

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора фармацевтических наук, профессора, директора Института фармации им. А.П. Нелюбина Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) Раменской Галины Владиславовны на диссертационную работу Болотовой Веры Цезаревны «Разработка нового ноотропного препарата на основе производных этаноламина, бутандиовой и транс-бутендиовой кислот (экспериментальное исследование)» представленную к защите на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

### Актуальность исследования

Нарушение когнитивных функций является одним из наиболее распространённых неврологических расстройств. Хронический стресс и большой объём перерабатываемой информации способствуют развитию невротических и астенических состояний, усугубляющих формирование когнитивных нарушений у больных с дисциркуляторной энцефалопатией, развивающейся на фоне хронических нарушений мозгового кровообращения атеросклеротического генеза, ангиопатиями при сахарном диабете, мигрени, гипертензии. Особенно часто когнитивные нарушения наблюдаются у пациентов, перенесших ишемический инсульт и перенесших черепно-мозговые травмы. Выраженные расстройства когнитивных функций нарушают бытовую, социальную и профессиональную деятельность, приводят к снижению качества жизни, а в ряде случаев к инвалидизации и развитию полной зависимости от окружающих, что наиболее часто наблюдается у людей пожилого и старческого возраста. Распространенность когнитивных нарушений, не достигающих степени деменции, составляет 15–20% среди всех больных неврологического профиля. Показано, что по мере старения частота встречаемости когнитивных нарушений прогрессивно увеличивается: от 20% у людей 60–69 лет до 40% и более у лиц старше 85 лет.

Одним из направлений фармакотерапии когнитивных нарушений является назначение ноотропных препаратов. В настоящее время эффективность их применения в клинической практике оценивается как недостаточная. В связи с вышеизложенным, диссертационная работа В.Ц. Болотовой, посвященная разработке нового ноотропного препарата на основе производных этаноламина, бутандиовой и транс-бутендиовой кислот, представляется актуальной.

### **Достоверность и научная новизна полученных результатов**

Полученные диссертантом результаты подтверждают целесообразность поиска новых соединений, обладающих ноотропным действием, в ряду новых соединений на основе структуры диэтилэаноламина с интермедиатами цикла Кребса.

Получены результаты, характеризующие специфическое фармакологическое действие нового соединения – янтарнокислой соли фумарового эфира диэтилэаноламина (ФДЭС). Показано наличие нейропротекторного, нейрореабилитационного и когнитивного компонентов действия для нового производного транс-бутендиового эфира диэтиламиноэтанола – его янтарнокислой соли. Установлена способность этого соединения в условиях гипоксического, ишемического и травматического поражения головного мозга уменьшать выраженность когнитивно-мнестических и эмоциональных нарушений, препятствует развитию дегенеративных гистоморфологических изменений ткани головного мозга.

Выявлена способность этого соединения повышать выживаемость лабораторных животных и восстанавливать их когнитивную и двигательную активность при моделировании острого нарушения мозгового кровообращения и черепно-мозговой травме.

Проведён компьютерный прогноз фармакологической активности исследуемого соединения, согласно которому ФДЭС способствует увеличению когнитивной активности и снижению последствий, вызванных

ишемией головного мозга и черепно-мозговой травмой, за счет следующих механизмов: ингибитор транскрипционного фактора NF kappa B1, ингибитор мембранной проницаемости, агонист предсердного натрийуретического пептида, агонист инсулиновых рецепторов, антагонист фибриногеновых рецепторов тромбоцитов и переносчик кислорода. Эти эффекты в дальнейшем были подтверждены в экспериментах на животных.

Получены данные о способности ФДЭС активировать нейрональный депо-управляемый вход кальция в постсинаптические дендритные шипики, защищать грибовидные шипики дендритных синапсов от амилоидной синаптотоксичности и повышать нейропластичность в гиппокампе. Установлен синаптический механизм его нейротропного действия.

В работе изучены показатели безопасности (острая и хроническая тосичность) субстанции исследуемого вещества при однократном внутрижелудочном введении и его твердой лекарственной формы – таблеток.

Разработана и валидирована методики количественного определения ФДЭС в биологических жидкостях. Осуществлено оценочное определение фармакокинетических параметров ФДЭС при различных путях введения: биодоступность, максимальная концентрация, кажущийся объем распределения, период полувыведения, среднее время удержания в организме, клиренс. Оценена линейность фармакокинетики в диапазоне от 1 до 10 терапевтических доз.

