

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора біологічних наук, професора Кривцової Марини Валеріївни на дисертаційну роботу Настенка Володимира Борисовича «Антимікробні властивості четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію в умовах експерименту», подану до захисту в спеціалізовану вчену раду ДФ 05.600.147, що створена згідно до наказу ректора ЗВО Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова № 88 від 30 травня 2025 року на підставі рішення Вченої ради ВНМУ ім. М.І. Пирогова № 10 від 29 травня 2025 року з правом прийняття до розгляду та проведення захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія», за спеціальністю 091 «Біологія».

1. Актуальність теми дисертаційної роботи.

Проблема поширення та еволюції антибіотикорезистентності серед різних груп мікроорганізмів залишається однією з найсерйозніших загроз сучасній біомедицині та системі охорони здоров'я. В останні десятиліття спостерігається неухильне зростання кількості ізолятів бактерій, грибів та протозойних патогенів, стійких до основних груп антибіотиків і антисептиків. Особливу небезпеку становлять мультирезистентні штами збудників госпітальних інфекцій, які здатні поширюватися серед пацієнтів з ослабленою імунною системою та призводити до тяжких ускладнень, збільшення летальності й економічних витрат на лікування.

Використання традиційних антисептичних засобів у багатьох випадках вже не забезпечує належного ефекту через формування резистентних популяцій, передачу генів стійкості, а також через складність руйнування біоплівки, у складі яких мікроорганізми демонструють підвищену стійкість до зовнішніх впливів. Водночас, поява нових викликів, пов'язаних із пандеміями, поширенням нозокоміальних інфекцій, активним використанням інвазивних медичних

процедур і пристроїв, підвищує вимоги до ефективності, безпечності та спектра дії антисептичних препаратів.

У цьому контексті пошук, синтез та детальне вивчення нових класів сполук із доведеною антимікробною активністю набувають особливого значення. Четвертинні солі арилоксиетокси діалкіл амонію, завдяки своїй унікальній хімічній структурі та можливості модифікації, відкривають перспективи для створення ефективних антисептиків нового покоління, здатних діяти не лише на широкий спектр патогенів, а й подолати резистентність та зменшити ризик побічних ефектів для організму людини.

Дисертаційна робота Настенка Володимира Борисовича присвячена ґрунтовному дослідженню антимікробної активності четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію як нової групи потенційних протимікробних препаратів. Висока актуальність обраної теми зумовлена не лише гостротою проблеми антибіотикорезистентності, але й необхідністю впровадження у клінічну практику засобів, що поєднують широкий спектр дії з низькою токсичністю та здатністю долати резистентність, зокрема серед госпітальних ізолятів.

2. Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача.

Дисертаційна робота Настенка Володимира Борисовича є цілком завершеною науково-дослідною працею, що виконана на належному науковому рівні й відзначається належною структурованістю, логічністю та відповідністю сучасним вимогам до таких досліджень. Робота має важливе значення для розвитку мікробіології, що підтверджується глибоким і всебічним вивченням актуальних аспектів антимікробної активності нових хімічних сполук, їх потенціалу у вирішенні проблеми резистентності мікроорганізмів.

За результатами виконаної дисертації автором опубліковано 15 наукових праць, серед яких: 1 стаття у фаховому науковому виданні України, що включене

до міжнародної наукометричної бази Web of Science; 3 статті у фахових виданнях України категорії Б; 1 стаття у нефаховому науковому виданні; 9 тез доповідей у матеріалах науково-практичних конференцій. Кількість і тип наукових публікацій дисертанта повністю відповідають 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.

3. Новизна представлених теоретичних та/або експериментальних результатів проведених здобувачем досліджень, повнота викладу в опублікованих працях.

У дисертаційній роботі Настенка Володимира Борисовича вперше проведено комплексне дослідження антимікробної активності четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію як потенційних протимікробних засобів. У роботі отримано нові дані щодо спектра та рівня антимікробної активності цих сполук відносно широкого кола мікроорганізмів, включаючи референтні та клінічні ізоляти бактерій, грибів роду *Candida* та *Aspergillus*, а також амеб роду *Acanthamoeba*.

У ході дослідження застосовано експериментальні підходи для оцінки фармакокінетичних властивостей сполук, що дозволило провести детальний аналіз антимікробної дії найбільш перспективних похідних. Окрему увагу було приділено дослідженню цитотоксичності випробуваних речовин на культурі клітин, що забезпечило комплексну оцінку їхньої безпечності.

