

«УТВЕРЖДАЮ»



Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарева»
доктор технических наук, профессор

П. В. Сенин

2021 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Национальный исследовательский
Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева»
по диссертационной работе «Влияние новых абиотических
факторов – производных замещенных аминокислот – на
некоторые условно–патогенные микроорганизмы»,

выполненной Массейкиной Алсой Александровной на кафедре иммунологии,
микробиологии и вирусологии Медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им.
Н. П. Огарева» Министерства науки и высшего образования РФ.

В 2015 г. Масейкина Алена Александровна с отличием окончила ФГБОУ
ВПО «МГПИ им. М. Е. Евсевьева» по специальности 050102 Биология с
дополнительной специальностью 050101 Химия. В период подготовки
диссертации Масейкина Алена Александровна обучалась в аспирантуре при
ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». Диплом об окончании аспирантуры выдан
в 2020 г. ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». С ноября 2020 г. по настоящее
время старший методист в методическом отделе технической направленности
ФГБОУ ДО «Федеральный центр дополнительного образования и организации
отдыха и оздоровления детей».

Научный руководитель: Степаненко Ирина Семеновна – доктор
медицинских наук (14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология),
доцент, является профессором кафедры иммунологии, микробиологии и
вирусологии ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарёва».

По результатам обсуждения диссертации принято следующее **заключение:**

АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ

Противомикробные препараты играют важную роль в лечении инфекционных заболеваний. Они несут ответственность за борьбу с инфекциями во всем мире и снижение заболеваемости и смертности в этой нозологии. Однако всякий раз, когда вводились новые противомикробные препараты, у прокариотических микроорганизмов со временем развивалась резистентность. Актуальность выбранной темы обусловлена очевидной необходимостью создания и исследования особенностей действия новых антимикробных агентов, имеющих высокий противомикробный потенциал и, в тоже время, обладающих низкой токсичностью по отношению к макроорганизму. Цель диссертационной работы анализ антибактериального потенциала нового класса синтетических соединений – хлорсодержащих производных замещенных аминокислот была достигнута, а все необходимые задачи были решены.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА

Впервые охарактеризована по антимикробному действию новая группа из двенадцати монохлорацетатов замещенных 5-,6-,7-аминокислот.

Показано, что исследуемые соединения оказывают противомикробное действие на исследованные тест-штаммы *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Staphylococcus aureus* 43300 ATCC (MRSA), *Escherichia coli* 25922 ATCC, *Pseudomonas aeruginosa* 27853 ATCC, *Streptococcus pyogenes* 19615 ATCC и опытные штаммы (n=153) *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *E.coli*, *P.aeruginosa* в различных минимальных подавляющих концентрациях (МПК).

Впервые получены данные о высокой активности четырех хлорсодержащих производных замещенных 5-,6-,7-аминокислот, превышающей активность препаратов сравнения бензалкония хлорида, диоксилина, хлоргексидина, нитрофурантоина и фосфомицина.

Впервые показано воздействие исследуемых соединений на способность клеточной стенки бактерий поглощать кристаллический фиолетовый и дозозависимое изменение проницаемости клеточной стенки *S.aureus* ATCC 6538-P и *E.coli* ATCC 25922 в присутствии соединений с лабораторными шифрами T1, T4, T7 и T12.

Впервые установлен тип противомикробного действия испытуемых

соединений с использованием классической методики определения и на основе вычисления коэффициента оптической плотности культуральной среды в ходе культивирования микроорганизмов с противомикробными соединениями в жидкой питательной среде, с применением нового способа определения типа противомикробного действия, разработанного в ходе экспериментального исследования.

Впервые исследованы мутагенные свойства тестируемых соединений *in vitro* и влияние исследуемых соединений – монохлорацетатов замещенных 5-, 6-, 7-аминоиндолов на ДНК прокариотической клетки и установлено отсутствие мутагенных свойств соединений с лабораторными шифрами Т4, Т7, Т12 и дозозависимый ДНК-повреждающий эффект соединений с лабораторными шифрами Т1 и Т12.

