

УТВЕРЖДАЮ

Первый проректор -
проректор по научной работе
РУДН, д.м.н., профессор,
член-корреспондент РАН
А.А. Костин



2025 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации - **Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»** о научно-практической ценности диссертационной работы **Лупановой Ирины Александровны «Методология формирования и применения специфических ферментных биотест-систем для оценки биологически активных соединений»**, представленной к защите на соискание ученой степени **доктора биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.**

Актуальность диссертационной темы

Актуальность темы диссертационной работы **Лупановой И.А.** обусловлена бурным развитием исследований наук о жизни, разработкой наукоемких технологий живых систем и биомедицинских технологий. Особый интерес представляют работы в области использования возобновляемых растительных ресурсов и получения высококачественных средств на их основе.

Важную роль в исследованиях и их реализации отводится биомоделям и биотест-системам различных уровней: организменного, тканевого, клеточного и молекулярного. При этом корректный выбор и стандартизация моделей и биотест-систем обеспечивают высокий уровень исследований и решение прикладных задач.

Как правило, при проведении биологических исследований для определения таких качественных показателей, как эффективность и безопасность лекарственных средств, используются лабораторные животные (организменный уровень), что является трудоемким процессом, включающим

надлежащее содержание и обеспечение их качества, и значительно увеличивает материальные и трудовые затраты на проведение доклинических исследований. При этом биоэтическая концепция «трёх R» (Replacement, Reduction, Refinement), ставшая международным стандартом их использования, определяет необходимость совершенствования методологических подходов к проведению исследований, одним из которых является сокращение количества лабораторных животных. Современные индустриальные масштабы испытаний и их промышленная организация также требуют увеличения на порядки производительности системы и обеспечения возможности работы с малым количеством испытуемого соединения.

Предлагаемые диссертантом пути методологического обеспечения создания специфических ферментных биотест-систем (СФБТС) открывают возможности совершенствования оценки биологически активных веществ (БАВ) в интересах создания новых препаратов и их применения, так как получение данных о прямом связывании соединений с мишенями, в качестве которых могут выступать ключевые ферменты гомеостаза, позволит более детально описывать схему их взаимодействия, обосновывать их применение и производить их скрининг.

Работа выполнена на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР) в соответствии с планом научно-исследовательских работ по темам: № 0576-2014-0009 «Поисковые исследования экстрактов, фракций, индивидуальных соединений, очистке БАС, предшественников из лекарственного растительного сырья, модификаций БАС и их идентификации» и № 0576-2014-0014 «Изучение биологической активности экстрактов, фракций, индивидуальных веществ, в том числе полученных методом модификации природных соединений, субстанций из нативного и биотехнологического сырья с применением биотест-систем, микробиологических методов и иных биомоделей».

Научная новизна диссертационного исследования заключается в обобщении опыта и систематизации результатов комплексных исследований по оценке различных БАВ с применением различных методов *in silico*, *in vitro*

и *in vivo*, что позволило Лупановой И.А. впервые предложить разработанную методологию формирования и применения как первичных, так и созданных на их основе вторичных специфических ферментных биотест-систем для оценки БАВ различного, в том числе и растительного происхождения, разного агрегатного состояния и показать возможность их использования для оценки других объектов с аналогичной биологической активностью.

Лупановой И.А. сформирован Реестр первичных и вторичных СФБТС и Биологическая коллекция СФБТС, имеющих утвержденный и зарегистрированный в ФГБНУ ВИЛАР СОП. Также ею впервые разработан и утвержден порядок работы с их использованием (хранение, отбор, контроль качества), отраженный в разработанных автором нормативных документах, отраженных в приложениях к диссертации.

Практическая значимость. Соискателем в соавторстве получены три патента РФ №№ 2676085, 2771028 и 2802434.

