

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», академик РАН, доктор биологических наук, профессор



Вадим Анатольевич Степанов

2024 год

### ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» на диссертацию Сиротенко Виктора Сергеевича на тему «Антиагрегантный и антитромбогенный потенциал новых гетероциклических соединений», представленной на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

**Актуальность темы выполненной работы и ее связь с соответствующими отраслями науки.** По данным Всемирной организации здравоохранения заболевания сердечно-сосудистой системы занимают первое место в ряду причин смертности во всем мире, а также являются группой заболеваний с высокой степенью инвалидизации населения. Повышение тромбогенного потенциала крови с последующим развитием тромбоза является ведущим фактором в развитии ишемических нарушений. Ключевая роль тромбоцитов в данных процессах обуславливает целесообразность фармакологического влияния на тромбоцитарный гемостаз у пациентов с ишемическими нарушениями, фибрилляцией предсердий, эндоваскулярными вмешательствами, вторичными тромбозами и т.п., как с лечебной, так и с профилактической целью. Исходя из принципов доказательности применение антиагрегантных средств позволяет существенно снизить риски возникновения указанных нарушений. На настоящий момент существует несколько групп антиагрегантов, широко применяемых в клинической практике: ингибиторы синтеза тромбоксана  $A_2$ ; антагонисты тромбоксановых рецепторов; блокаторы пуриновых  $P2Y_{12}$  рецепторов тромбоцитов; PAR1-антагонисты; блокаторы

гликопротеиновых IIb/IIIa рецепторов тромбоцитов; блокаторы гликопротеиновых VI рецепторов тромбоцитов; ингибиторы фосфодиэстеразы. К сожалению, наряду с высокой эффективностью, лекарственные препараты указанных групп не лишены существенных недостатков и побочных эффектов. Кроме того, для некоторых антиагрегантных средств описаны явления резистентности. С целью минимизирования возможных осложнений нередко прибегают к применению двойной антитромбоцитарной терапии, сочетающей комбинации средств с различными механизмами действия. В этой связи поиск и создание новых антиагрегантных средств, обладающих высокой эффективностью, достаточной широтой терапевтического действия и минимальным побочным действием, является актуальной проблемой.

Тромбоцитам также отводится немаловажная роль в реакциях иммунного ответа организма. Исследования в этой области наглядно демонстрируют активную роль кровяных пластинок во взаимодействии с компонентами иммунной системы. Это позволяет рассматривать эффективность антиагрегантных средств, в том числе с позиции коррекции иммуотромботических нарушений.

**Обоснованность основных научных положений, выводов и практических рекомендаций.** Целью исследования являлось изучение антиагрегантного и антитромбогенного потенциала новых оригинальных гетероциклических соединений, ингибирующих агрегацию тромбоцитов через рецепторные механизмы и систему внутриклеточных сигнальных посредников в норме и при иммунокоагуляционных нарушениях, проведение доклинического изучения наиболее активных соединений. Для достижения поставленной цели автором грамотно сформулированы конкретные задачи. Для решения поставленных задач использован комплексный подход в формировании методологии исследования. Работа выполнена с применением современных, а также классических методов фармакологического исследования *in silico*, *in vitro* и *in vivo*. Исследования проведены на цельной крови, богатой тромбоцитами плазме лабораторных животных, отдельных клетках, а также в

условиях целостного организма как в нормальных условиях, так и при моделировании различных экспериментальных патологий, сопровождающихся повышением тромбогенного потенциала крови. В ходе проведения экспериментов было задействовано высокотехнологичное оборудование. Исследования выполнены с соблюдением норм и требований действующих нормативных документов в области регуляции доклинических исследований. Объем полученных данных, их систематизирование и корректная статистическая обработка, позволяют считать результаты проведенного исследования достоверными, а положения и выводы – обоснованными.

**Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.** Автором проведено изучение новых гетероциклических соединений, относящихся к 12 различным скаффолдам, на предмет антиагрегантной активности. Методом *in silico* была проведена кластеризация и было выявлено три наиболее перспективных скаффолда для поиска и создания на их основе высокоэффективных антиагрегантных средств – 3,7-дигидро-1*H*-пурин-2,6-дионы, *N*9-имидазобензимидазолы и 6*H*-1,3,4-тиадиазины. При изучении специфической фармакологической активности в опытах *in vitro* и *in vivo* были найдены наиболее активные соединения, перспективные для дальнейшего изучения – соединение Ф-168, RU-891 и L-36. Для соединений Ф-168 и RU-891, а также их готовых лекарственных форм в полном объеме проведены доклинические исследования. Впервые была показана высокая антитромботическая активность наиболее активных соединений на различных моделях тромбоза в норме и на фоне моделирования экспериментальной патологии, установлены механизмы антиагрегантного действия, определены фармакокинетические параметры и изучена хроническая токсичность. Впервые было показано, что производное 6*H*-1,3,4-тиадиазина соединение L-36 способствует выраженному снижению тромбогенного потенциала крови на различных моделях артериального и венозного тромбоза в норме и при моделировании экспериментальной патологии. Для соединения L-36 было выявлено наличие высокой

антиагрегантной и эндотелиопротективной активности в условиях экспериментального сепсиса. Впервые изучены антиагрегантные свойства наиболее активных соединений при моделировании иммуновоспалительной реакции. Установлено антиагрегантное действие некоторых противовирусных средств (фавипиравир, умифеновир, триазавирин, ингавирин, римантадин, энисамия йодид) в условиях гиперцитокинемии.

**Значимость для науки и практической деятельности полученных соискателем результатов.** Диссертационная работа В.С. Сиротенко носит фундаментальный и прикладной характер, и безусловно представляет высокую значимость как для науки, так и для практического здравоохранения. Автором исследованы новые соединения, принадлежащие 12 различным химическим классам на предмет антиагрегантной активности, а также определены закономерности структура-активность, позволившие выявить наиболее перспективные классы для поиска и создания высокоэффективных антиагрегантных средств. Так, в ряду производных 3,7-дигидро-1*H*-пурин-2,6-диона, *N*9-имидазобензимидазола и 6*H*-1,3,4-тиадиазина были выявлены наиболее активные соединения Ф-168, RU-891 и L-36 соответственно. В ходе проведенного исследования с применением валидных методик, рекомендованных Руководством по проведению доклинических исследований и рядом нормативных документов, была показана высокая антиагрегантная и антитромботическая активность соединений-лидеров. Установлено, что соединение Ф-168 проявляет антиагрегантные свойства за счет блокады гликопротеиновых IIb/IIIa рецепторов тромбоцитов. В арсенале применяемых в клинической практике антиагрегантных средств не существует отечественных аналогов с подобным механизмом действия. Для инъекционной лекарственной формы соединения Ф-168 на данный момент успешно завершена II фаза клинических исследований. В рамках доклинических исследований соединения RU-891 и его готовой лекарственной формы для приема внутрь было установлено, что данное соединение способствует снижению функциональной активности тромбоцитов благодаря двойному механизму антиагрегантного

действия: блокаде P2Y<sub>12</sub> рецепторов тромбоцитов и ингибированию синтеза тромбосана А<sub>2</sub>. Это потенциально может решить проблему назначения антиагрегантных средств в рамках двойной антитромбоцитарной терапии. Важным аспектом выполненного исследования явилось изучение антиагрегантных свойств в условиях иммунокоагуляционных нарушений. Так, для соединения L-36 было показано наличие выраженной антиагрегантной и эндотелиопротективной активности в условиях экспериментального сепсиса, индуцированного липополисахаридом.

Результаты исследования могут быть квалифицированы как новые, имеющие важное теоретическое и практическое значение для фармакологии, клинической фармакологии и здравоохранения в целом.

