

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Сиротенко Виктора Сергеевича «Антитромбогенные свойства новых трициклических производных диазепино[1,2-а]бензимидазола», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук в диссертационный совет Д 208.008.02 при Волгоградском государственном медицинском университете по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

Актуальность

Рецензируемая работа посвящена социально значимому разделу современной фармакологии – поиску средств, влияющих на тромбоцитарно-сосудистый гемостаз. Основными элементами, которым принадлежит ключевая роль в процессах тромбообразования, являются тромбоциты. Адгезия, активация, агрегация являются основными стадиями образования внутрисосудистого сгустка. Пусковым механизмом процесса тромбообразования служит взаимодействие тромбоцитов с эндогенными проагрегантными веществами и молекулами адгезии (фактор Филлебранда и коллаген). Высокая значимость антитромбоцитарной терапии в лечении и профилактике ишемической болезни, атеросклероза, цереброваскулярных заболеваний, а также периферических сосудистых заболеваний несомненна. По данным Всемирной организации здравоохранения каждый год регистрируется более 25 млн. осложнений, связанных с тромбообразованием. Многочисленные исследования по оценке действия антитромбоцитарных препаратов доказали их клиническую эффективность и вывели их в первый ряд лекарственных средств, используемых для терапии и профилактики тромботических осложнений. Однако несмотря на эффективность и высокую степень доказательности современные лекарственные средства обладают рядом побочных явлений, ограничивающих их практическое применение. Среди них наиболее характерными являются гастротоксичность, риск кровотечений, развитие резистентности, тромбоцитопении. Поэтому разработка новых препаратов, влияющих на функцию тромбоцитов

эффективно и с минимальным риском развития побочных эффектов актуальна.

Научная новизна исследования

В ходе проведенного исследования диссертантом впервые было изучено влияние новых производных ряда 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола на процессы агрегации тромбоцитов. Впервые установлена взаимосвязь между структурой данных соединений, и их способностью угнетать функциональную активность тромбоцитов. Выявлено новое соединение под шифром ДАБ-15, проявляющее антиагрегантные свойства и получены данные о его влиянии на сосудисто-тромбоцитарный гемостаз *in vitro* и *in vivo*. Впервые показано, что соединение ДАБ-15 оказывает антитромботическое действие на различных моделях артериальных и венозного тромбозов, а также при экспериментальном некоронарогенном инфаркте миокарда.

Научно-практическая значимость исследования

Результаты установленной зависимости между антиагрегантной активностью новых производных 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола и их химической структурой могут служить основой для направленного поиска новых антиагрегантных соединений. Получены данные о наличии антитромботической активности у соединения ДАБ-15 на моделях экспериментальных тромбозов сонной артерии крыс, индуцированных поверхностной аппликацией хлорида железа (III) и электрическим током в норме и при экспериментальном некоронарогенном инфаркте миокарда, на модели тромбоза легочных артерий, а также показана высокая антитромботическая активность соединения-лидера в отношении тромбоза глубоких вен. Соединение ДАБ-15 менее выражено влияет на время кровотечения по сравнению с препаратами сравнения ацетилсалициловой

кислотой и клопидогрелем. Установлено, что исследуемое вещество обладает комбинированным антитромбоцитарным механизмом действия.

Достоверность и апробация результатов исследования

Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом и качеством выполненных исследований, проведенных на кроликах, мышах и крысах самцах; использованием современных методов и методических подходов, высокотехнологического оборудования в соответствии с рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств с антитромбогенной активностью, а также критериев статистической обработки данных.

Основные материалы диссертации докладывались и обсуждались на XIX, XX и XXII Региональной конференции молодых исследователей Волгоградской области; 73, 74, 75 и 76-й открытой научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины», Волгоград, 2015, 2016, 2017, 2018 гг.; на III-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Беликовские чтения», Пятигорск, 2014; на Объединенном Конгрессе «Congress on Open Issues in Thrombosis and Hemostasis» совместно с 8-ой Всероссийской конференцией по клинической гемостазиологии и гемореологии Москва, 2016; на XX Менделеевском съезде, Екатеринбург, 2016.

По теме диссертации опубликовано 22 работ (из них 9 статей в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ).

