

## РЕЦЕНЗІЯ

доктора хімічних наук, заступника директора ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» з наукової роботи

**Григор'євої Ганни Савівни**

на дисертаційну роботу **Гуменюк Наталії Ігорівни** на тему

**«Фармакодинамічні особливості антибіоплівкової дії похідних 4-(1'-адамантил)-1R-бензолу»**, що подається до захисту у разову спеціалізовану вчену раду PhD 11540 на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія», за спеціальністю 091 «Біологія»

**Актуальність теми дисертаційної роботи.** Тема дисертаційної роботи пов'язана з проблемою стійкості мікроорганізмів до антимікробних препаратів (АМП), яка є визнаною Всесвітньою організацією охорони здоров'я однією з найбільш серйозних, що становлять загрозу для життя людей. Антибіотикорезистентність, серед інших фактів, спричинена здатністю бактерій формувати біоплівки. Мікроорганізми у їх складі здатні виживати за високих концентрацій антимікробних засобів та зумовлювати розвиток хронічних запальних процесів, частка яких сягає 80 %.

Інфекції, спричинені біоплівками, становлять значну клінічну проблему, характеризуються хронічним перебігом і високою частотою рецидивів, що зумовлює значні матеріальні витрати на лікування пацієнтів. Це актуалізує потребу у пошуку активних речовин з антибіоплівковою дією, здатних впливати на різні етапи формування біоплівки та фактори вірулентності мікроорганізмів для створення ефективних та безпечних лікарських засобів. Зазначене зумовлює актуальність роботи Гуменюк Н. І., яка присвячена вивченню окремих аспектів механізму антибіоплівкової дії похідних 4-(1'-адамантил)-1R-бензолу щодо грампозитивних та грамнегативних бактерій.

**Зв'язок роботи з планами, науковою тематикою Інституту.** Дисертація є фрагментом держбюджетних тем лабораторії фармакології протимікробних засобів відділу фармакології ДУ «Інститут фармакології та

токсикології НАМН України»: «Вивчення особливостей формування біоплівки *Pseudomonas aeruginosa* та *Quorum Sensing* регуляції за дії похідних адамантану» (№ держреєстрації 0121U109291) та «Механізми антибіоплівкової активності похідних адамантану» (№ держреєстрації 0118U001559), при виконанні яких Гуменюк Н.І. була відповідальним виконавцем.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Уперше комплексно оцінено механізм антибіоплівкової дії похідних 4-(1'-адамантил)-1R-бензолу щодо грампозитивних та грамнегативних бактерій. Поглиблено наукові знання про антимікробну активність адамантанвмісних сполук, зокрема їх вплив на плівкоутворення та біоплівки, що сформовані грампозитивними та грамнегативними мікроорганізмами.

Уперше встановлено, що похідні 4-(1'-адамантил)-1R-бензолу – (4-(адамантил-1)-1-(1-амінобутил) бензол (АМ-166) та 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-3-(N-бензил, N-диметиламіно)-2-пропанолу хлорид (КВМ-97) впливають на неспецифічні та специфічні фактори адгезії, порушують формування біоплівки. На моделі хірургічної шкірної рани у щурів, інфікованої мікст-збудниками (*S. aureus* + *P. aeruginosa* + *C. albicans*), сполука КВМ-97 виявляє антиадгезивні властивості у лікувально-профілактичному та лікувальному режимі, забезпечуючи зниження мікробної контамінації на поверхні та у глибині рани.

Уперше молекулярно-генетичними методами доведено, що порушення плівкоутворення пов'язано зі зміною транскрипційної активності генів, що регулюють синтез білків-адгезинів (*clfB*, *fib*, *fnbB*, *ebpS*, *eno*) та генів *icaADBC*-оперону, відповідальних за плівкоутворення, міжклітинну адгезію, синтез компонентів матриксу у *S. aureus*, генів *fliC*, *motB*, *fimA*, що забезпечують рухливість, адгезію до субстрату клітин *E. coli*. Встановлено, що похідні 4-(1'-адамантил)-1R-бензолу змінюють експресію генів, що регулюють синтез полісахаридних компонентів матриксу біоплівки (*pelA*, *pslA*, *algD*, *algL*, *algR*, *algU*, *mucA*) у *P. aeruginosa*.

