

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России Оковитого Сергея Владимировича на диссертацию Сиротенко Виктора Сергеевича на тему «Антиагрегантный и антитромбогенный потенциал новых гетероциклических соединений», представленной к защите на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Актуальность проблемы

Работа посвящена решению актуальной научно-практической проблемы поиска и создания новых высокоэффективных антиагрегантных средств. Сердечно-сосудистые заболевания занимают ведущее место в ряду причин смертности во всем мире. Ишемическая болезнь сердца, ишемический инсульт являются основными причинами инвалидности населения. Ведущим фактором в развитии ишемических нарушений являются процессы тромбообразования. Применение антиагрегантной терапии позволяет существенно снизить риск развития таких нарушений и способствовать благоприятному исходу течения заболевания.

Наряду с этим, существующий арсенал антиагрегантных средств обладает рядом недостатков, существенно ограничивающих их применение. Среди них высокий риск развития кровотечений, тромбоцитопении, гастропатии и др. С целью минимизации побочных эффектов и достижения должной эффективности антитромботической терапии нередко прибегают к применению двойной антитромбоцитарной терапии. Все это указывает на необходимость в разработке новых антиагрегантных средств, сочетающих в себе высокую эффективность и минимальный риск развития осложнений.

Исходя из этого, актуальность проведенного исследования является обоснованной. Работа носит фундаментальный и прикладной характер, и направлена на решение важных практических задач здравоохранения.

Важной составляющей данного исследования является изучение антиагрегантных свойств соединений в условиях иммунокоагуляционных нарушений. Это позволяет расширить представление о применении антиагрегантных средств не только для коррекции нарушений тромбоцитарного гемостаза, но и при иммуотромботических состояниях на фоне вирусных и бактериальных инфекциях.

Работа выполнена на кафедре фармакологии и биоинформатики и на базе Научного центра инновационных лекарственных средств ФГБОУ ВО «Волгоградского государственного медицинского университета» Минздрава России, в тесной кооперации с крупными научными центрами и ведущими специалистами в области медицинской химии – НИИ ФОХ ЮФУ, УрФУ, ИОС Уральского отделения РАН, КФУ.

Обоснованность и достоверность результатов исследования

Научно-методические подходы, использованные автором при планировании, выполнении и анализа экспериментальной работы, соответствуют современным требованиям, предъявляемым медико-биологическим наукам, что стало залогом обоснованности выводов, к которым пришел автор.

Достаточный объем выборки и проведенных экспериментальных наблюдений свидетельствуют об объективности и достоверности полученных результатов. Получение достаточного количество образцов для последующего изучения позволило обеспечить статистическую мощь исследования. Результаты обработки данных исследования отражены в рисунках и таблицах, наглядно демонстрирующих степень достоверности и доказательность выводов и основных положений, сформулированных в работе.

Теоретическая и научно-практическая значимость

На основании, полученных данных в опытах *in vitro* по изучению антиагрегантной активности новых соединений выявлены перспективные химические классы с целью поиска и создания на их основе новых эффективных антиагрегантных средств. Методом *in silico* была проведена кластеризация изученных классов химических производных по уровню антиагрегантной активности. Среди производных ксантина было выявлено соединение Ф-168, проявляющее выраженные антиагрегантные и антитромботические свойства с использованием различных моделей экспериментальной патологии. Для данного соединения и его инъекционной лекарственной формы в полном объеме были проведены доклинические исследования с изучением хронической токсичности, а также фармакокинетических параметров. В настоящее время проводятся клинические исследования инъекционной лекарственной формы соединения Ф-168. Для соединения RU-891, относящегося к классу N9-имидазобензимидазолов, также в полном объеме были выполнены доклинические исследования. Для данного вещества и его лекарственной формы для приема внутрь была показана высокая антиагрегантная и антитромботическая активность, установлен двойной механизм антиагрегантного действия, определены фармакокинетические параметры и данные по изучению хронической токсичности. Также, было найдено новое производное тиадиазина – соединение L-36 – обладающее антиагрегантным и антитромботическим действием. Кроме того, для указанного соединения была выявлена антиагрегантная активность в условиях иммуновоспалительной реакции и установлена эффективность по предупреждению дисфункции эндотелия.

Исследования проведены в рамках государственного контракта с Минобрнауки России (№14.N08.12.0160), гранта Минобрнауки России на

проведение крупных научных проектов по приоритетным направлениям научно-технологического развития в рамках подпрограммы «Фундаментальные научные исследования для долгосрочного развития и обеспечения конкурентоспособности общества и государства» государственной программы Российской Федерации «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (соглашение №075-15-2020-777), а также при финансовой поддержке ООО «Компания «ЭЛТА» (договор №43/2015/У).

