відсутні, а пошук і створення нових потенційно біоактивних сполук видається складним завданням на межі біохімії, органічної і біоорганічної хімії, а також біофізики і фізіології. Раніше академіком С.О. Костеріним було висловлено припущення про те, що ефекторами мембранозв'язаних іон-транспортувальних АТРази систем можуть бути калікс[4]арени, біоактивність яких останнім часом є предметом широких досліджень. Перспектива використання таких макроциклів в медицині не є безпідставною і пов'язується зі створенням нових лікарських препаратів з антивірусною, антибактеріальною, протипухлинною або антитромботичною дією. Тому тема дисертаційного дослідження Ю.Ю. Мазур є актуальною для біохімії, а також важливою для фармакології і медицини. Як зазначено в дисертації і авторефераті, цю роботу виконано у відділі біохімії м'язів



Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України згідно затвердженої науково-дослідної тематики.

Предметом дисертаційного дослідження був вплив 5,11,17,23-тетракіс-[[трифторметил)фенілсульфоніліміно]метиламіно]-25,26,27,28-тетрапропоксикалікс[4]арену (калікс[4]арен С-90) та його структурних аналогів на  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази плазматичних мембран клітин міомерія, а також  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостаз у міоцитах матки. Мета і завдання роботи полягали у з'ясуванні біохімічних механізмів і фізико-хімічних закономірностей дії калікс[4]арену С-90 на ензиматичну та транспортну активність  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази, в тому числі за умов поляризації мембран везикул.

Головні наукові положення дисертації Ю.Ю. Мазур викладено послідовно, обгрунтовано і чітко. У відповідності з метою та завданнями роботи подано огляд літератури (розділ 1), інформацію щодо матеріалів та методів досліджень (розділ 2), результати та їх обговорення (розділи 3 і 4) і висновки. Виклад дисертаційного матеріалу добре сприймається. В цілому, вирішення поставлених задач дозволяє стверджувати, що на рівні плазматичних мембран клітин міомерія калікс[4]арен С-90 селективно щодо деяких інших АТР-гідролаз інгібує ензиматичну активність транспортної  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази. Трохи з меншою ефективністю цей макроцикл інгібує ензиматичну активність  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази саркоплазматичного ретикулулу. При цьому вплив калікс[4]арену С-90 спричиняє підвищення концентрації іонів кальцію в міоцитах матки, до того ж інгібувальна дія калікс[4]арену С-90 на акумуляцію іонів кальцію може залежати від стану поляризації плазматичних мембран. Загалом, робота виглядає цілісною і характеризується важливими з наукового погляду здобутками, передусім, завдяки цілеспрямованому і системному підходу, що поєднував дослідження як безпосереднього, так і опосередкованого впливу калікс[4]арену С-90 на можливу протеїнову мішень і клітинні функції, з нею пов'язані.

Всі наведені в дисертаційній роботі Ю.Ю. Мазур експериментальні дані є достовірними. При цьому проведено значну кількість біохімічних і біофізичних експериментів. Обговорення результатів є коректним. В роботі застосовано низку методів, в тому числі методи ензимології і мембранології, а також фізико-хімічні методи (спектрофотометричні, спектрофлуориметричні, фотон-кореляційної спектроскопії, лазерної конфокальної та електронної мікроскопії, тензометрії), методи математичного моделювання і статистичного аналізу.

Положення щодо новизни результатів виконаного дисертаційного дослідження, сформульовані Ю.Ю. Мазур, є об'єктивними. Зокрема, в



дисертації вперше встановлено механізм інгібувальної дії калікс[4]арену С-90 (неконкурентний тип) та можлива область його зв'язування. На основі залежності активності від структури інгібітора обґрунтовано значення функціональних груп інгібітора при утворенні комплексу з ензимом. Вперше продемонстровано, що в разі  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТРази саркоплазматичного ретикулума механізм інгібування калікс[4]ареном С-90 залишається тим же, проте ефективність інгібувальної дії є дещо меншою. Доведено, що калікс[4]арен С-90 пригнічує транспортну функцію  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТРази плазматичних мембран, причому після тривалої поляризації позитивний заряд на внутрішній поверхні везикул зменшував інгібувальну дію, а негативний збільшував. Згідно результатів досліджень з використанням конфокальної мікроскопії та  $\text{Ca}^{2+}$ -чутливого зонду показано, що вплив цього функціоналізованого калікс[4]арену приводить до підвищення концентрації іонів кальцію в міоцитах відносно контрольного значення. Важливо, що калікс[4]арен С-90 здатний викликати зменшення гідродинамічного діаметра міоцитів матки (подібно до дії окситоцину) та зменшувати швидкість релаксації м'язевого скорочення, нормовану на амплітуду скоротливої відповіді (у випадку реєстрації спонтанної механічної активності).

