

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора фармацевтичних наук, професора кафедри промислової технології ліків та косметичних засобів Національного фармацевтичного університету

КУХТЕНКА ОЛЕКСАНДРА СЕРГІЙОВИЧА

на дисертаційну роботу **Фізер Любов Віталіївни**

на тему «Синтез, властивості, біологічна активність тіосульфонатів та технології створення лікарських форм на їх основі»,

представленої на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Галузь знань 22 Охорона здоров'я

Спеціальність 226 Фармація, промислова фармація

Актуальність теми дисертації та її зв'язок з державними чи галузевими науковими програмами.

Проблема антимікробної резистентності набуває дедалі більшої актуальності, адже стійкість мікроорганізмів, включно з бактеріями, грибовими патогенами та вірусами, призводить до поступового зниження ефективності наявних терапевтичних засобів. Це суттєво ускладнює лікування інфекцій, підвищує ризик ускладнень і смертності, а також створює серйозні виклики для системи охорони здоров'я. За даними ВООЗ, у 2019 році антимікробна резистентність безпосередньо призвела до 1,27 мільйона смертей у всьому світі, а до 2050 року ця цифра може зрости до 10 мільйонів смертей на рік, що може перевищити смертність від онкологічних захворювань.

У контексті повномасштабної війни в Україні проблема антимікробної резистентності особливо загострюється через велику кількість бойових поранень, які нерідко супроводжуються інфікуванням та потребують тривалого антибактеріального лікування. Більше того, АМР створює додаткову небезпеку для пацієнтів під час проведення сучасних медичних втручань.

Сульфонотіоатвмісні сполуки, завдяки своїм вираженим антибактеріальним властивостям, у тому числі щодо мультирезистентних

збудників із пріоритетного списку ESKAPE, становлять особливу наукову цінність як об'єкти органічного синтезу для фармацевтичних досліджень. Комплексне вивчення цих сполук відкриває перспективи для створення ефективних, цілеспрямованих антимікробних засобів.

Таким чином, вважаю обрану тему дисертаційної роботи Фізер Л. В. цілком обґрунтованою, актуальною та має високу практичну значущість в умовах сучасних викликів.

Дисертаційна робота виконана в межах плану науково-дослідних робіт Національного університету «Львівська політехніка» кафедри ТБСФБ (державна реєстрація № 0119U002252).

Ступінь обґрунтованості та достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Авторка дисертаційного дослідження, Фізер Л.В., продемонструвала належний рівень наукової підготовки, чітко окресливши актуальність та сутність дослідницької проблеми, логічно сформулювавши мету, завдання, а також об'єкт і предмет дослідження.

Усі узагальнення та висновки, представлені в дисертаційному дослідженні, є результатом авторських напрацювань і ґрунтуються на ретельному аналізі експериментальних даних. Дисертанткою Фізер Л.В. виконаний необхідний обсяг експериментальних дослідів, дизайн дослідження, отримані результати є коректними.

Дослідження вирізняється високим методичним рівнем та використанням сучасного наукового інструментарію, що повністю відповідає поставленим цілям і дослідницьким завданням. Сформульовані у роботі вісім висновків логічно узгоджуються з отриманими результатами та підкреслюють наукову обґрунтованість проведеної роботи.

Наукова новизна одержаних результатів.

У межах дисертаційного дослідження вперше реалізовано низку науково обґрунтованих підходів, що розширюють уявлення про можливості застосування сульфотіоатних сполук і формують підґрунтя для подальшої розробки нових антимікробних засобів на основі сульфотіоатвмісних

структур. Зокрема:

