

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента, доктора фармацевтических наук, профессора, заведующего кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова Калениковой Елены Игоревны 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 высокоэффективных антиагрегантных средств. Выбранное направление исследований относится к современным глобальным проблемам фармакологии, поскольку затрагивает терапию социально-значимого заболевания, при этом разнообразие существующих групп антиагрегантных препаратов не обеспечивает все необходимые потребности терапии сердечно-сосудистых заболеваний. Работа представляет собой фундаментальный и прикладной труд, направленный на решение важных практических задач здравоохранения. Построенная на классическом понимании проблемы тромбообразования она включает новое представление о тромбовоспалении и использует адекватные экспериментальные модели патологии, позволяющие оценивать возможность применения исследуемых веществ для коррекции повышенного тромбогенного потенциала крови. Важным аспектом исследования является то, что инъекционная лекарственная форма соединения Ф-168 на данный момент проходит III фазу клинических исследований.

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России – научной базе, традиционно уделяющей много внимания решению фундаментальных и прикладных проблем биомедицинской науки, что также подтверждает значимость проведенной работы.

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

Представленный объем экспериментальных данных, полученных на достаточном количестве животных, их корректная статистическая обработка, 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 производных 12 новых скаффолдов гетероциклических соединений 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. В ряду производных 3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-диона выявлено наиболее активное соединение Ф-168, проявляющее выраженные антиагрегантные и антитромбогенные свойства. Установленный механизм действия и выраженная антиагрегантная активность соединения Ф-168 позволили провести в полном объеме весь цикл доклинических исследований с разработкой лекарственной формы и изучением токсикологического профиля. Выполнено исследование соединения RU-891 (N9-имидазо[3,2-а]бензимидазолы) и его лекарственной формы для приема внутрь с целью проведения полного цикла доклинических исследований. Получены экспериментальные данные по агрегации тромбоцитов в условиях иммунокоагуляционных нарушений, а также проведена оценка антиагрегантных свойств новых гетероциклических соединений. Выявлено соединение L-36 (6H-1,3,4-тиадиазины), обладающее антиагрегантными и эндотелиопротективными свойствами в условиях эндотоксемии.

### **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, геной инженерии и других современных технологий на экспериментальных моделях *in vitro, ex vivo u 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 работ, 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, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer), 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. Литературный указатель содержит 100 отечественных и 284 зарубежных источника. Диссертация хорошо оформлена, написана хорошим литературным языком и легко читается.

**В первой главе** приведен обзор научной литературы по теме диссертации. Представлен современный взгляд на проблему тромбообразования, а также существующие фармакотерапевтические подходы. Особое внимание уделено проблемам существующей антиагрегантной терапии, указывающим на необходимость поиска новых антитромбоцитарных средств. Отмечены проблемы современной разработки лекарственных средств и пути их решения, приведены потенциальные мишени для поиска и создания антиагрегантных средств.

**Во второй главе** описаны материалы и методы исследования. Автором использован комплексный подход, в зависимости от стадии исследования вещества изучены на различных моделях: отдельные ферменты, клетки, цельная кровь здоровых животных и особей с экспериментальным сепсисом, животные здоровые и с экспериментальной патологией. Применен широкий спектр биохимических и

иммуноферментных методик с различными способами детекции сигнала. Моделирование тромбоза у животных выполнялось различными методами, в комплексе воспроизводящими ключевые звенья патогенеза данного состояния. Используемые методы адекватны поставленным задачам диссертации. Количество животных, использованных в экспериментах, позволяет получить достоверные результаты. Проведена соответствующая статистическая обработка результатов.

Материалы собственных исследований изложены в главах с третьей по седьмую.

**В третьей главе** описываются экспериментальные данные поиска новых высоко активных антиагрегантных средств среди 12 химических классов. При проведении экспериментального скрининга 148 оригинальных соединений было выявлено 3 наиболее активных вещества – Ф-168, RU-891, L-36. Изучение антиагрегантного действия соединений в условиях целостного организма позволило установить их эффективные дозы ( $ED_{50}$ ). Исследование острой токсичности дало возможность определить широту терапевтического действия наиболее активных соединений.

