

## РЕЦЕНЗІЯ

офіційного рецензента кандидата біологічних наук Козак Марії Романівни, старшого наукового співробітника лабораторії молекулярної біології та клінічної біохімії Інституту біології тварин НААН, на дисертаційну роботу **Руминської Тетяни Миколаївни** на тему **«Протизапальні й протимікробні властивості похідного 4-тіазолідинону та нестероїдного протизапального препарату та їхній вплив на мікроекологічний та біохімічний статус лабораторних тварин»** на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», галузь знань 09 «Біологія», що подана в разову спеціалізовану вчену раду ДФ 35.368.008 Інституту біології тварин НААН

1. **Актуальність теми дисертаційного дослідження.** Завдяки ефективності у зменшенні болю та запалення нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) є одними з найбільш популярних ліків. За загострення ускладнень опорно-рухового апарату застосування НПЗП, очевидно, неминуче. Окрім болезаспокійливої, протизапальної та жарознижувальної ефективності, НПЗП додатково захищають від різноманітних критичних розладів, включаючи онкологію та серцеві напади. Однак дані численних досліджень і мета-аналізів тривожно свідчать про шлунково-кишкові, серцево-судинні, печінкові, ниркові, церебральні та легеневі ускладнення внаслідок застосування НПЗП. Тому пошук нових НПЗП препаратів є актуальним.

Крім основної функції НПЗП можуть мати протипухлинну, антипаразитарну і антимікробну дію. Так, доведено, що аспірин та ібупрофен спричиняють загибель криптококових клітин.

У дисертації Руминської Т. М. досліджено протизапальні та протимікробні властивості нової сполуки похідного 4-тіазолідинону та комерційного німесулідю. Проаналізовано вплив сполук на склад бактерій кишкового каналу щурів методом секвенування. Досліджено токсичність і

летальну дозу нової сполуки. Оцінено фізіологічний стан організму тварин за дії сполуки. Порівняно вплив похідного 4-тіазолідинону з німесулідом, відомим протизапальним препаратом.

Проведені Руминською Т. М. дослідження доводять протизапальний ефект похідного 4-тіазолідинону, його антимікробну дію та зміни в складі мікроорганізмів кишкового каналу.

## **2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота виконувалась в Інституті біології тварин НААН і лабораторіях кафедри мікробіології та фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії ЛНМУ імені Данила Галицького, Експериментальному центрі Науково-дослідного інституту епідеміології та гігієни ЛНМУ імені Данила Галицького в межах тематики ДРН<sup>№</sup>0121U108826 «Дослідити вплив екологічних і кліматичних чинників на обмін речовин у тварин та розробити методи попередження метаболічних порушень», а також за підтримки Міністерства Охорони Здоров'я України — «Дослідження протимікробної та протизапальної активностей гетероциклічних та сполук природнього походження» [грант номер: 0123U100153].

## **3. Ступінь обґрунтування основних положень і висновків сформульованих у дисертації, їх достовірність.**

Дисертаційна робота виконана на відповідному методичному рівні. Схема досліджень є цілком вдалою і обґрунтованою. Наукові положення, сформульовані автором дисертаційного дослідження, відповідають меті та завданням роботи. Дослідження виконані *in vitro* дозволили обрати сполуку із необхідними властивостями для дослідів *in vivo*, що доводить обґрунтованість побудови схеми наукової роботи. У роботі застосовано мікробіологічні, молекулярно-генетичні, біохімічні та статистичні методи аналізу. Вважаю, що вибір методів є повністю обґрунтованим. Обрані методи є сучасними, інформативними та повністю достатніми для виконання визначених завдань. Результати досліджень проілюстровано статистично опрацьованими даними, що додатково підтверджує як обґрунтованість так і достовірність основних положень і

висновків сформульованих у дисертації та забезпечує добре сприйняття матеріалу. Аналіз та обговорення отриманих результатів дозволили дисертантці сформулювати основні положення та висновки, які відповідають змісту роботи і отриманим результатам.

Ступінь обґрунтування основних положень і висновків сформульованих у дисертації, їх достовірність додатково підтверджують наукові публікації дисертантки у фахових виданнях, що включені до міжнародної бази даних Scopus.

**4. Наукова новизна досліджень та отриманих результатів.** Дисертаційна робота Руминської Т. М. містить нові обґрунтовані результати. Зокрема, вперше виявлено антимікробні і протизапальні властивості 4-тіазолідінону Les-6490. Нова сполука володіє протимікробними властивостями щодо бактерій *Staphylococcus aureus* та дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Протизапальні властивості вивчалися за індукованого ад'ювантом Фрейнда запалення стопи у щурів. Висновки про протизапальні властивості зроблено за біометричними вимірами стопи і порівняно з комерційним протизапальним препаратом – німесулідом.

Вперше методом секвенування 16s рРНК і за допомогою аналізу операційних таксономічних одиниць мікроорганізмів виявлено високий вміст бактерій роду *Helicobacter* у щурів, які одержували сполуку Les-6490. Загалом за застосування сполуки Les-6490 зростало мікробне різноманіття, а саме поява бактерій родів *Streptococcus*, *Prevotella*, *Veillonella*, які відсутні в інших досліджуваних групах щурів.