**Структура и содержание работы.** Диссертация изложена на 357 страницах машинописного текста, иллюстрирована 93 таблицами и 73 рисунками. Работа выстроена традиционно, в соответствии с требованиями, предъявляемыми к диссертациям, представленным на соискание ученой степени доктора наук. Структура работы включает введение (с. 7-12), обзор литературы (глава 1, с. 13-29), главу материалов и методов исследования (глава 2, с. 30-42), 5 глав собственных исследований (главы 3-7, с. 43-244), обсуждение полученных результатов (глава 8, с. 245-262), выводы (с. 263-265), практические рекомендации (с. 266), перечень сокращений (с. 267-268), список литературы (с. 269-303) и приложение (с. 304-357). Список использованных источников содержит 100 отечественных и 284 зарубежных источника, датируемые в большинстве периодом за последние 5 лет. Диссертация имеет хороший стиль изложения и легко читается.

В литературном обзоре (глава 1) представлен анализ современных данных о существующих препаратах из группы антиагрегантов, актуализирован рецепторный ландшафт тромбоцитов и система вторичных мессенджеров, приведены данные по новым мишеням для создания антиагрегантных средств, а также описаны иммуотропные свойства тромбоцитов.

Материалы и методы (глава 2) описаны подробно с указанием реактивов и оборудования, на котором выполнялись исследования. Приведено описание методов статистической обработки полученных данных.

Главы 3-7 содержат результаты собственных исследований автора, включая данные по экспериментальному скринингу новых гетероциклических соединений, относящихся к 12 различным химическим классам, на предмет антиагрегантной активности. Представлен анализ полученных данных *in silico*, проведена кластеризация изученных скаффолдов по их перспективности для поиска и создания антиагрегантных средств. Главы 4, 5 и 6 посвящены изучению фармакологических свойств наиболее активных соединений – Ф-168, RU-891 и L-36. В главе 7 приведены данные по исследованию антиагрегантных свойств соединений-лидеров, а также некоторых противовирусных средств в условиях цитокиновой гиперагрегации.

В обсуждении представлено обобщение полученных результатов, сопоставление их с данными литературы и анализ перспективности применения проведенного исследования.

Статистическая обработка данных исследования позволяет адекватно оценить результаты работы и квалифицировать их как достоверные. В ходе статистического анализа грамотно использованы критерии биомедицинской статистики.

По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ, из них 14 – в ведущих рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ. Получено 3 положительных решения по заявкам на изобретения. Публикации отражают основные результаты проведенного диссертационного исследования.

Автореферат диссертации полностью соответствует разделам и содержанию текста диссертации.

Диссертация содержит 10 выводов и 5 практических рекомендаций, которые обоснованы, четко сформулированы и представляю собой суть

основных результатов исследования. Степень обоснованности и достоверности положений и выводов соискателя следует признать высокой.

**Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы.** Результаты диссертационного исследования В.С. Сиротенко могут быть полезны для учебного процесса и научно-исследовательских работ, проводимых на кафедрах фармакологии и биоинформатики, фармакологии и фармации ИНМФО, фармацевтической и токсикологической химии, а также НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, НИИ ФОХ ЮФУ (г. Ростов-на-Дону), УрФУ (г. Екатеринбург), ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Результаты исследований легли в основу составления регистрационного досье на лекарственный препарат Ангипур (ООО «Компания «ЭЛТА», г. Москва).

**Замечания к работе.** Принципиальные замечания по работе отсутствуют. Имеются вопросы дискуссионного характера.

1. На чем основан выбор для исследования антиагрегантной активности гетероциклических соединений, принадлежащих к 12 скаффолдам.
2. Имеются ли корреляции между значениями минимальной энергии взаимодействия исследуемых соединений с белками-мишенями *in silico* и % ингибирования активации тромбоцитов *in vitro*?

**Заключение.** Диссертация Сиротенко Виктора Сергеевича на тему «Антиагрегантный и антитромбогенный потенциал новых гетероциклических соединений», выполненная при научном консультировании академика РАН, Заслуженного деятеля науки РФ, доктора медицинских наук, профессора А.А. Спасова и доктора медицинских наук, профессора А.Ф. Кучерявенко, представленная на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение крупной научной проблемы в области фундаментальной и клинической фармакологии по поиску и созданию лекарственных средств для лечения социально значимых заболеваний, сопровождающихся увеличением

тромбогенного потенциала крови. Работа соответствует п.3, п.4, п.5, п.6 и п.7 паспорта специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, а также п.9 Положения ВАК Минобрнауки России, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842 «О порядке присуждения ученых степеней», а ее автор Сиротенко Виктор Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени доктора фармацевтических наук.

