

Відзив

офіційного опонента, доктора біологічних наук, професора,
завідувачки кафедри біологічної хімії Львівського національного
медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України
Кобилінської Лесі Іванівни

на дисертаційну роботу Любас Наталії Миронівни на тему:
**«Антимікробна та біохімічна дія сульфуровмісних синтетичних сполук
на окремі ланки метаболізму в організмі щурів»**, представлену до
захисту в разову спеціалізовану вчену раду ДФ 35.368.005, створену
відповідно до наказу Інституту біології тварин НААН № 98-К від 29
грудня 2023 року (протокол №12) з правом прийняття до розгляду та
проведення разового захисту дисертаційної роботи на здобуття освітньо-
наукового ступеня доктора філософії
з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»

Актуальність обраної теми. S-естери тіосульфокислот, зокрема тіосульфоестери, проявляють антимікробні та біологічно активні властивості, що викликають інтерес у сферах нових лікарських засобів та терапій. Особливості будови тіосульфогрупи визначають реакційну активність S-естерів, а їх біологічна активність залежить від кислотного та тіольного складників. Перерозподіл електронної густини в біохімічних процесах дозволяє їм діяти як ефективні біологічно активні речовини, що відкриває нові можливості для лікування та досліджень. Наприклад, S-алілцистеїн та діалілсульфід проявляють гіполіпідемічні, антиоксидантні та антиракові властивості. Дослідження властивостей S-естерів тіосульфокислот спрямоване на розуміння впливу їх молекулярної структури на реакційну активність, що є ключовим для синтезу нових лікарських препаратів та методів лікування.

У дисертаційній роботі вирішується наукове завдання дослідження антимікробних та радикал-поглинальних властивостей нових синтезованих сполук естерів тіосульфокислот, їх впливу *in vivo* на метаболічні процеси, пероксидне окиснення ліпідів та антиоксидантний захист у крові і тканинах щурів. Сполуки тіосульфонатів досліджують як потенційні біологічно-активні добавки для захисту кормів тварин від патогенної мікрофлори при їх виробництві і зберіганні. Метою роботи було з'ясувати біологічну дію нових синтезованих S-естерів тіосульфокислот *in vitro* та *in vivo*.

Тому синтез і дослідження впливу нових сульфуровмісних естерів сульфокислот на метаболічні процеси *in vivo* є **актуальним науковим завданням**.

Відповідність роботи спеціальності 091 – Біологія. Дисертаційна робота Любас Н.М. містить достатньо експериментального матеріалу, який науково і методично відповідає спеціальності «Біологія». Разом з тим, у роботі хімічні, фармацевтичні, цитологічні і біохімічні дослідження. Необхідно підкреслити, що в наш час саме такі міждисциплінарні чи мультидисциплінарні роботи найкраще сприймаються науковою спільнотою.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Результати дисертаційної роботи є частиною науково-дослідної роботи лабораторії біохімії адаптації та онтогенезу тварин Інституту біології тварин НААН, згідно із завданнями «Вивчити фізіолого-біохімічні механізми дії біологічно активних речовин на метаболічні процеси в організмі тварин», ДР 0116U001413 та «Дослідити адаптивні та метаболічні процеси в організмі тварин за дії біологічно активних речовин різного походження», ДР 01214109057, у яких дисертантка досліджувала процеси пероксидного окиснення ліпідів, активність антиоксидантної системи, окремі показники білкового та ліпідного обміну за впливу різних естерів тіосульфокислот.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше визначено біологічні ефекти новостворених S-естерів тіосульфокислот на мікроорганізми та метаболічні процеси у тварин. Особливо відзначено високі фунгібактерицидні властивості S-етил-4-амінобензентіосульфонату (ETC), S-аліл-4-амінобензентіосульфонату (ATC) та S-аліл-4-ацетиламінобензен-тіосульфонату (AATC) щодо *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium luteum*, *Candida tenuis* та *Aspergillus niger*. Це дозволяє розглядати ці тіосульфоестери як перспективні антимікробні засоби. Виявлено, що АТС має найвищу радикалпоглинальну активність, слідом за ним іде ААТС, а ЕТС, хоч і з меншою активністю, все ще проявляє антиоксидантні властивості. Також встановлено, що S-естери тіосульфокислот регулюють антиоксидантну систему та обміни білків і ліпідів у тілах тварин.

Дослідження підтверджує, що ЕТС, АТС та ААТС, відповідно до доз, впливають на метаболічні процеси через їхню пряму взаємодію з мішенями в організмі. Ці мішені пов'язані із про/антиоксидантною системою, білковим і ліпідним обмінами в крові та тканинах. Знання, отримані в результаті цього дослідження, розширюють наше розуміння біологічної активності S-естерів тіосульфокислоти, які відзначаються антимікробними, антиоксидантними та регулюючими властивостями.

