

## Заключение

**диссертационного совета ДСУ 208.001.11 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук**

аттестационное дело № 74.01-24/82-2021

решение диссертационного совета от 28 сентября 2021 года № 16

О присуждении Антоновой Наталии Петровне, гражданке России, ученой степени кандидата фармацевтических наук.

Диссертация «Получение, стандартизация и фармакологическое изучение субстанции эндолизина LysECD7» в виде рукописи по специальностям 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология (фармацевтические науки) и 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) принята к защите 25 мая 2021 г., протокол № 11 диссертационным советом ДСУ 208.001.11 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, дом 8, строение 2 (Приказ ректора Университета № 0457 от 28.05.2020г.).

Антонова Наталия Петровна 1993 года рождения, в 2017 году с отличием окончила ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», г. Москва по специальности «фармация».

В 2020 году окончила очную аспирантуру на кафедре фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела факультета

фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»,

С 2019 года Антонова Наталия Петровна работает научным сотрудником лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России.

Диссертация «Получение, стандартизация и фармакологическое изучение субстанции эндолизина LysECD7» выполнена на кафедре фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

#### **Научные руководители:**

- доктор фармацевтических наук, доцент Балабаньян Вадим Юрьевич, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», факультет фундаментальной медицины, лаборатория трансляционной медицины фундаментальной медицины, ведущий научный сотрудник;

– кандидат биологических наук, Гущин Владимир Алексеевич, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», кафедра вирусологии, старший научный сотрудник, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, лаборатория механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов, заведующий лабораторией.

#### **Официальные оппоненты:**

- Куркин Денис Владимирович, доктор фармацевтических наук, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, заместитель директора по научной работе научного центра

инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством;

- Лякина Марина Николаевна, доктор фармацевтических наук, федеральное ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Институт Фармакопеи и стандартизации в сфере обращения лекарственных средств, заместитель директора – дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация:** ФГБНУ "Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе" Минобрнауки России, г. Москва в своем положительном заключении, подписанном доктором биологических наук, Переверзевой Элеонорой Рафаиловной - заместителем директора по научной работе, указала, что диссертация Антоновой Наталии Петровны на тему «Получение, стандартизация и фармакологическое изучение субстанции эндолизина LysECD7» является законченным научно-квалификационным трудом, содержащим решение важной научной задачи современной фармацевтической химии и фармакологии - разработки технологии создания субстанции оригинального эндолизина LysECD7 и получении экспериментальных доказательств перспективности ее использования в качестве лекарственного средства для терапии инфекций, вызванных грамотрицательными микроорганизмами. По объему проведенных экспериментальных исследований, новизне, научно-практической значимости работа Антоновой Н.П. соответствует требованиям п. 16 «Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)», утвержденным приказом ректора от 31.01.2020 г. №0094/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Антонова Н.П., заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук

по специальностям 14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология (фармацевтические науки), 14.04.02 - Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки).

На автореферат диссертации поступили отзывы от: доктора биологических наук, заведующего лабораторией биологических активных наноструктур ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, г. Москва – Лунина Владимира Глебовича; доктора медицинских наук, ведущего научного сотрудника лаборатории экспериментальной и клинической фармакологии ФГБУН «Государственный научный центр Российской Федерации-Институт медико-биологических проблем Российской академии наук», г. Москва-Яснецова Виктора Владимировича; доктора химических наук, начальника лаборатории систем доставки ООО «Технология лекарств», профессора кафедры химии и технологии биомедицинских препаратов и заведующей лабораторией систем доставки лекарственных веществ факультета химико-фармацевтической технологий и биомедицинских препаратов, ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева» Минобрнауки России, г. Москва – Гельпериной Светланы Иммануиловны.

Отзывы положительные, критических замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что оппоненты являются известными специалистами в данной области и имеют публикации по теме диссертации в рецензируемых журналах.

ФГБНУ "Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе" Минздрава России, г. Москва выбран в качестве ведущей организации в связи с тем, что два из научных направлений, разрабатываемых данным учреждением, соответствует профилю представленной диссертации.

