

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Метелиці Л.О.
«*In silico* та *in vitro* оцінка антимікробної активності похідних азолів проти
резистентних штамів грибкових і бактеріальних культур»,
представлену на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за
спеціальністю 02.00.10-біоорганічна хімія / 091-біологія

Дисертаційну роботу Метелиці Л.О. присвячено актуальній проблемі пошуку та розробки нових антимікробних засобів в умовах зростаючої резистентності збудників інфекційних захворювань.

Друга половина 20 ст. ознаменувалася суттєвим зростанням середньої тривалості життя людей. В значній мірі це зумовлено розробкою нових лікарських засобів та терапевтичних стратегій. В останні роки спостерігається суттєвий прогрес у всіх областях, що супроводжують процес пошуку та конструювання лікарських засобів, що зумовлено у першу чергу залученням у дослідження нових технологій, в тому числі комп’ютерних. Проте, не дивлячись на наявність і ріст кількості публікацій, присвячених цій проблемі за останні 10 років, вона залишається актуальною. Зважаючи на значний ріст кількості пацієнтів, інфікованих штамами мікроорганізмів із множинною лікарською резистентністю та зниження активності препаратів, які використовуються у антимікробній терапії, пошук ефективних сполук з високим потенціалом антимікробної дії наразі є важливим завданням науковців, які працюють у суміжних галузях медичної хімії. Експерти визначають, що за умов, коли сьогодні з 115 розроблених основних антибіотиків 68 уже практично не діють, необхідно або інтенсифікувати розробку і впровадження нових антимікробних препаратів або знаходити методи контролю розповсюдження резистентності мікроорганізмів до препаратів, що вже існують і використовуються. Дисертаційна робота Метелиці Л.О. спрямована саме на пошук та розробку нових низькомолекулярних антимікробних агентів, ефективних проти мікробних штамів клінічних ізолятів із множинною лікарською резистентністю із використанням як *in silico*, так і широких *in vitro* методів досліджень.

Актуальність теми роботи Метелиці Л.О. обумовлена сучасними вимогами щодо розробки нових антимікробних засобів проти клінічних внутрішньо клінічних штамів мікробних культур із лікарською резистентністю, в тому числі і множинною. Активність похідних оксазолу, тіазолу та імідазолу досліджували як проти флуконазол-резистентних штамів грибкових культур *Candida albicans* ATCC 10231 M 885 та клінічних ізолятів грибів роду *Candida* - *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida glabrata*, так і

проти антибіотико-резистентних штамів бактеріальних культур *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та його мультирезистентного клінічного ізоляту і штамів чутливого H37Rv та мультирезистентного HRv *Mycobacterium tuberculosis*. Обрані штами мікробних культур внесено до списку «пріоритетних» (Доклади ВООЗ, 2020) за потенціальними загрозами для здоров'я людини за показниками швидкості формування стійкості до існуючих лікарських засобів. Тільки за однією базою даних - Web of science - кількість публікацій щодо досліджень грибкової резистентності зросла з 300 (у 2001 році) до майже 2,5 тис. у 2020 році. Вони включають як дослідження нових хімічних об'єктів, так і методологій та підходів до аналізу і оцінки їх перспективності як нових ефективних antimікробних агентів.

Виходячи з вище зазначеного, дисертаційна робота Метелиці Л.О., тема, методологічні підходи та отримані результати досліджень, є, безумовно актуальною як в теоретичному, так і в практичному аспекті.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконувалась у відділі медико-біологічних досліджень Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України в межах науково-дослідних робіт за відомчими тематиками: 2.1.10.18-11 «Вивчення зв'язку структурних особливостей низькомолекулярних регуляторів активності гідролітичних ензимів з їх фармакологічною та біологічною активністю» (2011-2014 рр. № держреєстр. 0111U002530); 2.1.10.18-14 «Комп'ютерний дизайн нових біоактивних сполук та дослідження зв'язку структура – активність» (2014-2016 рр. № держреєстр. 0114U003042); 2.1.10.18-17 «QSAR моделювання та експериментальні дослідження властивостей нових потенційно біоактивних сполук» (2017-2019 рр. № держреєстр. 0117U000100); 2.1.10.18-20 «Дослідження властивостей нових низькомолекулярних сполук як потенційних біорегуляторів широкого спектру дії» (2020-2021 рр. № держреєстр. 0120U100110).