Результати досліджень дають нові знання щодо новосинтезованих сполук S-естерів тіосульфокислоти, які у відповідних дозах, володіють фунгібактерицидними, радикалпоглинальними, антиоксидантними, гіполіпідемічними та білоксинтезувальними властивостями.

Науково-практична цінність роботи. У дисертації доведено ефективність використання S-естерів тіосульфокислот як антимікробних засобів для захисту кормів від грибової контамінації та регулювання метаболічних процесів у тварин. Дослідження підтверджує потенційну користь застосування S-естерів у тваринництві для корекції метаболічних порушень. Застосування S-естерів у дозах 100 і 50 мг/кг тіла дозволяє регулювати обмінні процеси в організмі. Різна реакція тканин на естери тіосульфокислот пояснюється фізіологічними особливостями та біохімічними властивостями сполук. Ці дослідження важливі для розуміння зв'язку між структурою та біологічною активністю. S-естери тіосульфокислот можуть бути перспективними терапевтичними засобами завдяки широкому спектру біологічної дії, низькій токсичності та стабільності порівняно з природними аналогами. Отримані результати впроваджені в навчання та наукові дослідження кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету "Львівська політехніка".

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, які викладені у дисертаційній роботі. Всі узагальнення та висновки, викладені у дисертаційній роботі, ґрунтуються на результатах власних наукових досліджень і відображають закономірності, виявлені під час аналізу отриманих авторських висновків. Виконана робота високою якістю методичного підходу та використанням сучасних методів досліджень, які належним чином відповідають поставленим цілям і завданням. Отримані результати були об'єктивно проаналізовані статистично з використанням відповідних методів математичної статистики. Ретельний аналіз зібраних даних дозволив авторці дисертації узагальнити їх та зробити висновки, що повністю відповідають змісту проведених досліджень.

Апробація результатів дисертації. Дисертаційна робота Любас Н.М. пройшла достатню апробацію на чисельних конференціях в Україні і за кордоном, що відображено у 16 тезах доповідей.

Особистий внесок здобувачки описаний у переліку опублікованих праць за темою дисертаційної роботи. У більшості публікацій дисертантка є першим автором.

Мета роботи сформульована лаконічно із зазначенням головних напрямків запланованого дослідження.

У дисертаційній роботі вирішували **6 основних завдань**, які були необхідні для досягнення поставленої мети дослідження. З метою з'ясувати біологічну дію новосинтезованих S-естерів тіосульфокислот на мікроорганізми, окремі ланки білкового та ліпідного обміну і систему антиоксидантного статусу у крові та тканинах щурів, вирішувалися наступні завдання:

- дослідити антимікробну активність алкілових естерів n-амінобензентіосульфокислоти;
- дослідити радикалпоглинаючу та антиоксидантну активності алкілових естерів n-амінобензентіосульфокислоти;
- з'ясувати вплив S-етил-4-амінобензентіосульфонату, S-аліл-4-амінобензентіосульфонату та S-аліл-4-ацетиламінобензентіосульфонату у дозах 100 та 50 мг/кг маси тіла на інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів та функціональний стан антиоксидантної системи у крові щурів;
- вивчити вплив S-естерів тіосульфокислот у дозах 100 та 50 мг/кг маси на стан про/антиоксидантної системи у печінці, нирках, селезінці, скелетних м'язах і мозку щурів;
- оцінити інтенсивність протікання білкового обміну в організмі щурів за впливу різних S-естерів тіосульфокислот у дозах 100 та 50 мг/кг маси;
- дослідити вплив S-естерів тіосульфокислот у дозах 100 та 50 мг/кг маси на окремі ланки ліпідного обміну в організмі щурів.

Методи дослідження, використані під час виконання дисертаційної роботи, є досить різноманітними – мікробіологічні, біохімічні, хроматографічні і статистичні.

У списку робіт, опублікованих за результатами дисертаційної роботи, представлено 5 статей, з них 3 у журналах, включених до науково-метричних баз Scopus і Web of Science. Серед публікацій – 1 стаття в Українському біохімічному журналі – фаховому виданні в Україні зі спеціальністю біохімія. Необхідно відзначити, що у переважній більшості публікацій дисертантка є першим автором, що свідчить про самостійність дослідження.