**Степень обоснованности и достоверности научных положений,  
выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Научно-методические подходы, использованные автором при планировании, выполнении и анализе экспериментальной работы, в целом, соответствуют требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук.

Объем изученного материала и выполненных исследований достаточен для получения достоверных научных результатов. Объектом исследования являлись 1292 белые беспородные лабораторные мыши-самцы массой 22-30 г

и мыши-самцы линии СВА массой 18-22 г, 587 белых беспородных крыс-самцов и 72 крысы-самки массой 200-250 г. Дизайн исследования был разработан корректно, группы сформированы рационально, со строгим соблюдением критериев включения в исследование и исключения из него.

Выводы подтверждены достаточным количеством данных, полученных с помощью современных информативных методов исследования. Достоверность результатов, выводов и положений не вызывает сомнений и подтверждается достаточным числом наблюдений, обоснованным выбором корректных методов обработки информации и статистического анализа. Полученные результаты сопоставлены с данными других исследователей, рационально интерпретированы, изложены в основных положениях, выносимых на защиту, выводах и практических рекомендациях.

#### **Полнота изложения основных результатов исследования**

Обоснованность результатов, выводов и рекомендаций подтверждена при обсуждении материалов диссертации на многочисленных международных и всероссийских конференциях. По материалам диссертационного исследования опубликовано 33 печатные работы, из них 13 в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией для публикации основных научных результатов диссертационных исследований. Получено 2 патента на изобретение, опубликована 1 монография, внедрены 2 методические рекомендации по доклиническому изучению новых лекарственных средств, обладающих антигипоксическим и актопротекторным действием.

#### **Теоретическая и научно-практическая значимость полученных результатов**

Полученные данные могут применяться при создании новых ноотропных препаратов, их доклинических исследованиях и фармацевтической разработке. Теоретические положения и выводы могут быть использованы при подготовке регистрационного досье на новое лекарственное средство. Практические результаты могут быть использованы

для подготовки брошюры исследователя и макета инструкции по медицинскому применению. Однако, следует заметить, что полученные данные не являются исчерпывающими доклиническими исследованиями для регистрации новых лекарственных средств.

Данные, представленные в диссертационном исследовании о новом ноотропном веществе, янтарнокислой соли фумарового эфира диэтиламиноэтанола, могут быть использованы в учебном процессе по дисциплине «Фармакология».

### **Соответствие диссертации паспорту специальности**

Работа соответствует паспорту специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, а именно пунктам 5,6 и 7.

### **Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации**

Полученные результаты могут быть использованы для создания плана дальнейших доклинических исследований. После завершения доклинических исследований и производства промышленной серии препарата можно будет подавать запрос в Минздрав России на проведение клинических исследований.

### **Оценка содержания диссертации и ее завершенности**

#### **Структура и оформление работы**

Диссертационная работа изложена на 238 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 7 глав результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 445 источников, в том числе 240 на русском и 205 на иностранных языках. Работа иллюстрирована 75 таблицами и 40 рисунками.

В первой главе содержится большой раздел, посвященный описанию клинической фармакологии современных групп ноотропных препаратов для лечения когнитивных нарушений. Подробно описано влияние интермедиантов цикла Кребса, в частности янтарной и фумаровой кислот, на

функциональное состояние ЦНС. Отдельно рассматриваются современные механизмы ноотропного действия, реализующиеся на уровне синаптических мембран. Рассматриваются перспективные направления развития фармакологического класса ноотропов.

Во второй главе «Материалы и методы» представлен дизайн исследования, изложен ход эксперимента, описаны процедуры моделирования патологических процессов, лабораторные и инструментальные методы. Подробно дано описание использованных фармакологических агентов, обоснован выбор дозы использованных средств и режима введения. Методы статистической обработки, использованные автором, адекватны поставленным задачам исследования.

Третья глава посвящена скринингу новых эфиров этаноламина с янтарной и фумаровой кислотой и их солей с кислотами цикла Кребса на наличие психоактивирующего и антигипоксического эффектов. В главе представлен прогноз вероятности обнаружения ноотропной активности у новых соединений с выявленным психоактивирующим и нейропротекторным действием. По результатам проведенного скрининга в качестве потенциального ноотропного действия, было выбрано соединение - янтарнокислая соль фумарового эфира диэтилэтанолamina (ФДЭС).

В четвертой главе содержатся данные о нейропротекторном действии ФДЭС. Автором представлены результаты по влиянию ФДЭС на переносимость лабораторными животными острой гипоксии (острой нормобарической, гемической и гистотоксической) и ишемии (модель тотальной ишемии мозга), а также влияние на координаторные функции крыс (модель окклюзии средней мозговой артерии и фокальной черепно-мозговой травмы).