У межах роботи уточнено вплив структурних особливостей сполук на спектр і рівень їх біологічної активності. Запропоновано науково обґрунтований підхід до скринінгу й відбору лідерних сполук, які можуть бути рекомендовані для подальшого вивчення та потенційного застосування у біології та медицині.

Обґрунтовано перспективність використання четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію як бази для створення нових протимікробних препаратів з широким спектром дії та потенціалом подолання резистентності збудників.

Отримані в дисертаційній роботі результати повністю та послідовно висвітлені у наукових публікаціях автора, які містять детальний опис проведених експериментів, обґрунтування вибору методик, статистичний аналіз отриманих даних, наукові висновки й пропозиції щодо подальшого використання досліджених сполук. Така повнота викладу забезпечує визнання результатів у науковому середовищі та їх інтеграцію у майбутні розробки у сфері біології та медицини.

4. Наукова обґрунтованість та відповідність темі дисертації отриманих результатів, наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

У дисертаційному дослідженні Настенка Володимира Борисовича для вирішення поставлених завдань використано комплекс сучасних експериментальних та аналітичних методів, що забезпечило високу наукову обґрунтованість і достовірність отриманих результатів. Дослідження базується на поєднанні класичних мікробіологічних, біохімічних та молекулярних методик з використанням широкого спектра тест-об'єктів – референтних штамів, клінічних ізолятів бактерій, грибів та амеб, що відображає актуальність і практичну спрямованість роботи.

У ході експериментальної частини виконано послідовний скринінг 52 нових четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію. Дослідження показали, що низка сполук (зокрема, Кс22, Кс14, Кр18, Кр19) характеризується вираженою антимікробною активністю, що підтверджено низькими мінімальними інгібуючими концентраціями (МІК) щодо широкого спектра патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів: для *S. aureus* – 1,17-1,56 мкг/мл, для MRSA – 1,95-3,9

мкг/мл, для *Candida spp.* – 2-12 мкг/мл. Окрім того, встановлено пролонгований постантибіотичний ефект, який для *S. aureus* сягав 4 годин, для *E. faecalis* – 2,5-3 годин, для *C. albicans* – 3 години.

Особливу увагу приділено визначенню цитотоксичності досліджених речовин на культурі клітин НЕР-2, що дало змогу виділити сполуки з оптимальним співвідношенням ефективності та безпечності. За результатами дослідження виділені сполуки продемонстрували нижчу токсичність у порівнянні із сучасними антисептиками при збереженні високого рівня антимікробної дії. Це дає підстави розглядати їх як перспективні агенти для подальшої розробки протимікробних препаратів.

Усі експериментальні результати піддано ґрунтовному статистичному аналізу із застосуванням сучасного ліцензійного програмного забезпечення, що гарантує об'єктивність та достовірність інтерпретації даних. Зіставлення отриманих результатів із сучасними літературними джерелами дозволило сформулювати й обґрунтувати наукові положення, висновки та практичні рекомендації, які повністю відповідають темі, меті та завданням дослідження.

Загалом, дисертаційна робота є цілісною, логічно структурованою і науково обґрунтованою. Її результати мають як теоретичне, так і практичне значення для розвитку сучасної біології, медицини й фармації, зокрема у сфері пошуку нових ефективних і безпечних протимікробних засобів.

5. Рівень виконання поставленого наукового завдання та оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності.

Дисертаційне дослідження Настенка Володимира Борисовича виконано на достатній кількості експериментального матеріалу із залученням широкого спектра штамів мікроорганізмів, що забезпечило наукову репрезентативність і достовірність результатів. Дисертантом повністю реалізовано всі поставлені

завдання, які відповідали темі дисертації. Зокрема, було здійснено комплексне вивчення антимікробної активності та цитотоксичності четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію, визначено спектр і рівень їхньої дії щодо різних груп мікроорганізмів, включаючи мультирезистентні клінічні ізоляти бактерій, грибів та амеб.

У роботі детально проаналізовано параметри постантибіотичного ефекту, співвідношення активності та безпечності досліджених сполук, а також проведено їх порівняльну характеристику із сучасними протимікробними засобами. На основі отриманих результатів сформульовано практичні рекомендації щодо перспектив використання найбільш ефективних і безпечних сполук для подальших доклінічних досліджень та розробки нових протимікробних препаратів.

Дисертант продемонстрував високий рівень володіння методологією експериментального наукового дослідження, глибоке знання сучасних підходів до аналізу антимікробної активності, інтерпретації отриманих даних, а також уміння формулювати наукові висновки та рекомендації, що свідчить про його готовність до самостійної наукової роботи.

