

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации  
Департамент научно-технологической политики и образования

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования

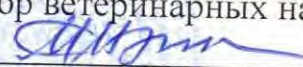
ДАГЕСТАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени М.М.Джамбулатова

367032, г.Махачкала, ул.М.Гаджиева, 180; тел. (8-872-2) 68-24-68, 68-24-42  
Факс 68-24-19; Электронная почта: (E-mail):daggau@list.ru

18.03. 2022г.

№ 00-295

Утверждаю:

Ректор ФГБОУ ВО «Дагестанский ГАУ  
имени М.М. Джамбулатова»  
доктор ветеринарных наук, профессор  
 З.М. Джамбулатов  
« 18 » марта 2022г.



## ОТЗЫВ

ведущей организации ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный аграрный университет имени М.М. Джамбулатова» на диссертационную работу Варламовой Анастасии Ивановны: «Биологическая активность, токсические свойства и особенности фармакокинетики и биотрансформации супрамолекулярного комплекса фенбендазола, полученного по механохимической технологии с адресной доставкой», представленной к защите в диссертационный совет Д 24.1.249.02, созданного на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям: 1.5.17. Паразитология и 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология

### Актуальность темы.

Диссертационная работа Варламовой Анастасии Ивановны является решением одного из вопроса актуальной проблемы борьбы с гельминтозами имеющей важное народно-хозяйственное значение.



Паразитарные болезни имеют широкое распространение в регионах и являются причиной снижения продуктивности животных, их племенных качеств, роста и развития молодняка. Паразитозы часто становятся причиной гибели животных и наносят большой экономический ущерб животноводству.

В борьбе с гельминтозами главным считаются преимагинальные дегельминтизации. Автор дополняет этот перечень проведением терапии и профилактики гельминтозов препаратами из класса бензимидазолкарбаматов – фенбендазол, который обладает широким спектром антигельминтного действия. Разработка автора является ценным направлением в организации мер борьбы с гельминтозами.

#### Основная цель.

Исходя из актуальности проблемы, сформулирована цель: – изучить антигельминтные, токсические свойства, особенности фармакокинетики и биотрансформации супрамолекулярного комплекса фенбендазола (СМКФ), полученного с использованием механохимической технологии и адресной доставки.

Автор из цели выделил для решения задачи, которые реализованы в содержании диссертации:

1. Оценить физико-химические свойства СМКФ с различными компонентами, полученными по механохимической технологии.
2. Изучить токсические свойства СМКФ.
3. Изучить биологическую активность СМКФ с различными компонентами в качестве средств адресной доставки на лабораторных моделях.
4. Определить эффективность СМКФ при основных гельминтозах овец.
5. Изучить эффективность СМКФ при основных гельминтозах молодняка крупного рогатого скота.
6. Изучить влияние СМКФ на организм овец и крупного рогатого скота.
7. Изучить особенности фармакокинетики и биотрансформации фенбендазола в организме овец после введения СМКФ.
8. Провести комиссионные и производственные испытания СМКФ при смешанной инвазии овец и молодняка крупного рогатого скота.

Новизна исследований заключается в том, что автор диссертации разработал инновационный антигельминтный препарат – супрамолекулярного комплекса фенбендазола на основе механохимической технологии и наноразмерных систем доставки, обеспечивающих повышение в несколько раз эффективности и снижение токсичности. В результате субстанция препарата равномерно распределяется в порах и на поверхности носителя, что существенно изменяет свойства препарата – повышает растворимость, проницаемость и эффективность. При этом получение СМКФ



происходит в одну стадию без участия жидкой фазы, при отсутствии сушки материалов и отходов производства, что позволяет уменьшить расход субстанции, снизить объемы его импорта и добиться более эффективного и безопасного лечения животных при нематодозах. Эта технология имеет ряд преимуществ перед известными методами – полное исключение из процесса растворителей, одностадийность, экологическая безопасность, возможность масштабирования и гибкость технологии.

Диссертантом установлено физико-химическими методами повышение в 24 раза растворимости СМКФ, уменьшение размера частиц препарата и изменение структуры частиц.

