

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой фармакологии и клинической фармакологии НИУ «БелГУ» Покровского Михаила 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 исследования новых антиагрегантных средств. Ведущим фактором в развитии ишемических нарушений являются процессы тромбообразования. Активное участие тромбоцитов в тромбообразовании обуславливает целесообразность фармакологического влияния на тромбоцитарный гемостаз у пациентов с ишемическими нарушениями, фибрилляцией предсердий как с лечебной, так и с профилактической целью. На ряду с этим существуют проблемы в лечении пациентов, получающих антиагрегантную терапию, связанные с развитием ряда осложнений: повторных ишемических событий, гастропатий, резистентности к терапии, кровотечений или вторичного тромбоза стента ввиду остаточной реактивности тромбоцитов и т.д. Таким образом, актуальность проведенного исследования несомненна. Работа представляет собой фундаментальный и прикладной труд, направленный на решение важных практических задач здравоохранения. Особенностью работы также является то, что проведены исследования по изучению антиагрегантного действия веществ в условиях экспериментальной гиперцитокинемии, что отражает новый взгляд на проблему тромбообразования.

Работа выполнена на кафедре фармакологии и биоинформатики и на базе Научного центра инновационных лекарственных средств ФГБОУ ВО «Волгоградского государственного медицинского университета» Минздрава России, научной базе, уделяющей много внимания решению фундаментальных и прикладных проблем биомедицинской науки, что лишний раз подтверждает значимость проведенной работы. Кроме того, исследования выполнены в тесной кооперации с крупными научными центрами и ведущими специалистами в области медицинской химии – НИИ ФОХ ЮФУ, УрФУ.

### **Обоснованность и достоверность результатов исследования**

Объем исследований, выполненных на достаточном количестве животных разного вида, корректная статистическая обработка данных с применением валидных критериев, их четкое описание и анализ позволяет квалифицировать результаты диссертационной работы как достоверные, а положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации обоснованными. Полученные данные следует рассматривать как новые, имеющие важное теоретическое и практическое значение.

## Теоретическая и научно-практическая значимость

В результате проведенного экспериментального исследования новых соединений, относящихся к 12 химическим классам, была сформирована база данных соединений с антиагрегантной активностью. Используемые методы *in silico* позволили определить перспективные базовые скаффолды для поиска и создания на их основе эффективных антиагрегантных средств. Среди производных ксантина было выявлено высоко активное соединение Ф-168, проявляющее выраженные антиагрегантные и антитромбогенные свойства на различных моделях тромбоза. Для данного соединения проведен в полном объеме весь цикл доклинических исследований с разработкой лекарственной формы и изучением токсикологического профиля, а также фармакокинетических параметров. Также, было выполнено изучение нового производного N9-имидазо[3,2-а]бензимидазола соединения RU-891 и его лекарственной формы для приема внутрь с целью проведения полного цикла доклинических исследований. Также, для данного вещества и лекарственной формы были определены фармакокинетические параметры и токсикологический профиль. Выявлено новое производное 6H-1,3,4-гиадиазина соединение L-36, обладающее антиагрегантным и эндотелиотропным действием. Показана эффективность данного соединения в условиях экспериментального сепсиса.

Исследования проведены в рамках государственного контракта с Минобрнауки России, 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», а также при финансовой поддержке ООО «Компания «ЭЛТА».

## Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертационное исследование соответствует п.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*, п.4. Исследование зависимости «структура–активность» в различных классах фармакологических веществ. Целенаправленный синтез и скрининг фармакологических веществ, п.5. Исследование механизмов действия фармакологических веществ в экспериментах на животных, на изолированных органах и тканях, а также на культурах клеток, п.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, п.7. Экспериментальное (доклиническое) изучение безопасности лекарственных

средств. Изучение токсичности при однократном и многократном введении, включая оценку специфической токсичности и нежелательных побочных эффектов., паспорта специальности 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология.

### **Полнота освещения результатов диссертации в печати**

По результатам исследования автором опубликовано 20 работы, в том числе 14 научных статей в журналах, включенных в Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 7 статей в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, 3 патента, 10 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

### **Структура и оформление работы**

Работа изложена на 357 страницах машинописного текста, иллюстрирована 73 рисунками и 93 таблицами. Построение диссертации классическое в соответствии с существующими требованиями. 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, проанализированной диссертантом, литературы содержит 100 отечественных и 284 зарубежных источников. Диссертация хорошо оформлена, написана хорошим литературным языком и легко читается.

**Первая глава** посвящена литературному обзору по теме исследования. Представлен современный взгляд на проблему тромбообразования, а также существующие фармакотерапевтические подходы. В главе раскрываются основные проблемы современной антиагрегантной терапии, указывающие на необходимость поиска и создания новых антитромбоцитарных средств. Отмечены проблемы современной разработки лекарственных средств и пути их решения, приведены потенциальные мишени для поиска и создания антиагрегантных средств. Глава содержит данные об иммуотропных свойствах тромбоцитов, что открывает новый взгляд на проблему тромбообразования.