Структура та обсяг дисертації. Рукопис дисертаційної роботи викладений на 188 сторінках машинописного тексту і містить всі необхідні розділи – “Вступ”, “Огляд літератури”, опис “Матеріалів і методів дослідження”, розділ “Результати та обговорення власних досліджень”, “Аналіз та узагальнення результатів дослідження”, “Висновки”, “Список використаних джерел” (понад 240 посилань), “Додатки”. Дисертаційна робота Любас Н. М. є добре структурованою і написана сучасною українською мовою.

Дисертація містить усі розділи, передбачені вимогами до оформлення дисертації згідно з Наказом МОН України «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» № 40 від 12.01.2017 року, а також у відповідності з Постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 року.

Вступ написаний чітко, у ньому охарактеризовано наукову проблему виконаної роботи, зокрема обґрунтовано актуальність теми, мету, завдання. У вступі наведено актуальність обраної дисертанткою теми, мету і завдання

роботи, наукову новизну, теоретичне та практичне значення одержаних результатів, особистий внесок здобувача у виконанні дисертаційної роботи, відображена апробація результатів роботи, основні положення дисертації та показані методи вирішення поставленої проблеми.

Огляд літератури побудований логічно, містить систематизовану інформацію стосовно властивостей і механізмів дії S-естерів тіосульфокислот. Особлива увага відведена ролі оксидативних процесів і антиоксидантного захисту за дії сульфуровмісних сполук, зокрема тіосульфокислот. Наповнення огляду літератури свідчить про ґрунтовні знання автора про сучасний стан обраної галузі дослідження, критичне відношення до опублікованих результатів, здатність узагальнювати, чітко викладати стан та перспективи власних досліджень. У кінці Огляду літератури наведене узагальнення результатів досліджень за темою роботи та існуючих проблем.

Огляд літератури дуже об'ємний. Відзначений нерівномірний розподіл підрозділів Огляду літератури (у той час як підрозділу 1.1 присвячено 15 сторінок тексту, підрозділ 1.2 містить лише 3 сторінки).

Матеріали і методи дослідження описані детально. У роботі застосовані біохімічні, цитологічні, хроматографічні, статистичні методи. У дисертації наведена інформація про дотримання норм біоетики на етапі дослідів з використанням тварин. Чітко описана схема експериментальних досліджень, наведений детальний опис усіх методик.

Результати експериментальних досліджень викладені у розділі 3, який складається з 5-ти підрозділів (3.1 – 3.5) власних досліджень авторки та їхнього аналізу. Позитивною рисою роботи є комплексний підхід до вирішення наукових проблем, зокрема проведення модельних досліджень *in vitro* та *in vivo*. Виклад результатів є послідовним, логічним і достатньо повно описаним. Висновки після кожного підрозділу і логічне обґрунтування необхідності наступного етапу досліджень покращує сприймання роботи.

Зокрема, у підрозділі 3.1 наведено результати вивчення антимікробної дії ряду алкілових естерів тіосульфокислоти у дослідях *in vitro*, зокрема, у підрозділі 3.1.1 описано встановлену за допомогою методу дифузії речовини в агар, бактерицидну дію досліджуваних тіосульфонатів щодо культур грам-позитивних бактерій *E. coli*, *S. aureus*, *M. luteum* та антигрибкову дію щодо *C. tenuis* та *A. niger*; визначені методом серійних розведень показники мінімальних інгібуючої та фунгіцидної концентрацій.

У підрозділі 3.1.2. описано результати первинної оцінки антиоксидантних властивостей сульфуровмісних сполук у дослідях *in vitro*, що є важливим етапом для дослідження впливу новосинтезованих біологічно активних сполук на біохімічні процеси в організмі тварин.

У підрозділі 3.2 представлено показники пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в крові щурів за дії досліджуваних естерів тіосульфокислот: ЕТС, АТС, ААТС.

У підрозділі 3.3 детально розкрито вплив ЕТС, АТС та ААТС у різних дозах на інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів та функціональний стан антиоксидантної системи у тканинах щурів, зокрема у печінці, нирках, селезінці, скелетних м'язах, мозку.

У підрозділі 3.4 представлені біохімічні особливості дії ЕТС, АТС та ААТС у дозах 50 і 100 мг/кг маси тіла на окремі показники білкового обміну в крові щурів; представлено показники визначення загальної концентрації білка та його фракцій. Адже білковий обмін є однією з основних метаболічних систем, що відображає стан організму, а також зміни, які в ньому відбуваються під впливом внутрішніх та зовнішніх чинників.

Узагальнення результатів досліджень та їх аналіз є доволі об'ємним (20 сторінок) і ключовим у дисертаційній роботі Любас Н. М. У цьому розділі авторка детально аналізує і обговорює результати власних досліджень, порівнюючи їх із існуючими даними літературних джерел, висловлює власні думки про механізми дії досліджуваних сполук, чим робить важливий вклад у подальше практичне застосування отриманих результатів. Лаконічне та професійне написання розділу підкреслює не лише науковий рівень дисертантки, але й здатність чітко висловлювати свої думки та аналізувати результати дослідження, що характеризує дисертантку як підготовленого й висококваліфікованого науковця.

