

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ
(ФГБОУ ВО БГМУ МИНЗДРАВА РОССИИ)

ул. Ленина, 3, г. Уфа, Республика Башкортостан,
Российская Федерация, 450008
тел. (347) 272-41-73, факс 272-37-51
[http:// www.bashgmu.ru](http://www.bashgmu.ru), E-mail: rectorat@bashgmu.ru

ОКПО 01963597 ОГРН 1020202561136
ИНН 0274023088 КПП 027401001

18.11.2022 № 4118-01

На № _____ от _____

8	№	77
ЛИСТОВ	21	11 2022
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации тел./факс +7(846) 374-10-03		



УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной и
международной деятельности
федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Башкирский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
д.ф.-м.н., профессор
Ахатов И.Ш.

18 » 11 2022 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической ценности диссертационной работы Сафронюк 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 в диссертационный совет 21.2.061.06, созданный на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Актуальность темы

Одной из актуальных задач фармацевтической науки является поиск и разработка новых методов оценки лекарственных средств, безопасных для человека и окружающей среды, обладающих эффективным целевым

действием. Одной из прикладных задач в фармации является разработка новых методов, направленных на контроль качества лекарственных средств, в том числе антибиотиков.

Одним из новых подходов, используемых при изучении антибиотического действия веществ, является биолюминесцентный анализ, основанный на применении в качестве тест-объектов микроорганизмов, свечение которых, легко регистрируется с помощью современных электронно-оптических приборов и служит количественной характеристикой. Биотестирование на основе природных и генно-инженерных светящихся бактерий обладает рядом таких преимуществ, как высокая чувствительность, экспрессность и экономическая эффективность, что нашло широкое практическое применения в экологии, биологии и медицине, но практически не используется в фармацевтических исследованиях.

Таким образом, разработка, унификация и стандартизация новых методик биолюминесцентного анализа оценки антимикробной активности веществ различного химического строения с применением биолюминесцентных бактерий является актуальной задачей фармацевтической химии.

Соответствие содержания диссертации заявленной научной специальности

Научные положения диссертационной работы соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, пунктам 1, 3, 4 паспорта специальности – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов

Автором по результатам оценки биологических и аналитических характеристик новых природных люминесцентных бактерий впервые установлено, что штамм *P. leiognathi* Sh1 является перспективным тест-объектом для изучения антимикробной активности фармацевтических субстанций (ФС). Оценка аналитических характеристик 8-ми штаммов генно-инженерных люминесцентных тест-объектов на основе *E. coli* показала их применимость для определения механизмов антимикробной активности.

Изучена чувствительность люминесцентного тест-штамма *P. leiognathi* Sh1 к действию ФС различных химических групп, показано

влияние структуры и физико-химических свойств исследованных субстанций на интенсивность бактериального свечения.

Разработана методика определения антимикробного действия ФС с использованием биолуминесцентного тест-штамма *P. leiognathi* Sh1, основанная на количественных измерениях биолуминесцентного индекса (БЛИ).

Впервые проведена валидационная оценка методики биолуминесцентного анализа антимикробной активности ФС, которая показала условия ее применимости.

Разработанная методика по изучению антимикробной активности лекарственных веществ с использованием природного биолуминесцентного штамма *P. leiognathi* Sh1 испытана при скрининге антибактериальной активности 42-х направленно синтезированных производных NKV. Выявлены ряд производных, обладающих антимикробным действием, что было подтверждено исследованиями на эталонных тест-объектах. С использованием батареи lux-биосенсоров на основе *E. coli* определены механизмы их антимикробной активности.

Приоритет и новизна исследований подтверждена патентом Украины №64811 «Способ биотестирования веществ различной природы» и патентом на изобретение 111855 С2 Украина «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 противірусної дії щодо штамів *Influenza Virus* типів А та В».