6. Теоретичне і практичне значення результатів дослідження

Результати дисертаційної роботи Настенка Володимира Борисовича мають суттєве теоретичне та практичне значення для розвитку сучасної мікробіології, біології та медицини. Отримані експериментальні дані розширюють уявлення про антимікробну активність арил ациклічних аміноспиртів, їхній спектр дії щодо різних груп патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, зокрема мультирезистентних ізолятів.

У теоретичному плані дисертація поглиблює сучасні знання про зв'язок між структурними особливостями, механізмами антимікробної дії нових сполук та їх біологічною активністю. Обґрунтовано підходи до визначення пролонгованої

дії, співвідношення ефективності і безпечності, що можуть бути використані у подальших дослідженнях у галузі біології, фармації та медицини.

Практичне значення роботи полягає у виокремленні групи сполук з вираженою антимікробною активністю та низькою цитотоксичністю, які за низькою параметрів не поступаються або перевищують сучасні референтні препарати, а також можуть бути рекомендовані для подальших доклінічних досліджень і розробки нових протимікробних засобів. Результати впроваджено у навчальний процес і наукову діяльність кафедр мікробіології, що сприяє вдосконаленню підготовки фахівців та впровадженню сучасних підходів до протимікробної терапії.

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова «Дослідження біологічних властивостей збудників інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги, та розробка засобів боротьби з ними» (№ 0123U101070) та кафедри мікробіології та паразитології з основами імунології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця «Дослідження протимікробної активності новосинтезованих похідних четвертинних солей арил ациклічних аміноспиртів» (№ 0120U101354).

7. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому

Дисертаційне дослідження викладено на 257 сторінках комп'ютерного тексту (основний текст на 190 сторінках), ілюстровано 44 рисунками та двома таблицями. Робота має класичну структуру – вступ, огляд літератури, матеріали та методи, шість розділів власних досліджень, аналіз і узагальнення результатів, висновки, практичні рекомендації та додатки. Мета, наукова й практична цінність, публікації й апробація результатів чітко сформульовані й відображені в анотації, що подана українською та англійською мовами. Список використаних джерел містить 276 найменувань (260 джерел латиницею та 16 кирилицею).

У вступі автор окреслює актуальність досліджуваної проблеми, чітко формулює мету й п'ять завдань дослідження, визначає об'єкт, предмет, наукову новизну, теоретичне й практичне значення роботи. Розділ «Огляд літератури» (складається з 5 підрозділів) містить сучасний аналіз проблеми, особливості антимікробної резистентності, властивостей четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію, огляд сучасних підходів до подолання стійкості мікроорганізмів.

Розділ «Матеріали і методи дослідження» містить 9 підрозділів, в яких наведено детальний опис синтезу сполук, характеристику штамів, використані методики визначення антимікробної активності, аналізу постантибіотичного ефекту, цитотоксичності, а також опис статистичних підходів.

У трьох розділах власних досліджень послідовно викладено результати первинного скринінгу антимікробної активності, оцінку пролонгованої дії, порівняльні дані щодо цитотоксичності та антимікробної ефективності досліджених сполук, у тому числі відносно референтних препаратів та клінічних ізолятів. Окремо представлено оцінку ефективності щодо грибів і амеб.

РОЗДІЛ 3 АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ЧЕТВЕРТИННИХ СОЛЕЙ АРИЛОКСИЕТОКСИ ДІАЛКІЛ АМОНІЮ містить 7 підрозділів та ілюстрований 19 рисунками й присвячений антимікробному скринінгу досліджуваних сполук та порівняння їх активності у порівнянні з антибіотиками та антисептиками.

РОЗДІЛ 4 ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ ЧЕТВЕРТИННИХ СОЛЕЙ АРИЛОКСИЕТОКСИ ДІАЛКІЛ АМОНІЮ З ЕУКАРІОТИЧНИМИ МІКРООРГАНІЗМАМИ складається з двох підрозділів, містить 16 рисунків та висвітлює результати скринінгу антимікотичної та антипротозойної активності досліджуваних сполук.

РОЗДІЛ 5 ФАРМАКОЛОГІЧНА ОЦІНКА ЧЕТВЕРТИННИХ СОЛЕЙ АРИЛОКСИЕТОКСИ ДІАЛКІЛ АМОНІЮ IN VITRO містить таблицю та 5 рисунків, складається з двох підрозділів, які присвячені оцінці фармакодинамічних властивостей четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію та дослідженню цитотоксичності четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію.