Висновки. За результатами досліджень автором зроблено 8 висновків, які написані лаконічно, грамотно і впливають із отриманих результатів досліджень. Важливо відзначити, що практичне спрямування висновків підкреслює їхню значущість у контексті реального застосування в сфері тваринництва, фармації, біологічних дослідженнях.

У **списку використаних джерел** – 242 посилання, з яких понад 200 – англійською мовою. Проте, лише 24% посилань на наукові роботи останніх 5-ти років.

Відповідність дисертації встановленим вимогам. Робота виконана на належному методичному рівні та 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 № 44 від 12 січня 2022 року та Наказу МОН України «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» № 40 від 12.01.2017 року. За результатами перевірки дисертаційної роботи ознак академічного плагіату, самоплагіату, фальсифікації та фабрикації не виявлено.

Разом із загальною високою оцінкою рівня і науково-практичного значення дисертаційної роботи Любас Н. М. у рамках наукової дискусії в опонента виник ряд запитань і редакційних зауважень.

Запитання і зауваження:

1. Назва дисертації *«Антимікробна та біохімічна дія сульфуровмісних синтетичних сполук на окремі ланки метаболізму в організмі щурів»* не зовсім вдала, неконкретна, надто широка. Словосполучення *«біохімічна дія»* краще було б замінити на метаболічний вплив. Немає уточнення, на які саме ланки метаболізму вивчали дію.
2. У Огляді літератури широко описані властивості S-естерів тіосульфокислот як природніх (часник), так і штучно синтезованих за посередництвом гідрогену сульфідів та NO-синтаз. Проте, чому у роботі не визначали жоден з компонентів системи гідрогену сульфідів (H_2S) і/або продуктів нітрогену оксиду (NO)?
3. Чи є досліджувані сполуки офіційно зареєстрованими лікарськими засобами чи біологічно активними добавками? Чи дані експериментальні сполуки запатентовані? На якому етапі доклінічних чи клінічних досліджень перебувають досліджувані S-естери тіосульфокислот?
4. У роботі порівнювали три новосинтезовані подібні за структурою сполуки естерів тіосульфокислот. У дослідженні чітко не виділено аналіз взаємозв'язку біологічних ефектів експериментальних сполук з їх будовою за принципом «структура–дія». Як впливають відмінності у структурі молекул на біологічну активність сполук?
5. Трапляються некоректні висловлювання, які потребують уточнення. Наприклад, *«Результати досліджень дозволяють припустити, що застосування у відповідних кількостях S-естерів тіосульфокислот у тваринництві може бути корисним для корегування метаболічних порушень в організмі»*. Це або доведено результатами, або не підтверджено; або є корегуюча біологічна дія, або її немає.
6. Одними з практичних результатів роботи мали б бути впровадження у тваринництво. Чи пропонуються за результатами дисертації антимікробні добавки до кормів, терапевтичні засоби для тварин?
7. У дисертаційній роботі є низка граматичних і стилістичних помилок, наявні декілька повторів.

Згадані зауваження не мають вирішального значення і не впливають на позитивне враження від дисертаційної роботи Любас Н. М.

Висновок. Дисертаційна робота Любас Наталії МIRONІВНИ на тему **“Антимікробна та біохімічна дія сульфоровмісних синтетичних сполук на окремі ланки метаболізму в організмі щурів”** є завершеним самостійним дослідженням, виконаним на високому теоретичному і методологічному рівнях. Висловлені опонентом зауваження не є підставою для заперечення високої оцінки цієї роботи. За актуальністю теми, методичним рівнем проведених досліджень, їх об’ємом, науковою новизною і науково-практичним значенням одержаних результатів, а також адекватністю проведеного в роботі аналізу і відповідністю зроблених висновків, дисертаційна робота Любас Н.М. відповідає вимогам до дисертаційних робіт на здобуття наукового ступеня доктора філософії, зокрема наказу Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 р. № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» і наказу Міністерства освіти і науки України від 23.09.2019 р. № 1220 «Про опублікування результатів дисертацій на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук», відповідає вимогам передбаченим «Порядком 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 року № 44, а її авторка заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія (09 – Біологія).

Офіційний опонент,
завідувач кафедри біологічної хімії
Львівського національного медичного університету
імені Данила Галицького
доктор біологічних наук, професор

Кобилінська Л. І.

Львів, 5 лютого 2024 р.

