

УТВЕРЖДАЮ:

Директор ПФИЦ УрО РАН

чл.-корр. РАН, д.ф.-м.н.

Олег Анатольевич Плехов



16 июня 2025 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук (ПФИЦ УрО РАН)

Диссертация Триандафиловой Галины Андреевны «Исследование биологической активности оксопроизводных азотсодержащих гетероциклических соединений с использованием микробных тест-систем» выполнена в лаборатории физиологии и генетики микроорганизмов "Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук" ("ИЭГМ УрО РАН") - филиала Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук (ПФИЦ УрО РАН).

Научный руководитель - Октябрьский Олег Николаевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией физиологии и генетики микроорганизмов "ИЭГМ УрО РАН" - филиала ПФИЦ УрО РАН.

В 2014 году Галина Андреевна окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский национальный исследовательский политехнический университет» по направлению «Биотехнология».

В период подготовки диссертации соискатель Триандафилова Галина Андреевна обучалась в очной аспирантуре ПФИЦ УрО РАН по специальности «Микробиология» по направлению «Биологические науки», с 01.10.2018 по 30.09.2022 г. и сдала кандидатские экзамены в полном объеме на «отлично», что подтверждается дипломом об окончании аспирантуры.

По итогам обсуждения диссертации принято следующее заключение:

1. Актуальность проблемы. Диссертационное исследование Триандафиловой Г. А. направлено на изучение биологической активности оксопроизводных азотсодержащих гетероциклических соединений с использованием микробных тест-систем на основе бактерий *Escherichia coli* и лабораторных крыс линии Sprague Dawley. Микробиота кишечника человека играет большую роль в функционировании организма как в норме, так и при развитии различных патологий. Изменения в ее составе могут быть вызваны приемом лекарств, в том числе тех, которые не относятся к антибиотикам. В связи с этим является актуальной задача изучения влияния вновь

синтезированных веществ, обладающих биологической активностью, на микроорганизмы в рамках проведения доклинического скрининга.

Работа выполнена в Лаборатории физиологии и генетики микроорганизмов «Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» филиала Пермского федерального исследовательского центра в соответствии с планом НИР Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН. Исследования выполнены при финансовой поддержке Государственного задания по теме «Молекулярные механизмы адаптации микроорганизмов к факторам среды» (номер госрегистрации АААА-А19-119112290009-1) и гранта РФФИ № 20-34-90016 «Исследование биологической активности оксопроизводных азотсодержащих гетероциклических соединений».

2. Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации. Планирование научной работы, постановка цели и задач исследования, выбор методов исследования проводились совместно с научным руководителем д.б.н., профессором О. Н. Октябрьским при консультировании с д.б.н., в.н.с. Г. В. Смирновой. Автором самостоятельно выполнена основная часть экспериментальной работы, статистическая обработка данных. Исследуемые химические соединения были синтезированы в Научно-образовательном центре прикладных химических и биологических исследований (НОЦ ХимБИ) ПНИПУ к.х.н, доцентом О. П. Красных и к.х.н, доцентом А. А. Ботевой. Исследование субхронической токсичности соединений на лабораторных крысах было проведено автором под руководством к. м. н. Солодникова С. Ю. на базе НОЦ ХимБИ. Секвенирование образцов кала крыс и метагеномную обработку полученных данных проводили в институте молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН.

Требования п. 14 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в действующей редакции) «О порядке присуждения ученых степеней» выполнены. В диссертации соискатель ссылается на все источники правомерного заимствования материалов или отдельных результатов и их авторов.

3. Степень достоверности результатов проведенных исследований

Достоверность полученных результатов основана на проведении как минимум трех независимых измерений для каждого эксперимента с последующим расчетом средних значений и стандартных ошибок среднего. Достоверность различий двух средних величин вычислялась на основании t-критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0.05$. Достоверность различий для двух выборок при анализе данных секвенирования микробиома кишечника крыс определяли на основании расчета критерия Манна-Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0.05$. Также проводили множественный регрессионный анализ посредством расчета коэффициента корреляции Спирмена (R). При $0.7 \leq R^2 \leq 1$

корреляция считалась высокой, при $0.4 \leq R_2 < 0.7$ – средней, при $R_2 < 0.4$ – низкой.

4. Новизна и практическая значимость диссертации. Впервые изучены радикалсвязывающие и антимикробные свойства 26 соединений, относящихся к оксопроизводным азотсодержащих гетероциклов и их ациклическим аналогам, с использованием микробных тест-систем и химических тестов. Выявлены соединения с высокой радикалсвязывающей активностью, а также ее связь с особенностями структуры (класса) исследуемых веществ.

Впервые выявлен ряд ОАГ, обладающих бактериостатическим действием по отношению к *E. coli*. Ни одно из изученных соединений не обладает бактерицидными свойствами. Впервые показано, что четыре ОАГ способны снижать биопленкообразование у бактерий *E. coli*.

Используя непрерывную регистрацию уровня кислорода непосредственно в инкубационной среде, впервые показано, что действие CBR-384 полностью, а CBR-386 частично сопровождается ингибированием дыхания, степень которого соответствует влиянию этих соединений на рост бактерий.

Впервые показано, что ингибирование роста *E. coli* сопровождается увеличением уровня внеклеточного глутатиона (GSH) при действии CBR -384 и CBR -386 и вытеканием сульфида при действии CBR-384. Оба соединения способны снижать мембранный потенциал.