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертационное исследование соответствует паспорту специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология п.3, п.4, п.5, п.6, п.7.

Структура и оформление работы

Работа изложена на 357 страницах машинописного текста, иллюстрирована 73 рисунками и 93 таблицами. Построение диссертации классическое, последовательное, соответствующее требованиям. Она состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, пяти глав, описывающих собственные результаты автора, главы обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложения. Список источников литературы содержит 100 отечественных и 284 зарубежных источников.

Первая глава представлена обзором литературы по теме диссертации. Автором актуализированы данные по механизмам тромбообразования, а также приведены существующие подходы к фармакологической коррекции повышенного тромбогенного потенциала крови. В главе описаны проблемы современной антиагрегантной терапии, указывающие на необходимость поиска и создания новых антитромбоцитарных средств. Приведены потенциальные мишени для поиска и создания инновационных

антиагрегантных средств. Глава также содержит описание иммуотропных свойств тромбоцитов.

Во второй главе приведены материалы и методы исследования. Автором использован комплексный, методичный подход в проведении исследований. Тестируемые соединения изучены в различных модельных экспериментах с использованием различного биологического материала и тест-систем: ферменты, клетки, цельная кровь здоровых животных и особей с экспериментальным сепсисом, цельная кровь здоровых добровольцев, здоровые животные и с различными экспериментальными патологиями, сопровождающимися увеличением тромбогенного потенциала крови. Автором использован исчерпывающий спектр биохимических и иммуоферментных методов анализа. Используемые методы в полной мере позволяют решить поставленные задачи диссертации. Количество животных, использованных в экспериментах, а также их ранжирование по экспериментальным группам, позволяет получить достоверные результаты. Статистическая обработка данных проведена с применением корректных критериев биомедицинской статистики.

В третьей главе представлены экспериментальные данные по исследованию антиагрегантной активности новых соединений, принадлежащих 12 химическим классам. При экспериментальном изучении оригинальных соединений в опытах *in vitro* были выявлены наиболее активные вещества – Ф-168, RU-891 и L-36, являющиеся производными 3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-диона, N9-имидазобензимидазола и 6Н-1,3,4-тиадиазина. Исследование антиагрегантного действия данных соединений в условиях целого организма *in vivo* позволило установить их эффективные дозы для дальнейшего изучения. Результаты исследования острой токсичности дали возможность определить широту терапевтического действия наиболее активных соединений.

Четвертая глава посвящена изучению фармакологических свойств нового производного ксантина соединения Ф-168 и его инъекционной лекарственной формы. Было установлено влияние данного соединения на различные стадии системы гемостаза и установлен механизм антиагрегантного действия. Показано, что антиагрегантный эффект соединения Ф-168 обусловлен блокадой гликопротеиновых Пб/Ша рецепторов тромбоцитов. При моделировании тромбоза сонной артерии и нижней полой вены была показана высокая антитромботическая активность соединения Ф-168 и его инъекционной лекарственной формы. Антитромбогенная эффективность была подтверждена в условиях экспериментального инфаркта миокарда. При изучении фармакокинетики соединения Ф-168 и инъекционной лекарственной формы были определены основные фармакокинетические параметры и установлена биоэквивалентность лекарственной формы. При изучении хронической токсичности установлена безопасность соединения Ф-168. На основании проведенных доклинических исследований была определена стартовая доза для инициации клинических исследований.

К сожалению, в разделе 4.6.1. «Фармакокинетические свойства активной фармацевтической субстанции» (стр.102), в таблицах 4.13-4.14 отсутствуют фактические данные.

В пятой главе представлены результаты исследований фармакологических свойств соединения RU-891 и его готовой лекарственной формы для приема внутрь. В ходе изучения механизма антиагрегантного действия было определено, что соединение RU-891 обладает двойным механизмом антитромбоцитарного действия – способствует блокаде P2Y₁₂ рецепторов тромбоцитов и ингибированию синтеза тромбоксана. В условиях экспериментальных патологий была показана высокая антитромботическая активность соединения RU-891 и его лекарственной формы для приема

внутри, превосходящая таковую для препаратов сравнения ацетилсалициловой кислоты и клопидогрела. В рамках доклинических исследований были определены фармакокинетические параметры соединения RU-891 и его лекарственной формы, а также установлен профиль лекарственной безопасности.

