

## Отзыв

официального оппонента, доктора ветеринарных наук, профессора кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет им. И. Т. Трубилина», Азамата Хазретовича Шантыза 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.

**Актуальность избранной темы.** Системы доставки лекарств на основе наноматериалов (NBDD) широко используются для повышения безопасности и терапевтической эффективности инкапсулированных лекарств благодаря их уникальным физико-химическим и биологическим свойствам. Благодаря сочетанию терапевтических препаратов с наночастицами с использованием рациональных путей нацеливания создаются системы наноадресной доставки для преодоления основных недостатков традиционного лекарственного лечения, включая недостаточную стабильность и растворимость, отсутствие трансмембранного транспорта, короткое время циркуляции и нежелательные токсические эффекты.

Нано-адресные препараты могут эффективно повышать терапевтическую эффективность за счет улучшения фармакокинетических и фармакодинамических свойств инкапсулированных лекарств (включая стабильность лекарств), достижения адресной доставки лекарств, а также контролируемого высвобождения лекарств благодаря их особым характеристикам размера, формы и материала.

Адресная доставка лекарств означает успешное нацеливание терапевтических агентов и их первичное накопление в желаемом месте. Комбинирование терапевтических препаратов с наночастицами и разработка подходящих путей нацеливания является многообещающим методом адресной доставки лекарств, который может доставлять множество молекул в определенные участки организма. Однако точная доставка терапевтических препаратов в целевую область остается важной проблемой, которая требует дальнейшего изучения для повышения эффективности лечения различных заболеваний.

В связи с этим, диссертационное исследование, посвященное разработке новых лекарственных форм антибактериальных препаратов, обладающих модифицированными фармакокинетическими параметрами, выполненное Шаховой В. Н. является актуальным.

**2. Новизна исследований и полученных результатов.** Диссертантом впервые теоретически обоснована необходимость синтеза ниосомальных лекарственных форм антибактериальных препаратов, обладающих модифицированными фармакокинетическими параметрами, перспективными для лечения и профилактики патологий органов грудной и брюшной полости мелких домашних и сельскохозяйственных животных. Усовершенствованы существующие технологии получения ниосомальных форм антибактериальных препаратов.

Изучены фармако-токсикологические свойства ниосомальных форм антибактериальных препаратов. Определены минимальная подавляющая концентрация, а также минимальная бактерицидная концентрация ниосомальных форм антибактериальных препаратов при воздействии на грамположительную и грамотрицательную микрофлору. Установлена терапевтическая эффективность ниосомальных форм антибактериальных препаратов у лабораторных животных с индуцированными патологиями. Определена эффективность применения разработанных лекарственных форм при лечении телят с заболеваниями верхних и нижних дыхательных путей.

Впервые разработаны и запатентованы способ получения ниосомальной формы цефотаксима (патент на изобретение РФ № 2687496 от 08.10.2018), способ получения ниосомальной формы гентамицина (патент на изобретение РФ № 2805933 от 09.02.2023), 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 аминокликозидных антибиотиков (патент на изобретение РФ № 2786839 от 15.11.2022) и цефотаксима методом обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии (патент на изобретение РФ № 2687493 от 08.10.2018), способ определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам при лечении гнойно-воспалительных заболеваний животных (патент на изобретение РФ № 2804102 от 15.11.2022), 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).

**3. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключений.** Научные положения, выводы и заключение, сформулированные Шаховой В. Н. в диссертационной работе, обоснованы фактическим материалом, который включает в себя достаточное количество различных исследований: химических, физических, клинических, биохимических, гематологических, бактериологических, морфологических, фармакокинетических и токсикологических данных. Полученные цифровые

показатели статистически обработаны, оформлены в таблицы с глубоким их анализом.

Диссертантом четко сформулирована цель работы на основе анализа научной литературы. Для ее реализации Шаховой В. Н. было поставлено 11 задач. Конкретность этих задач и правильные подходы к их решению дают объективное представление об объеме проведенных автором исследований.

Экспериментальная часть исследований проведена в условиях ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, а также в хозяйствах Кабардино-Балкарской Республики, Краснодарского и Ставропольского краев.

**4. Значимость для науки и производства полученных соискателем результатов.** 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 и запатентованные 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 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.

Полученные результаты 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 Маньч», 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 ниеосомальных 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».

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.

