

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 99.0.027.03,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ РОССИЙСКОГО ХИМИКО-
ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ Д.И. МЕНДЕЛЕЕВА
МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ, ТВЕРСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО ТЕХНИЧЕСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ИНСТИТУТА
БИОХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ ИМ. Н.М. ЭМАНУЭЛЯ РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ
СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело

№ _____

решение диссертационного совета
от «24» июня 2025 года № 3

О присуждении Лупановой Ирине Александровне, гражданке Российской Федерации, ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Методология формирования и применения специфических ферментных биотест-систем для оценки биологически активных соединений» по специальности 1.5.6 Биотехнология принята к защите «18» марта 2025 года, протокол заседания № 2, диссертационным советом 99.0.027.03, созданным на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственный технический университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук (125047, г. Москва, Миусская площадь, 9, приказ о создании диссертационного совета от «28» сентября 2016 года № 1172/нк).

Соискатель Лупанова Ирина Александровна, «09» июня 1986 года рождения. Диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук на тему: «Исследование молекулярных механизмов действия биологически активных веществ на примере тритерпеновых и флавоноидных гликозидов» защитила в 2011 году в диссертационном совете Д 006.070.01 при Государственном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» Российской академии сельскохозяйственных наук.

Работает в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» Министерства науки и высшего

образования Российской Федерации в должностях ведущего научного сотрудника лаборатории фармакологии отдела экспериментальной и клинической фармакологии Центра медицины (с 2012 по 2016 год), заместителя руководителя Центра медицины (с 2016 по 2019 год), с 2019 года по настоящее время – руководителя Центра доклинических исследований.

Диссертация выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный консультант – доктор фармацевтических наук, профессор, заслуженный деятель науки **Мизина Прасковья Георгиевна**, советник Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений».

Официальные оппоненты:

Мирошников Анатолий Иванович – доктор химических наук, академик Российской академии наук, научный руководитель направления «Биотехнология», заведующий отделом биотехнологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук;

Береговых Валерий Васильевич – доктор технических наук, академик Российской академии наук, профессор кафедры Промышленной фармации Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации, начальник отдела медицинских наук Российской академии наук – Заместитель академика-секретаря по научно-организационной работе Федерального государственного бюджетного учреждения «Российская академия наук»;

Шимановский Николай Львович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент Российской академии наук, заведующий научно-исследовательской лабораторией молекулярной фармакологии научно-исследовательского института трансляционной медицины, заведующий кафедрой молекулярной фармакологии и радиобиологии имени академика П.В. Сергеева Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

дали *положительные* отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский

университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, в своем положительном отзыве, подписанном доктором фармацевтических наук, доцентом, заведующим кафедрой общей фармацевтической и биомедицинской технологии медицинского института Суслиной Светланой Николаевной, указала, что диссертационная работа Лупановой Ирины Александровны является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных соискателем исследований решена научная задача в области биотехнологии по разработке методологии изучения биологически активных веществ различного происхождения, в том числе и из растительных источников. В отзыве особо подчеркнут законченный вид работы – письмом Департамента науки и инновационного развития здравоохранения Министерства здравоохранения Российской Федерации подтверждено право разработчиков лекарственных средств на использование специфических ферментных биотест-систем в доклинических исследованиях. Диссертация в полной мере удовлетворяет всем требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842 (в действующей редакции), а ее автор – Лупанова Ирина Александровна заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология (диссертационная работа обсуждена, отзыв заслушан и утвержден на заседании кафедры общей фармацевтической и биомедицинской технологии медицинского института «14» мая 2025 года, протокол № 10).

Соискатель имеет 102 опубликованные работы, в том числе по теме диссертации опубликовано 48 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 19 работ (из которых 6 – в журналах, индексируемых международными базами Scopus и Web of Science, в том числе одна работа – Q1), получены 3 патента Российской Федерации на изобретение. Общий объем публикаций по теме диссертации составляет 352 страницы. ***В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах.*** Все работы опубликованы лично соискателем или в соавторстве, личный вклад соискателя в работы, опубликованные в соавторстве, составляет более 70 % и состоит в разработке концепции исследования, постановке задач, выполнении экспериментальных исследований и интерпретации полученных результатов. Результаты диссертационной работы представлены и обсуждены более чем на 25 международных и всероссийских научных конференциях, симпозиумах, форумах; опубликовано 2 монографии, депонированных рукописей соискатель не имеет.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Lupanova I.A. Study of in-vitro biological activity of a multi-component therapeutic product designed for treatment of inflammatory conditions of the oral cavity / I.A. Lupanova, P.G. Mizina, E.V. Ferubko, N.I. Sidelnikov // Research

Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2017. – V. 8. – № 4. – P. 933-937. (Scopus, CAS)

2. Lupanova I.A. Specific activity of biologically active complex in liquid herbal drug extracts, studied under different drying conditions / I.A. Lupanova, P.G. Mizina, N.I. Sidelnikov, A.S. Gulenkov // Periodico Tche Quimica. – 2019. – V. 16, № 31. – P. 484-490. (Scopus)

3. Лупанова И.А. Сравнительное изучение гепатопротекторной активности экстрактов цикория обыкновенного / И.А. Лупанова, Е.Н. Курманова, Е.В. Ферубко, О.Л. Сайбель // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2022. – Т. 32(2). – С. 55–62. (Scopus)

4. Лупанова И.А. Сравнительное изучение фармакологической активности экстрактов цикория обыкновенного / И.А. Лупанова, П.Г. Мизина // Химико-фармацевтический журнал. – 2023. – Т. 57, № 8. – С. 51-58. (Web of Science, Scopus, CAS)

5. Лупанова И.А. Сравнительное изучение биологической активности настоек из лекарственного растительного сырья / И.А. Лупанова, П.Г. Мизина, И.А. Мартынич, Е.П. Рогожникова // Биофармацевтический журнал. – 2020. – Т.12, №4. – С. 3-7. (Scopus)

6. Krepkova L.V. Valuable Hepatoprotective Plants – How Can We Optimize Waste Free Uses of Such Highly Versatile Resources? / L.V. Krepkova, A.N. Babenko, O.L. Saybel', I.A. Lupanova, O.S. Kuzina, K.M. Job, C.M. Sherwin, E.Y. Enioutina // Frontiers in Pharmacology. – 2021. – V. 12. – P. 1-17. (Scopus, PubMed)

7. Лупанова И.А. Сравнительное изучение гепатопротекторной активности экстрактов цикория обыкновенного / И.А. Лупанова, Е.Н. Курманова, Е.В. Ферубко, О.Л. Сайбель // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2022. – Т. 32(5). – С. 36. (Scopus).

На диссертацию и автореферат поступило 10 отзывов, *все положительные*. В отзывах указывается, что представленная к защите диссертационная работа характеризуется высокой актуальностью, научной ценностью и имеет большое значение для биотехнологии, в частности медицинской и сельскохозяйственной, позволит создавать высокоэффективные перспективные отечественные лекарственные препараты и вносит значительный вклад в развитие страны. Отзывы направили:

1. Еримбетов Кенес Тагаевич, доктор биологических наук, специалист Общества с ограниченной ответственностью «НИТЦ ПРИМ». В отзыве приведены следующие замечания и вопросы: 1) «В автореферате диссертант указывает, что ряд ферментов – это коммерческие препараты иностранного производства, нет ли проблем в их приобретении?»; 2) «В автореферате перечислены разработанные диссертантом нормативные документы, представлены ли они в тексте диссертации?».

2. Шилова Елена Владимировна, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник отдела информационного обеспечения и контроля качества научных исследований Акционерного общества «Всесоюзный научный центр по безопасности биологически активных веществ». В отзыве имеются следующие вопросы: 1) «Разработанные Вами нормативные документы представлены в диссертации? Если да, то это необходимо отразить в разделе «Объем и структура работы»; 2) «В соответствии с письмом Минздрава, которое автор упоминает в тексте автореферата, проводят ли другие организации уже исследования с использованием специфических ферментных биотест-систем?».

3. Котова Татьяна Вячеславовна, доктор технических наук, доцент, профессор кафедры фармацевтической и общей химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет». К автореферату есть несколько вопросов: 1) «В автореферате достаточно подробно описаны растительные объекты, методы *in silico*, *in vitro* и *in vivo*, однако, нет информации по препаратам сравнения, которые были использованы в фармакологических исследованиях и их дозировкам»; 2) «Почему в качестве метода *in silico* из достаточно большого количества программ была выбрана именно программа PASS?».

4. Чеснокова Наталья Юрьевна, доктор технических наук, профессор базовой кафедры пищевой и клеточной инженерии Передовой инженерной школы «Институт Биотехнологий, биоинженерии и пищевых систем» Дальневосточного федерального университета. Замечаний нет.