Дисертантка вперше вивчила вплив досліджуваної сполуки Les-6490 на показники запального процесу, маркери ліпідного, фосфорно-кальцієвого обміну та гепатотоксичності у щурів.

**5. Теоретичне та практичне значення роботи й впровадження отриманих результатів.** Результати дисертаційної роботи Руминської Т. М. роблять вагомий внесок у дослідження нових сполук з протизапальними і протимікробними властивостями. Отримані результати демонструють вплив

нового протизапального препарату та німесуліді не лише на фізіологічний стан і клінічні біохімічні показники, а також на мікроекологічний склад кишкового каналу щурів. Сполука 4-тіазолідінон Les-6490 як протизапальний препарат може бути запропонована для фармацевтичної галузі.

Дисертаційна робота Руминської Т. М. має практичну і теоретичну цінність у галузі біології, медицини, хімії та фармакології. У роботі досліджено вплив сполук з протизапальними властивостями на організм щурів та видовий склад мікроорганізмів.

Результати досліджень Руминської Т. М. впроваджені у навчально-педагогічний процес кафедри мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

#### **6. Повнота викладу матеріалу дисертації в опублікованих працях.**

Результати досліджень опубліковані в 12 наукових працях, з яких 5 статті у наукових фахових виданнях (2 у виданнях, що входять до наукометричних баз Web of Science і Scopus (Q1 і Q4), 7 тез у матеріалах наукових конференцій, конгресу і форуму. Усі наукові праці повністю відображають результати й основні положення дисертації Руминської Т. М. Матеріали дисертаційної роботи оприлюднено й обговорено на багатьох міжнародних і всеукраїнських наукових конференціях.

#### **7. Обсяг та структура роботи, оцінка змісту дисертації та її завершеність.**

Дисертаційна робота Руминської Т. М. відповідає вимогам наказу МОН України «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» № 40 від 12 січня 2017 року зі змінами, внесеними згідно з Наказом МОН України № 759 від 31 травня 2019 року.

Дисертація складається з анотації українською й англійською мовами, вступу, восьми розділів, висновків, списку використаних джерел інформації, додатків та подяки. Загальний обсяг дисертації 214 сторінок.

В анотації коротко описано отримані наукові результати та наведено ключові слова. Перелік наукових праць, у яких опубліковані основні результати дисертації, подано після анотації англійською мовою.

У вступі обґрунтовано актуальність обраного напрямку досліджень, зв'язок роботи з науковими програмами та завданнями, сформульовано мету роботи та наведено завдання, об'єкт і предмет досліджень, перелічено застосовані методи досліджень, описано наукову новизну та практичне значення, показано особистий внесок здобувача, зазначено впровадження отриманих результатів і апробацію результатів дисертації.

У першому розділі дисертації «ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ» описано відомі НПЗП, наведено класифікацію НПЗП, їхню хімічну структуру та відомі механізми дії. Широко висвітлено біологічні ефекти новосинтезованих тіазолідинонів. Детально описано вплив тіазолідинонів на кишкову мікрофлору. Наведено характеристику кишкового мікробіому людини, його вікові та регіональні особливості. Висвітлено вплив мікробіоти на фізіологічні та патологічні процеси в організмі людини та тварин. Наведено дані про дію НПЗП на мікробіоту шлунково-кишкового тракту.

У другому розділі «МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ» описано експериментальні та статистичні методи, які були використані у дисертаційній роботі. Також графічно наведено схему дисертаційного дослідження. Усі маніпуляції з тваринами виконано відповідно до законодавства і дозволу біотичної експертизи комісії з питань етики наукових досліджень, експериментальних розробок і наукових творів ЛНМУ імені Данила Галицького, протокол № 10 від 20.12.2021 р.

У третьому розділі «МІКРОБІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ» наведено результати досліджень антимікробної дія похідних 4-тіазолідинонів та впливу сполуки Les-6490 на біоплівкоутворення. Також дисертант описує результати дії німесуліді та сполуки Les-6490 на мікрофлору кишки у щурів на тлі індукованого запалення.

У четвертому розділі «ГЕМАТОЛОГІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ПАРАМЕТРИ КРОВІ ЩУРІВ. ТОКСИЧНІСТЬ СПОЛУКИ» наведено результат гострої токсичності сполуки Les-6490 та ЛД<sub>50</sub> для мишей. Проаналізовано гематологічні та біохімічні показники в умовах дії досліджуваних речовин і при

запальному процесі індукованому ад'ювантом Фрейнда. Також наведено результати досліджень фосфорно-кальцієвого обміну.

У п'ятому розділі «ДОСЛІДЖЕННЯ РОЗВИТКУ ЗАПАЛЬНОГО ПРОЦЕСУ ІНДУВАНОВОГО АД'ЮВАНТОМ ФРЕЙНДА» наведено дані розвитку запального процесу, який оцінювався в балах. Показано, що сполука Les-6490 спричиняла сповільнення та інтенсивність проявів запального процесу.