Шестая глава описывает результаты изучения фармакологических свойств нового производного тиадиазина соединения L-36. При изучении влияния соединения L-36 на рецепторы тромбоцитов и систему вторичных мессенджеров было показано, что механизм антиагрегантного действия исследуемого соединения связан с ингибированием синтеза тромбоксана. На различных моделях тромбоза была определена высокая антитромботическая активность исследуемого соединения. В условиях системной воспалительной реакции соединение L-36 способствует выраженному снижению функциональной активности тромбоцитов, а также снижению уровня фактора Виллебранда и эндотелина-1, что говорит о наличии эндотелиопротективных свойств. Методом *in silico* было установлено, что для соединения L-36 характерно ингибирование фермента ЦОГ-2 и тромбоксан-синтазы, а также были спрогнозированы фармакокинетические параметры и показатели токсичности данного соединения.

В седьмой главе представлены данные по изучению антиагрегантной активности наиболее активных соединений в условиях цитокиновой гиперагрегации. Было установлено, что соединение L-36 способствует дозозависимому ингибированию агрегации тромбоцитов в условиях гиперцитокинемии. Такая активность соединения L-36 указывает на новый интересный подход в изучении антиагрегантных средств.

Восьмая глава посвящена обсуждению результатов исследования. По результатам проведенного исследования установлено, что наиболее перспективными для поиска и создания антиагрегантных средств являются

азотсодержащие и серосодержащие гетероциклические производные. В ходе исследования было выявлено три наиболее активных соединения – Ф-168, RU-891 и L-36, проявляющие наиболее высокую антиагрегантную активность *in vitro* и *in vivo*. Для указанных соединений установлена выраженная антитромботическая активность, подтвержденная на различных моделях артериального и венозного тромбозов, и превосходящая таковую для препаратов сравнения. Установлены механизмы антиагрегантного действия указанных соединений, определены фармакокинетические и токсикологические свойства соединений и их готовых лекарственных форм.

Работа написана хорошим научным языком, однако следует отметить опечатки, встречающиеся в тексте. Все сведения, приводимые автором аргументированы, свидетельствуют о высокой научной подготовке.

Основные положения, выносимые на защиту, сформулированы четко, полностью соответствуют цели и задачам исследования. Выводы и практические рекомендации обоснованы и органично следуют из материалов диссертационного исследования и свидетельствуют о достижении цели работы.

Автореферат полностью отражает все основные положения, этапы и результаты диссертационного исследования.

Результаты диссертационного исследования опубликованы в 20 работах, в том числе в 14 научных статьях в журналах, включенных в Перечень ВАК Минобрнауки России, включая статьи в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, 3 патента. Основные результаты работы были доложены автором на различных конференциях и конгрессах международного и всероссийского уровня.

Личный вклад автора

Личный вклад соискателя в исследовании состоит в непосредственном участии планирования научной работы, формулировки цели, задач

исследования, определение методологии, общей концепции и дизайна диссертационного исследования. Автором проанализированы данные отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационного исследования, разработана концепция и дизайн исследования. Предложенные автором новые подходы аргументированы и базируются на современных научных представлениях.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследований могут быть полезны для научно-исследовательских разработок в интересах изыскания новых высокоэффективных и безопасных антитромботических средств. Материалы работы также могут быть включены в курсы лекций по фармакологии, медицинской химии.

Вопросы и замечания

Диссертационная работа написана в соответствии с требованиями ВАК и соответствует паспорту заявленной научной специальности. Принципиальных замечаний и возражений по диссертационной работе нет, за исключением нескольких, отмеченных выше.

В ходе рецензирования диссертационной работы возникли следующие вопросы, требующие дополнительного пояснения и уточнения:

1. Насколько перспективной может являться монотерапия ингибиторами синтеза тромбоксана A₂, учитывая неудачу прямого антагониста тромбоксановых рецепторов в клиническом исследовании CARPORT и отсутствие или сомнительное превосходство двойных блокаторов (синтеза тромбоксана и его рецепторов) в трех других РКИ?

2. Установлено, что под влиянием соединения Ф-168 значительно снижается уровень внутриклеточного кальция. Не изучалось ли влияние этого соединения на сократительную функцию миокарда? Насколько потенциально

такое влияние может быть опасным у больных с хронической сердечной недостаточностью?

3. Исследуемые соединения были изучены на модели венозного тромбоза. Однако, клиническими рекомендациями, антиагреганты, в силу недостаточной клинической эффективности, не рекомендованы для лечения подобных патологий (тромбоэмболия легочной артерии, тромбоз глубоких вен) – предпочтение однозначно отдается антикоагулянтам. Почему не было проведено сравнение с каким-нибудь антикоагулянтом, для оценки эффективности изучаемых соединений?