5. Рожнов Евгений Дмитриевич, доктор технических наук, профессор кафедры биотехнологии и инжиниринга федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Уральский государственный экономический университет». В отзыве присутствуют вопросы: 1) «Насколько корректно при проведении фармакологических исследований использовать в качестве референтных препаратов готовые лекарственные средства (таблетки) с галеновыми формами и сухими экстрактами растительных объектов исследования (с. 10-11)?»; 2) «В выводе 5 (с. 41) показано сокращение затрат при испытаниях на примере экстрактов травы серпухи венценосной и экстрактов красных листьев винограда культурного. Чем можно объяснить столь существенную разницу в сокращении финансовых затрат: в 4,4 раза и в 27 раз соответственно?».

6. Цугкиев Борис Георгиевич, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, профессор кафедры биотехнологии и стандартизации федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Горский государственный аграрный университет» и Гагиева Лариса Черменовна, доктор биологических наук, заведующий той же кафедрой. Замечаний нет.

7. Корнеева Ольга Сергеевна, доктор биологических наук, профессор, исполняющий обязанности проректора по научной и инновационной

деятельности, заведующий кафедрой биохимии и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет инженерных технологий». Имеется вопрос: «Почему автор выбрала именно медицинское направление (экстракты из лекарственных растений и лекарственные растительные средства)? Возможно ли более широкое применение разработанной биоколлекции?».

8. Соляникова Инна Петровна, доктор биологических наук, профессор, директор Регионального микробиологического центра Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». Замечаний нет.

9. Дворецкий Дмитрий Станиславович, доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой «Технологии и оборудование пищевых и химических производств» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тамбовский государственный технический университет», и Темнов Михаил Сергеевич, кандидат технических наук, доцент той же кафедры. К автореферату есть несколько вопросов: 1) «Из текста автореферата непонятно чем был обусловлен выбор программы Molegro Virtual Docker 6.0 для проведения молекулярного докинга (стр. 13 автореферата)?»; 2) «Есть ли иностранные аналоги сформированной коллекции специфических ферментных биотест-систем? Если да, то различается ли перечень специфических ферментных биотест-систем этих коллекций с той, которую сформировал соискатель (стр. 15-16 автореферата)?»; 3) «С чем связана повышенная активность экстракта сорта Каберне по сравнению с чистым ресвератролом (стр. 19 автореферата)?».

10. Тищенко Виктория Константиновна, доктор биологических наук, заведующий лабораторией экспериментальной ядерной медицины МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «НМИЦ радиологии» Министерства здравоохранения России. Замечаний по структуре, содержанию и оформлению автореферата нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обоснован тем, что они являются признанными специалистами в области медицинской и фармацевтической биотехнологии, что подтверждается наличием соответствующих публикаций в ведущих научных рецензируемых изданиях, а также спецификой и профилем диссертационной работы, и осуществлен в соответствии с пунктами 22 и 24 «Положения о присуждении научных степеней» (постановление Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 в действующей редакции).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- разработана и реализована методология как формирования, так и применения специфических ферментных биотест-систем, включающая всю

необходимую утвержденную нормативную документацию, для оценки и контроля качества биологически активных веществ, независимо от их происхождения и агрегатного состояния, что важно для решения проблем биологической науки, в частности молекулярной биологии и биологической химии, а также для оптимизации процесса разработки лекарственных средств на этапе доклинических исследований;

- предложены основные принципы и базовый алгоритм методологии создания и применения специфических ферментных биотест-систем на основе ключевых ферментов гомеостаза человека;

- подтверждена письмом Департамента науки и инновационного развития здравоохранения Министерства здравоохранения Российской Федерации № 27-3/193 от 13.02.2023 г. целесообразность использования разработанной соискателем методологии в доклинических исследованиях лекарственных средств. **Теоретическая значимость исследований обоснована тем, что:**

- разработан общий методологический подход на основе специфических ферментных биотест-систем, который дает возможность оценивать *in vitro* широкий спектр биологической активности различных веществ, как индивидуальных, так и в комплексе, без использования сложных, дорогостоящих компонентов *in vivo*;

- сформированы Реестр и Биологическая коллекция специфических ферментных биотест-систем, разработана необходимая нормативная документация, касающаяся условий хранения, пополнения и контроля качества единиц хранения Биологической коллекции, что позволяет получать достоверные результаты исследований;

- использован комплекс современных методов *in silico*, *in vitro* и *in vivo* для выбора чувствительных элементов тест-систем (ферментов) и подтверждена работоспособность и приемлемость сформированных специфических ферментных биотест-систем;

