

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 Лариси Олексіївни присвячено дослідженням, спрямованим на розширення теоретичних та практичних підходів для запобігання широкому діапазону уражень, спричинених інфекціями, викликаними мікроорганізмами із лікарською резистентністю. Великий масив наукових даних щодо біоактивності низькомолекулярних органічних сполук, в тому числі із антимікробним типом активності, складає основу пошуку та конструювання нових лікарських засобів в області біоорганічної хімії. Відомо, що одну з найбільш перспективних груп потенційних антимікробних агентів представляють синтетичні похідні азолів. Це похідні піразолу, імідазолу, тіазолу, тіадіазолу, триазолу включаючи конденсовані гетероцикли та гібридні сполуки. Значною мірою в цьому ряду представлені похідні 1,3-оксазолу, гетероциклічна система якого розглядається як перспективний скафолд для конструювання *in vitro* та *in vivo* активних молекул, забезпечуючи їх біологічний транспорт і цільове зв'язування з мішенями, відповідальними за механізми протипухлинної, антибактеріальної, протигрибкової та іншої дії. Накопичуються дані і щодо азолієвих солей як ефективних біоцидів, як засобів транспорту ліків у макроорганізмі, як потенційних лікарських засобів з поліпшеною фармацевтичною дією. Саме ці хімічні ряди розглядаються у представленій дисертаційній роботі, як перспективні об'єкти-прототипи лікарських субстанцій для лікування мікробних інфекцій.

Актуальність теми роботи Метелиці Л.О. обумовлена тим, що кількість досліджень внутрішньогоспітальних інфекцій, викликаних резистентними мікроорганізмами, наразі набувають особливого значення, особливо у зв'язку зі збільшенням кількості захворювань, що супроводжуються різними імунодефіцитними станами та нейтропеніями. Потреба у нових засобах лікування уражень різних органів та тканин організму людини патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами наразі трактується ВООЗ як пріоритетна. На базі багатьох дослідницьких центрів створюються колекції мікроорганізмів (наразі налічується більше як

50 тис. штамів), що дозволяє виявляти основні проблеми резистентності, прогнозувати її динаміку та оцінювати вірогідні перспективи використання відомих та нових препаратів, реєстрація яких тільки планується. Серед мікробних патогенів з високим рівнем стійкості до антибіотиків до списку так званих «пріоритетних мікроорганізмів», які становлять найбільшу загрозу для здоров'я людини і потребують першочергових заходів для створення нових антимікробних засобів, ВООЗ внесено *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* і деякі інші. Особливу увагу приділено грибковим інфекціям та туберкульозним.

Виходячи з викладеного, дисертаційна робота Метелиці Л.О., яка присвячена саме конструюванню та дослідженням нових низькомолекулярних синтетичних похідних азолів як антимікробних агентів проти ряду мікробних патогенів із резистентністю, в тому числі множинною, до існуючих лікарських засобів є, безумовно, актуальною як в теоретичному, так і в практичному аспекті.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконувалась в межах державних фундаментальних наукових тем у відділі медико-біологічних досліджень Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України.

Основні результати, отримані дисертантом, їх наукова новизна та практичне значення. Результати роботи Метелиці Л.О., представлені до захисту, можуть служити вагомим внеском у широкі фундаментальні дослідження щодо системних підходів до конструювання нових синтетичних агентів із антимікробним типом дії проти резистентних штамів грибкових та бактеріальних культур. Використані у роботі методи комп'ютерного моделювання біоактивності дозволили авторці створити QSAR-моделі, які розміщені на сервері ОСНЕМ і можуть бути успішно використані іншими науковцями для пошуку, аналізу та прогнозування активності нових антимікробних агентів. Ідентифіковані нові синтетичні 2,4,5-заміщені похідні 1,3-оксазолу, 1,3-заміщені імідазолієві та оксазоловмісні трифенілфосфонієві солі, а також тіазоловмісні похідні ізоніазиду із високим антимікробним потенціалом проти резистентних штамів грибів роду *Candida* та бактеріальних штамів із множинною резистентністю до антибіотиків представляються перспективними сполуками-кандидатами для подальших досліджень у напрямку створення ефективних лікарських засобів. Таким чином, представлена робота за своїми результатами є теоретичним та практичним підґрунтям як при розробці нових лікарських препаратів спрямованої дії, так і при аналізі і прогнозуванні їх можливих побічних ефектів.

Робота виконана з коректним застосуванням як методів *in silico* (QSAR-моделювання, молекулярний докінг-аналіз), так і *in vitro* методів мікробіологічного тестування, підбір яких відповідає досягненню поставлених задач і дозволив зробити обґрунтовані висновки з отриманих результатів.

Дисертація сформована за класичною формою - вона містить вступ, огляд літератури, опис методів дослідження, виклад отриманих власних результатів та їх обговорення, заключну частину, висновки, список використаних джерел. Матеріали роботи проілюстровані 36 таблицями та 96 рисунками. Загальний обсяг роботи складає 360 сторінок.