**5. Оценка содержания и оформления диссертации.** Текст диссертации написан по общепринятой форме и включает в себя следующие главы: введение (12 стр.); обзор литературы (57 стр.); материалы и методы (21 стр.); результаты собственных исследований и их анализ (185 стр.), а также – заключение, завершённое пятнадцатью выводами, шестью практическими предложениями, приложения. Список использованной литературы включает 466 источников, в том числе 278 зарубежных авторов.

Диссертация оформлена в соответствии с действующими требованиями, работа иллюстрирована 92 таблицами и 72 рисунками. Смысл диссертации понятен, текст легко читается.

Глава «Обзор литературы» состоит из шести разделов. В обзоре литературы изложены данные о факторах, 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 исследований» автором указано, что экспериментальная часть исследований проводилась в ФГБОУ ВО «Ставропольском государственном аграрном университете», ФКУЗ «Ставропольском научно-исследовательском противочумном институте» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, а также в хозяйствах Кабардино-Балкарской Республики, Краснодарского и Ставропольского краев.

Использованные в процессе работы диссертантом методы исследования в совокупности позволили реализовать цель исследования и решить поставленные задачи, которые обеспечили получение новых данных для терапии и фармакологии.

Глава «Собственные исследования» содержит результаты, которые получены соискателем в ходе проведения экспериментов и включает 11 разделов. Согласно поставленным задачам автором в первом и втором разделах этой главы получены и 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, а также определена скорость модифицированного высвобождения действующих веществ из ниосом *in vitro*.

В третьем, четвертом и пятом разделах главы «Собственные исследования» 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.

В шестом, седьмом и восьмом разделах автором установлена чувствительность культур: *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* к изучаемым антибактериальным препаратам в свободных и ниосомальных формах, определены минимальные бактерицидные концентрации и минимальные подавляющие концентрации у препаратов. Суточная доза, рассчитанная по действующему веществу с учетом данных МБК и МПК, инкапсулированному в ниосомы оказалась меньше в связи с направленным транспортом везикул, но при этом не снижала качества применяемой фармакотерапии.

В девятом и десятом разделах автором определены в ниосомальных формах дозы при внутримышечном введении лабораторным животным: 5,0 мг/кг офлоксацина; 8,0 мг/кг цефотаксима; 2,0 мг/кг гентамицина при индуцированных внутрибрюшинных инфекционных процессах с различными

этиологическими агентами, которые способствовали сокращению длительности заболевания, а соответственно курса лечения, предотвращению появления осложнений. 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. В одиннадцатом определена экономическая эффективность применения различных форм антибактериальных препаратов при их использовании в схемах лечения у телят с заболеваниями верхних и нижних дыхательных путей бактериальной этиологии.

В главе «Заключение» Шаховой В. Н. на основании собственных исследований выносятся логичные и последовательные выводы, которые соответствуют задачам, поставленным на разрешение при выполнении работы. Практические предложения актуальны, отражают основные положения диссертационной работы и носят в основном конкретный характер.

В главе «Приложения» представлены акты внедрения результатов научно-исследовательских, опытно-конструкторских и технических работ, подтверждающие широкие клинические испытания разработанных ниосомальных формах антибактериальных препаратов, а также скан-копии патентов.

**6. Подтверждение опубликование основных результатов диссертации в научной печати.** По материалам исследований опубликовано 41 научная работа, в которых отражены основные положения и выводы по теме диссертации, в том числе тринадцать научных статей в изданиях, включенных в «Перечень рецензируемых научных журналов и изданий ВАК», рекомендованных для опубликования основных научных результатов диссертаций, три статьи в научных изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science и Scopus. Получены десять 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).

**7. Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации.** Автореферат изложен на двух печатных листах и полностью соответствует содержанию диссертации. Выводы и практические предложения в обоих документах идентичны.

**8. Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы.** Шаховой В. Н. лично организовано и проведено диссертационное исследование, самостоятельно проведен анализ состояния данного вопроса, сформулирована цель и задачи научного исследования, проведен анализ экспериментальных данных, сформулированы основные положения и выводы. Его результаты дополняют и углубляют существующие сведения о повышении терапевтической эффективности лечения сельскохозяйственных животных при заболеваниях инфекционной этиологии за счет применения ниосомальных форм. Не вызывает сомнений, что диссертационная работа написана и оформлена лично автором, опубликованные результаты подтверждают его существенный личный вклад в решение поставленной научной задачи в области ветеринарной медицины.