Результаты диссертационного исследования нашли свое отражение в сформированной и утвержденной в ФГБНУ ВИЛАР Биологической коллекции СФБТС и нормативной документации для ее поддержания, внедрены в работу фармацевтических предприятий ЗАО НАУЧНЫЙ ЦЕНТР «ФАРМВИЛАР», ЗАО «ВИФИТЕХ», АО «Фармцентр ВИЛАР», АО «ЭКОлаб», АО «Всесоюзный научный центр по безопасности биологически активных веществ», НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга (г. Томск) и в учебный процесс Института наук о жизни и биомедицине (Школе) ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет»; кафедр общей и клинической фармакологии с курсом микробиологии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» Минобрнауки РФ; фармакологии им. ЗДН РФ профессора А.А. Лебедева ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ; фармакологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» МЗ РФ от 16.05.2022, используются в тематике научно-исследовательских работ ФГБНУ ВИЛАР и по договорам со сторонними фармацевтическими и косметическими компаниями.

Весомым практическим вкладом также является подтверждение права разработчиков тех или иных лекарственных средств использовать СФБТС в доклинических исследованиях письмом Министерства здравоохранения Российской Федерации (Департамент науки и инновационного развития здравоохранения письмо от 13.02.2023 № 27-3/193).

Структура диссертации. Рассмотренная диссертация содержит все требуемые разделы: изложена на 266 страницах, иллюстрирована 51 таблицей и 54 рисунками, в том числе микрофотографии, включает введение, обзор литературы (I глава), материалы и методы исследований (II глава), 6 глав экспериментальных исследований, заключение, выводы, список цитируемой литературы (343 источников, 242 из них на иностранных языках), список сокращений и приложения. Оформление работы полностью отвечает рекомендациям ВАК РФ для докторских диссертаций. Содержание автореферата хорошо соответствует изложенному в диссертации материалу.

Во *введении* обоснована актуальность выполнения данной научной работы, показана степень ее разработанности, сформулированы цель и задачи исследования, четко обозначены научная новизна и практическая ценность полученных результатов, а также основные положения, выносимые на защиту.

В *первой главе* «Литературный обзор» приведены данные научной литературы о различных методах оценки биологической активности веществ, в том числе альтернативных: *in silico* (программы PASS, молекулярный докинг и др.), *in vitro* (с применением изолированных белковых структур, на основе клеточных культур и др.), *in situ / ex vivo* (с помощью изолированных органов или тканей), их преимущества и недостатки, возможности их использования в оценке растительных БАВ. Обзор литературы написан квалифицировано, грамотным языком.

Во *второй главе* «Материалы и методы исследований» описаны составы специфических ферментных биотест-систем, дана характеристика растительным субстанциям, описаны методы *in silico*, фармакологические, биохимические, морфологические и статистические методы, используемые в исследовании.

Третья глава «Ферменты в качестве тест-объектов молекулярного уровня для создания на их основе специфических ферментных биотест-систем (СФБТС)» включает обоснование использования ключевых ферментов гомеостаза в качестве тест-объектов молекулярного уровня, их характеристику, описан процесс формирования специфических ферментных биотест-систем, а также Биологической коллекции, расписаны этапы по созданию методологии формирования и применения СФБТС.

В главах 4, 5 и 6 отражены результаты собственных исследований работоспособности, приемлемости и достоверности, разработанных СФБТС по оценке биологической активности на примере веществ различного происхождения и агрегатного состояния: сухих экстрактов, полученных из нативного и биотехнологического сырья, жидких (настойки, спреи) и твердых лекарственных форм (таблетки, таблетки для рассасывания), разработанных в ФГБНУ ВИЛАР. Автор детально обсуждает полученные результаты сопоставляя их с данными литературы.

В седьмой главе «Функциональные возможности специфических ферментных биотест-систем» содержатся результаты экспериментальных исследований, демонстрирующих широкие функциональные возможности использования СФБТС: первичный биохимический скрининг, выявление целевых БАВ, оценка возможности их связывания с ключевыми ферментами гомеостаза и оценка их токсичности. Материал изложен логично, вытекающие выводы научно обоснованы.

