

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории ветеринарной медицины и биотехнологий ФГБНУ «Курский федеральный аграрный научный центр»

Мосягина Владимира Владимировича на диссертацию Шаховой Валерии Николаевны «Разработка новых лекарственных форм антибактериальных препаратов, обладающих модифицированными фармакокинетическими параметрами», представленной в диссертационный совет 35.2.036.02 при ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология.

1. Актуальность избранной темы

Адресная доставка лекарственных средств – одно из самых перспективных направлений развития наномедицины. Об этом свидетельствуют множество статей, публикуемых ежегодно в специализированных высокорейтинговых научных журналах. Для осуществления поставленных целей в этой области современная наука предлагает целый комплекс методов и технических средств, включающий транспортную систему (наноразмерные носители различной природы и структуры, как правило, функционализированные для иммобилизации лекарственных молекул), биохимические методы распознавания заданных молекулярных структур и селективного взаимодействия с ними, средства ранней диагностики, регуляции активности фармакологических средств и др. Однако остаются проблемы, не позволяющие использовать лекарственные средства направленного действия в клинической практике в полной мере. Это может быть связано с низкой селективностью и стабильностью лекарственных средств, трудностями дозирования, безопасностью технологий, возникновением нежелательных побочных эффектов, недостаточной локализацией основного лекарственного вещества в патологическом очаге. Перечисленные проблемы диктуют необходимость совершенствования подходов и методов получения

лекарственных средств направленного действия, а также создания принципиально новых стратегий и технологий адресной доставки с возможностью управления активностью лекарственных молекул.

2. Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Автором проведен анализ 466 источников отечественной и зарубежной литературы по рассматриваемой проблеме, что позволило объективно и корректно определить тему диссертационного исследования, а также сформулировать ее цель и задачи, которые дают представление об объеме и характере проведенных исследований.

Научные положения, выводы и рекомендации, изложенные в диссертации Шаховой В.Н., подтверждены достаточным количеством фактического материала, полученного в ходе химических, физических, клинических, биохимических, гематологических, бактериологических, морфологических, фармакокинетических и токсикологических исследований, выполненных на сертифицированном оборудовании. Полученные числовые данные подвергнуты статистическому анализу и сведены таблицы.

3. Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне, достаточном объеме материала. Достоверность исследований основана на том, что все фармакокинетические, токсикологические, бактериологические, морфологические, клинические, биохимические, гематологические исследования проведены на сертифицированном оборудовании, с последующей статистической обработкой. Все научные положения, выводы и предложения аргументированы, обоснованы результаты собственных исследований, а также отражают содержание диссертации и полностью отвечают поставленным цели и задачам,

поставленным на их решение. Автором запатентованы 10 разработок, позволяющих повышать эффективность терапии инфекционных заболеваний - способ определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам при лечении гнойно-воспалительных заболеваний животных, способ получения ниосомальной формы цефотаксима, способ получения ниосомальной формы гентамицина, способ лечения интраперитонеального стафилококкового инфекционного процесса ниосомальным офлоксацином; для расширения спектра характеристик ниосом - способ фракционирования ниосом, способ определения скорости высвобождения инкапсулированного в ниосомы цефотаксима *in vitro*; для определения концентрации антибактериальных препаратов методом обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии - способы определения цефотаксима и аминогликозидных антибиотиков; с целью моделирования инфекционных процессов у лабораторных животных - способы интраперитонеального стафилококкового и внутрибрюшинного синегнойного заражения.

Сведения, представленные в диссертации Шаховой В. Н., получены от 800 белых мышей, 600 белых лабораторных крыс, 240 кроликов, 300 телят в возрасте 2,5–3,0 месяца. Работа обильно иллюстрирована микрофотографиями хорошего качества, что еще раз подтверждает достоверность и оригинальность результатов проведенных исследований.

4. Соответствие диссертации и автореферата критериям «Положения о присуждении ученых степеней»

Диссертация и автореферат Шаховой В. Н. оформлены методически корректно. Цель и задачи исследования, основные положения, выносимые на защиту, а также выводы и практические предложения в диссертации и автореферате полностью идентичны. Материал, изложенный в диссертации и автореферате научно обоснован, логичен, практически

интересен и полностью соответствуют критериям «Положения о присуждении ученых степеней».

5. Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы

Автором определена актуальная научная проблема, четко сформулированы цель, задачи и дизайн исследования. Применяя гематологические, биохимические, клинические, фармакокинетические, токсикологические, бактериологические, морфологические методы автор лично выполнил и проанализировал результаты исследований, обобщил полученные сведения и сформулировал выводы. Доля участия автора при выполнении диссертационной работы составляет 85%.