- определены основные этапы научного исследования согласно алгоритму предлагаемой соискателем методологии, выводы аргументированы и доказаны;

- установлены широкие функциональные возможности специфических ферментных биотест-систем, заключающиеся в: оптимизации процесса выделения биологически активных веществ из растительного сырья и процесса фармацевтической разработки лекарственных средств на его основе; выявлении маркерных соединений при стандартизации растительного сырья; оценке качества биотехнологического сырья и так далее;

- доказана высокая экономическая эффективность разработанной методологии.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

- разработана методология формирования и применения специфических ферментных биотест-систем для оценки биологически активных веществ различного происхождения и агрегатного состояния и внедрена: в работу акционерного общества «ЭКОлаб» (акт от 11.12.2023), закрытого акционерного общества «Научный центр «ФАРМВИЛАР» (акт от 13.02.2024), закрытого акционерного общества «ВИФИТЕХ» (акт от 17.01.2024), акционерного общества «Фармцентр ВИЛАР» (акт от 23.01.2024), акционерного общества «Всесоюзный научный центр по безопасности биологически активных веществ» (акт от 14.02.2022), Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга (акт от 24.02.2022); в учебный процесс Института наук о жизни и биомедицине (Школе) федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Дальневосточный федеральный университет» (акт от 15.03.2022), кафедр общей и клинической фармакологии с курсом микробиологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Ульяновский государственный университет» (акт от 11.04.2022); фармакологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» (акт от 16.03.2022); фармакологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» (акт от 16.05.2022);

- определены перспективы изучения биотест-систем молекулярного уровня, что позволяет формулировать актуальные научно-практические задачи по разработке новых методик выявления широкого спектра биологической активности в условиях опытов *in vitro* в различных пищевых, медицинских, ветеринарных и парфюмерно-косметических средствах для расширения информативности, снижения временных, финансовых и трудовых затрат, уменьшения количества лабораторных животных в эксперименте в соответствии с современными этическими принципами;

- по результатам исследования подтверждено право разработчиков тех или иных лекарственных средств использовать специфические ферментные биотест-системы в доклинических исследованиях (письмо от 13.02.2023 № 27-3/193 Департамента науки и инновационного развития здравоохранения Министерства здравоохранения Российской Федерации), в котором также подведомственные Министерству здравоохранения России научные организации и образовательные организации высшего образования «проинформированы о наличии указанных исследовательских опций»;

- создана модель эффективной оценки различных биологически активных веществ, позволяющая оптимизировать оценку веществ в процессе их получения (включая выделение, фракционирование и очистку) и определить их перспективность для создания готовых лекарственных средств на их основе.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- для экспериментальных работ показана воспроизводимость результатов исследования, их достоверность обеспечена использованием методик, соответствующих современному научному уровню;
- обоснованность основных научных положений, выводов и практических рекомендаций подтверждается результатами многочисленных экспериментов с использованием сертифицированного оборудования и современными методами статистической обработки результатов;
- направление диссертационной работы базируется на анализе международной и Российской практики оценки биологически активных веществ с применением современных фармакологических методов *in silico*, *in vitro* и *in vivo* в соответствии со всеми необходимыми нормативными документами;
- использовано сравнение данных, полученных соискателем, с выводами, полученными другими исследователями в России и за рубежом, в результате чего составлен Реестр специфических ферментных биотест-систем, для оценки венотропной, антитоксической, антимикробной, антиоксидантной, дофаминергической, иммуномодулирующей и других видов биологической активности.

Личный вклад соискателя состоит в решающей роли в выборе направления исследования по разработке подходов к оценке биологически активных веществ не зависимо от их происхождения и агрегатного состояния, постановке цели и определении задач, выполнении экспериментальных работ, обобщении, систематизации, статистической обработке полученных результатов, на основании которых соискателем сформированы специфические ферментные биотест-системы, которые были объединены в Биологическую коллекцию и подготовлена нормативная документация к ней для получения разрешения на использование элементов коллекции в доклинических исследованиях лекарственных средств.

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 1 – «Молекулярная биотехнология, генетическая и метаболическая инженерия», 7 – «Прикладная энзимология, включая ферментные системы, технологии очистки белков, прикладные аспекты белковой инженерии», 12 – «Биотехнология растительных и животных клеток. Контроль качества и оценка безопасности пищевых, медицинских, ветеринарных и парфюмерно-косметических биопрепаратов» паспорта специальности 1.5.6. Биотехнология (биологические науки).