У вступі авторкою обґрунтовано актуальність теми, відображено 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 містить аналіз стану та тенденцій сучасних досліджень в області конструювання нових антимікробних засобів в рамках проблеми мікробної резистентності, а також інформацію щодо перспективності використання азолів як антимікробних засобів широкого спектру дії з урахуванням особливостей їх структури та механізмів дії. Особливу увагу в огляді літератури приділено також використанню методів QSAR та докінгу як комп'ютерним методологіям для прогнозування біологічних властивостей потенційних лікарських засобів.

У розділі «Матеріали та методи досліджень» детально виписані використані у роботі методологічні підходи та їх особливості із відповідними посиланнями.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій сформульованих у дисертації. Наукові положення, сформульовані у роботі, викладені у наступних чотирьох розділах. У розділах 3-6 експериментальних досліджень авторкою виконано QSAR-моделювання та широкі *in vitro* тестування антимікробних властивостей синтетичних низькомолекулярних азолів і азолієвих солей. Ефективність побудованих QSAR-моделі активності підтверджена розрахованими показниками якості та прогнозуючої здатності. Так, для класифікаційних QSAR-моделей показники чутливості знаходились у діапазоні від 0,69 до 0,94, специфічності - у діапазоні від 0,76 до 0,91, а кількість вірно класифікованих сполук складав у середньому 85%. Значення коефіцієнту перехресної перевірки q^2 (від 0,6 до 0,9), розрахованого для регресійних

моделей, засвідчив їх стабільність та збалансовану точність. Подальше використання побудованих прогнозуючих моделей дозволили ідентифікувати ряд похідних оксазолу, імідазолу і тіазолу, ефективних проти резистентних штамів грибкових та бактеріальних культур. На особливу увагу заслуговують і результати дослідження ідентифікованих сполук щодо потенційних механізмів їх молекулярної дії. Всі експериментальні результати викладені з належною повнотою і обговорені в заключній частині.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях. Результати, системно викладені у дисертаційній роботі, представлені в 23 статтях, з яких 6 статей у наукових фахових виданнях України, 17 статей у наукових періодичних виданнях інших країн, що входять до наукометричної бази Scopus із квантилями Q1, Q2, Q3 та Q4, 14 робіт - у матеріалах і тезах українських і міжнародних конференцій.

Зауваження щодо змісту та оформлення дисертації.

При розгляді дисертаційної роботи виник ряд зауважень та дискусійних моментів.

1. При виконанні досліджень солей імідазолію як сполук із подвійним типом активності - із антираковими та антикандидозними властивостями не представлені результати їх досліджень щодо лінії нормальних клітин відповідного типу. Крім того, недоліком представлених результатів є, на мій погляд, і відсутність референс-препарату, наприклад, цисплатину або доксорубіцину, рівень активності яких дозволив б більш обґрунтовано заявляти про специфічність дії досліджених солей.

2. Відомо, що деякі бактерії та гриби здатні формувати так звані біоплівки як фактора, що забезпечує високий рівень мікробної резистентності. Вважаю, що доцільно було б вивчити вплив представлених сполук на антибіотикорезистентні штами мікроорганізмів, що формують біоплівки та їх здатність до деструкції таких біоплівок

3. Отримані результати прогнозування активності сполук представлено у вигляді мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). Наприклад, прогноз інгібіторної активності за показниками МІК для всіх похідних оксазоловмісних фосфонатів та оксазоловмісних карбонітрилів з урахуванням середньоквадратичного відхилення знаходився у межах $1 \cdot 10^{-4}$ М/л тобто у межах 10 мкМ, а результати експериментальних досліджень представлено у мм за зонами затримки росту мікробних культур. Як співставляються або корелюються дані прогнозування з отриманими даними щодо експериментальних досліджень. Наскільки таке співставлення є аргументованим.

4. У роботі представлені позитивні експериментальні результати протитуберкульозної активності практично дванадцяти тіазоловмісних похідних

ізоніазиду як проти чутливого, так і проти резистентного штамів *M. tuberculosis*. Чи можливо використовуючи лише метод докінгу, робити висновки щодо особливостей шляхів формування ліганд-білкових комплексів?

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам, які пред'являються до кандидатських дисертацій.

На підставі аналізу матеріалів рукопису та автореферату дисертації Метелиці Л.О. вважаю, що за своєю актуальністю та теоретичним значенням, методологічним та системним рівнем, обсягом проведених досліджень, 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 дисертант – Метелиця Лариса Олексіївна - заслуговує присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія.

доктор фармацевтичних наук,
професор кафедри хімії та фармації,
Ніжинського державного університету
імені Миколи Гоголя

Демченко Анатолій Михайлович