

ОТЗЫВ

официального оппонента, руководителя отдела нейропсихофармакологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» доктора медицинских наук профессора Ворониной Татьяны Александровны 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 расстройств, сопровождающих различные заболевания. 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%. 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.

Для лечения когнитивных расстройств, сниженной психической и двигательной активности в медицинской практике используются ноотропные препараты. Однако, они не всегда являются эффективными и имеют различные побочные эффекты.

В связи с вышеизложенным, диссертационная работа В.Ц. Болотовой, посвященная разработке отечественного, оригинального, безопасного ноотропного препарата на основе производных этаноламина, бутандиовой и транс-бутендиовой кислот, является актуальным и имеет высокую степень научной новизны.

Достоверность и научная новизна полученных результатов

Получены результаты о специфическом действии нового соединения – янтарнокислой соли фумарового эфира диэтилэтанолamina (ФДЭС). Показано наличие нейропротекторного и когнитивного компонентов действия для нового производного транс-бутендиового эфира диэтиламиноэтанола – янтарнокислой соли. Установлена способность исследуемого соединения в условиях гипоксического, ишемического и травматического поражения головного мозга уменьшать выраженность когнитивных и эмоциональных нарушений, и показано, что соединение препятствует развитию дегенеративных гистоморфологических изменений в ткани головного мозга. Выявлена способность ФДЭС повышать выживаемость лабораторных животных и восстанавливать их когнитивную и двигательную активность в условиях острого нарушения мозгового кровообращения и черепно-мозговой травмы.

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. 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.

Показана безопасность применения ФДЭС в твердой лекарственной форме – таблетки при длительном введении. Изучены фармакокинетические параметры ФДЭС при пероральном введении его таблетированной лекарственной формы. Установлено, что фармакокинетическая кривая, для однократного перорального введения таблеток ФДЭС, носит моноэкспоненциальный характер. Определены основные фармакокинетические показатели: биодоступность, пик концентрации в плазме крови, объем распределения, период полувыведения, среднее время удержания вещества в организме крысы. Установлено, что ФДЭС определялся в плазме крови и моче более 24 ч.

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

Работа выполнена на достаточно высоком методическом уровне, характеризуется хорошей проработкой литературы по проблеме, использованием современных методов исследования, соответствующих поставленным задачам, в ее основе лежит всесторонний анализ и системный подход к изучению проблемы.

Объем изученного материала и выполненных исследований вполне достаточен для получения достоверных научных результатов. Объектом исследования являлись: 1292 белые беспородные лабораторные мыши(самцы) и мыши(самцы) линии СВА; 587 белые беспородные крысы-самцы и 72 крысы-самки. Дизайн исследования разработан корректно, группы сформированы рационально.

Качественный анализ и статистическая обработка полученных данных делают убедительными полученные результаты и полностью обосновывают основные положения работы с вытекающими из них выводами и практическими рекомендациями.

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.

Значимость полученных результатов для науки и практики

В диссертационной работе представлены данные о новом перспективном соединении, созданным на основе янтарнокислой соли фумарового эфира диэтилэаноламина, сочетающим нейропротекторные и антиамнестические свойства, которое имеет перспективу использования в медицинской практике для профилактики и лечения когнитивных нарушений, вызванных гипоксическими-ишемическими процессами. Показано, что ФДЭС обладает высокой нейропротекторной и антиамнестической активностями, имеет низкую токсичность и превосходит по эффективности препарат цитофлавин.

Таким образом, полученные результаты позволяют обосновать перспективность создания на основе ФДЭС безопасного и эффективного ноотропного средства с широким спектром действия для профилактики и лечения когнитивных нарушений в комплексной терапии гипоксических состояний, ишемического инсульта и травмы головного мозга.

Полнота изложения основных результатов исследования

Материалы диссертации представлены и обсуждены на многочисленных международных и всероссийских конференциях.

По материалам диссертационного исследования опубликовано 33 печатные работы, из них 13 в журналах, рекомендованных ВАК. Получено 2 патента на изобретение, опубликована 1 монография и внедрены 2 методические рекомендации по доклиническому изучению новых лекарственных средств, обладающих антигипоксическим и актопротекторным действием.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертационная работа написана в соответствии с требованиями Высшей аттестационной комиссии соответствует паспорту заявленной научной специальности: Пункт 3. – Изыскание, дизайн *in silico*, конструирование базовых структур, воздействующих на фармакологические мишени. Выявление фармакологически активных веществ среди природных и впервые синтезированных соединений, продуктов биотехнологии, генной инженерии и других современных технологий на экспериментальных моделях *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*. Пункт 5. – Исследование механизмов действия фармакологических веществ в экспериментах на животных, на изолированных органах и тканях, а также на культурах клеток. Пункт 6. – Изучение фармакодинамики, фармакокинетики и метаболизма лекарственных средств. Установление связей между дозами, концентрациями и эффективностью лекарственных средств. Экстраполяция полученных данных с биологических моделей на человека. Пункт 7. –

Экспериментальное (доклиническое) изучение безопасности лекарственных средств. Изучение токсичности при однократном и многократном введении, включая оценку специфической токсичности и нежелательных побочных эффектов (мутагенность, эмбриотоксичность, тератогенность, влияние на репродуктивную функцию, аллергизирующее действие, иммунотоксичность и канцерогенность).