В ходе защиты диссертации были заданы следующие вопросы:

1. Вы оценивали погрешность определения Ваших биотест-систем?
2. Ваши специфические ферментные биотест-системы носят только качественный характер, есть ли корреляция с тест-системами организменного уровня?
3. На слайде 28 с точки зрения энзимологии Вы берете одно состояние фермента – теоретически Вы смотрите, как действует Ваш ингибитор или

активатор на активный центр фермента, а по классической энзимологии надо смотреть, как действует Ваш ингибитор или активатор на субстрат, а еще более точно надо смотреть, как влияет ингибитор/активатор на ферментно-субстратный комплекс. Это сложнее и затруднительнее, но это более существенно, Вы не находите?

4. В качестве основного фермента, характеризующего антиоксидантную систему, Вы выбрали каталазу. Известно, что это фермент, который действует на вторичные продукты перекисного окисления. Почему Вы не выбрали какие-то ферменты, которые действуют на их образование, например, супероксиддисмутазу, которая всеми признана как основной фермент данной системы?

5. Каким образом Вы определяли скорость ферментативных реакций?

6. Использование ферментов в качестве тест-систем известно; Ваши тест-системы – это Ваша оригинальная разработка или то, что уже есть?

7. На ряде слайдов Вы показывали корреляцию между результатами, полученными ферментными тест-системами и организменными. Как Вы судили об этой корреляции?

8. Сохранность ферментов во всех этих экспериментах как определялась? Проводилась ли валидация?

9. Не было ли у Вас идеи перейти к использованию иммобилизованных ферментов?

10. В связи со сложностью субстратов Вы для каждого субстрата разрабатывали свою регистрирующую методику?

11. Какие Вы видите преимущества Ваших биотест-систем для подтверждения антимикробной активности по сравнению с использованием микробных культур, которые напрямую показывают эту антимикробную активность? При этом жизнеспособность микробных культур также можно анализировать спектрофотометрически.

12. Зависит ли чувствительность Вашего метода от агрегатного состояния субстрата, биологически активного соединения?

13. Какие неизвестные биологически активные свойства Вам удалось предсказать на основе Ваших биотест-систем? Где в медицине это можно применить, если до Вас это было не известно?

14. Почему микроорганизменные биотест-системы выделены в отдельную систему? Ведь микроорганизм – тоже организм.

15. Сейчас алтайские фармацевтические компании широко занимаются получением лекарственных средств на основе растений. У Вас три патента, какой-нибудь из них Вы проверяли в другой производственной компании?

16. Ваши методы позволяют наблюдать «рассвет» и «увядание» биообъекта в течение какого-то разумного времени?

17. Вы сами делали расчёты по молекулярному докингу, какой методикой Вы пользовались, каким программным обеспечением?

Соискатель Лупанова Ирина Александровна согласилась с высказанными замечаниями, ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию.

На первый вопрос соискатель пояснила, что статистическую обработку результатов проводили с использованием Statistica 13, средняя ошибка исследований составляла порядка пяти процентов. Ошибка до 10 % обнаруживалась в случае, когда ферменты выделяли непосредственно из биологических жидкостей во время экспериментов.

Со вторым вопросом соискатель согласилась, отметив, что специфические ферментные биотест-системы не имеют количественной корреляции с биотест-системами организменного уровня, то есть подтверждается наличие активности у объекта исследования. Организменные биотест-системы использовали в работе для подтверждения работоспособности специфических ферментных биотест-систем и целесообразности их применения при выявлении биологической активности у объектов исследования.

На третий вопрос соискатель уточнила, что молекулярный докинг использовали лишь для иллюстрации возможности взаимодействия целевых биологически активных соединений с ферментами. Изучение взаимодействия с фермент-субстратным комплексом не являлось основной задачей диссертационного исследования и является больше вопросом энзимологии.

На четвертый вопрос соискатель ответила, что, хотя каталаза и является ферментом, действующим на вторичные продукты перекисного окисления, но в комплексе для оценки антиоксидантной, антимикробной или адаптогенной активности наилучшим образом себя показала именно каталаза.

На пятый вопрос соискатель пояснила, что для каждой биотест-системы спектрофотометрически определяли изменение оптической плотности, а затем по формулам рассчитывали скорость ферментативных реакций в присутствии исследуемого объекта и в контроле.