Основні результати, отримані дисертантом, їх наукова новизна та практичне значення. У дисертаційній роботі на основі системного підходу виконано QSAR-моделювання та експериментальні дослідження antimікробних властивостей синтетичних азолів і азолієвих солей. Побудовані QSAR-моделі активності використано для пошуку нових потенційно біоактивних структур серед похідних оксазолу, імідазолу і тіазолу, а результати *in vitro* досліджень дозволили ідентифікувати окремі сполуки як ефективні antimікробні агенти проти ряду резистентних штамів грибкових та бактеріальних культур.

Створені у процесі виконання роботи нові QSAR-моделі класифікації та регресії для аналізу і прогнозування протигрибкової та антибактеріальної

активності похідних азолів із застосуванням платформи ОСНІМ за показниками чутливості (у діапазоні від 0,69 до 0,94), специфічності (у діапазоні від 0,76 до 0,91), за відсотком вірно класифікованих сполук (від 80,0 до 91,0) та коефіцієнтом перехресної перевірки q^2 (від 0,6 до 0,9) із високою прогнозуючою здатністю та збалансованою точністю, що були розміщені на сервері ОСНІМ, представляються важливим інструментом для використання іншими дослідниками, які працюють в області конструювання нових антимікробних засобів. Застосований системний теоретичний підхід та отримані результати прогнозування дозволили оцінити активність нових 2,4,5-заміщених похідних оксазолу, 1,3-діалкіліазолієвих солей, трифенілфосфонієвих похідних оксазолу і 2,4,5-заміщених похідних тіазолу як перспективних антимікробних агентів проти резистентних клінічних штамів грибкових та бактеріальних культур. Застосування розрахункового методу докінгу, як ще одного сучасного підходу до оцінки потенційних механізмів молекулярної дії досліджених перспективних азолів, допомогли авторці запропонувати ряд біомішеней, інгібування яких забезпечує селективність та ефективність антимікробної дії досліджених сполук.

Обрані методологічні підходи представленого дисертаційного дослідження використані коректно та відповідно до поставлених завдань.

Дисертацію сформовано за класичною формою - вона містить вступ, де обґрунтовано актуальність теми представленої дисертаційної, відображені зв'язок роботи з науковими темами, розміщено мету, завдання та методи дослідження, розкрито предмет та об'єкти дослідження, сформульовано наукову новизну одержаних результатів та їх практичне значення, визначено особистий внесок дисертанта та надано інформацію щодо апробації результатів дисертаційного дослідження, огляд літератури (розділ 1), інформацію щодо використаних матеріалів і методів (розділ 2), експериментальну частину (розділи 3 - 6), список використаних джерел (639 одиниць) і заключну частину. Загальний об'єм дисертаційної роботи складає 360 сторінок. Рукопис містить 36 таблиць і 96 рисунків.

Огляд літератури містить детальну інформацію сучасного стану досліджень похідних азолів та азолієвих солей як антимікробних агентів, інформацію щодо перспективності та існуючих недоліків їх використання з урахуванням особливостей їх структури та механізмів дії. Особливу увагу приділено сучасним підходам та особливостям використання розрахункових методів QSAR та докінгу як сучасних комп'ютерних методологій для прогнозування біологічних властивостей потенційних лікарських засобів.