Теоретическая и научно-практическая значимость полученных результатов

На основании полученных в диссертационном исследовании данных были разработаны методические рекомендации «Методические рекомендации «Биомедицинское (доклиническое) изучение антигипоксической активности лекарственных средств» (под ред. Каркищенко Н.Н., ФМБА России, Москва. – 2017. – 98 с.) и «Методические рекомендации по биомедицинскому (доклиническому) изучению лекарственных средств, влияющих на физическую работоспособность» (под ред. Каркищенко Н.Н., ФМБА России, Москва. – 2017. – 134 с). Настоящие методические рекомендации внедрены в научный процесс центра экспериментальной фармакологии и кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО СПХФУ, которые позволяют расширить спектр методик при изучении антигипоксической и актопротекторной активности лекарственных препаратов. Полученные сведения использовались в монографии «Работоспособность. Утомление. Коррекция.» (2019. М.: Кнорус, 330 с), которая представляет интерес для специалистов в области фундаментальной и спортивной медицины, фармакологии, военной медицины, медицины экстремальных состояний, а также для студентов и аспирантов медицинских и фармацевтических вузов.

Основные результаты диссертационной работы используются на лекциях и практических занятиях по учебной дисциплине «Фармакология» в рамках программы высшего образования – программы специалитета по направлению подготовки 33.05.01 Фармация, профиль Фармация, очной формы обучения на кафедре фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО СПХФУ.

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 с результатами собственных исследований и их обсуждением, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 445 источников, в том числе 240 на русском и 205 на иностранных языках. Работа иллюстрирована 40 рисунками и 75 таблицами.

Во введении автор дает обоснование актуальности темы, определяет цель и задачи исследования, представляет научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, а также формулирует положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы посвящен фармакологической характеристике современных групп ноотропных препаратов. Рассмотрено влияние янтарной и фумаровой кислот на функциональное состояние ЦНС. Подробно рассматриваются современные механизмы ноотропного действия, реализующиеся на уровне синаптических мембран. Анализируются перспективные направления развития группы ноотропных препаратов.

Во второй главе «Материалы и методы» изложен ход эксперимента, представлен дизайн исследования, описаны лабораторные и инструментальные методы. Подробно дано описание использованных фармакологических агентов. 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 описан прогноз возможности 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 диэтилэаноламина (ФДЭС).

В четвертой главе содержатся данные о нейропротекторном действии ФДЭС. Дана характеристика патологических процессов, происходящих под влиянием гипоксии и ишемии, лежащих в основе развития острых церебральных нарушений. Представлены результаты влияния ФДЭС на переносимость лабораторными животными острой гипоксии (острой нормобарической, гемической и гистотоксической) и ишемии (модель тотальной ишемии мозга). Исследовано влияние ФДЭС 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 животных. Особое внимание уделено влиянию ФДЭС на процессы обучения, запоминания, формирование и воспроизведение памятного следа. Показано, что когнитивные функции возростали у обученных животных (тесте «Т-лабиринт» и «Экстраполяционное избавление»), но более выражено исследуемое вещество способствует сохранению и закреплению информации, полученной в период обучения как в здоровых животных, так и в условиях амнезии, вызванной введением скополамина.

В шестой главе приведены результаты изучения механизма действия ФДЭС был изучен *in vitro* на модели амилоидной токсичности и составлен компьютерный прогноз о его дополнительных механизмах действия. Показано, что механизм нейропротекторного действия вещества связан как со способностью ФДЭС, который является специфическим активатором TRPC6-зависимого TRPC, активировать нейрональный депо-управляемый вход кальция в постсинаптические дендритные шипики, так и защищать грибовидные шипики в условиях амилоидной синаптотоксичности. С помощью программы PASS 214 предсказаны клеточные механизмы действия. Показано, что ФДЭС способствует уменьшению негативных последствий ишемии головного мозга, увеличивает когнитивные способности, уменьшает негативные последствия черепно-мозговой травмы.

Седьмая глава посвящена изучению фармакокинетики ФДЭС. Разработан и валидизирован метод ВЭЖХ для количественного определения соединения ФДЭС. Методом ВЭЖХ определены фармакокинетические показатели в крови и моче при пероральном введении таблеток ФДЭС. Проведен с помощью программы «PALLAS 3.00» компьютерный прогноз возможных метаболитов соединения ФДЭС.

В восьмой главе представлена лабораторная технология производства таблеток ФДЭС. Описан способ получения твердой лекарственной формы с использованием метода влажного гранулирования, обоснован состав таблеток ФДЭС и изучены их свойства, предложена технологическая схема производства.

В главе обсуждение полученных результатов, где автор обобщает материалы, корректно сопоставляет их с результатами других исследований. В заключении автор подводит итоги исследования, а также предлагает дальнейшие перспективы научных изысканий ФДЭС.