Используя мутантные штаммы с делециями по элементам дыхательной цепи (убихинону, менахинону и четырем субъединицам АТФазы) впервые изучено действие CBR-384 и CBR-386 на энергодающие системы бактерий *E. coli*.

Для 6 соединений проведено исследование мембранотропного действия в отношении эритроцитов крови крыс, а также исследована их способность защищать мембрану эритроцитов от окислительного стресса. Показано, что четыре соединения способны защищать эритроциты от разрушающего действия активных радикалов.

Впервые проведено исследование субхронической токсичности веществ CBR-384, CBR-124 и CBR-376 на лабораторных крысах линии Sprague Dawley. Впервые показано существенное влияние CBR-384 на микробиомный состав кишечника крыс.

5. Ценность научных работ соискателя. Полученные данные имеют важное теоретическое и практическое значение для разработки новых лекарственных веществ. Результаты исследования антиоксидантной и антимикробной активности представителей различных классов оксопроизводных азотсодержащих гетероциклических соединений могут лечь в основу разработки оптимальных молекул с заданным сочетанием биологических активностей. Результаты исследования субхронической токсичности соединений CBR-384, CBR-124 и CBR-376 и их влияния на микробиом кишечника лабораторных животных позволяют рассматривать данные вещества в качестве модуляторов состава кишечной микрофлоры.

Полученные данные могут быть использованы для определения корреляции между структурами веществ и их свойствами и дальнейшего предсказания возможных взаимодействий с бактериями, близкими по метаболическим путям к *Escherichia coli*.

6. Специальность, которой соответствует диссертация.

Представленная диссертационная работа соответствует специальности 1.5.11. Микробиология на соискание ученой степени кандидата наук. Направления исследований в соответствии с паспортом специальности:

- Физиология и метаболизм микроорганизмов, в том числе физиология и физико-химические параметры роста микроорганизмов;
- Симбиотические микробные сообщества, в том числе микробиота человека и животных.

7. Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем. Материалы диссертации полностью изложены в работах, опубликованных соискателем ученой степени. По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, в том числе 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ, 1 статья в журнале, индексируемом в базе цитирования Scopus.

Результаты работы были представлены на 24-ой Международной Пущинской школе-конференции молодых ученых «БИОЛОГИЯ - НАУКА XXI ВЕКА», Пущино, 2020; Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2021», Москва, 2021; 3м Российском микробиологическом конгрессе, Псков, 2021; VII Пущинской конференции «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов», Пущино, 2021; 25-ой Международной Пущинской школе-конференции молодых ученых «БИОЛОГИЯ - НАУКА XXI ВЕКА», Пущино, 2022; 26-ой Международной Пущинской школе-конференции молодых ученых «БИОЛОГИЯ - НАУКА XXI ВЕКА», Пущино, 2023.

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ:

1. Триандафилова Г. А. Синтез и изучение радикалсвязывающей активности метилового эфира 6-метил-3-цинамоил-4-оксо-1,4-дигидро-2-хинолинкарбоновой кислоты и его аналогов / Г. А. Триандафилова, А. А. Ботева, О. П. Красных // Вестник ПНИПУ. Химическая технология и биотехнология. – 2020. – Т. 4. – С. 95-107.
2. Тюленев А. В. Real-time мониторинг физиологических параметров для изучения раннего ответа бактерий *Escherichia coli* на пероксидный стресс / А. В. Тюленев, Г. В. Смирнова, А. О. Габова, Г. А. Триандафилова, О. Н. Октябрьский // Вестник Пермского университета. Серия Биология. – 2022. – В. 1. – С. 35-41.
3. Triandafilova G. Antimicrobial and antioxidant activity of some nitrogen containing heterocycles and their acyclic analogues / G. Triandafilova, G. Smirnova, O. Krasnykh, A. Boteva, O. Oktyabrsky // Indian J Microbiol. – 2023. <https://doi.org/10.1007/s12088-023-01158-6>
4. Триандафилова Г. А. Влияние оксопроизводных азотсодержащих гетероциклов CBR-384 и CBR-386 на дыхательную активность и уровень

внеклеточных серусодержащих соединений у бактерий *Escherichia coli* / Г. А. Триандафилова, А. В. Тюленев, Н. Г. Музыка, Г. В. Смирнова, О. Н. Октябрьский // Вестник Пермского университета. Серия Биология. – 2023. – В. 4.

Диссертация Триандафиловой Галины Андреевны «Исследование биологической активности оксопроизводных азотсодержащих гетероциклических соединений с использованием микробных тест-систем», рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Заключение принято на заседании Проблемной комиссии "Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН" - филиала Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН по специальности 1.5.11. Микробиология.

Присутствовало на заседании 11 членов Проблемной комиссии "ИЭГМ УрО РАН" - филиала ПФИЦ УрО РАН из 15, входящих в состав комиссии.

Результаты голосования: "за" – 11 чел., "против" - нет, "воздержалось" - нет. Протокол № 4 от "20" сентября 2023 г.

СЕКРЕТАРЬ:

зам. директора по научной работе «ИЭГМ УрО РАН»
- филиала ПФИЦ УрО РАН,
д.б.н. Егорова Дарья Олеговна



Подпись Егоровой Д.О. заверяю
Начальник отдела кадров «ИЭГМ УрО РАН»
Корепанова М.В.