- автором запропоновано та апробовано ефективні методи синтезу S-етил 4-ацетамідо- та S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоатів шляхом варіацій умов алкілювання й ацилювання; вперше реалізовано сонохімічний синтез S-етилового похідного в умовах, наближених до "solvent-free", та оптимізовано N-ацилювання в тетрагідрофурані при низьких температурах;
- проведено первинне *in vitro* дослідження антибактеріальної, протигрибкової та протигерпетичної активності синтезованих речовин, а також *in silico*-аналіз їхньої відповідності «правилам лікоподібності» і середньосмертельної дози обох об'єктів дослідження (LD₅₀ S-етил 4-ацетамідобензенсульфонотіоату також визначено *in vivo*);
- здійснено початкові етапи фармацевтичної розробки, що охоплюють формування концепції лікарського засобу з S-етил 4-ацетамідобензенсульфонотіоату та вибір доцільних лікарських форм для місцевого застосування на шкіру (порошка нашкірного і мазі); обґрунтовано доцільні композиції, охарактеризовано їх профіль антибактеріальної і протигрибкової активності, визначено деякі фармако-технологічні параметри та запропоновано попередні методики якісного й кількісного аналізу вмісту S-етил 4-ацетамідобензенсульфонотіоату в зазначених формах;
- обґрунтовано вибір лікарської форми таблеток, що диспергуються в ротовій порожнині для протигерпетичної терапії із S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоатом у ролі противірусного агента. При проведенні наукових досліджень використано математичне планування експерименту. За допомогою планів дисперсійного аналізу автором відібрано раціональне поєднання допоміжних речовин в складі таблеток, що диспергуються в ротовій порожнині. Встановлений оптимальний якісний склад противірусних таблеток, що диспергуються в ротовій порожнині. Запропоновано попередні методики ідентифікації S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоат в таблетках.

Практичне значення отриманих результатів.

У межах даного дослідження було синтезовано низку перспективних

сульфуровмісних сполук, що проявляють виражену антимікробну активність — антибактеріальну, протигрибкову та противірусну. Зокрема, розроблено та оптимізовано методи одержання двох представників класу бензенсульфонотіоатів: S-етил 4-ацетамідо- і S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоатів. На основі цих сполук створено лікарські композиції, досліджено модельні зразки фармацевтичної форми, які рекомендовані до подальшого доклінічного вивчення.

Окремо визначено доцільність застосування S-етил 4-ацетамідобензенсульфонотіоату як діючої речовини для зовнішніх антимікробних засобів, зокрема у формі порошків нашкірних. Водночас S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоат розглядається як потенційний протигерпетичний агент у відповідній лікарській формі — таблеток, що диспергуються в ротовій порожнині.

Апробація синтезу активних біологічно активних сполук та виготовлення лікарських форм була здійснена у виробничо-технологічних умовах АТ «Фармак». Також відпрацьовано технологію виготовлення порошку для зовнішнього застосування в умовах навчально-виробничої аптеки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Окремі фрагменти проведеного дослідження впроваджено в навчальний процес на профільних кафедрах — кафедрі технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології «Львівської політехніки», а також кафедрі мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Повнота викладу наукових положень, висновків та рекомендацій в наукових публікаціях, захищених за темою дисертації

За матеріалами дисертації опубліковано 20 наукових праць, з них 5 статей (із них 2 у наукових фахових виданнях України та 3 в іноземному виданні, що входить до наукометричних баз), 13 тез доповідей.

Апробацію результатів дослідження проведено на науково-практичних заходах українського та міжнародного рівня.

Оцінка змісту та оформлення дисертації, її завершення в цілому

У дисертаційній роботі представлено вступ, аналітичний огляд літературних джерел, шість основних розділів дослідження, підсумкові висновки, бібліографічний список та додатки. Робота ілюстрована 54 таблицями та 139 рисунками. Загальний обсяг дослідження становить 297 сторінок. Дисертація оформлена відповідно до чинних вимог.

За структурою дисертаційна робота Фізер Л.В. повністю відповідає вимогам МОН України.

Академічна доброчесність

При розгляді дисертаційної роботи порушень академічної доброчесності (академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації) не виявлено. Відомості про результати наукових досліджень та використані методики подано достовірно та в повному обсязі.

У *першому розділі «Синтез і дослідження біологічної активності сполук із сульфонотіоатною структурою (огляд літератури)»* представлено ґрунтовний аналіз літературних джерел, який охоплює сучасні методи синтезу сульфонотіоатів різної будови з урахуванням екологічності їх отримання та функціонального призначення. Особливу увагу приділено фармакологічному спектру активності цих сполук, серед яких автор роботи акцентує на антимікробній дії – надзвичайно актуальній у зв'язку зі зростанням стійкості патогенних мікроорганізмів бактеріального, грибового та вірусного походження до традиційних лікарських засобів. Наукові джерела підтверджують необхідність подальших досліджень для створення нових лікарських форм на основі сполук сульфонотіоатної структури.

У *другому розділі «Матеріали і методи дослідження»* подано структурно-логічну схему дисертаційного дослідження, міститься опис матеріалів та методів, що стали основою для експериментальної частини роботи.