Степень обоснованности и достоверности полученных результатов, выводов и практических рекомендаций

Степень обоснованности и достоверности полученных результатов базируется на достаточных по своему объему результатах исследования, выполненных с использованием современных физико-химических методов анализа, статистической обработкой экспериментальных данных.

Заключение и выводы по диссертационной работе сформулированы, аргументированы и логически вытекают из результатов выполненных исследований.

Основные положения диссертационного исследования доложены и обсуждены на международных научно-практических конференциях. По результатам диссертационной работы опубликовано 25 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 Минобрнауки РФ № 13-3869 от 02.10.2014, 1 статья в международных базах данных, получено 2 патента на изобретение. Содержание автореферата и опубликованных работ соответствует материалам диссертации.

Оценка содержания диссертации, её завершенность в целом, выводов и заключений

Работа изложена на 180 страницах машинописного текста, содержит 9 таблиц, 23 рисунка и приложения. Диссертационная работа состоит из содержания, введения, обзора литературы, главы «Объекты и методы исследований», 3-х глав описания экспериментальных исследований, списка используемых сокращений, библиографии. Список цитированной литературы включает 267 источников, в том числе 217 – на иностранных языках.

Структура, последовательность изложения работы и содержание глав отвечают цели и задачам диссертационного исследования.

Во введении обоснована актуальность темы, определены цель и задачи исследования, научная новизна и практическая значимость.

В главе 1 представлен обзор научной литературы, посвященный современным подходам к анализу антимикробной активности веществ различной природы с использованием как стандартных, так и биolumинесцентных тест-систем в различных форматах. Кроме того, приведен литературный обзор биolumинесцентных тест-объектов и их применения в аналитических целях.

В главе 2 подробно описаны объекты исследования и содержатся материалы и методы использованные в рамках диссертационного исследования.

В главе 3 изложены результаты изучения биологических и аналитических характеристик биolumинесцентных тест-объектов.

Глава 4 посвящена разработке и обоснованию использования методики биolumинесцентного анализа для оценки антимикробной активности фармацевтических субстанций, где в качестве тест-объекта применен природный люминесцентный штамм *P. leiognathi* Sh1.

В главе 5 представлено применение разработанной методики при скрининге антимикробной активности у направленно синтезированных 2-((2-оксо-3-фенил-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хиназолин-6-ил)тио)уксусной кислоты и их производных и показан вероятных их механизм. Кроме того, представлены методические подходы к изучения антимикробной активности

веществ с использованием природных и генно-инженерных биолюминесцентных тест-бактерий.

Диссертационная работа завершается заключением, общими выводами и списком литературы. В приложениях диссертации представлены акты внедрения и патенты.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Основные результаты исследования соискателя представляют интерес для фармацевтической науки в плане разработки новых методов, направленных на контроль качества лекарственных средств, в том числе антибиотиков. В диссертационной работе Сафронюк С.Л. представлены результаты разработки методических подходов к анализу антимикробной активности лекарственных веществ с использованием биолюминесцентных тест-объектов, основанных на результатах собственных экспериментальных исследований. Проведена сравнительная оценка применимости новых люминесцентных бактерий для анализа антимикробного действия. Показаны преимущества природного штамма *P. leiognathi* Sh1, который был выбран в качестве основного тест-объекта в диссертационной работе. Показано влияние химической структуры, физико-химических свойств на результаты оценки антимикробной активности ФС с применением природного люминесцентного штамма *P. leiognathi* Sh1. Представлено обоснование применения методики биолюминесцентного анализа веществ на наличие антимикробной активности с применением тест-штамма бактерий *P. leiognathi* Sh1 путем определения валидационных характеристик.

Разработанные методики оценки антимикробной активности на основе тест-штаммов 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».