Соискатель имеет 14 опубликованных работ общим объемом 1,4 печатных листа, 1 статья в рецензируемом научном издании, 4 статьи индексируемых в базе Scopus и Web of Science, 2 статьи в материалах конференций, 2 статьи в материалах форума, 5 патентов.

**Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:**

1. Antonova N.P., Vasina D.V., Rubalsky E.O., Fursov M.V., Savinova A.S., Grigoriev I.V., Usachev E.V., Shevlyagina N.V., Zhukhovitsky V.G., Balabanyan V.U., Potapov V.D., Aleshkin A.V., Makarov V.V., Yudin S.M., Gintsburg A.L., Tkachuk A.P., Gushchin V.A. Modulation of endolysin LysECD7 bactericidal activity by different peptide tag fusion // **Biomolecules**. – 2020. – Vol. 10, № 3. – P. 1–18. doi: 10.3390/biom10030440
2. Fursov M.V., Abdrakhmanova R.O., Antonova N.P., Vasina D.V., Kolchanova A.D., Bashkina O.A., Rubalsky O.V., Samotrueva M.A., Potapov V.D., Makarov V.V., Yudin S.M., Gintsburg A.L., Tkachuk A.P., Gushchin V.A., Rubalskii E.O. Antibiofilm activity of a broad-range recombinant endolysin LysECD7: In vitro and in vivo study // **Viruses**. – 2020. – Vol. 12, № 5. – P. E545. doi: 10.3390/v12050545

В связи с тем, что диссертация выполнена по двум специальностям 14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология (фармацевтические науки) и 14.04.02 - Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) в состав диссертационного совета с правом решающего голоса введены три доктора наук по специальности 14.04.02 - Фармацевтическая химия, фармакогнозия: Марахову Анну Игоревну – доктора фармацевтических наук, доцента, профессора института биохимической технологии и нанотехнологии, ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки России; Потанину Ольгу Георгиевну - доктора фармацевтических наук; Успенскую Елену Игоревну - доктора фармацевтических наук которые являются членами

диссертационного совета ПДС 0300.016 ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки России, утвержденного приказом ректора №83-дс от 30.04.2021г.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

Разработана технология получения оригинальной субстанции рекомбинантного эндолизина LysECD7, обладающего антибактериальной активностью.

Предложены оригинальная методика определения специфической активности субстанции эндолизина LysECD7 на тест-штамме бактерий и проект спецификации на субстанцию, разработаны методики контроля качества.

Показано, что LysECD7 проявляет антибактериальную активность в отношении широкого спектра штаммов грамотрицательных бактерий, в том числе обладающих лекарственной устойчивостью к стандартной антибактериальной терапии, а также разрушает бактериальные биопленки.

Доказано, что местное применение субстанции эндолизина LysECD7 значительно снижает бактериальную обсемененность зараженных раневых поверхностей и способствует ранозаживлению на экспериментальных моделях раневой и ожоговой инфекций.

Доказано, что парентеральное применение субстанции эндолизина LysECD7 значительно уменьшает плотность бактериальных биопленок, образованных на поверхности имплантируемых материалов, и снижает бактериальные высевы.

Установлено, что эндолизин LysECD7 обладает бактерицидным действием и вызывает лизис бактериальных клеток.

Показано, что на основе предложенной субстанции могут быть разработаны лекарственные средства с высокой антибактериальной активностью, в том числе в отношении резистентных штаммов грамотрицательных микроорганизмов.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

Применительно к проблеме диссертации результативно использован комплекс современных методов получения рекомбинантных белков, стандартизации биотехнологических субстанций и экспериментальных методов оценки активности инновационных антибактериальных лекарственных средств, а также методы статистической обработки данных.

Доказана и обоснована возможность создания нового класса антибактериальных лекарственных средств на основе эндолизинов, в частности субстанции эндолизина LysECD7, для лечения инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями, в том числе обладающих устойчивостью к стандартной антибиотикотерапии.

Изложены особенности получения и подходы к стандартизации оригинальных биотехнологических субстанций, обладающих антибактериальной активностью, на примере субстанции эндолизина LysECD7.