У шостому розділі «МЕТАГЕНОМНИЙ АНАЛІЗ» проведено аналіз мікробіомів кишкового каналу щурів за введення досліджуваних сполук. Для отримання даних використано секвенування 16S рРНК та різні статистичні методи MRPP, PCA, NMDS, тощо. Дисертантка наводить характеристику вищих таксонів, родин, родів і видів виявлених у піддослідних тварин.

У сьомому розділі «ПОРІВНЯЛЬНА ДІЯ НІМЕСУЛІДУ ТА ПОХІДНОГО 4- ТІАЗОЛІДИНОНУ СПОЛУКИ LES-6490 НА ПАРІЄТАЛЬНУ МІКРОБІОТУ КИШКИ *IN VIVO* ПРИ ІНДУКОВАНОМУ ЗАПАЛЬНОМУ ПРОЦЕСІ» наведено дані альфа-різноманітності кишкової мікробіоти за дії досліджуваних сполук, визначено домінантні таксони в мікробіомах досліджуваних груп тварин. У щурів, котрі одержували сполуку Les-6490 виявлено бактерії роду *Streptococcus*, *Prevotella*, *Veillonella*, *Helicobacter*, які в інших групах були відсутні, або знаходилися в менших кількостях.

У восьмому розділі «АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ» авторка наводить мету досліджень, використані методи і аналізує та пояснює отримані результати.

Руминська Т. М. на основі проведеного дисертаційного дослідження сформулювала сім висновків, які повністю відповідають поставленим завданням та отриманим результатам.

**8. Дані про відсутність текстових запозичень та порушень академічної доброчесності.** У дисертації та наукових публікаціях Руминської Т. М. відсутні порушення академічної доброчесності.

## 9. Зауваження і побажання щодо змісту та оформлення дисертації.

- Список скорочень рекомендую подавати в алфавітному порядку.
- На ст. 30 обидва рисунки Похідні енолікових кислот і Структурна формула німесуліду мають один номер 1.4.
- У дисертації часто вживається вираз «у ряді досліджень». Стилiстично кращим варіантом буде — «у низці досліджень».
- Терміни азот, кисень і сірка необхідно замінити на нітроген, оксисен і сульфур.
- На Рис. 1.7 Новосинтезовані сполуки похідних тiazолідинонів відсутні підписи до хімічних формул. Рекомендую підписувати хімічні структури.
- У розділі «Матеріали та методи дослідження» неправильно вказана назва лабораторії, де виконувалась робота.
- На ст. 65 у розділі 2.6 Експериментальні тварини згадується лише про щурів. Проте, для 2.7 Визначення гострої токсичності похідної 4-тіазолідинону використовували мишей-альбіносів. Доцільно було б написати і про мишей у розділі 2.6 Експериментальні тварини.
- На ст. 74 повторно подано рис. 3.1 Схема синтезу 5-(1,3-дифеніл-1Н-піразол-4-ілметилен)-2,4-тіазолідиндіону (сполуки Les-6490), що вже представлений у розділі «Матеріали і методи» на ст. 61 як рис. 2.1.
- На ст. 75 повторно подано рис. 3.2 Структурна формула німесуліду, що представлена також на ст. 61 у розділі «Матеріали і методи».
- На ст. 81 у таблиці помилка у написанні виду бактерій. Вказано *Vidobacterium spp.*
- У підписах до таблиць необхідно зазначати, які групи з якими порівнювались.  
Також виникли наступні запитання.
- Чому розділ 1.2 називається «Одержання та синтез нових груп протизапальних препаратів», якщо він присвячений дослідженню біологічних ефектів новосинтезованих тiazолідинонів?

- Що означає термін нормосимбіонти?
- Чому вивчали вплив сполуки Les-6490 саме на штаммах *S. aureus subsp.* (ATCC 25923) та *Limosilactobacillus fermentum*? Адже досліджувана сполука не виявила антимікробної дії відносно *L. fermentum*.
- Чим обумовлене зниження рівня холестеролу і тригліцеридів за дії німесуліді та сполуки Les-6490?

Висловлені зауваження і запитання не впливають на позитивну оцінку дисертації Руминської Т. М., мають переважно рекомендаційний характер і можуть бути предметом майбутніх досліджень.

#### 10. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Руминської Тетяни Миколаївни «Протизапальні й протимікробні властивості похідного 4-тіазолініону та нестероїдного протизапального препарату та їхній вплив на мікроекологічний та біохімічний статус лабораторних тварин» за обсягом проведених досліджень, актуальністю, науковою новизною, практичним значенням досліджень та одержаних висновків 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 січня 2022 р. №44, а її автор, Руминська Тетяна Миколаївна, заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», галузь знань 09 «Біологія».

#### Рецензент:

старший науковий співробітник  
 лабораторії молекулярної біології та клінічної біохімії  
 Інституту біології тварин НААН,  
 кандидат біологічних наук

Козак М. Р.

Підпис к.б.н. Козак М. Р. засвідчує  
 Вчений секретар Інституту біології  
 тварин НААН, к.с.-г.н.

Смолянїнова О. О.