

ОТЗЫВ

официального оппонента
заведующей кафедрой управления и экономики фармации,
фармацевтической технологии и фармакогнозии федерального
государственного бюджетного образовательного учреждения высшего
образования "Оренбургский государственный медицинский университет"
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктора фармацевтических наук, доцента,
Шмыгаревой Анны Анатольевны
по диссертации Сафронюка Сергея Леонидовича на тему: «Разработка
методических подходов к анализу антимикробной активности лекарственных
веществ с использованием биолюминесцентных бактериальных тест-
объектов», представленной на соискание ученой степени кандидата
фармацевтических наук, по специальности
3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность выполненного исследования

Разработка новых методов анализа лекарственных веществ, направленных на контроль их качества, является одной из актуальных задач фармацевтической науки. Методы, позволяющие определять антимикробную активность лекарственных веществ, такие как диффузионные методы, методы разведения в плотной и жидкой питательной среде, представляют собой многостадийный, трудоемкий процесс его выполнения, характеризуются длительностью анализа и т.д.

В связи с этим, исследования Сафронюка С.Л., направленные на разработку методических подходов к анализу антимикробной активности лекарственных веществ с использованием биолюминесцентных бактериальных тест-объектов, являются одними из актуальных в области фармации. Биолюминесцентный анализ, лежащий в основе диссертационного исследования, зарекомендовал себя как высокочувствительный, экспрессный и экономичный подход, что подтверждает его широкое практическое применение в областях экологии, биологии и медицины.

7	№	75
листов	31	10 2022
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации тел./факс +7(846) 374-10-03		

Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность

В процессе решения поставленных задач, диссертантом Сафронюком С. Л. был получен ряд новых научных данных. Наиболее значимые результаты, обладающие научной новизной и имеющие практическую значимость, являются следующие результаты:

1) Впервые установлено, что штамм *P. leiognathi* Sh1 является перспективным тест-объектом для изучения антимикробной активности фармацевтических субстанций, а оценка 8-ми штаммов генно-инженерных люминесцентных тест-объектов на основе *E. coli* показала их применимость для определения механизмов антимикробной активности.

2) В результате изучения чувствительности тест-штамма *P. leiognathi* Sh1 к действию фармацевтических субстанций различных химических групп, было показано влияние структуры и физико-химических свойств исследованных субстанций на интенсивность бактериального свечения.

3) Впервые разработана методика определения антимикробного действия с использованием биолуминесцентного тест-штамма *P. leiognathi* Sh1, основанная на измерении биолуминесцентного индекса (БЛИ), а также проведена ее валидационная оценка.

4) Разработанная методика по изучению антимикробной активности лекарственных веществ с использованием природного биолуминесцентного штамма *P. leiognathi* Sh1 была испытана при скрининге антибактериальной активности 42-х направленно синтезированных производных NKV, а с использованием 8-ми штаммов lux-биосенсоров на основе *E. coli* определены механизмы их антимикробной активности.

Новизна результатов исследований подтверждается 2-мя патентами Украины – «Способ биотестирования веществ различной природы» и «Застосування N-циклоалкіл- або N-циклоалкаріл-2-[(8-R1-9-R2-10-R3-3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)тіо]ацетамідів як активної

основи лікарських препаратів протівірусної дії що до штамів *Influenza Virus* типів А та В».

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационное исследование выполнено с использованием современного сертифицированного оборудования и подтверждено качественным анализом статистических данных разработанных подходов. Положения и выводы подробно описаны и аргументированы с соблюдением четкой последовательности и логики, а также освещают все задачи, установленные автором по теме исследования.

Результаты диссертационной работы проходили апробацию на межвузовских, всероссийских, международных научно-практических конференциях состава, аспирантов, студентов и молодых ученых и др.

Значимость для науки и практики результатов диссертации, возможные конкретные пути их использования

Материалы диссертации по методам анализа ФС и производных NKV на основе природных и генно-инженерных люминесцентных бактерий нашли применение в учебном процессе и научно-исследовательской работе на кафедре медицинской и фармацевтической химии Института «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского», в научно-исследовательской работе ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени НБС — ННЦ РАН», АО «Алуштинский эфиромасличный совхоз-завод», на кафедре базисной и клинической фармакологии Института «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского» и Центральной научно-исследовательской лаборатории Института «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского».

Полученные автором результаты можно использовать для создания и внедрения новых методов биолюминесцентного анализа в фармацевтическую практику.

Оценка содержания диссертации

Диссертация С.Л. Сафронюка состоит из содержания, введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследования», 3 глав с описанием экспериментальных исследований и выводы к каждой, заключения, списка используемых сокращений и литературных источников, содержащий 267 источников, из которых 217 – на иностранных языках, и приложения. Общий объем работы составляет 180 страниц. Работа иллюстрирована 9 таблицами и 23 рисунками.