Уперше встановлено, що сполуки з адамантильним радикалом впливають на QS-залежні процеси, відповідальні за формування біоплівки та синтез факторів вірулентності у *P. aeruginosa*, експресія генів *lasI*, *lasR* Las-системи, *rhlR* Rhl-системи та *pqsR* Pqs-системи у *P. aeruginosa* змінюється. Встановлено, що сполуки AM-166 та KBM-97 пригнічують продукцію алкалін металопротеїнази, екзоферменту S, екзотоксину A (зменшення експресії генів *aprA*, *exoS*, *exoA*), впливають на продукцію піоціаніну та гемолізинів.

Доповнено наукові дані про здатність адамантавмісних сполук порушувати енергетичні процеси в клітинах бактерій, зокрема їх здатність впливати на експресію генів *appB*, *appX* (синтез субодиниці цитохрому bd-II дихального ланцюга) і *malP*, *malZ* (катаболізм глікогену) та пригнічувати активність ефлюксних помп. Встановлено, що порушення активності RND помп реалізується змінами транскрипційної активності генів *mexB*, *mexY*, *oprM*, *mexR*.

**Наукове та практичне значення дослідження.** Експериментально обґрунтовано перспективність та доцільність розробки нових антимікробних препаратів з антибіоплівковою активністю на основі похідних 4-(1'-адамантил)-1R-бензолу, що підтверджено нововведенням (КПКВ-6561040 «Похідне адамантану 4-(1-адамантил)-фенокси-3-(N-бензилдиметиламіно)-2-пропанолу хлорид для профілактики інфікування ран та формування біоплівки», Інформаційний Бюлетень НАМН України, вип. 51, 2021 р.). Впровадження в медичну практику ефективних та безпечних засобів на основі KBM-97 та AM-166 підвищить ефективність лікування пацієнтів з інфекційними процесами бактеріального генезу, зокрема спричинених біоплівками. Отримані в експериментах результати щодо механізму антибіоплівкової дії похідних 4-(1'-адамантил)-1R-бензолу дадуть можливість раціонально застосовувати антимікробні препарати, створені на їх основі.

Окремі результати дисертаційної роботи впроваджено в науково-педагогічний процес кафедр фармакології Національного фармацевтичного університету (протокол № 5 від 07.11.2023 р.); Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського (протокол № 12 від 31.10.2023 р.), Дніпровського державного медичного університету (протокол № 4 від 10.11.2023 р.), Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (протокол № 13 від 20.11.2023 р.), Запорізького державного медико-фармацевтичного університету (протокол № 4 від 10.11.2023 р.).

#### **Повнота викладення матеріалу дисертації в наукових публікаціях.**

Основні результати наукового дослідження за темою дисертації опубліковано у 23 роботах, які включають 8 статей у фахових виданнях України (категорія «Б»), 5 публікацій – у журналах, включених до наукометричної бази Scopus (Q2, Q4), 2 – у періодичних наукових виданнях інших держав, 13 – у матеріалах наукових конференцій, 1 нововведення в Інформаційному бюлетні НАМН України. Опубліковані матеріали дисертації у повній мірі відображають суть та зміст роботи, що підтверджує його повноту викладення.

**Аналіз змісту дисертації, її завершеність та відповідність установленим вимогам щодо оформлення, дотримання принципів академічної доброчесності.** Дисертація викладена на 250 сторінках, складається з таких розділів: анотація, вступ, огляд літератури, матеріали та методи дослідження, 4 розділи результатів власних досліджень, узагальнення результатів дослідження, висновки, список використаних джерел, додатки. Робота ілюстрована 49 рисунками та 9 таблицями. Список використаних джерел містить 351 найменування, з яких 333 латиницею. Переважна більшість літературних джерел за останні 5–10 років.

*Вступ* дисертації викладено на 8 сторінках. У ньому представлено актуальність теми, чітко сформульовано мету, завдання роботи, вказано об'єкт та предмет дослідження, наукову новизну, практичне значення

одержаних результатів, особистий внесок дисертанта, відомості про апробацію результатів роботи та опубліковані праці.

*Огляд літератури* викладено на 20 сторінках, містить 2 підрозділи, у яких описано роль біоплівки у розвитку хронічних запальних процесів, проблеми та стратегії лікування біоплівкових інфекцій.