Автором проведены предварительные испытания СМКФ с поливинилпирролидоном на лабораторной модели *Trichinella spiralis* показали значительное повышение его антигельминтной активности по сравнению с базовым препаратом – субстанцией фенбендазола. Повышение в 2,5-3,0 раза эффективности СМКФ установлено при нематодирозе и других стронгилятозах пищеварительного тракта, диктиокаулезе, трихоцефалезе и мониезиозе овец и молодняка крупного рогатого скота.

#### Теоретическая и практическая значимость.

Результаты проведенных автором исследований представляют значительный научный и практический интерес. Полученные данные позволяют более четко охарактеризовать возможность управления солюбилизационным процессом и биологической активностью супрамолекулярных комплексов, используя различные полимеры и другие компоненты для адресной доставки препаратов за счет процесса комплексообразования с полимерами при твердофазной механохимической обработке в измельчителях-активаторах. Повышение растворимости и фармакологической эффективности достигается тем, что в процессе обработки молекулы действующего вещества распределяются в порах и на поверхности частиц/макромолекул носителей. При этом обеспечивается улучшенная всасываемость препарата в пищеварительном тракте при пероральном введении за счет ускоренного высвобождения действующего вещества и транспортировки его через биологические мембраны.

Практическая значимость работы заключается в том, что нерастворимый фенбендазол при включении в комплексы с арабиногалактаном или поливинилпирролидоном обладает многократно повышенной водорастворимостью и эффективностью без усиления токсических свойств. Полученные результаты открывают перспективу ускоренного создания широкого круга лекарственных средств, обладающих повышенной эффективностью.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что разработанный препарат – СМКФ, обладает повышенной в 2,5-3 раза антигельминтной эффективностью, что позволило снизить терапевтическую дозу до 2,0 мг/кг по ДВ. Разработана Методика по применению СМКФ при гельминтозах овец и крупного рогатого скота, одобренная ученым советом ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ



РАН (протокол № 4 от 2 сентября 2021 г.). По результатам испытания СМКФ на лабораторных моделях оформлены «Методические рекомендации по испытанию и оценке эффективности препаратов при трихинеллезе и гименолелидозе на лабораторной модели», одобренные на секции Методической комиссии ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, протокол № 3 от 29 мая 2019 г. Также предложены Методические рекомендации по определению фенбендазола и его метаболитов в молоке коров, одобренные на секции «Инвазионные болезни животных РАСХН, протокол № 2 от 21 сентября 2015 г., Методика количественного определения фенбендазола и его метаболитов в органах и тканях животных методом высокоэффективной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием, одобренная научно-методической комиссией ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН 21 мая 2021 г. протокол № 2 и ученым советом ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН 2 сентября 2021 г., протокол № 4.

Полученные результаты являются решением важной народно-хозяйственной задачи, где инновационная технология получения СМКФ может быть широко использована для модификации других плохо или нерастворимых в воде препаратов, предназначенных для перорального введения животным. Так, практически нерастворимый фенбендазол при включении в комплексы с арабиногалактаном или поливинилпирролидоном обладает многократно повышенной водорастворимостью и эффективностью без усиления токсических свойств. Полученные результаты открывают перспективу ускоренного создания широкого круга лекарственных средств, обладающих повышенной эффективностью.

Диссертационная работа выполнена методически правильно, полученные данные тщательно проанализированы и обобщены, а также были использованы теоретические и общепризнанные современные методы исследований и анализа, а также гельминтологические, клинические, гематологические, биохимические, токсикологические и статистические методы. Для исследований были взяты лабораторные животные: белые мыши, белые крысы, хомяки, кролики. Экспериментальные исследования проведены и апробированы на овцах и крупном рогатом скоте в хозяйствах Самарской, Нижегородской и Московской областей.

#### Оценка содержания диссертации.

Диссертационная работа изложена на 260 страницах, компьютерного текста, и состоит из: общая характеристика работы, литературный обзор, собственные исследования, заключение, практические предложения. Список литературы включает в себя 314 источников, из них 190 – иностранных. Работа иллюстрирована 74 таблицами и 33 рисунками.

Во введении представлена основная суть работы – актуальность проблемы, степень разработанности темы, цель и задачи исследований, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы,



методология и методы исследования, степень достоверности и апробация результатов, личный вклад соискателя, основные положения, выносимые на защиту. В материалах и методах исследований представлен объект исследования – супрамолекулярный комплекс фенбендазола, полученный с использованием механохимической технологии с различными компонентами. Проведен 31 научно-производственный эксперимент.