Полученные данные будут использованы в дальнейшем для экспериментальных исследований, а также научного и практического обоснования применения исследуемой группы хлорсодержащих соединений в качестве противомикробных препаратов.

Данные представленной работы позволяют расширить имеющиеся представления о соединениях, обладающих противомикробной активностью, как в микробиологии, так и в фармакологии лекарственных средств.

Положения, выносимые на защиту:

1. Разработанные в ходе исследования новые хлорзамещенные 5-,6-,7-аминоиндолы обладают антимикробной активностью (с МПК = 0,98 - 1000 мг/л), превышающей таковую препаратов сравнения бензалкония хлорида, диоксидина, хлоргексидина, нитрофурантоина и фосфомицина, в отношении условно-патогенных микроорганизмов рабочей коллекции.

2. Разработанные соединения 2-хлор-*N*-(2,3-диметил-1*H*-индол-7-ил)ацетамид (лабораторный шифр Т1), 2-хлор-*N*-(5-метокси-2,3-диметил-1*H*-индол-6-ил)ацетамид (лабораторный шифр Т4), 2-хлор-*N*-(1,2,3-триметил-1*H*-индол-6-ил)ацетамид (лабораторный шифр Т7), монохлорацетат 2,3-диметил-1*H*-индол-7-аммония (лабораторный шифр Т12) вызывают морфологические изменения микробных клеток рабочей коллекции (*E. coli*, *S. aureus* и *P. aeruginosa*), такие как увеличение шероховатостей клеточной стенки, разрушение, набухание и лизис клеток.

3. Разработанный способ определения антимикробного действия, основанный на вычислении коэффициента оптической плотности культуральной среды в ходе культивирования микроорганизмов с антимикробными соединениями в жидкой питательной среде, позволяет подтвердить бактерицидное действие соединений Т1, Т4, Т7 и Т12.

4. Разработанные соединения Т4 и Т7 характеризуются отсутствием

генотоксичности и мутагенности; соединение T1 проявляет ДНК-повреждающий эффект и дозозависимую мутагенность; соединение T12 не обладает мутагенной активностью, но проявляет дозозависимый ДНК-повреждающий эффект.

ОБОСНОВАННОСТЬ И ДОСТОВЕРНОСТЬ НАУЧНЫХ ПОЛОЖЕНИЙ, ВЫВОДОВ И РЕКОМЕНДАЦИЙ

Достоверность результатов подтверждена большим количеством биологических повторов экспериментов, их верификацией при разнообразном тестировании с привлечением целого арсенала современных методов микробиологии, характеризующихся высокой специфичностью и воспроизводимостью и выполненными на современном оборудовании. Экспериментальный материал изложен последовательно, подтвержден иллюстрациями. Результаты экспериментов статистически достоверны. Выносимые на защиту положения диссертации опубликованы в рецензируемых ведущих отечественных и зарубежных журналах, доложены на конференциях. Результаты исследований подтверждены тремя патентами РФ на изобретение и один патент РФ на полезную модель.

ЛИЧНОЕ УЧАСТИЕ СОИСКАТЕЛЯ В РАЗРАБОТКЕ ПРОБЛЕМЫ

Основная часть работы выполнена на кафедре иммунологии, микробиологии и вирусологии Медицинского института ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева». Масейкина Алена Александровна участвовала во всех этапах диссертационного исследования, самостоятельно написала рукопись диссертации и автореферат, принимала основное участие в подготовке научных публикаций. Автор диссертации вместе с научным руководителем разработал главные направления научного исследования, сформулировал цель, изложил задачи проведенной работы.

ПОЛНОТА ОПУБЛИКОВАНИЯ В ПЕЧАТИ

Научные положения работы представлены в 11 научных публикациях, из них 4 – в научных изданиях, входящих в базы цитирования Scopus/Wos и перечень ВАК. По результатам работы получены 3 патента Российской Федерации на изобретения 1 патент на полезную модель Российской Федерации.