У *третьому розділі «Синтез S-алкіл 4-ациламідобензенсульфонотіоатів, дослідження їх фізико-хімічних та біологічних властивостей»* автором обґрунтовано вибір об'єктів

дослідження серед тіосульфонатів як перспективних біологічно активних сполук, проаналізовано їх відповідність сучасним критеріям «лікоподібності», а також прогнозовану біологічну активність і токсичність *in silico*. Додатково, встановлено LD₅₀ *in vivo* на щурах. Показано, що S-етил 4-ацетамідо- та S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоати потенційно можуть бути використані як протиінфекційні агенти з низьким рівнем токсичності (IV–V клас за GHS-класифікацією).

Особливу цінність становить опис оптимізованих синтетичних підходів до одержання зазначених сполук, зокрема вперше здійснено сонохімічний синтез S-етил 4-ацетамідобензенсульфонотіоату в умовах, близьких до безрозчинникових. Ретельно охарактеризовано вплив реакційних умов на вихід і чистоту продуктів, а також наведено екологічну оцінку синтезу. Окрім того, встановлено вигідніший метод отримання S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоату N-ацилюванням S-аліл 4-амінобензенсульфонотіоату при охолодженні у середовищі тетрагідрофурану.

Також автором проаналізовано термічна поведінка трьох представників сульфонотіоатного ряду.

Важливими є результати біологічних досліджень: підтверджено ефективність обох синтезованих сполук проти широкого спектра грампозитивних і грамнегативних бактерій, зокрема патогенів групи ESKAPE, а також грибкових мікроорганізмів. При цьому встановлено, що S-етил 4-ацетамідобензенсульфонотіоат виявляє виражену фунгібактерицидну активність, тоді як S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоат демонструє помірний ефект, що свідчить про залежність активності від природи замісників у структурі молекули. Окрім того, встановлена залежність антимікробної активності від pH середовища.

Крім того, виявлено протівірусну активність S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоату щодо вірусів простого герпесу I та II типу. Низька цитотоксичність при терапевтичних концентраціях *in vitro* і значення, отримані за прогнозуванням середньосмертельної дози *in silico*

свідчать про потенціал цього агента для подальшої розробки противірусних лікарських засобів.

У четвертому розділі «Розробка складу та технології порошку нашкірного з S-етил 4-ацетамідобензенсульфонотіоатом» обґрунтовано доцільність застосування S-етил 4-ацетамідобензенсульфонотіоату (4-AAETS) як активного інгредієнта порошку для місцевого нанесення на шкіру. Мікробіологічні дослідження *in vitro* на музейних штаммах показали, що порошок із вмістом 1 % 4-AAETS демонструє високу антимікробну активність.

Раціональний склад включає цинку оксид як адсорбент із помірною протимікробною дією та крохмаль картопляний із тальком у рівних частках як гігроскопічні агенти, що сприяють регуляції вологості рани. Такий підхід свідчить про комплексне фармацевтичне мислення автора. Крім того, у роботі наведено методи ідентифікації 4-AAETS у лікарській формі за допомогою ІЧ-спектроскопії та рентгенофазного аналізу.

В п'ятому розділі «Обґрунтування складу та технології мазі для лікування гнійних ран» автором розроблено серію із 15 мазевих композицій із різним компонентним складом на основі S-етил 4-ацетамідобензенсульфонотіоату. Проведено *in vitro* дослідження антимікробної дії зразків на 25 мікроорганізмах, серед яких як музейні, так і клінічні штами бактерій і грибів. Найвищу активність продемонстрували мазі з 2% вмістом активної речовини на макрогольній основі. Досліджено реологічні властивості мазей і встановлено, що введення S-етил 4-ацетамідобензенсульфонотіоату підвищує структурно-механічні характеристики. Особливої уваги заслуговують результати оцінки тиксотропності та відновлюваності мазей з додаванням рицинової олії.

Водночас надмірна кількість пропіленгліколю негативно впливає на консистенцію готового засобу. Проведене порівняння антимікробної дії з комерційними препаратами свідчить про конкурентоспроможність створеної мазі «Часнофор».

Термічний аналіз підтвердив термічну стабільність компонентів та

відсутність взаємної хімічної несумісності в межах температурних інтервалів, необхідних для виготовлення мазі.

Окремим важливим науковим здобутком є розробка мазей, які демонструють синергізм між S-етил 4-ацетамідобензенсульфонотіоатом та рамноліпідними біосурфактантами, що дозволяє знижувати концентрацію активної речовини без втрати ефективності. Розробка таких складів має важливе значення для фармації, оскільки сприяє зниженню потенційної токсичності, зменшенню витрат на виробництво препарату та підвищенню його безпечності для пацієнтів.