4. Почему препаратом сравнения для соединения RU-891, являющимся, как установлено, активным прямым блокатором P2Y₁₂ рецепторов выбран клопидогрел, представляющий собой пролекарство, а не, например, тикагрелор? Возможно ли, что разница в эффектах могла быть обусловлена разницей в скорости наступления действия активного метаболита и субстанции, не требующей метаболической активации?

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

Заключение

Диссертационная работа Сиротенко Виктора Сергеевича на тему: «Антиагрегантные и антитромбогенные свойства новых гетероциклических соединений» представленная на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как решение актуальной научной проблемы, имеющей важное значение для фармакологии – изучение и создание новых антиагрегантных средств, нацеленных на лечение и профилактику тромботических состояний.

По своей актуальности, новизне, объему выполненных исследований, глубине анализа полученных данных, научной и практической значимости диссертация полностью соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (с изменениями и дополнениями), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Сиротенко Виктор Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-
фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской
Федерации
доктор медицинских наук, профессор

«16» мая 2024 г.

 С.В.Оковитый

197022, г. Санкт-Петербург, вн. тер. г. муниципальный округ Аптекарский остров, ул. Профессора
Попова, д. 14 литера А., ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России, тел.: 8 (812) 499-39-00,
<https://spcru.ru>; e-mail: sergey.okovity@pharminnotech.com.

Подпись руки

Оковитый С.В.

удостоверяю

16.05.2024

Начальник отдела документации

Тавров И.В.

ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России



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 официальном оппоненте Оковитом Сергее Владимировиче по диссертации Сиротенко Виктора Сергеевича на тему: «Антиагрегантный и антитромбогенный потенциал новых гетероциклических соединений» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (фармацевтические науки)

Ф.И.О. оппонента	Оковитый Сергей Владимирович
Учёная степень	Доктор медицинских наук, профессор 3.3.6. (14.00.25) Фармакология, клиническая фармакология
Полное наименование организации, являющейся основным местом работы оппонента	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Занимаемая должность	Заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии, ведущий научный сотрудник центра экспериментальной фармакологии
Список основных публикаций официального оппонента по профилю диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет	<ol style="list-style-type: none">1. Фармакодинамические и фармакокинетические особенности комбинированного применения глицирризиновой кислоты. Приходько В.А., Оковитый С.В. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2023. № 8 (216). С. 141-150.2. Об эффективности эмпаглифлозина в терапии экспериментального инфаркта миокарда. Ивкин Д.Ю., Краснова М.В., Оковитый С.В., Карпов А.А., Куликов А.Н., Елецкая Е.И. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2023. Т. 12. № 4. С. 136-145.3. Эффективность эмпаглифлозина при экспериментальной хронической сердечной недостаточности в условиях нормогликемии. Куликов А.Н., Краснова М.В., Ивкин Д.Ю., Карпов А.А., Кашина Е., Оковитый С.В., Демакова Н.В. Кардиология: новости, мнения, обучение. 2021. Т. 9. № 1 (26). С. 9-16.4. Изучение иммуностропных эффектов флавонового гликозида эмбинина. Бычкова Н.В., Калашникова А.А., Уэйли А.К., Лужанин В.Г., Калинина Н.М., Шустов Е.Б., Оковитый С.В. Профилактическая и клиническая медицина. 2019. № 4 (73). С. 77-82.5. Сравнительное исследование эмпаглифлозина при постинфарктной хронической сердечной недостаточности у крыс с нормогликемией. Ивкин Д.Ю., Оковитый С.В., Куликов А.Н., Краснова М.В. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2018. Т. 81. № S. С. 98-99.

Адрес организации по месту работы оппонента

Индекс	197022
Объект	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России)
Город	Санкт-Петербург, вн.тер.г. муниципальный округ Аптекарский остров
Улица	ул. Профессора Попова
Дом	Дом 14, литера А
Телефон	+7 (812) 4993900
e-mail	Rectorat.main@pharminnotech.com
Web-сайт	https://spcpu.ru/

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



Заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России
доктор медицинских наук, профессор

 Оковитый С.В.

08 апреля 2024 г.

197022 г. Санкт-Петербург, вн.тер.г. муниципальный округ Аптекарский остров, ул. Профессора Попова, 14, лит. А, ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России; тел.: 8 (812) 499-39-00, e-mail: sergey.okovity@pharminnotech.com




08.04.2024

ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России