Пятая глава диссертации содержит информацию по влиянию ФДЭС на поведение (на модели окклюзии средней мозговой артерии и без нее) и когнитивные функции лабораторных животных. Особое внимание в работе уделено влиянию ФДЭС на обучение, запоминание, формирование и

воспроизведение памятного следа у животных. Показано, что указанные когнитивные функции возрастали у обученных животных (тесты «Т-лабиринт» и «Экстраполяционное избавление»), но более выражено исследуемое вещество способствует сохранению и закреплению информации, полученной в период обучения как к здоровых животных, так и в условиях амнезии, вызванной введением скополамина. Установлено, что, на фоне патологии, ФДЭС выражено повышает когнитивные функции.

В шестой главе приведены результаты изучения механизма действия ФДЭС *in vitro* на модели амилоидной токсичности и составлен компьютерный прогноз для его дополнительных механизмов действия. Показано, что механизм нейропротекторного действия нового ноотропного вещества связан со способностью ФДЭС активировать нейрональный депонизируемый вход кальция в постсинаптические дендритные шипики, являясь специфическим активатором нДУВК. ФДЭС защищает грибовидные шипики в условиях амилоидной синаптотоксичности. С помощью программы PASS 21 для исследуемого соединения предсказаны следующие фармакологические свойства: уменьшение негативных последствий ишемии головного мозга, увеличение когнитивных способностей, уменьшение негативных последствий черепно-мозговой травмы. Выявлено, что ФДЭС проявляет свойства ингибитора транскрипционного фактора NF kappa B, уменьшает мембранную проницаемость, агониста к рецепторам предсердного натрийуретического пептида и инсулиновым рецепторам, оказывает антагонизм к фибриногеновым рецепторам тромбоцитов и проявляет свойства антигипоксанта.

Седьмая глава посвящена изучению фармакокинетики исследуемого вещества. Разработана и валидирована методика ВЭЖХ-МС для количественного определения соединения ФДЭС в биологических жидкостях. Оценочно определены фармакокинетические показатели препарата при внутривенном и интрагастральном введении ФДЭС. С помощью программы «PALLAS 3.00» проведен компьютерный прогноз

возможных метаболитов соединения ФДЭС, было определено 13 структур метаболитов. Основным метаболитом ФДЭС можно считать продукт окисления и гидроксирования катионной части молекулы.

В восьмой главе представлена технология производства таблеток ФДЭС для ее применения в лабораторных условиях. Описан метод влажного гранулирования для получения таблеток, обоснован состав и изучены их свойства. Предложена технологическая схема получения таблеток ФДЭС.

Отдельная глава включает обсуждение полученных результатов, где автор обобщает материалы. Автор сравнивает фармакологические эффекты ФДЭС в дозах 10 мг/кг и 75 мг/кг. Кроме того, представлены этапы разработки новых ноотропных препаратов на основе ФДЭС.

Выводы основаны на результатах собственных исследований и соответствуют поставленной цели и задачам исследования. Завершают диссертацию практические рекомендации и список использованных литературных источников. Результаты собственных исследований автора показывают, что цель и задачи, поставленные в данном исследовании, достигнуты полностью.

Работа написана научным языком, все сведения аргументированы, свидетельствуют о хорошей научной подготовке автора.

Основные положения, выносимые на защиту, сформулированы четко, полностью соответствуют цели и задачам исследования. Автореферат диссертации отражает основное содержание диссертационного исследования, полностью соответствует разделам, положениям и выводам диссертационной работы.

### **Вопросы и замечания**

Принципиальных замечаний и возражений по диссертационной работе нет. В работе присутствует значительное количество опечаток и неточностей. В ходе рецензирования диссертационной работы возникли следующие вопросы, требующие дополнительного пояснения и уточнения:



1. Почему для субстанции ФДЭС Вами выбрана лекарственная форма – таблетки? Каким образом была рассчитана доза таблетки? Какой планируется курс приема таблеток? Как это было учтено при проведении хронической токсичности?

2. При проведении исследований фармакокинетики был ли учтен тот факт, что ФДЭС является эндогенным веществом и в норме может содержаться в биообъектах?

Все приведенные вопросы носят дискуссионный характер и не затрагивают существа работы.

### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Болотовой Веры Цезаревны «Разработка нового ноотропного препарата на основе производных этаноламина, бутандиовой и транс-бутендиовой кислот (экспериментальное исследование)» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как решение актуальной крупной научной проблемы, имеющей важное значение для экспериментальной и клинической фармакологии, связанной с разработкой нового ноотропного препарата, который в условиях гипоксии и ишемии нормализует поведенческие реакции, процессы обучения и памяти, что имеет существенное значение для экспериментальной и клинической фармакологии.

По своей актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований, практической значимости полученных результатов представленная работа полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора

наук, а её автор, Болотова Вера Цезаревна заслуживает присуждения учёной степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Директор Института фармации им. А.П. Нелюбина Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), доктор фармацевтических наук, профессор

«04» марта 2024 года

 Г.В. Раменская



Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет)

Адрес организации: 119991 г. Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр.2

тел. +7 (495) 609-14-00

E-mail: ramenskaya\_g\_v@staff.sechenov.ru

В Диссертационный Совет 21.2.005.02 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, ученой степени доктора наук, созданного при ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

### СВЕДЕНИЯ

об оппоненте Раменской Галине Владиславовне по диссертации Болотовой Веры Цезаревны на тему: «**Разработка нового ноотропного препарата на основе этаноламина, бутандиовой и транс-бутендиовой кислот (экспериментальное исследование)**» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (фармацевтические науки)

Фамилия, имя, отчество	Год рождения, гражданство	Место основной работы (организация, должность)	Ученая степень, ученое звание, специальность, по которой защищена диссертация	Основные научные работы
Раменская Галина Владиславовна	1972, гражданство Российской Федерации	Институт Фармации им. А.П. Нелюбина Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.П. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет)», директор	Доктор Фармацевтических наук (3.4.2. (15.00.02) - Фармацевтическая химия и фармакогнозия и 3.3.6. (14.00.25) – фармакология, клиническая фармакология), профессор	1. Орлова О.Л., Дмитриева М.В., Шпрах З.С., Поскедова Я.А., Раменская Г.В. Изучение возможности использования прямого прессования для получения таблеток лапатиниба / Естественные и технические науки. 2023. 2 (177): 79-83. 2. Дубовик Н.С., Гуранда Д.Ф., Раменская Г.В., Товбин Г.В., Тарасов Д.Н., Савченко А.Ю., Арнаутов В.С. Разработка и валидация методики определения инновационного препарата DD217 - ингибитора фактора Ха в плазме крови крыс целью проведения фармакокинетического исследования / <i>Разработка и регистрация лекарственных средств</i> . 2022. 11(2):197-206 3. Shprakh Zoia S., Poskedova Yana A., Ramenskaya Galina V. Modern instrumental methods for qualitative and quantitative analysis of lapatinib in biological fluids and dosage forms (review) / <i>International Journal of Applied Pharmaceutics</i> . 2022.14 (1): 7-12 4. Поскедова Я.А., Шпрах З.С., Игнатьева Е.В., Раменская Г.В. Валидация методики количественного определения лапатиниба в таблетках при проведении теста «Растворение»

		<p>Заведующая кафедрой фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева</p>	<p>/Фармация. 2022. 71 (8) 28-33</p> <p>5. Хорольский М.Д., Чапленко А.А., Власов А.М., Масленникова Н.В., Раменская Г.В. Примеси нитрозаминов в лекарственных препаратах: пути образования и механизмы токсического действия. <i>Медицина</i> 2019; 7(4): 12-24.</p> <p>6. Хорольский М.Д., Ананьина О.В., Чапленко А.А., Недков И.В., Масленникова Н.В., Раменская Г.П. Сравнительная оценка подходов определения примеси N – нитрозодиметилamina в фармацевтической субстанции валсартан методом газовой хроматографии с использованием масс-спектрометрического детектирования /Химико-фармацевтический журнал. 2019. 53.8. 88-93</p>
--	--	--------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Согласна на оппонирование, не имею научных работ в соавторстве с соискателем, не являюсь членом Экспертного совета Высшей аттестационной комиссии Министерства образования и науки Российской Федерации

**Оппонент**

Доктор фармацевтических наук, профессор  
директор Института фармации им. А.П. Нелюбина  
ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова МЗ РФ  
(Сеченовский университет)



Раменская Галина Владиславовна

Адрес организации: 119048, г. Москва, ул. Трубевцкая, д. 8, стр. 2  
Тел. +7 (495) 609-14-00  
E-mail: [ramenskaya\\_g\\_v@staff.sechenov.ru](mailto:ramenskaya_g_v@staff.sechenov.ru)  
Официальный сайт: <https://www.sechenov.ru>