6. Оценка содержания диссертации, ее завершенность

Диссертация изложена на 370 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, заключения, выводов, практических предложений, списка литературы и приложений. Работа иллюстрирована 72 рисунками, цифровые данные представлены в 92 таблицах. Список литературы содержит 466 источников, из них 278 зарубежных.

Введение изложено на 11 страницах, где автор раскрывает актуальность избранной темы и степень ее разработанности, приведены цель и задачи исследования. Раскрыта научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы исследования, степень достоверности и апробация результатов, личный вклад соискателя. Четко сформулированы положения, выносимые на защиту. Приведены сведения о количестве публикаций по теме диссертации, а также об объеме и структуре работы.

Шаховой В. Н. проведен обзор литературы, где представлена объективная и подробная информация по вопросам исследования факторов, влияющих на эффективность применения наночастиц в терапии, биораспределении и взаимодействии наночастиц в организме, их влиянии

на организм, применении наноразмерных систем доставки, разработке новых систем доставки препаратов и ниосомальных систем для доставки различных антибактериальных препаратов.

В разделе «Материалы и методы исследования» последовательно изложена схема проведения исследований, которые проведены с 2012 по 2024 год. Автором применен комплекс современных фармакокинетических, токсикологических, бактериологических, морфологических, клинических, биохимических, гематологических исследований, которые полностью способствуют решению поставленных задач. Диссертант является автором разработок способа определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам при лечении гнойно-воспалительных заболеваний животных, способа получения ниосомальной формы цефотаксима, способа получения ниосомальной формы гентамицина, способа лечения интраперитонеального стафилококкового инфекционного процесса ниосомальным офлоксацином, способа фракционирования ниосом, способа определения скорости высвобождения инкапсулированного в ниосомы цефотаксима *in vitro*, способов определения цефотаксима и аминогликозидных антибиотиков, способов интраперитонеального стафилококкового и внутрибрюшинного синегнойного заражений. Для статистической обработки числовых данных использовался пакет программ STATISTICA 6.0.

В главе 2.2 представлены результаты исследований, которые включает подразделы, отражающие сущность диссертационной работы. Автор констатирует, что получены, апробированы ниосомальные формы антибактериальных препаратов разных групп широкого спектра действия, с индивидуально подобранным составом для каждого препарата, со значительной эффективностью включения действующих веществ в структуру везикул и высокой степенью гомогенности системы. Определена скорость модифицированного высвобождения действующих

веществ из ниосом *in vitro*. Исследована возможность хранения ниосомальных дисперсий с включенными антибактериальными препаратами с учетом их стабильности. Проведена токсикологическая оценка ниосомальных форм антибактериальных препаратов. Разработаны методики по изучению взаимодействия везикул с компонентами крови и проанализированы полученные данные, которые свидетельствуют о размещении ниосом как в плазме крови, так и лейкоцитах. Установлена чувствительность культур: *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* к изучаемым антибактериальным препаратам в свободных и ниосомальных формах, также определены минимальные бактерицидные концентрации и минимальные подавляющие концентрации у препаратов. Введение антибактериальных препаратов в состав ниосомальных частиц способствовало снижению суточных доз действующих веществ, включенных в везикулы. Применение ниосомальной формы цефотаксима, ниосомальной формы офлоксацина, ниосомальной формы гентамицина в терапии заболеваний верхних и нижних дыхательных путей повышало эффективность лечения патологий у телят, сокращало длительность курса антибиотикотерапии, повышало экономическую эффективность.

В «Заключении» изложены и обобщены основные итоги выполненной автором работы. Представлено 15 выводов, которые отражают основные результаты исследований. Практические предложения в полной мере раскрывают возможности внедрения полученных автором материалов и разработанных методик, которые могут быть использованы в проведении научных исследований, в учебном процессе при подготовке специалистов, бакалавров и магистров ветеринарного и биологического направления, при составлении рекомендаций для практикующих специалистов в области ветеринарной медицины и животноводства.

7. Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Диссертация Шаховой В. Н. посвящена разработке новых лекарственных форм антибактериальных препаратов, обладающих модифицированными фармакокинетическими параметрами. Предлагается использование ниосомальной формы цефотаксима в дозе 8,0 мг/кг, ниосомальной формы офлоксацина в дозе 6,0 мг/кг; ниосомальной формы гентамицина 2,0 мг/кг внутримышечно 1 раз в день в течение 5 дней у телят при заболеваниях инфекционной этиологии, при условии чувствительности к данным антибактериальным препаратам. Автором рекомендуется использовать разработанные способы с целью повышения эффективности терапии инфекционных заболеваний; для расширения спектра характеристик ниосом; для определения концентрации антибактериальных препаратов методом обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии; с целью моделирования инфекционных процессов у лабораторных животных. Результаты, полученные в ходе написания диссертации могут быть использованы в проведении научных исследований, в учебном процессе при подготовке специалистов, бакалавров и магистров ветеринарного и биологического направления, при составлении рекомендаций для практикующих специалистов в области ветеринарной медицины и животноводства.