Отзыв на диссертацию обсужден и утвержден на заседании лаборатории фармакологии кровообращения НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ, протокол № 1 от «21» мая 2024 г.

Главный научный сотрудник  
отдела фармакологии НИИФиРМ  
им. Е.Д.Гольдберга Томского НИМЦ,  
доктор биологических наук,  
профессор

Марк Борисович Плотников

634028, Россия, г. Томск, ул. Ленина, д.3  
Тел.: 7(3822)41-83-73, email: [mbp2001@mail.ru](mailto:mbp2001@mail.ru)

«21» мая 2024 г.

Подпись М.Б.Плотникова заверяю:

Ученый секретарь НИИФиРМ им. Е.Д.Гольдберга,  
д.м.н., профессор РАН



 Г.Н. Зюзьков



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 О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ

Сиротенко Виктора Сергеевича по теме «Антиагрегантный и антитромбогенный потенциал новых гетероциклических соединений», представленную на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (фармацевтические науки)

Полное и сокращенное название ведущей организации	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук" (Томский НИМЦ)
Фамилия Имя Отчество лица, утвердившего отзыв ведущей организации, ученая степень, звание	Степанов Вадим Анатольевич - директор Томского НИМЦ, доктор биологических наук, профессор, академик РАН
Фамилия Имя Отчество, ученая степень, шифр специальности, по которой защищена диссертация, ученое звание, должность сотрудника, составившего отзыв ведущей организации	Плотников Марк Борисович, доктор биологических наук (14.00.25 – Фармакология, клиническая фармакология), профессор, гл. науч. сотрудник отдела фармакологии НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ
Список основных публикаций работников ведущей организации по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 5 публикаций)	1. Влияние IQ-1 на зону инфаркта и показатели кардиодинамики в остром периоде после ишемии-реперфузии миокарда у крыс. Плотников М.Б., Чернышева Г.А., Алиев О.И., Смольякова В.А., Сидехменова А.В., Дунаева О.И., Хлебников А.И., Плотникова Т.М. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2023. Т. 176. № 10. С. 444-448. 2. Антиагрегантные эффекты ксенона. Удут В.В., Цуран Д.В., Наумов С.А., Котловская Л.Ю., Наумов С.С., Евтушенко Д.Н., Губин Е.И., Франсис Н.Дж., Удут Е.В. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2023. Т. 176. № 12. С. 719-722. 3. COVID-19-ассоциированный тромбоз: какие новые знания и проблемы тромботических осложнений обозначила пандемия? Мадонов П.Г., Момот А.П., Ройтман Е.В., Удут В.В. Тромбоз, гемостаз и реология. 2023. № 2. С. 59-66. 4. Взаимосвязь воспаления и нарушений гемостаза при сердечно-сосудистых и инфекционных заболеваниях. Быков В.В., Венгеровский А.И., Удут В.В. Вестник Российской академии медицинских наук. 2022. Т. 77. № 4. С. 261-266.

	5. Влияние нового стимулятора растворимой гуанилатциклазы на агрегацию тромбоцитов и функции сосудистого эндотелия при экспериментальном ишемическом инсульте на фоне артериальной гипертензии. Быков В.В., Быкова А.В., Алиев О.И., Станкевич С.А., Хазанов В.А., Венгеровский А.И., Удут В.В. Артериальная гипертензия. 2022. Т. 28. № 6. С. 710-717.
--	---

Адрес ведущей организации

Индекс	634050
Город	Томск
Улица	Ул. Набережной реки Ушайки
Дом	10
Телефон	8 (3822) 46-95-65
e-mail	center@tnimc.ru

Ведущая организация подтверждает, что соискатель не является ее сотрудником и не имеет научных работ по теме диссертации, подготовленных на базе ведущей организации или в соавторстве с ее сотрудниками.

Директор Томского НИМЦ  
академик РАН



В.А. Степанов