В восьмой главе «Экономическое обоснование использования специфических ферментных биотест-систем» автором обсуждены результаты сравнительной оценки затрат на проведение исследований по оценке БАВ с использованием биотест-систем молекулярного (СФБТС) и организменного (лабораторные животные) уровня, доказывающие экономическую целесообразность использования СФБТС в доклинических исследованиях лекарственных средств. Полученными данными автор демонстрирует еще одно преимущество СФБТС перед тест-системами организменного уровня, а именно – значительно сокращение количества лабораторных животных в эксперименте.

В итоговом заключении обобщены полученные результаты, на основании которых автор формулирует шесть выводов.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, рекомендаций и выводов. Приведенные соискателем заключение и выводы достоверны и обоснованы обширным экспериментальным материалом с привлечением современных методов исследований и адекватных приемов статистической обработки полученных результатов. Выводы отвечают цели и задачам диссертационной работы, а также согласуются с положениями, выносимыми на защиту. Представленные в диссертации результаты представлены последовательно и логично. Чтение облегчает наличие богатого иллюстрационного материала. Все полученные результаты базируются на большом объеме первичного фактического материала, что определяет их достоверность с учетом многолетнего комплексного характера проведенных исследований. Это наглядно демонстрирует успешная апробация основных положений работы на большом количестве международных и всероссийских конференций, по ним опубликовано 48 научных работ: 19 статей в периодических изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства науки и высшего образования России, из них в базах данных Scopus и Web of science – 6 (Q1-1 статья), 2 монографии, три патента РФ, из них. Опубликованные научные труды автора полностью отражают основные положения и выводы диссертации.

Соответствие работы паспорту специальности. Научное положение диссертационной работы соответствует паспорту специальности 1.5.6. Биотехнология (биологические науки), пунктам: 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.

Замечания по содержанию, стилю изложения материала диссертационной работы и ее оформлению. Среди пожеланий и замечаний к работе можно выделить следующие:

1. Автор показывает возможность использования специфических ферментных биотест-систем для оценки других объектов с аналогичной биологической активностью. Проводились ли исследования фармакологических свойств биологически активных веществ синтетического происхождения?
2. Каким образом была рассчитана доза препаратов сравнения?
3. Хотелось бы, чтобы приведенные в диссертационной работе исследования в области биотехнологии и биомедицинской технологии использовались в учебном процессе в виде, к примеру, методички или учебного пособия.

Данные замечания носят рекомендательный характер, при этом не снижают степень научной новизны и практической значимости представленной работы.

Заключение. Диссертационная работа Лупановой Ирины Александровны «Методология формирования и применения специфических ферментных биотест-систем для оценки биологически активных соединений» является самостоятельно выполненной, законченной научно-квалификационной работой, а полученные соискателем результаты могут быть использованы в пищевых, медицинских, ветеринарных и других целях, в том числе для практического здравоохранения.

Соискателем решена задача в области биотехнологии по разработке методологии исследования биологически активных веществ различного происхождения, в том числе и из растительных источников. Особенно стоит подчеркнуть законченный вид работы, что подтверждает письмо Департамента науки и инновационного развития здравоохранения Министерства здравоохранения Российской Федерации, подтверждающее право разработчиков лекарственных средств на использование СФБТС в доклинических исследованиях.

В целом, диссертационная работа Лупановой И.А. по актуальности темы, объему проведенных исследований, научно-методическому уровню, научной новизне и практической значимости соответствует требованиям пункта 9

«Положения о присуждении ученых степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а её автор, Лупанова И.А., заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Отзыв на диссертационную работу Лупановой Ирины Александровны заслушан и утвержден на заседании кафедры общей фармацевтической и биомедицинской технологии медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», протокол № 10 от 14 мая 2025 года.

Отзыв составили:

Заведующий кафедрой общей фармацевтической и биомедицинской технологии медицинского института РУДН, доктор фармацевтических наук (14.04.01 Технология получения лекарств), доцент



С.Н. Суслина

Директор медицинского института РУДН, доктор медицинских наук, профессор



А.Ю. Абрамов

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»

117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6.

Тел. (495) 787-38-03, (495) 434-42-12, (495) 434-66-82

e-mail: rector@rudn.ru; rudn@rudn.ru