У наступному розділі, присвяченому **матеріалам і методам дослідження**, досить детально викладено всі методологічні особливості

застосованих у роботі як комп'ютерних *in silico* методів - QSAR та молекулярного докінгу, так і *in vitro* методів тестування антимікробної активності.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації. Наукові положення, що викладені у наступних чотирьох розділах (розділи 3-6) дисертації, є обґрунтованими і чіткими. У цих розділах автором на основі системного підходу виконано QSAR-моделювання та експериментальні дослідження антимікробних властивостей синтетичних низькомолекулярних азолів і азолієвих солей. Побудовані QSAR-моделі активності авторка використала для пошуку нових потенційно біоактивних структур серед похідних оксазолу, імідазолу та тіазолу, а результати *in vitro* досліджень дозволили дисерантці ідентифікувати ряд похідних азолів як ефективні антимікробні агенти проти резистентних штамів грибкових та бактеріальних культур. Проведені дослідження методом докінгу та їх розрахункові результати із представленим широким ілюстративним матеріалом дозволи здобувачі оцінити і потенційні молекулярні механізми дії найбільш перспективних похідних. Всі експериментальні результати роботи викладені авторкою повно та обґрунтовано. Представлені експериментальні результати представляються важливим і значимим доробком у наукові дослідження щодо конструювання нових біорегуляторів антимікробного типу дії, кількість яких наразі стрімко зростає в усьому світі.

У заключній частині дисертаційної роботи узагальнено результати досліджень азолів - похідних оксазолу, в тому числі оксазоловмісних карбонітрілів та фосфонатів, онієвих солей на основі імідазолу та оксазолу, як потенційних антимікробних агентів щодо резистентних штамів грибів роду *Candida* та ряду антибіотикорезистентних бактеріальних штамів *M. tuberculosis* та *S. aureus* відповідно до існуючих антимікробних засобів.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих статтях. Всі авторські формулювання щодо наукової новизни одержаних результатів є об'єктивними і підтверджуються матеріалами 23 публікацій у фахових зарубіжних та вітчизняних виданнях, а також у матеріалах ряду конференцій різного рівня.

Коментарі щодо змісту та оформлення дисертації.

Принципових зауважень щодо дисертаційної роботи Метелиці Л.О. немає. Дисертація добре оформлена, якісно проілюстрована необхідними рисунками і таблицями. Поряд з цим можна зауважити наступне:

1. Чи можна на основі отриманих результатів зробити висновок щодо рівня чутливості використаних Вами у роботі мікробних штамів до

досліджених азолів. Так, солі імідазолію та трифенілфосфонію за Вашими даними представляються ефективними і як антиканадозні, і як антистафілококові агенти - який з цих потенціалів активності є більш високим. Було б доречним внести такий висновок до основних висновків роботи.

2. Чим Ви можете пояснити встановлену досить чітку залежність між довжиною алкільного замісника у структурі солей імідазолію та рівнем їх антимікробної активності, що, на Ваш погляд, лежить в основі механізму антимікробної дії солей солей імідазолію, чи цей механізм є аналогічним до механізму дії катіонних поверхнево-активних речовин.

3. Чи проводили Ви токсикологічні випробування найбільш перспективних азолів? Такі дані суттєво збільшили б вагомість та значимість отриманих Вами результатів.

Висновок одо відповідності дисертації встановленим вимогам, які пред'являються до докторських дисертацій.

На підставі аналізу матеріалів рукопису та автореферату дисертації Метелиці Л.О. вважаю, що дисертація Метелиці Л.О. є закінченою, самостійно виконаною науково-дослідною роботою, результати якої мають важливе значення для біоорганічної хімії. За своєю актуальністю та теоретичним значенням, методологічним рівнем та обсягом проведених досліджень, а також ступенем новизни отриманих результатів і обґрунтованістю висновків робота повністю відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою КМУ № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами), внесеними згідно з Постановою КМУ № 656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12.2015 р., № 567 від 27.07.2016 р., № 943 від 20.11.2019 р. та № 607 від 15.07.2020 р. щодо докторських дисертацій, а дисерант –Метелиця Лариса Олексіївна заслуговує присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія.

Офіційний опонент:

Завідувачка кафедрою органічних і фармацевтичних технологій
Державного університету
«Одесська політехніка» (м. Одеса),
доктор біологічних наук, професор

Підпис проф. Кравченко І.А. засвідчує
проректор Державного університету
«Одесська політехніка», проф.



Кравченко І.А.

Дмитришин Д.В.