**Четвертая глава** посвящена изучению фармакологических свойств нового производного ксантина соединения Ф-168. Было определено влияние данного соединения на различные звенья системы гемостаза, установлен механизм антиагрегантного действия. На различных моделях тромбоза была показана высокая антитромботическая активность соединения Ф-168 и его инъекционной лекарственной формы. Также, антитромботическая эффективность была подтверждена в условиях экспериментального инфаркта миокарда. В опытах по изучению фармакокинетики соединения Ф-168 и его инъекционной лекарственной формы были определены основные фармакокинетические параметры и установлено их равенство. Исследование хронической токсичности позволило установить 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 влияния соединения RU-891 на рецепторный ландшафт тромбоцитов и систему вторичных сигнальных мессенджеров был установлен механизм его антиагрегантного действия, связанный с блокадой пуриновых  $P2Y_{12}$  рецепторов тромбоцитов и ингибированием синтеза тромбоксана  $A_2$ . 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. Исследования фармакокинетики и хронической токсичности соединения RU-891 и его лекарственной формы позволили научно обосновать дозу твердой лекарственной формы.

**Шестая глава** описывает антиагрегантные и антитромбогенные свойства нового производного триадиазина соединения L-36. Было установлено, что механизм антиагрегантного действия исследуемого соединения связан с ингибированием каскада арахидоновой кислоты. Также, было установлено, что соединение L-36 проявляет выраженные антиагрегантные свойства в условиях системной воспалительной реакции, что указывает на высокую эффективность данного соединения в условиях тромбовоспаления. Это подтверждает и то, что при однократном внутривенном введении соединение L-36 способствует значительному снижению уровня маркеров дисфункции эндотелия – фактора фон Виллебранда и эндотелина-1 – у крыс с экспериментальным сепсисом. 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 изучения антиагрегантных свойств наиболее активных соединений в условиях цитокиновой гиперагрегации. Производное триадиазина L-36 способствовало дозозависимому ингибированию агрегации тромбоцитов в условиях гиперцитокинемии. Показатель IC<sub>50</sub> при этом для соединения L-36 составил 61,1 мкМ. Подавление функциональной активности тромбоцитов в условиях сепсиса может определить дальнейшую стратегию исследований.

**Восьмая глава** посвящена обсуждению результатов исследования. Анализ изученных конденсированных гетероциклических соединений позволил заключить, что азотсодержащие молекулы в значительной степени обладают антиагрегантными свойствами, а введение серы в качестве гетероатома приводит к увеличению активности. Кластеризация химических рядов исследованных групп соединений позволила выявить высоко активные соединения, значительно превосходящие по активности ацетилсалициловую кислоту. Исследования *in silico* позволили, на основе полученных данных, структурировать исследованные химические ряды и определить наиболее перспективные скаффолды для поиска и создания на их основе высокоэффективных антиагрегантных средств.

В результате исследования было выявлено три наиболее активных соединения: Ф-168, RU-891 и L-36. Было установлено, что данные вещества обладают выраженной антитромботической активностью, подтвержденной на различных моделях артериального и венозного тромбозов. Установлены механизмы действия указанных соединений, фармакокинетические и токсикологические свойства.



Диссертация завершается выводами и практическими рекомендациями, которые соответствуют поставленным целям и задачам исследования. Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключения диссертанта обеспечивается большим объемом полученных экспериментальных данных, качеством их статистической обработки и не вызывает сомнений.

### **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 следующие вопросы, требующие дополнительного уточнения, но не затрагивающие существа работы:

1. При описании результатов изучения фармакокинетики соединения RU-891 и его лекарственной формы для приема внутрь указывается значение абсолютной биодоступности, однако данных по внутривенному введению не приводится. Проводились ли такие исследования?
2. Исходя из данных фармакокинетической кривой соединения RU-891 (стр. 139, рис. 5.1), после его введения к 4 часу эксперимента наблюдается снижение концентрации до порогового значения. Чем оправдано дальнейшее изучение концентрации, и какой временной диапазон был взят для расчетов площади под кривой?

### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Сиротенко Виктора Сергеевича на тему: «Антиагрегантные и антитромбогенные свойства новых гетероциклических соединений» 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 средств для коррекции повышенного тромбогенного потенциала крови, 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 фармацевтических наук (3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология), заведующий кафедрой фармацевтической химии и организации фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, профессор



Каленикова Елена Игоревна

«17» мая 2024 года

Подпись Е.И. Калениковой подтверждаю

Декан факультета фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, академик РАН д.б.н., профессор



Ткачук Всеволод Арсеньевич

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»  
Адрес: 119991, Российская Федерация, Москва, Ленинские горы, д. 1  
Тел: +7 (495) 939-10-00, E-mail: info@rector.msu.ru  
www.msu.ru

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 Калениковой Елене Игоревне 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
Каленикова Елена Игоревна	1957 г.р., гражданство - РФ	ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», заведующая кафедрой фармацевтической химии и организации фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины	Доктор фармацевтических наук, профессор, 14.00.25 – Фармакология, клиническая фармакология, 15.00.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия	1. РОЛЬ И ВОЗМОЖНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ТЕРАПИИ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА. Каленикова Е.И., Городецкая Е.А., Оболенская О.Н., Медведев О.С. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2022. Т. 85. № 8. С. 34-39. 2. ОЦЕНКА КАРДИОПРОТЕКТОРНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИННОВАЦИОННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ УБИХИНОЛА ДЛЯ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ. Куляк О.Ю., Городецкая Е.А., Каленикова Е.И., Макарова М.Н., Пожарицкая О.Н., Медведев О.С. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2018. Т. 81. № 4. С. 8-11. 3. ОГРАНИЧЕНИЕ РАЗВИТИЯ СИСТОЛИЧЕСКОЙ И ДИАСТОЛИЧЕСКОЙ ДИСФУНКЦИИ В РЕЗУЛЬТАТЕ ОДНОКРАТНОГО ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ НОВОГО ПРЕПАРАТА "УБИХИНОЛ" У КРЫС С ИНФАРКТОМ МИОКАРДА. Куляк О.Ю., Городецкая Е.А., Артемьева М.М., Каленикова Е.И., Медведев О.С. Технологии живых систем. 2018. Т. 15. № 4. С. 50-56.




				<p>4. УБИХИНОЛ КАК ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО: РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ И КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ. Каленикова Е.И., Городецкая Е.А., Оболенская О.Н., Куляк О.Ю., Артемьева М.М., Медведев О.С. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2017. Т. 80. № 11. С. 39-42.</p> <p>5. НЕЙРОПРОТЕКТИВНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ УБИХИНОНА НА МОДЕЛИ НЕОБРАТИМОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС. Белоусова М.А., Токарева О.Г., Городецкая Е.А., Каленикова Е.И., Медведев О.С. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2016. Т. 161. № 2. С. 205-207.</p>
--	--	--	--	--

Согласна 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 фармацевтических наук, профессор (14.00.25 – Фармакология, клиническая фармакология, 15.00.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия)  
 Заведующая кафедрой фармацевтической химии и организации фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова

  
 \_\_\_\_\_ Е.И. Каленикова

Подпись доктора фармацевтических наук Калениковой Е.И. удостоверяю:  
 Декан факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова,  
 академик РАН, доктор биологических наук,  
 профессор Ткачук Всеволод Арсеньевич  
 «  » \_\_\_\_\_ 2024 года



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Адрес организации: 119991, Российская Федерация, Москва, Ленинские горы, 1  
 Тел.: +7 (495) 939-10-00

E-mail: [info@rector.msu.ru](mailto:info@rector.msu.ru)

Официальный сайт: [www.msu.ru](http://www.msu.ru)