Розділ «*Матеріали та методи дослідження*» викладено на 19 сторінках. У ньому детально наведено використані матеріали та методи дослідження (мікробіологічні, фармакологічні, біохімічні, фізико-хімічні, мікроскопічні, молекулярні, статистичні). Експерименти з використанням тварин проводились відповідно до правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (протокол № 01/12/23 від 26 грудня 2023 р.).

Результати власних досліджень наведені у 4 розділах, які викладено на 87 сторінках. У розділах представлені результати визначення антибіоплівкової активності похідних 4-(1'-адамантил)-1R-бензолу щодо біоплівки *S. aureus*, *E. coli* та *P. aeruginosa*, впливу сполук на різні етапи плівкоутворення, життєздатність бактерій у складі біоплівки, формування клітин-персистерів, гідрофобність бактеріальної поверхні, різні типи рухливості (для грамнегативних мікроорганізмів), дослідження вмісту компонентів матриксу біоплівки за дії досліджуваних сполук, проникності похідних 4-(1'-адамантил)-1R-бензолу через матрикс бактеріальних біоплівок та оцінки змін експресії ключових генів, які беруть участь у плівкоутворенні бактерій.

У розділі «*Узагальнення результатів дослідження*», який викладено на 21 сторінці, дисертантом наведено порівняння отриманих результатів власних досліджень з даними літератури, описано можливі механізми отриманих ефектів за дії адамантанвмісних сполук щодо біоплівок, сформованих грампозитивними та грамнегативними мікроорганізмами. Представлений аналіз є повним, логічним та науково обґрунтованим.

Дисертантом сформовані 9 висновків, які узагальнюють результати досліджень та відповідають поставленим завданням.

Список використаних джерел наведено в порядку згадування по тексту дисертації та оформлено відповідно до вимог.

У додатках наведено хімічну назву та структурні формули похідних 4-(1'-адамантил)-1R-бензолу, інформацію щодо опублікованих робіт та апробації результатів дисертації, акти впровадження матеріалів роботи в науково-педагогічний процес та запропоноване нововведення, яке включено до Інформаційного Бюлетеня НАМН України.

Дисертаційна робота є завершеною, оформлена згідно з установленим вимогам та з дотриманням принципів академічної доброчесності (коефіцієнт подібності – 12,88 % згідно з результатами перевірки за допомогою програми StrikePlagiarism).

**Дискусійні положення та зауваження до дисертації.** При загальній позитивній оцінці в ході роботи над дисертаційною роботою виникли певні зауваження та запитання:

1. У розділах дисертації не всюди поставлено посилання на джерела літератури.

2. У тексті дисертаційної роботи виявлені граматичні, стилістичні та технічні помилки.

Надані зауваження до дисертаційної роботи не є суттєвими та не впливають на високу оцінку виконаної роботи, яка є закінченим дослідженням з достатньою науковою новизною та практичним значенням одержаних результатів.

#### **Запитання до дисертанта:**

1. За рахунок якого механізму може бути посилення біомаси біоплівки *E. coli* за дії ципрофлоксацину, меропенему та вашої сполуки KBM-97 у найнижчій досліджуваній концентрації 0,15 МІК?

2. Яка різниця між використаними методами визначення життєздатних клітин? Як можна пояснити отримані різні ефекти при їх використанні?

3. Чим можете пояснити проникність сполук через біоплівки граммпозитивних бактерій, та непроникність – через біоплівки, сформовані грамнегативними мікроорганізмами, адже у сполук виявлено антибіоплівковий ефект щодо останніх?

**Висновок.** Дисертаційна робота Гуменюк Наталії Ігорівни «Фармакодинамічні особливості антибіоплівкової дії похідних 4-(1'-адамантил)-1R-бензолу» є закінченою науково-дослідною працею, яка за актуальністю, науково-теоретичним рівнем, новизною та практичним значенням, обсягом проведених досліджень та їх рівнем виконання, повнотою викладення основних результатів роботи у публікаціях відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 р., № 44, а дисертант заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

**Рецензент:**

доктор хімічних наук,  
заступник директора з наукової роботи  
ДУ «Інститут фармакології  
та токсикології НАМН України»



Підпис Г. С. Григор'євої засвідчую

Вчений секретар ДУ «Інститут фармакології

та токсикології НАМН України»,

к.б.н.

Наталія ДОБРЕЛЯ