**9. Конкретные рекомендации по использованию результатов диссертационной работы.** Рекомендации, предложенные автором, представляют, как научный, так и практический интерес. 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.

**10. Замечания, вопросы и пожелания по диссертации.** При общей положительной оценке диссертационной работы считаю необходимым высказать некоторые пожелания и задать вопросы по существу:

1. За счет чего происходит высвобождение из ниосомальных везикул действующего вещества в патологическом очаге?
2. Для чего необходим такой показатель как индекс полидисперсности?

3. Как влияет применение/использование ниосом на появление антибиотикорезистентности?
4. Через сколько дней возможно сдавать животных на убой после введения ниосомальных препаратов?
5. Чем можете объяснить невысокий срок хранения препаратов – 6 месяцев, были ли проведены исследования по стабильности более 6 месяцев, как при этом изменялась действующая концентрация разработанных ниосомальных форм препаратов?
6. Чем руководствовались при выборе доз 6500-9000 мг/кг массы тела при изучении острой токсичности?
7. Почему были выбраны патологии дыхательной системы и желудочно-кишечного тракта для исследования ниосомальных форм антибактериальных препаратов?
8. Согласно Ваших исследований, введение антибактериальных препаратов в составе ниосомальных частиц приводит к увеличению времени полувыведения действующих веществ, что обеспечивает более высокую концентрацию разработанных препаратов в биологических жидкостях и тканях по сравнению со свободными формами препаратов. Позволит ли это свойство пролонгации увеличить интервал между введениями?
9. Прослеживается ли какая-либо корреляция по таким показателям как максимальная концентрация, период полувыведения между свободными формами и ниосомальными формами препаратов? Есть ли такой статистический анализ?
10. Каким процессам биотрансформации подвергаются или не подвергаются разработанные Вами ниосомальные формы препаратов в организме, которые позволяют создавать более высокие концентрации в органах (легких, почках и сердце) по сравнению со свободными формами препаратов? Изучался ли этот вопрос?

**11. Соответствие диссертации требованиям ВАК РФ.** Диссертация соответствует по содержанию паспорта специальности 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология (биологические науки), по пунктам: 6 – этиологические факторы, патогенетические механизмы развития заболеваний, типовые патологические процессы и реакции организма животных на воздействие патогенного фактора, механизмы исходов и осложнений болезни. Разработка этио- и патогенетической терапии с учетом взаимодействия терапевтических факторов с защитно-приспособительными механизмами организма; 7 – общепатологические процессы у животных, патогенетические механизмы и патоморфологические изменения при болезнях различной этиологии. Методы установления основного заболевания, его осложнений при сопутствующих патологических процессах и их роль в танатогенезе; 10 – экспериментальная и клиническая терапия животных, совершенствование и оптимизация общей и частной лекарственной, физиотерапии и других немедикаментозных способов воздействия; 19 – токсикологическая оценка лекарственных средств и их форм

в условиях острых и хронических экспериментов, специфических видов токсичности и проявлений нежелательных побочных эффектов; 20 – изучение фармакодинамики и фармакокинетики лекарственных средств, их совместимости. Установление связей между химической структурой, дозами, концентрациями и эффективностью. Исследование биоэквивалентности; 21 – исследование клинической эффективности лекарственных средств, биологически активных препаратов, кормовых добавок и их сочетаний при различных болезнях с учетом видовых, возрастных и других особенностей животных.

### Заключение

Диссертационная работа Шаховой Валерии Николаевны «Разработка новых лекарственных форм антибактериальных препаратов, обладающих модифицированными фармакокинетическими параметрами», выполнена самостоятельно, на высоком методическом уровне, на достаточном количестве животных с применением современных методов исследования, является законченной научно-квалифицированной 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 нисомальных форм антибактериальных препаратов. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология.

По актуальности, объёму исследования, теоретической и практической значимости представленная диссертация в полной мере соответствует критериям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор Шахова Валерия Николаевна заслуживает присуждения учёной степени доктора биологических наук по специальности 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология.

Официальный оппонент:

доктор ветеринарных наук, доцент, профессор кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет им. И. Т. Трубилина»



Подпись А.Х. Шантыза заверяю:

Азамат Хазретович Шантыз  
«20» февраля 2025 г.

350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13, ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ  
тел.: +79182735870, E. mail: shah\_8383@mail.ru