**Во второй главе** приведены материалы и методы исследования. Автором использован комплексный, методичный подход в проведении исследований. Вещества изучены в различных модельных экспериментах в зависимости от стадии исследования: отдельные ферменты, клетки, цельная кровь здоровых животных и особей с экспериментальным сепсисом, животные здоровые и с экспериментальной патологией. В качестве экспериментальных патологий были смоделированы различные модели тромбоза, инфаркт миокарда, а также сепсис. Применен широкий спектр биохимических и иммуноферментных методик. При моделировании тромбоза у животных использованы различные методы, воспроизводящие ключевые звенья патогенеза данного состояния. 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** описываются экспериментальные данные по исследованию антиагрегантной активности новых соединений, принадлежащих 12 химическим классам. При экспериментальном изучении 148 оригинальных соединений в опытах *in vitro* было выявлено 3 наиболее активных вещества – Ф-168, RU-891 и L-36. Исследование антиагрегантного действия соединений в опытах *in vivo* позволило установить их эффективные дозы (ED<sub>50</sub>). Исследование острой токсичности дало 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 рецепторное семейство тромбоцитов, систему сигнальных каскадов и установлен механизм антиагрегантного действия. На различных моделях тромбоза была показана высокая антитромботическая активность соединения Ф-168 и его 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. В исследовании хронической токсичности установлена безопасность соединения Ф-168. На основании проведенных доклинических исследований была определена доза для начала клинических исследований.

**В пятой главе** описаны результаты доклинических исследований соединения RU-891 и его готовой лекарственной формы для приема внутрь. В ходе изучения механизма антиагрегантного действия было определено, что соединение RU-891 способствует блокированию P2Y<sub>12</sub> рецепторов тромбоцитов и ингибированию синтеза тромбосана. В условиях смоделированных артериальных и венозного тромбозов, а также на фоне экспериментального инфаркта миокарда была показана высокая антитромботическая активность соединения RU-891 и его лекарственной формы для приема внутрь, превосходящая таковую для препаратов сравнения ацетилсалициловой кислоты и клопидогрела. Фармакокинетические исследования и изучение хронической токсичности соединения RU-891 и его лекарственной формы позволили научно обосновать дозу твердой лекарственной формы.

**В шестой главе** представлены результаты исследования антиагрегантных и антитромбогенных свойств нового производного тиадиазина соединения L-36. В экспериментах по изучению влияния соединения L-36 на различные звенья системы гемостаза было установлено, что механизм антиагрегантного действия исследуемого соединения связан с ингибированием синтеза тромбосана. Также, было установлено, что соединение L-36 проявляет выраженные антиагрегантные свойства в условиях системной воспалительной реакции, а также способствует значительному снижению уровня маркеров эндотелиальной дисфункции, что может указывать на высокую эффективность данного соединения в условиях тромбовоспаления на фоне септических осложнений. В

исследованиях *in silico* было показано, что для исследуемого соединения характерно ингибирование фермента ЦОГ-2 и тромбоксан-синтазы, а также определены фармакокинетические параметры и токсикологический профиль.

**В седьмой главе** изложены результаты по изучению антиагрегантных свойств соединений-лидеров в условиях экспериментальной гиперцитокинемии. Соединение L-36 способствовало дозозависимому ингибированию агрегации тромбоцитов в условиях гиперцитокинемии. Подавление функциональной активности тромбоцитов в условиях сепсиса может определить дальнейшие исследования с этой траекторией. Кроме того, впервые проведено исследование антиагрегантной активности некоторых противовирусных средств. Включение противовирусных препаратов в протоколы ведения больных COVID-19 существенно позволило снизить риски тромботических осложнений этих пациентов. Автором впервые установлена интересная закономерность, что некоторые противовирусные средства (фавипиравир, умифеновир, триазавирин, ингавирин, римантадин, энисамия йодид) ингибируют агрегацию тромбоцитов в условиях гиперцитокинемии.

**Восьмая глава** содержит обсуждение результатов исследования. Отмечено, что наиболее перспективными для поиска и создания антиагрегантных средств являются азотсодержащие и серосодержащие гетероциклы. В результате исследования было выявлено три соединения-лидера Ф-168, RU-891 и L-36, проявляющие наиболее высокую антиагрегантную активность *in vitro* и *in vivo*. Данные вещества обладают выраженной антитромботической активностью, подтвержденной на различных моделях артериального и венозного тромбозов, и превосходящей таковую для референсных средств. Установлены механизмы действия указанных соединений, фармакокинетические и токсикологические свойства.

Диссертация завершается выводами и практическими рекомендациями, которые соответствуют поставленным целям и задачам исследования. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключения диссертанта следует признать высокой, что обеспечивается как количественной стороной изученного материала, так и качеством его обработки.

#### **Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации**

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

#### **Вопросы и замечания**

Принципиальных замечаний и возражений по диссертационной работе нет. Вместе с тем, в ходе рецензирования диссертационной работы возникли уточняющие вопросы, которые носят дискуссионный характер, но не затрагивающие существа работы:

1. Работа посвящена изучению, поиску и созданию новых антиагрегантных средств. Данная группа препаратов нацелена на коррекцию тромбообразования в сосудах артериального типа. С какой целью исследуемые соединения были изучены на модели венозного тромбоза?