Изучена антибактериальная активность субстанции эндолизина LysECD7 как в экспериментах *in vitro* на широком спектре бактерий, так и *in vivo* на моделях инфекционных заболеваний, вызванных грамотрицательными патогенами, и впервые показано, что LysECD7 обладает выраженным антибактериальным действием, значительно снижает бактериальную обсемененность органов и зараженных поверхностей, способствует более быстрому ранозаживлению у животных и уменьшает воспаление тканей.

Изучен механизм антибактериального действия эндолизина LysECD7. Установлено, что эндолизин LysECD7 обладает бактерицидным действием и вызывает лизис бактериальных клеток вследствие пермебилизирующей активности и разрушения пептидогликана.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:**

Результаты диссертационного исследования применяются в исследованиях ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России,

включены в лабораторный регламент на получение субстанций рекомбинантных эндолизинов, а также методики контроля качества субстанций.

Разработанная технология и методики контроля качества оригинальной субстанции используются в фармацевтической разработке лекарственных средств на основе эндолизинов.

Созданный научно-технический задел используется в регуляторных доклинических исследованиях антибактериального препарата для местного применения на основе эндолизина для лечения раневых инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями, в том числе резистентными штаммами.

Представлены практические рекомендации по использованию результатов диссертационной работы в исследованиях субстанции эндолизина LysECD7 и создании на ее основе антибактериальных лекарственных средств для лечения и профилактики различных видов инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями, как при местном, так и парентеральном введении.

Другие научные достижения, свидетельствующие о научной новизне и значимости полученных результатов отражены в опубликованных по теме диссертации 14 работах, из которых 4 статьи в изданиях, индексируемых в базах данных Scopus/Web of Science и 1 статья в издании, рекомендованном ВАК РФ, 4 тезисов в сборниках, 5 патентов РФ.

#### **Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:**

Диссертационная работа выполнена на высоком научном и методическом уровне. В соответствии с поставленными задачами для проведения экспериментов были использованы современные методы исследования и сертифицированное оборудование. Для проведения экспериментов использованы достаточное количество повторов и контролей и достаточные выборки лабораторных животных.

Теория построена на основании результатов глубокого анализа литературных данных, представленных по изучаемой проблематике, и

согласуется с имеющимися в настоящее время экспериментальными и практическими данными по теме исследования.

Идея базируется на анализе и обобщении теоретико-практических данных зарубежных и отечественных исследований, анализе результатов практического применения используемых в работе методов и ранее полученных с их помощью данных.

Использованы современные методы сбора и анализа материала с применением различных методов исследования и статистической обработкой данных с помощью лицензированного программного обеспечения GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, США).

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертационной работе, логично вытекают из полученных автором экспериментальных наблюдений и согласуются с опубликованной по теме научной литературой. В то же время установлено, что в диссертационной работе представлены принципиально новые результаты, дополняющие современное представление о получении, стандартизации и фармакологическом изучении субстанций эндолизинов.

**Личный вклад соискателя состоит в том, что:**

Автор принимал непосредственное участие в формулировании целей и задач исследования, проведении экспериментальных работ, представленных в диссертации, и подготовке публикаций по теме диссертации. Диссертантом лично был проведен обзор актуальной литературы, составлен план исследований, проанализированы и интерпретированы полученные результаты, сформулированы выводы, практические рекомендации и положения, выносимые на защиту. Текст диссертационного исследования написан лично автором.

Диссертация не содержит недостоверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации и полностью соответствует требованиям п. 16

«Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)», утвержденным приказом ректора Сеченовского Университета от 31.01.2020 г. №0094/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человека, присутствовавших на заседании из них 9 докторов наук по специальностям рассматриваемой диссертации (6 докторов наук по специальности 14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология (фармацевтические науки), и 3 доктора наук по специальности 14.04.02 - Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки), участвовавших в заседании, из 28 человек, входящих в состав совета, утвержденного приказом ректора, дополнительно введены на разовую защиту 3 человека, проголосовали: за присуждение ученой степени - 21, против присуждения ученой степени - нет, недействительных бюллетеней - 1.

На заседании 28 сентября 2021 года диссертационный совет принял решение присудить Антоновой Наталии Петровне ученую степень кандидата фармацевтических наук.

Председатель  
диссертационного совета

Ученый секретарь  
диссертационного совета



Ших Евгения Валерьевна

Дроздов Владимир Николаевич

«30» сентября 2021 года