В содержании работы анализируются результаты физико-химических исследований: рентгенофазовый анализ, сканирующая электронная микроскопия, анализ растворимости методом ВЭЖХ, гранулометрический анализ свидетельствовали об образовании супрамолекулярного комплекса фенбендазола. При этом происходит снижение кристалличности субстанции, повышение растворимости, уменьшение размеров частиц фенбендазола, образование полидисперсного порошка с размером частиц 5-10 мкм и частичное формирование агрегатов неправильной формы, что способствует взаимодействию ФБЗ и ПВП.

Диссертантом детально анализируется биологическая активность СМКФ с различными компонентами на лабораторной модели *Trichinella spiralis* установлена 100%-ная активность СМКФ с ПВП в соотношении 1:10 в дозе 2,0 мг/кг по ДВ. СМКФ с НДОСС, АГ, Na<sub>2</sub>ГК, ЭС и ГЭК в дозе 2,0 мг/кг по ДВ показали соответственно 95,1; 94,9; 93,6; 86,0 и 81,0%-ную активность против *T. spiralis* в сравнении с 24,3%-ным эффектом исходной субстанции ФБЗ в этой же дозе.

Несколько ниже оказалась цестодоцидная активность СМКФ с различными компонентами на модели гименолепидоза белых мышей. СМКФ с ПВП, Na<sub>2</sub>ГК, НДОСС, ЭС, ГЭК и АГ в дозе 2,0 мг/кг по ДВ показал соответственно 85,0; 85,0; 82,0; 65,0; 48,0 и 77,0%-ную активность против *H. nana*, что в 3,4–3,5 раза выше эффективности базового ФБЗ.

Цены, данные диссертанта при изучении острой токсичности СМКФ с разными компонентами наиболее токсичными оказались СМКФ с НДОСС и с АГ Алтайского производства. От дозы 15000 мг/кг пали 3 мыши, а от дозы 20000 мг/кг отмечали гибель 5 из 10 мышей. СМКФ с ПВП, с АГ (фармакопейным), с ЭС и с ГЭК не вызывали падежа животных в дозе 20000 мг/кг. В связи с низкой токсичностью препарата, условно за ЛД<sub>50</sub> приняли максимальную дозу для перорального введения – 20000 мг/кг. Базовый ФБЗ в этой же дозе не вызывал гибели животных. Не установлено видовой чувствительности СМКФ с ПВП при введении в желудок белым крысам и мышам. Более токсичными оказались СМКФ с НДОСС, АГ и Na<sub>2</sub>ГК, что, по-видимому, объясняется повышенной токсичностью и всасываемостью перечисленных средств доставки по сравнению с субстанцией фенбендазола и другими комплексами.

При изучении кумулятивных свойств СМКФ с ПВП в дозе 1/10 от ЛД<sub>50</sub> в течение 28 суток признаков интоксикации у крыс не отмечали, падежа зарегистрировано не было, что указывает на отсутствие кумулятивного действия.



Автор работы анализирует, что при изучении субхронической токсичности СМКФ в дозах 4000 мг/кг, 2000 мг/кг и 1000 мг/кг при пероральном введении в течение 7 суток отклонений в клиническом состоянии животных зарегистрировано не было, введение препарата не оказывало существенного влияния на прирост массы тела животных. Массовые коэффициенты внутренних органов находились в пределах нормы. Гематологические и биохимические показатели крови не подвергались значительным изменениям. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии патологического воздействия СМКФ на организм крыс.

В заключение представлены главные итоги диссертационного исследования автора. В практических предложениях автор четко выделил, что методом механохимической технологии с использованием в качестве адресной доставки поливинилпирролидона разработан супрамолекулярный комплекс фенбендазола с низкой токсичностью и повышенной антигельминтной активностью. В работе представлены перспективы дальнейшей разработки темы.

Диссертационная работа Варламовой Анастасии Ивановны выполнена в полном соответствии с поставленной целью и задачами для ее достижения. В процессе выполнения научной работы автором получены данные, с изучением токсических свойств на 400 мышах, 188 крысах и 4 кроликах, с применением современных методов, принятых в ветеринарии, материалы имеют 8 кратные подтверждения. Работа Варламовой Анастасии Ивановны является решением важной народно-хозяйственной задачи, выполнена на хорошем научно-методическом уровне, объем изученного материала достаточен для объективной оценки. Научные положения, выводы и предложения аргументированы, отражают содержание диссертации, полностью отвечают цели и задачам исследования.