Статьи в научных изданиях, входящих в базы цитирования Scopus/Wos и перечень ВАК

1. Stepanenko, I.S. A new group of compounds derived from 4-, 5-, 6- and 7-aminoindoles with antimicrobial activity / I.S. Stepanenko, S.A. Yamashkin, Y.A. Kostina, **A.A. Batarsheva**, M.A. Mironov // Research Results in Pharmacology. – 2018. – Vol. 4. – Issue 3. – P.17-26. ВАК, Scopus SJR = 0,19, Цит. 13.

2. Степаненко, И.С. Изучение типа противомикробного действия новых соединений, синтезированных на основе замещенных бензаминдолов / И.С. Степаненко, С.А. Ямашкин, Ю.А. Костина, Е.Д. Слестников, **А.А. Батаршева** // Вестн. Рос. гос. мед. универ. (Вестник РГМУ). – 2019. – №2. – С.64-71. ВАК, WoS, Scopus, SJR = 0,16, Цит. 2.

3. **Масейкина, А.А.** Влияние на генетический аппарат микробной клетки соединений на основе замещенных 1H-индол-4-,5-,6-,7-иламинов / **А.А. Масейкина**, И.С. Степаненко, С.А. Ямашкин, Е.Д. Слестников // Инф. и иммун. – 2021. – Т.11. – №4. – С. 663-670. ВАК, WoS, Scopus, SJR = 0,2, Цит. 1.

Патенты

1. Пат. РФ 2687264, МПК G01N 33/15, C12Q 1/02. Способ определения типа противомикробного действия соединения, обладающего антимикробной активностью / И. С. Степаненко, С. А. Ямашкин, Ю. А. Костина, Е.Д. Слестников, Н.В. Жукова, **А.А. Батаршева**; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва». – № 2018128308; заявл. 02.08.2018; опубл. 13.05.2019; Бюлл. № 14 – 14 с.

2. Пат. РФ 2721833, МПК C07D 209/40. Способ получения трифторацетатов замещенных 6-аминоиндолов, обладающих противомикробным действием / И.С. Степаненко, С.А. Ямашкин, **А.А. Батаршева**, Е.Д. Слестников; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва». – № 2019125299; заявл. 09.08.2019; опубл. 22.05.2020; Бюлл. № 15 – 9 с.

3. Пат. РФ 2724605, МПК C07D 209/40. Способ получения монохлорацетатов замещенных 5-,6-,7-аминоиндолов, обладающих противомикробным действием / И.С. Степаненко, С.А. Ямашкин, **А.А.**

Батаршева, Е.Д. Сладников; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва». – № 2019125333; заявл. 09.08.2019; опубл. 25.06.2020; Бюлл. № 18 – 9 с.

4. Патент на полезную модель РФ 209073, МПК H01M 8/16. Микробный топливный элемент / Н. В. Масейкин, **А. А. Масейкина**, И. С. Степаненко; заявитель и патентообладатель Масейкин Н. В., **Масейкина А. А.** – № 2021117491; заявл. 16.06.2021; опубл. 01.02.2022; Бюлл. № 4 – 12 с.

Публикации в иных изданиях

1. **Батаршева, А. А.** Исследование микрофлоры брюхоногих моллюсков / **А.А. Батаршева**, И.С. Степаненко // Сбор. конк. проект. VI Междунар. интеллект. конк. студ., аспирант., доктор., Россия, Москва, 15 мая 2017 г. / Discovery Science: University – 2017 – 2017. – С.31-39.

2. Кидяева, К.А. Исследование антибиотикочувствительности микроорганизмов, выделенных из зева и с кожи рук у студентов Медицинского института / К.А. Кидяева, **А.А. Батаршева**, Г.А. Солодовникова, И.С. Степаненко // Мат. науч. конф. Саранск, 6-13 декабря 2017 г. ч.2. Естественные науки. XLVI Огарёвские чтения. – 2018. – С. 339-343.

3. Степаненко, И.С. Противомикробная активность соединений на основе замещенных 4-,5-,6-,7-аминоиндоллов / И.С. Степаненко, С.А. Ямашкин, Ю.А. Костина, **А.А. Батаршева**, Е.Д. Сладников // XXI Кашкинские чтения. Санкт-Петербург, 6-8 июня 2018 г. Пробл. мед. микол. – 2018. – Т.20. – №2. — С.117.