2. Механизм антиагрегантного действия соединения Ф-168 в работе подразумевает блокаду гликопротеиновых IIb/IIIa рецепторов тромбоцитов. Однако, прямых методов, указывающих на связывание соединения Ф-168 с указанным подтипом рецепторов, в работе не использовано. Чем объясняется вывод о механизме действия соединения Ф-168?
3. Каково возможное дальнейшее применение исследуемых соединений?

### Заключение

Таким образом, диссертационная работа Сиротенко Виктора Сергеевича на тему: «Антиагрегантные и антитромбогенные свойства новых гетероциклических соединений» представленная на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук является 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 – поиск и создание новых высокоэффективных антиагрегантных средств, что полностью соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, 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.

Официальный оппонент  
доктор медицинских наук (3.3.6.  
Фармакология, клиническая  
фармакология), заведующий кафедрой  
фармакологии и клинической  
фармакологии НИУ «БелГУ»,  
профессор

Покровский Михаил Владимирович

« 21 » 05 \_\_\_\_\_ 2024 года

Подпись М.В. Покровского подтверждаю

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», 308015, Белгородская область, г. Белгород, ул. Победы, 85  
Тел.: 8 (4722) 30-12-11  
E-mail: [Info@bsu.edu.ru](mailto:Info@bsu.edu.ru)  
<https://bsuedu.ru/>

Личную подпись удостоверяю Ведущий специалист по кадрам департамента управления персоналом	<i>Покровского М.В.</i>
	<i>Мед. Удостоверяющий М.В.</i>
	« 21 » 05 2024 г.

В Диссертационный Совет 21.2.005.02 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, ученой степени доктора наук, созданного при ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России

### СВЕДЕНИЯ

об оппоненте Покровском Михаиле 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)

Фамилия, имя, отчество	Год рождения, гражданство	Место основной работы (организация, должность)	Ученая степень, ученое звание, специальность, по которой защищена диссертация	Основные научные работы
Покровский Михаил Владимирович	1960 г.р., гражданство - РФ	ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии	Доктор медицинских наук, профессор, 14.00.25 – Фармакология, клиническая фармакология	<p>1. ENDOTHELIAL DEVELOPMENTAL MECHANISMS AND THERAPEUTIC STRATEGIES. Shcheblykin D.V., Bolgov A.A., Pokrovskii M.V., Stepenko Ju.V., Tsvetkalo Ju.M., Shcheblykina O.V., Golubinskaya P.A., Korokina L.V. Research Results in Pharmacology. 2022. Т. 8. № 4. С. 115-139.</p> <p>2. ОСНОВНЫЕ ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВЕН И ИХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ. Лукьянова Ю.С., Покровский М.В. Клиническая фармакология и терапия. 2019. Т. 28. № 3. С. 52-61.</p> <p>3. СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ КОНЕЧНОСТИ ПЛАЗМОЙ, ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ. Орлова А.Ю., Покровский М.В., Артюшкова Е.Б. Кубанский научный медицинский вестник. 2019. № 3. С. 86.</p> <p>4. 11-AMINO ACID PEPTIDE IMITATING THE</p>

				<p>STRUCTURE OF ERYTHROPOIETIN <math>\alpha</math>-HELIX BUT IMPROVES ENDOTHELIAL FUNCTION, BUT STIMULATES THROMBOSIS IN RATS. Korokin M.V., Soldatov V.O., Tietze A.A., Golubev M.V., Belykh A.E., Kubekina M.V., Puchenkova O.A., Denisjuk T.A., Gureyev V.V., Pokrovskaya T.G., Gudurev O.S., Zhuchenko M.A., Zatolokina M.A., Pokrovskiy M.V. Pharmacy &amp; Pharmacology. 2019. T. 7. № 6. С. 312-320.</p> <p>5. ВЛИЯНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ СИЛДЕНАФИЛОМ И ВАРДЕНАФИЛОМ НА СОСТОЯНИЕ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА В ИШЕМИЗИРОВАННОЙ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ. Колесник И.М., Лазаренко В.А., Покровский М.В. Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. 2015. № 1. С. 83-86.</p>
--	--	--	--	---

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

**Оппонент**

Доктор медицинских наук, профессор (14.00.25 – Фармакология, клиническая фармакология) Заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии НИУ «БелГУ»

Подпись доктора медицинских наук Покровского М.В. удостоверяю:  
Проректор по науке и инновациям НИУ «БелГУ»,  
кандидат экономических наук Резниченко Татьяна Юрьевна

« 18 » *август* 2024 года

  
\_\_\_\_\_  
М.В. Покровский

  
\_\_\_\_\_  
Т.Ю. Резниченко

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

Адрес организации: 308015, Белгородская область, г. Белгород, ул. Победы, 85

Тел.: 8 (4722) 30-12-11

E-mail: [Info@bsu.edu.ru](mailto:Info@bsu.edu.ru)

Официальный сайт: <https://bsuedu.ru/>