Выводы и практические рекомендации соответствуют поставленной цели и задачам исследования и обоснованы полученными результатами.

Автореферат отражает основное содержание диссертационного исследования, полностью соответствует разделам, положениям и выводам диссертационной работы.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний и возражений по диссертационной работе нет. Однако, следует отметить избыточность литературных экскурсов перед некоторыми главами и недостаточно полное описание иллюстраций с гистологическими препаратами. При рассмотрении диссертационной работы возникли следующие вопросы, требующие дополнительного пояснения и уточнения:

1. Почему в качестве препарата сравнения автором не был использован цитиколин?
2. Ваше исследование посвящено изучению молекулы, представляющей собой сложный эфир. Какая именно часть молекулы ФДЭС определяет развитие нейропротекторного эффекта?

3. Каково соотношение неропротектроной и антигипоксической активности ФДЭС? Какой из эффектов следует считать основным?

4. Вами была показана способность ФДЭС повышать устойчивость к физической нагрузке. Каков может быть механизм его актопротекторного действия?

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

Заключение

Диссертационная работа Веры Цезаревны Болотовой «Разработка нового ноотропного препарата на основе этаноламина, бутандиовой и транс-бутендиовой кислот (экспериментальное исследование)», представленная на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.3.6. фармакология, клиническая фармакология, является завершённой научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований содержится решение актуальной научной проблемы, имеющей важное значение для экспериментальной и клинической фармакологии, связанной с разработкой нового ноотропного препарата, оказывающего нейропротекторное, нейрореабилитационное и когнитивное действие, и в условиях гипоксического, ишемического и травматического поражения головного мозга уменьшает выраженность когнитивных и эмоциональных нарушений, препятствует развитию дегенеративных гистоморфологических изменений ткани головного мозга.

По своей актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований, практической значимости полученных результатов, представленная работа полностью соответствует требованиям «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, Вера Цезаревна Болотова заслуживает присуждения учёной степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент: руководитель отдела нейропсихофармакологии Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», профессор, доктор медицинских наук, заслуженный деятель науки

Воронина Татьяна Александровна

26 февраля 2024 г.



Подпись профессора Ворониной Т.А. заверяю:

Ученый секретарь ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», кандидат биологических наук



Крайнева Валентина Александровна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»

Адрес: Россия, 125315, Москва, ул.Балтийская, д.8 Телефон: +7(499)151-18-81

Электронная почта: info@academpharm.ru Официальный сайт организации:

<https://www.academpharm.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 Ворониной Татьяне Александровне 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
Воронина Татьяна Александровна	1938 г., гражданство Российской Федерации	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», руководитель отдела нейрпсихофармакологии	доктор медицинских наук (3.3.6. (14.03.06) – Фармакология, клиническая фармакология), профессор	<p>1. Кирова Ю. И., Шакова Ф. М., Воронина Т. А. Этилметилгидроксипиридина сукцинат индуцирует противовоспалительную поляризацию микроглии в мозге стареющих крыс //Биологические мембраны. 2022. 39 (1):44-53.</p> <p>2. Воронина Т.А., Крайнева В.А., Золотов Н.Н., Котельникова С.О., Вальдман Е.А. Роль оксидативного стресса при остром экспериментальном геморрагическом инсульте и терапевтические эффекты мексидола //Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2022. 122, (8-2): 65-71.</p> <p>3. Воронина, Н. А., Лисина, О. Ю., Красильникова, И. А., Кучеряну, В. Г., Капица, И. Г., Воронина, Т. А., Сурин, А. М. Влияние гимантана на изменения Ca²⁺ и Na⁺, вызванные активацией NMDA-каналов в культивируемых нейронах мозга крысы. //Нейрохимия. 2021; 38(1): 3-13.</p> <p>4. Воронина Т.А. Антиоксиданты/антигипоксанты – недостающий пазл</p>

				<p>эффективной патогенетической терапии пациентов с COVID-19. //Инфекционные болезни. 2020; 18(2): 97–102.</p> <p>5. Воронина Т.А. «Геропротективные эффекты этилметилгидроксипиридина сукцината в экспериментальном исследовании» //Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова, 2020. 120 (4):81-87.</p> <p>6. Litvinova S. A., Kutepova, I. S., Voronina, T. A., & Petrunina, A. A. Levetiracetam effect on behavioral and electrophysiological parameters in rat model of global brain ischemia //Epilepsy Research. 2020. 167.1064-66.</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 медицинских наук, профессор, руководитель отдела нейропсихофармакологии
ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»

 Воронина Татьяна Александровна

Ученый секретарь ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,

кандидат биол наук
12 февраля 2024 г.



/В.А. Крайнева/

Адрес организации: 125315, город Москва, Балтийская улица, дом 8
Тел. +7 (499) 151-18 - 81, +7 (499)151- 56 - 39
E-mail: info@academpharm.ru
Официальный сайт: <https://www.academpharm.ru>