4. **Батаршева, А. А.** Выделение *Staphylococcus species* со слизистой носа и исследование антибиотикочувствительности выделенных штаммов / **А.А. Батаршева**, Ю.А. Костина, Е.Д. Сладников, И.С. Степаненко // Огарёв-online. – 2018. – №4 (109). – С.1-7. РИНЦ, Цит. 0.

5. **Батаршева, А.А.** Микробная электростанция / **А.А. Батаршева**, Н.В. Масейкин // Мат. Всерос. научн. конф. «Человек и окружающая среда: экология, здоровье, образование», Саранск, 30-31 мая 2019 г.– 2019. – С.129-154.

6. **Масейкина, А.А.** Монохлорацетаты замещенных 5-,6-,7-аминоиндоллов, обладающие противомикробным действием / А.А. Масейкина, И.С. Степаненко, С.А. Ямашкин // XXIII Кашкинские чтения. Санкт-Петербург, 9-11 июня 2020 г. Пробл. мед. микол. – 2020. – Т.22. – №3. – С.102.

7. Степаненко, И.С. Изучение биологической активности калиевых солей замещенных пирроло[2,3-f]- и [3,2-f]хинолинкарбоновых кислот / И.С. Степаненко, С.А. Ямашкин, Н.В. Жукова, Е.Д. Сладников, **А.А. Масейкина** // Совр. пробл. науки и образ.. – 2020. – №6. ВАК, РИНЦ, ИФ- 0,421. Цит. 1.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ДИССЕРТАЦИИ ДОЛОЖЕНЫ И ОБСУЖДЕНЫ НА:

Материалы диссертации представлены на Всероссийской научной конференции с международным участием «Микробиология: вопросы экологии, физиологии, биотехнологии» (Москва, 2019), ежегодном Всероссийском конгрессе по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии «Кашкинские чтения» (Санкт-Петербург, 2018, 2020), ежегодных научных конференциях «Огарёвские чтения» ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарёва» (Саранск, 2016; 2017; 2018; 2019; 2020), межрегиональной научно-практической конференции «Клинические лабораторные исследования: современные стандарты, перспективы развития» (Рязань, 2020).

Опубликованные работы и содержание автореферата полностью соответствуют тексту диссертационной работы.

Первичная документация проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию.

Диссертационное исследование «Влияние новых абиотических факторов – производных замещенных аминокислот – на некоторые условно-патогенные микроорганизмы» Масейкиной Алены Александровны является завершённой научно-квалификационной работой на актуальную тему, имеющую существенное значение для микробиологии. Работа соответствует всем требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемых к кандидатским диссертациям.

Диссертация соответствует отрасли науки «биологические науки» и паспорту специальности 1.5.11 Микробиология (п.7 «Экология микробных сообществ, сапрофитных, патогенных, условно-патогенных микроорганизмов в окружающей среде. Абиотические и биотические факторы».).

Диссертация Масейкиной Алены Александровны «Влияние новых абиотических факторов – производных замещенных аминокислот – на некоторые условно–патогенные микроорганизмы» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.05.11 – Микробиология.

Заключение принято на совместном заседании кафедр биотехнологии, биоинженерии и биохимии Биологического факультета и иммунологии, микробиологии и вирусологии Медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарёва».

Присутствовало на заседании:


19 человек, в том числе 11 человек, имеющих ученую степень кандидатов биологических и медицинских наук и 5 человек, имеющих ученую степень докторов биологических и медицинских наук.

Результаты голосования:

За – 19 человек, против – нет, воздержавшихся – нет.

Протокол № от « 6 » / 15.06 2021 года.

Председатель заседания:
заведующий кафедрой биотехнологии,
биоинженерии и биохимии
Биологического факультета
ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарева»,
доктор биологических наук, профессор


В. В. Ревин

Секретарь заседания:
доцент кафедры иммунологии,
микробиологии и вирусологии
Медицинского института
ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарева»
кандидат медицинских наук


Ю. А. Костина

Подписи заверяю:

Ученый секретарь ученого совета
ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарева»,
профессор




М. М. Гудов