Введение диссертации содержит в себе всю основную информацию о проведенном исследовании: актуальности, цели, задачах, объектах, предмете, методах, разработанности, научных результатах, их новизне и достоверности, а также практической ценности и апробации.

Первая глава содержит всестороннее изучение материалов отечественных и зарубежных литературных источников об антимикробной активности веществ различной природы, биолюминесцентных тест-объектов и их применения в аналитических целях. Автор показал уровень изученности, определил проблематику темы и обосновал важность проведения диссертационного исследования.

Во второй главе описаны объекты и методы исследования.

В третьей главе изучены биологические и аналитические характеристики природных и генно-инженерных люминесцентных тест-объектов.

В четвертой главе проведена разработка и обоснование использования методики биолюминесцентного анализа для оценки антимикробной активности фармацевтических субстанций с использованием в качестве тест-объекта люминесцентного штамма *P. leiognathi* Sh1.

В пятой главе описаны результаты испытания разработанных методик при скрининге антибактериальной активности направленно синтезированных производных 2-((2-оксо-3-фенил-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хиназолин-6-ил)тио)уксусной кислоты (NKV) по влиянию на бактериальную биолюминесценцию штаммов *P. leiognathi* Sh1.

Главы, посвященные результатам и обсуждению исследования, содержат изложенные автором основные выводы.

В приложении представлены копии актов внедрения, патентов, а также таблица с морфо-культуральными свойствами выделенных светящихся микроорганизмов.

Выводы полностью соответствуют поставленным задачам.

По теме исследования автором диссертации опубликовано 25 печатных работ, из них 4 статьи в журналах, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, 1 статья в перечне ВАК по состоянию на 03.10.2014 Согласно письма Минобр науки РФ № 13-3869 от 02.10.2014, 1 статья в международных базах данных, получено 2 патента на изобретение.

Несмотря на общую положительную оценку диссертационной работы Сергея Леонидовича возникли некоторые вопросы и замечания:

1. Почему в качестве «эталонного» вещества при оценке аналитических свойств выделенных люминесцентных изолятов использован сульфат цинка?

2. Почему в исследования фармацевтических субстанции, а также в разработке методических подходов по оценке антимикробной активности лекарственных веществ использован биолюминесцентный штамм бактерий *P. leiognathi* Sh1, а не штамм *A. fischeri* F1 несмотря на то, что значения ЭК₅₀ гентамицина сульфата для обоих тест-штаммов отличается на величину около 0,15 мкг/мл?

3. С чем связано отсутствие выраженного антимикробного действия бензилпенициллина и цефтриаксона через 15 минут инкубации с тест-штамм *P. leiognathi* Sh1?

4. Почему в качестве величины $ЭК_{50}$ для группы сильные ингибиторы люминесценции выбрана концентрация равная 10 мкг/мл?

5. Возможно ли проведение анализа антимикробной активности лекарственных веществ не растворимых в воде и выявления механизмов их антимикробной активности, в случае обнаружения такого вида биоактивности, с использованием разработанной методики?

6. В диссертационной работе имеются отдельные опечатки и стилистические погрешности

Указанные замечания не принципиальны, вопросы носят уточняющий характер и не снижают актуальности и ценности диссертационной работы

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат и диссертационная работа Сафронюка Сергея Леонидовича соответствует паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия по пункту 3 – «Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления», а также пунктам 1 и 4 паспорта научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Заключение о соответствии диссертации критериям «Положения о присуждении ученых степеней»

Таким образом, диссертационная работа Сафронюка Сергея Леонидовича на тему: «Разработка методических подходов к анализу антимикробной активности лекарственных веществ с использованием биолюминесцентных бактериальных тест-объектов», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по

специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, является
завершенной научной квалификационной работой, в которой содержится
решение важной научной задачи современной фармацевтической науки по
изучению антимикробной активности лекарственных веществ.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и
достоверности полученных результатов диссертационная работа
Сафронюка Сергея Леонидовича соответствует требованиям п. 9 «Положения
о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением
Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. постановления
Правительства РФ от 20.03.2021 № 426), предъявляемым к кандидатским
диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени
кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2.
Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент

Заведующая кафедрой управления и экономики фармации,
фармацевтической технологии и фармакогнозии
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
"Оренбургский государственный медицинский университет"
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
460000, Российская Федерация, Оренбургская область
г. Оренбург, ул. Советская 6
Тел: 8 (3532) 50-06-06, доб 520, e-mail a.shmygareva@mail.ru
доктор фармацевтических наук,
(14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия),
доцент

Шмыгарева Анна Анатольевна

«25» октября 2022 г.

Личную подпись Шмыгаревой А.А.
заверяю
и.о. начальника отдела кадров Шишканов Д.Г.

С отзывом ознакомлен. 31.10.2022г