Выводы и практические предложения обоснованы и вытекают из содержания работы.

Обсуждение результатов исследований проведено на основе анализа большого количества литературных источников, что свидетельствует об эрудиции автора в данной области науки и ее хорошей теоретической подготовке.

Анализ проведенных Варламовой Анастасии Ивановны исследований свидетельствует о том, что задачи, поставленные им для разрешения, полностью выполнены. Диссертационная работа носит законченный характер.

Результаты исследований Варламовой Анастасии Ивановны одобрены ученым советом ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН.

По материалам исследования опубликовано 76 научных работ, из которых 26 в журналах, рецензируемых ВАК РФ, 9 в журналах, входящих в Международные базы цитирования и 4 патента на изобретение.



Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации.

Автореферат изложен на 46 страницах, полностью соответствует содержанию диссертации. Выводы и практические предложения в обоих документах одинаковы.

#### Личный вклад соискателя

Представленная диссертационная работа является результатом многолетних научных исследований автора и проведена самостоятельно.

#### Замечания.

Однако, в своей работе диссертанту не удалось избежать некоторых недостатков и неточностей.

1. В родовом и видовом названии гельминтов нет авторов. Например, на стр. 4 *Moniezia expansa* (Rud., 1810).

2. На стр. 23 автор отмечает *Dictyocaulus* spp., когда речь идет *D. viviparus* у телят.

3. На стр. 70 диссертант отмечает, что Подольском отделе ВНИИП Московской области на 10 выбракованных валухах, разделенных на две группы по 5 голов в каждой. Валухам первой группы вводили однократно перорально СМКФ в дозе 2,0 мг/кг по ДВ. Животным второй группы препарат не применяли, и они служили контролем. Желательно, было бы, для опыта использовать 10 голов валухов для лучшей информативности.

4. На стр. 111 мысль автора прерывается - при повторном введении эритроцитов барана (разрешающее введение) на месте введения развивалась воспалительная реакция, интенсивность которой можно оценить [53, 98].

5. На стр. 117 встречается ФБЗ, но в списке сокращений нет расшифровки.

Указанные замечания носят рекомендательный характер и не влияют на качество работы.

#### Заключение.

Оценивая диссертацию, в целом, следует отметить, что она представляет собой законченную научно-квалификационную работу, выполненную автором самостоятельно на достаточном для обобщения и выводов материале. Полученные результаты имеют важное практическое значение, касающиеся решения проблемы высокой эффективности результатов комиссионных испытаний по ДВ эффективности 98% при нематодирозе и других стронгилятозах пищеварительного тракта.

Диссертация Варламовой Анастасии Ивановны «Биологическая активность, токсические свойства и особенности фармакокинетики и биотрансформации супрамолекулярного комплекса фенбендазола,

полученного по механохимической технологии с адресной доставкой», соответствует требованиям, утвержденного постановлением п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 № 842 ВАК РФ (с изменениями и дополнениями от 28.07.2017г.), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям: 1.5.17. Паразитология и 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология.

Материалы диссертационной работы обсуждены и одобрены на заседании кафедры паразитологии, ветсанэкспертизы, акушерства и хирургии (протокол № 7 от 18.03.2022).

Профессор кафедры паразитологии, ветсанэкспертизы,  
акушерства и хирургии, доктор биологических наук,  
(специальность 03.02.11 - паразитология)

Лауреат государственной премии

РД в области науки и техники

Зубаирова Мадина Магомедовна

Зав.кафедрой паразитологии, ветсанэкспертизы,  
акушерства и хирургии, доктор ветеринарных наук,  
(специальность 03.02.11 - паразитология)

Заслуженный деятель науки РФ и РД, профессор,

Лауреат государственной премии

РД в области науки и техники

Атаев Агай Мухтарович

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дагестанский государственный аграрный университет имени М.М. Джамбулатова», М. Гаджиева, 180, г. Махачкала, 367032. Тел. 8-928-544-18-29, E-mail: zubairowa@mail.ru

18.03.2022.



ПОДПИСЬ ЗАВЕРЯЮ

Начальник отдела кадров  
ФБОУ ВО ДАГЕСТАНСКИЙ ГАУ