Рекомендации по использованию полученных результатов

По результатам диссертационной работы предложены практические рекомендации: использовать разработанные методические подходы для анализа других групп ФС, а также увеличить количество представителей исследованных фармакологических групп с применением данных подходов; полученные результаты рекомендуется принимать во внимание при разработке и изучении новых антибактериальных веществ и научно-исследовательской работе; использовать разработанные методики для определения механизмов антимикробной активности у известных ФС.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автор данной работы лично участвовал в постановке цели и задач исследования, проведении всех разделов экспериментальной работы, интерпретации, анализе и обобщении полученных результатов, а также в подготовке публикаций по теме диссертации.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук

Диссертационное исследование выполнено согласно тематическому плану научно-исследовательских работ Института «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» (№ Гос. регистрации АААА-А17-117041850163-1; наименование НИОКТР «Разработка биолюминесцентных аналитических технологий на основе светящихся бактерий акваторий Черного и Азовского морей и рекомбинантных lux-биосенсоров для оценки биологического действия веществ и материалов различной природы»).

Достоинства и недостатки по содержанию, оформлению диссертационной работы

Диссертационная работа Сафронюк С.Л. изложена в традиционной для экспериментальных работ форме, результаты представлены логично, последовательно и обоснованно. При общей положительной оценке работы Сафронюк С.Л. возникли некоторые вопросы и замечания:

1. Проводился ли Вами анализ эффективности применения Ваших методов оценки антимикробной активности лекарственных веществ с использованием биолюминесцентных бактериальных тест-объектов, в плане времени, трудоемкости, затрат, по сравнению с традиционно используемыми методами «серийных разведений» и диффузионных?

2. По какому принципу был проведен отбор в качестве объектов исследования 24 фармацевтических субстанций?

3. Как Вы можете обосновать, почему выделенные Вами в лабораторных условиях штаммы микроорганизмов характеризуются наличием люминесценции и способностью к росту в виде увеличения клеточной биомассы при +25⁰С и +35⁰С?

4. Почему при проведении биотестирования антибиотиков различных химических групп для подтверждения пригодности природных светящихся бактерий штамма *P. leiognathi* Sh1 в качестве антибиотика сравнения использовали именно гентамицина сульфат, а не другие?

5. На стр. 69, Вы указываете, что при оценке ЭК₅₀ антибиотика, действующего на свечение *P. leiognathi* Sh1, *A. fischeri* F1 и *V. harveyi* Ms3 наиболее чувствительными к гентамицину сульфату оказались бактерии вида *P. leiognathi* Sh1, хотя результаты *P. leiognathi* Sh1 (18,65 ± 0,19 мкг/мл) и *A. fischeri* F1 (18,8 ± 0,57 мкг/мл), имеют близкие значения с учетом отклонений?

6. По тексту диссертации имеются некоторые стилистические и орфографические ошибки.

Необходимо отметить, что указанные замечания носят в основном рекомендательный характер и не влияют на положительную оценку диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Сафронюк Сергея Леонидовича на тему: «Разработка методических подходов к анализу антимикробной активности лекарственных веществ с использованием биoluminesцентных 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 задачи современной фармацевтической науки по разработке новых методов, направленных на контроль качества лекарственных средств, безопасных для человека и окружающей среды, обладающих эффективным целевым действием.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Сафронюк Сергея Леонидовича соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. постановления

Правительства РФ от 11.09.2021), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Отзыв о диссертационной работе Сафронюк С.Л. заслушан и утвержден на заседании кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол № 5 от 14 ноября 2022 года.

Профессор кафедры фармакогнозии с
курсом ботаники и основ фитотерапии
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Башкирский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
доктор фармацевтических наук
(15.00.02 – фармацевтическая химия,
фармакогнозия), профессор



Пупыкина Кира Александровна

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Башкирский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
450008, г. Уфа, ул. Ленина д. 3, +7 (347) 272 41 73, rectorat@bashgmu.ru,
<http://bashgmu.ru>

«18» ноября 2022 г.

С отзывом ознакомлен
21.11.2022



Директор ФГБОУ ВО БГМУ
России

ПОДПИСЬ