8. Апробация полученных результатов исследования

Основные результаты исследований опубликованы в 41 научной работе, в том числе: 13 статей в изданиях, включенных в «Перечень Российских рецензируемых научных журналов и изданий», рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ («Вестник Ветеринарии», «Вестник АПК Ставрополя», «Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии», «Ветеринарная

патология», «Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии»), 3 статьи в научных изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science и Scopus. Получены 10 патентов РФ: способы получения ниосомальной формы цефотаксима (патент на изобретение РФ № 2687496 от 08.10.18), ниосомальной формы гентамицина (патент на изобретение РФ № 2805933 от 09.02.2023), способы моделирования интраперитонеального стафилококкового (патент на изобретение РФ № 2723745 от 21.11.2019) и синегнойного инфекционных процессов (патент на изобретение РФ № 2725136 от 21.11.2019), способ лечения интраперитонеального стафилококкового инфекционного процесса ниосомальным офлоксацином (патент на изобретение РФ № 2749374 от 29.10.2020), способ фракционирования ниосом (патент на изобретение РФ № 2754849 от 20.07.2020), способ определения скорости высвобождения инкапсулированного в ниосомы цефотаксима *in vitro* (патент на изобретение РФ № 2754850 от 20.07.2020), способы определения аминогликозидных антибиотиков (патент на изобретение РФ № 2786839 от 15.11.2022), а также цефотаксима методом обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии (патент на изобретение РФ № 2687493 от 08.10.18), способ определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам при лечении гнойно-воспалительных заболеваний животных (патент на изобретение РФ № 2804102 от 15.11.2022). Результаты исследований изложены в учебно-методическом пособии «Применение антибактериальных препаратов в составе ниосомальных везикул в терапии заболеваний животных», рекомендованы к изданию Краснодарским научно-исследовательским ветеринарным институтом - обособленным структурным подразделением ФГБНУ «КНЦЗВ», ФГБОУ ВО Кубанским ГАУ, Пермским государственным аграрно-технологическим университетом им. академика Д.Н. Прянишникова (утверждены НТС ФГБОУ ВО Ставропольским ГАУ

25.10.23, протокол № 12). Автореферат в полной мере отражает содержание диссертационной работы.

Апробированы и используются в сельскохозяйственных организациях, крестьянско-фермерских хозяйствах Ставропольского края, Краснодарского края, Кабардино-Балкарской Республики. Разработанные способы применения ниосомальных форм антибактериальных препаратов у продуктивных животных внедрены в сельскохозяйственном производственном кооперативе племенном репродукторе «Красный Маныч», сельскохозяйственном производственном кооперативе племзаводе «Путь Ленина», сельскохозяйственном производственном кооперативе «Владимировский», ИП «Демченко» Шпаковского района, КФХ Барсук Т. Л. Павловского района, Краснодарского края; ООО «Колхоз Псынадаха» Кабардино-Балкарской Республики.

Проведение исследований, составивших основу диссертационной работы, поддержано финансированием из бюджетных средств Российской Федерации в рамках реализации в конкурсе молодых ученых и аспирантов, осуществляющие перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики на 2018-2020 годы на право получения стипендии Президента Российской Федерации по теме: «Разработка технологии получения ниосомальных форм антибактериальных препаратов в терапии системных заболеваний»; в конкурсе поддержки исследовательских проектов коллективов Ставропольского государственного аграрного университета Программы развития университета «Агроиннополис-2030», выполняемой в рамках программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030» по теме: «Экспериментальное исследование антибактериальной активности наноразмерных систем доставки лекарств *in vivo* и разработка лечебно-профилактических мероприятий при заболеваниях сельскохозяйственных животных в рамках развития

аграрного сектора экономики России (по направлению – биотехнологии)» (2022-2024 гг.); в программе грантов АО «Россельхозбанк» 2023 г. по теме: «Применение инновационных лекарственных форм антибактериальных препаратов, обладающих способностью бактерицидного действия на антибиотикорезистентные штаммы при заболеваниях животных различной этиологии».