На шестой вопрос соискатель ответила, что часть ферментативных реакций известна, например, каталазная и пируваткиназная. Однако, такие биотест-системы как НАДФН-оксидазная, цитохром P450 и глутатионтрансферазная были разработаны самостоятельно. Другие ферментативные реакции, хотя и описаны, но были оптимизированы под цели и задачи диссертационного исследования. Были сформированы именно такие системы, которые позволили бы проанализировать (оценить) биологически активные соединения разного происхождения, и объединены в биологическую коллекцию, которая позволяет быстро провести, например, первичный скрининг биологически активных соединений. Соискатель пояснила, что у иностранных компаний системы для скрининга биологической активности веществ тоже есть, но они единичны и позволяют оценить продукт только по одному параметру. Так, известны реакции с ацетилхолинэстеразой и моноамидазой для скрининга антидепрессантов.

На седьмой вопрос соискатель ответила, что количественной корреляции в большей части экспериментов не было, так как организменный уровень – это совершенно другой уровень систем. С помощью биотест-систем организменного уровня (соответствующие экспериментальные модели на лабораторных животных) подтверждали именно наличие или отсутствие биологической активности, выявленной с помощью специфических ферментных биотест-систем и их работоспособность и приемлемость.

На восьмой вопрос соискатель пояснила, что проведена большая работа по контролю качества единиц хранения Биологической коллекции специфических ферментных биотест-систем, результаты которой сведены в методы и стандартные операционные процедуры по поддержанию, условиям хранения и контролю качества единиц хранения, указанные в Приложениях к диссертации. В случае коммерческих ферментов в нормативной документации, в том числе, приложены паспорта на данные ферменты с указанием срока годности, условий хранения и так далее.

На девятый вопрос соискатель ответила, что в рамках данного диссертационного исследования такой задачи не стояло, но работы в этом направлении будут вестись дальше.

На десятый вопрос соискатель ответила, что регистрацию вели в случае всех специфических ферментных биотест-систем одним методом – спектрофотометрически. Но состав проб (в том числе холостой, контрольной) и расчет скорости ферментативных реакций для каждой из них разрабатывали отдельно.

На одиннадцатый вопрос соискатель ответила, что преимуществом специфических ферментных биотест-систем перед использованием микробных культур является длительность испытания. Для исследования антимикробной активности с использованием молекулярных биотест-систем необходимо максимум два дня, тогда как применяя микробиологические методы – около недели.

С двенадцатым вопросом соискатель согласилась, что чувствительность специфических ферментных биотест-систем зависит от агрегатного состояния биологически активного соединения.

На тринадцатый вопрос соискатель пояснила, что ярким примером выявления новых ранее неизвестных свойств биологически активных соединений в диссертационном исследовании является оценка биологической активности двух экстрактов надземной части культивируемого и дикорастущего цикория обыкновенного. Растение не внесено в Государственную Фармакопею, исследования проводили на базе Всероссийского института лекарственных и ароматических растений в рамках разработки ресурсосберегающих технологий. С помощью специфических ферментных биотест-систем был проведен скрининг и установлено, что экстракт из травы дикорастущего растения обладал

гепатопротекторной активностью, в то время как экстракт из листьев культивируемого сырья проявил иммуномодулирующую активность.

С четырнадцатым вопросом соискатель согласилась, подтвердив, что микроорганизмы являются тест-объектами организменного уровня.

На пятнадцатый вопрос соискатель ответила, что работы вели и с Алтайским краем по оценке биологической активности облепихового шрота, и с другими фармацевтическими компаниями в рамках заключенных договоров.

На шестнадцатый вопрос соискатель ответила, что в рамках диссертационной работы таких исследований не проводили. Однако, с использованием, например, НАДФН-оксидазной или цитохром P450 и глутатионтрансферазной специфических ферментных биотест-систем это реально оценить.

На семнадцатый вопрос соискатель пояснила, что работы по проведению молекулярного докинга проводили совместно с Национальным исследовательским Томским политехническим университетом с использованием программы Molegro Virtual Docker, результаты представлены в совместной статье в Биофармацевтическом журнале.

На заседании «24» июня 2025 года диссертационный совет за обоснованное решение актуальной научной проблемы, заключающейся в разработке новых подходов к оценке различных биологически активных веществ, пригодных как для контроля качества, так и для прогнозирования их биологической активности, и за предложенные аргументированные практические решения для оптимизации доклинических исследований, внедрение которых вносит значительный вклад в развитие страны, принял решение присвоить Лупановой Ирине Александровне ученую степень доктора биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 18 докторов наук по научной специальности 1.5.6. Биотехнология, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: «за» - 19 (девятнадцать), против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета

Виктор Иванович Панфилов

Ученый секретарь
диссертационного совета

Ирина Васильевна Шакир

24 июня 2025 года