У розділі «Аналіз і узагальнення результатів дослідження» наведено порівняння отриманих даних з літературними джерелами, виділено новизну, обґрунтовано практичну значущість і перспективи використання сполук.

Висновки чітко, логічно і послідовно завершують структуру дисертації, відповідають сформульованій меті та завданням, дають вичерпну картину виконаного дослідження.

8. Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці

Дисертаційне дослідження Настенка Володимира Борисовича має значну практичну цінність. Отримані результати щодо антимікробної активності четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію, їхньої безпечності та спектра дії дозволяють рекомендувати найбільш ефективні сполуки для подальших доклінічних досліджень і розробки нових протимікробних засобів для медицини, стоматології, лабораторної діагностики, ветеринарної практики. Застосування виділених сполук може бути доцільним для профілактики та лікування інфекцій, спричинених мультирезистентними мікроорганізмами, а також для обробки медичних виробів з метою попередження розвитку внутрішньолікарняних інфекцій.

Результати дослідження вже використано у навчальному процесі та науковій діяльності профільних кафедр мікробіології, що сприяє підвищенню

рівня підготовки спеціалістів і впровадженню сучасних підходів до протимікробної терапії.

9. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача

1. Під час аналізу дисертації виявлено окремі незначні граматичні та пунктуаційні помилки, які не впливають на наукову цінність і цілісність роботи. Оформлення дисертації в цілому відповідає сучасним вимогам до наукових праць такого рівня. Доцільним було у ході скринінгу досліджуваних сполук вивчити їх антибіоплівкотвірну активність з метою розширення уявлень щодо механізму їх дії.

2. Текст дисертації написаний державною українською мовою, витримано у науковому стилі, логічно структурований, із чітко аргументованими науковими положеннями та висновками. Висновки базуються на об'єктивних і достовірних експериментальних даних. Автор продемонстрував високий рівень володіння методологією сучасних експериментальних досліджень у галузі біології та мікробіології, аргументує вибір методик і підходів, адекватно інтерпретує отримані результати. Принципових зауважень до дисертаційної роботи немає. У ході наукової дискусії цікаво почути відповіді здобувача на наступні питання:

1. Які основні переваги четвертинних солей арилоксиетокси діалкіламонію порівняно з класичними протимікробними препаратами в контексті боротьби з мультирезистентними мікроорганізмами?

2. Чи розглядали Ви питання можливості формування резистентності до запропонованих сполук у подальших дослідженнях?

3. Чи є дані щодо антибіоплівкотвірної активності досліджуваних сполук?

4. Які додаткові дослідження, на Вашу думку, необхідні для переходу від доклінічного до клінічного етапу випробувань нових сполук, і на які критерії

ефективності та безпечності Ви орієнтувалися б при плануванні таких досліджень?

10. Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності

У дисертаційному дослідженні та матеріалах, опублікованих за темою дисертації Настенка Володимира Борисовича, порушень академічної доброчесності не виявлено. Матеріали дисертації пройшли перевірку ліцензійним програмним забезпеченням Strike Plagiarism, яка підтвердила належний рівень оригінальності тексту. Список використаної літератури оформлений відповідно до встановлених вимог, усі запозичення супроводжуються коректними посиланнями на відповідні джерела.

11. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертаційна робота Настенка Володимира Борисовича на тему «Антимікробні властивості четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію в умовах експерименту», представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія», є самостійною, завершеною науковою працею, яка повністю розкриває поставлені завдання та вирішує актуальну проблему пошуку нових ефективних протимікробних засобів для подолання резистентності мікроорганізмів.

За актуальністю теми, рівнем наукової новизни, методологією дослідження, достовірністю отриманих результатів, змістом, обґрунтованістю результатів, висновків і практичних рекомендацій, а також теоретичним та практичним значенням дисертаційна робота Настенка Володимира Борисовича повністю 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 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами КМ № 341 від 21 березня 2022 р., № 502 від 19 травня 2023 р. та № 507 від 3 травня 2024 р.), і оформлена відповідно до наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації». Дисертант Настенко Володимир Борисович – заслуговує на присудження ступеня доктора філософії.

Офіційний опонент:

завідувачка кафедри клініко-лабораторної
та морфофункціональної діагностики
стоматологічного факультету ДВНЗ
«Ужгородський національний університет»
доктор біологічних наук, професор

Марина КРИВЦОВА