Основные положения диссертационной работы были представлены, обсуждены и положительно охарактеризованы: на ежегодных научно-практических конференциях «Инновационные технологии в сельском хозяйстве, ветеринарии и пищевой промышленности» (г. Ставрополь, 2018 – 2024 гг.); V-й Международном конгрессе ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии», посвященного 145-летию со дня рождения профессора Савича Владимира Васильевича (г. Санкт-Петербург, 2019 г.), Международной научно-практической конференции «Теория и практика клинической биохимии и лабораторной диагностики», посвященная 100-летию кафедры биохимии и физиологии СПбГАВМ (г. Санкт-Петербург, 2019 г.), международной научно-практической конференции «Достижения и перспективы развития ветеринарной медицины, посвященной 20-летию создания кафедры специальных ветеринарных дисциплин Иркутского ГАУ» (г. Иркутск, 2020 г.), II научно-практической конференции, «Зоотехническая наука в условиях современных вызовов» (г. Киров, 2020 г.); международная конференция XIII International Scientific and Practical Conference «State and Prospects for the Development of Agribusiness – INTERAGROMASH 2020» (г. Ростов-на-Дону, 2020 г.), международной научно-практической конференции «Современные проблемы патологии животных, морфологии, физиологии, фармакологии и токсикологии», посвящённая 95-летию со дня рождения академика В.П. Шишкова (Москва, 2022 г.); международной научной конференции «Инновационные

научные разработки – развитию агропромышленного комплекса», посвященная 300-летию Российской академии наук, 110-летию со дня образования Ставропольского НИИСХ, 90-летию основания Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства и 85-летию Ставропольской опытной станции по садоводству (Ставрополь, 2022 г.); международной научно-практической конференции «Молодые ученые – науке и практике АПК» (Витебск, Беларусь, 2023 г.); международной научно-практической конференции EBWFF 2023 – International Scientific Conference Ecological and Biological Well-Being of Flora and Fauna (Благовещенск, 2023 г.); международной научно-практической конференции Юбилейная Международная научно-практическая конференция, посвященная 125-летию со дня создания ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (Москва, 2023 г.).

9. Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации включает в себя общую характеристику работы, основную часть, заключение и список опубликованных работ по теме диссертации. Автореферат содержит все ключевые главы и разделы диссертации и отражает ее основные положения.

10. Замечания, вопросы и пожелания по диссертации

1. В связи с чем были выбраны антибактериальные препараты различных групп, к которым относятся: цефотаксим, гентамицин, офлоксацин?
2. Что собой представляет ниосомальная система доставки?
3. Какой период полувыведения у ниосомальных форм антибактериальных препаратов?
4. За счет чего обеспечивается пролонгированное действие разработанных форм?

5. Какие перспективы применения и внедрения в широкую практику у разработанных ниосомальных форм?
6. Каким образом в ниосомальные везикулы попадают действующие вещества?
7. Какой из рассмотренных, включенных в ниосомальные везикулы препаратов, оказывает оптимальное терапевтическое действие?

Вышеуказанные замечания и имеющиеся вопросы не снижают научную и практическую ценность рецензируемой работы, носят, в основном, дискуссионный и познавательный характер, и не влияют на ее общую положительную оценку.

11. Заключение

Диссертация Шаховой Валерии Николаевны «Разработка новых лекарственных форм антибактериальных препаратов, обладающих модифицированными фармакокинетическими параметрами», является завершенной, самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной проблемы в области ветеринарной медицины по повышению терапевтической эффективности лечения сельскохозяйственных животных при заболеваниях инфекционной этиологии за счет применения ниосомальных форм для пролонгирования нахождения терапевтической концентрации антибактериальных препаратов в патологическом очаге, снижения их пиковой концентрации в крови, сокращения токсического действия на организм, предупреждения развития осложнений. По актуальности, научной новизне, степени обоснованности выводов и совокупности основных положений диссертационное исследование Шаховой Валерии Николаевны «Разработка новых лекарственных форм антибактериальных препаратов, обладающих модифицированными фармакокинетическими параметрами», соответствует критериям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к докторским

диссертациям, а ее автор Шахова Валерия Николаевна, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология.

«03» февраля 2025 г.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории ветеринарной медицины и биотехнологий ФГБНУ «Курский федеральный аграрный научный центр»

Почтовый адрес:

305021, Курская область, г. Курск ,

ул. Карла Маркса 70б

Телефон: 8-920-264-09-82

E-mail: ugnoe_nebo@list.ru

Директор *Москаленко В.В.* *с.о.в.е.р.е.ю*
Колесникова О.В.



Владимир Владимирович Мосягин