Розроблено методи якісного й кількісного визначення діючої речовини в мазі з використанням ІЧ- та УФ-спектроскопії. Представлені дані свідчать про комплексний підхід до фармацевтичної розробки й високий рівень експериментального опрацювання теми.

В шостому розділі «Розробка складу протигерпетичних таблеток, що диспергуються в ротовій порожнині» обґрунтовано потребу у нових протигерпетичних засобах і розроблено таблетки, що диспергуються в ротовій порожнині на основі S-аліл 4-метакриламідобензенсульфонотіоату. Проведено підбір раціональних допоміжних речовин із чотирьох груп за функціональним призначенням, оптимізовано рецептуру за допомогою дисперсійного аналізу.

У роботі закладено наукові підвалини для подальшої розробки лікарських засобів, здійснено перші етапи досліджень, що охоплюють підбір раціональних лікарських форм, оцінку їхніх технологічних характеристик та аналіз терапевтичної ефективності.

Відзначу, що результати проведених досліджень за кожним розділом дисертації представлено на конференціях, опубліковані наукові статті та тези доповідей.

Дисертантом сформовано висновки, які є чіткі та належним чином аргументовані. Висновки обґрунтовані результатами дослідження та відповідають поставленим завданням.

У додатках до дисертації розміщені акти апробації результатів

дослідження у промислових і аптечних умовах та навчальному процесі, дисперсійний аналіз експериментальних даних при вивченні якісних факторів.

Дисертаційна робота в цілому справляє позитивне враження як за змістовим наповненням, так і за структурною побудовою. Суттєвих зауважень щодо наукового рівня, логіки викладу чи оформлення матеріалу не виявлено. Оприлюднені наукові публікації відображають основний зміст дисертації та її результати.

Дискусійні положення та зауваження до змісту дисертаційної роботи

Дисертаційна робота Фізер Л.В. заслуговує на позитивну оцінку, однак слід відмітити такі пропозиції та зауваження:

1. Автором докладно представлено опис та хід проведення експериментальних досліджень із зазначенням методології статистичної обробки даних. В той же час в таблицях № 4.7, 4.9, 5.4, 5.5, 5.7 не наведено статистичні результати досліджень.

2. В підрозділі 3.3.1 «Вивчення біологічної активності і токсичності S-етил 4-ацетамідобензенсульфонотіоату» доцільно обґрунтувати підходи до визначення активності сполуки при різних рН (7,0 ; 8,0; 8,8 тощо).

3. Варто зазначити, що в окремих фрагментах тексту трапляються незначні граматичні та стилістичні неточності, а також окремі невдалі мовні конструкції, які, однак, не знижують загального наукового рівня виконаної роботи.

Запитання:

1. Як відбувався процес введення до складу порошку ефірної олії м'яти перцевої?

2. Значний обсяг досліджень було проведено з метою дослідження мазі із вмістом рамноліпідів. На Вашу думку, м'які лікарські засоби із вмістом рамноліпідів мають перспективи впровадження?

3. При роботі із отриманими субстанціями, чи досліджували Ви термін придатності S-етил 4-ацетамідобензенсульфонотіоату та S-аліл 4-

метакриламідобензенсульфонотіоату?

Загалом результати дисертаційного дослідження викладено належною науковою мовою, матеріал представлений у логічній послідовності, дані експериментальних досліджень оформлені відповідним чином.

ВИСНОВОК

З усього вищенаведеного можна зробити висновок, що дисертаційна робота *Фізер Любов Віталіївни* є закінченою науковою роботою, має наукову новизну та практичне значення, виконана з дотриманням академічної доброчесності.

Дисертація *Фізер Любов Віталіївни* на тему «Синтез, властивості, біологічна активність тіосульфонатів та технології створення лікарських форм на їх основі» 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 КМУ від 12 січня 2022 року № 44, а *Фізер Любов Віталіївна* заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

ОФІЦІЙНИЙ ОПОНЕНТ

професор закладу вищої освіти
кафедри промислової технології ліків
та косметичних засобів,
Національного фармацевтичного
університету
д. фарм. н., професор

 Олександр КУХТЕНКО

Підпис д. фарм. н., проф. *Олександра КУХТЕНКО* засвідчую:

Начальник відділу кадрів НФаУ

 Орина ПРИСІЧ