Практичне значення результатів, одержаних Ю.Ю. Мазур, полягає в можливості використання калікс[4]арену С-90 як селективного інгібітора в біохімічній практиці для блокування активності  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТРази плазматичних мембран. Крім того, отримані дані щодо здатності підвищувати концентрацію іонів кальцію, зменшувати швидкість релаксації міометрія, підвищувати ефективність дії окситоцину можуть складати основу подальшого пошуку потенційних сполук-лідерів для створення лікарських препаратів.

Дисертація Ю.Ю. Мазур ретельно оформлена, детально і чітко викладена і містить необхідний ілюстраційний матеріал, а також деякі додатки. Зауваження до роботи незначні. Наприклад, дещо ширше можна було б викласти розділ III.6.3.3 дисертації (стор. 127-128), підсиливши головну ідею в частині, що стосується залежності впливу калікс[4]арену С-90 на акумуляцію іонів кальцію від стану поляризації плазматичних мембран (коли інгібувальна дія краще проявляється у разі негативного заряду на внутрішній поверхні везикул). В роботі є достатньо доказів, що сайт взаємодії калікс[4]арену С-90 повинен знаходитись на трансмембранній ділянці  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТРаз плазматичних мембран, так само як і саркоплазматичного ретикулума, однак, відсутня будь-які припущення щодо природи цього сайту. Очевидно, що результати цієї частини роботи, як і всі інші, подано досить виважено, і це добре. Проте інтерес



до можливого молекулярного механізму інгібування залишається, хоч це і не проста для вирішення в майбутньому проблема. В роботі досить рідко зустрічаються невдалі вирази і помилки в тексті, в тому числі в назвах хімічних сполук (наприклад, на стор. 2, 4, 10 автореферату та на стор. 7, 16, 65, 72, 75, 81, 85, 86, 88 дисертації). Однак, всі ці зауваження не є принциповими, не мають загального характеру і жодною мірою не впливають на високу позитивну оцінку дослідження, виконаного Ю.Ю. Мазур.

Загалом, дисертаційна робота Ю.Ю. Мазур видається цілеспрямованим фундаментальним дослідженням і має завершений характер. Вона має чітко сформульовану ідею і мету, вміщує обґрунтування напряму і детальний опис результатів виконаних експериментів та їх обговорення. Дисертація є значною за обсягом отриманого матеріалу і його науковою новизною та практичною цінністю. Висновки дисертаційної роботи базуються виключно на результатах проведених експериментів і повністю відбивають зміст дослідження. Основні результати дисертації Ю.Ю. Мазур опубліковано у восьми статтях у фахових журналах та 16 тезах доповідей на міжнародних та вітчизняних наукових конференціях. Всі положення дисертації і автореферату ідентичні.

Підсумовуючи викладене вище, можна зробити висновок, що дисертація Ю.Ю. Мазур є завершеною роботою, в якій отримано нові науково обґрунтовані експериментальні дані, що в сукупності є суттєвими в галузі біохімії для розвитку подальших досліджень, пов'язаних з вивченням закономірностей впливу функціоналізованих калікс[4]аренів на каталітичну і транспортну активність активність  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази плазматичних мембран. Беручи до уваги актуальність обраної теми, достовірність, новизну і практичне значення отриманих результатів, а також обґрунтованість сформульованих наукових положень і висновків, вважаю, що дисертаційна робота „Калікс[4]арен С-90 як селективний інгібітор  $\text{Mg}^{2+}$ , АТР-залежної кальцієвої помпи плазматичної мембрани клітин міомеріа” повністю відповідає вимогам до кандидатських дисертацій, а Ю.Ю. Мазур заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 - біохімія.

Член-кор. НАН України,  
доктор хімічних наук, професор,  
директор ІБОНХ НАН України



*А.І. Вовк*  
А.І. Вовк