Общая оценка содержания и оформления диссертации

Диссертация Сиротенко В.С. выполнена в соответствии с требованиями, предъявляемыми к кандидатским диссертациям и изложена на 158 страницах, иллюстрирована 21 рисунком и 36 таблицами. Состоит из введения, обзора

литературы, экспериментальной части (2-5 главы), обсуждения результатов, выводов и списка литературы, включающего 31 отечественных и 138 зарубежных источника.

Во введении автор подтверждает актуальность и степень разработанности исследования, формулирует цель и задачи исследования, приводит данные по научной новизне и научно-практической значимости работы. Также автор приводит сведения о методологии и методах исследования, внедрении, степени достоверности и апробации результатов работы, указывает положения, выносимые на защиту.

В первой главе представлен обзор современной литературы, посвященной исследуемой проблеме. Первый раздел включает обзор известных антиагрегантных средств, разделенных по принципам доказательной медицины, включающим эффективность лекарственных средств и побочное действие. Во втором разделе приведены новые потенциальные мишени для направленного поиска новых антитромбоцитарных агентов. Заключительный раздел посвящен спектру фармакологической активности производных бензимидазола.

Во 2-й главе автором детально описаны использованные методы исследований *in vitro* и *in vivo*, а также методы статистической обработки результатов. Представлено обоснование выбора вида и количества животных для серий опытов *in vivo* согласно методическим рекомендациям по проведению доклинических исследований средств, влияющих на систему гемостаза. Очень подробно описаны методы тромбоза сонной артерии аппликацией раствором хлорида железа и воздействием электрического тока, венозный тромбоз, а также генерализованный адреналин-коллагеновый тромбоз. Для детального изучения механизма действия диссертантом были выбраны специфические методы анализа: изучение влияния ДАБ-15 на баланс в системе тромбоксан – простациклин методом ИФА, установление влияния на выброс ионов кальция из внутриклеточных депо хранения, а также секрецию АТФ, использована модель агрегации тромбоцитов,

индуцированная различными индукторами (АДФ, адреналин, коллаген, арахидоновая кислота, ристоцитин, U46619, PAR1-агонист, фактор активации тромбоцитов), изучено влияние соединения ДАБ-15 на адгезивные свойства тромбоцитов.

Третья глава включает скрининг 19 новых производных диазепино[1,2-а]бензимидазола на наличие антиагрегантной активности *in vitro*, а также исследование антиагрегантной активности в условия целостного организма *in vivo*. Изучена зависимость активности в ряду 2,3,4,5-тетрагиро[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазола от химической структуры. Приведены данные изучения острой токсичности соединения-лидера ДАБ-15.

Четвертая глава описывает антитромботическое действие соединения ДАБ-15 на различных моделях артериальных и венозного тромбозов, включая модель тромбоза сосудов легких мышей. Диссертантом было изучено антитромботическое действие ДАБ-15 в условиях повышенной турбулентности тока крови в тест-системе Горога. Также в этой главе приведены данные об антитромботической активности ДАБ-15 в условиях экспериментального инфаркта миокарда. В заключении автором было исследовано влияние ДАБ-15 и препаратов сравнения на время кровотечения.

В 5-й главе автор приводит сведения о детальном изучении механизма антиагрегантного действия соединения ДАБ-15. Диссертантом было исследовано влияние соединения-лидера на агрегацию тромбоцитов, вызванную различными индукторами указанного процесса. Методом ИФА было проведено исследование влияния ДАБ-15 на баланс тромбоксана V_2 и 6-кето-простагландина. Так как различные пути активации тромбоцитов приводят к увеличению уровня внутриклеточного кальция, было установлено, что соединение-лидер дозозависимо ингибирует выброс внутриклеточного кальция. Люминисцентным методом детекции было показано влияние на секрецию АТФ из плотных гранул тромбоцитов. Приведены данные о влиянии ДАБ-15 на процессы адгезии тромбоцитов к микрофибриллам коллагена.

Шестая глава посвящена обсуждению полученных автором результатов исследования, их сопоставление с данными современной литературы. Автором грамотно интерпретированы все результаты исследования и сделано логичное обоснование и предположение о комбинированном механизме действия соединения-лидера, заключающегося в ингибировании секреции проагрегантных агентов из гранул тромбоцитов, синтеза тромбоксана A_2 , а также блокировании гликопротеина VI к коллагену.

Диссертация завершается 7 выводами. Автореферат отражает основное содержание диссертации и оформлен в соответствии с современными требованиями.

Принципиальных замечаний по работе нет, однако имеются вопросы, которые носят уточняющий характер и не умаляют общей положительной оценки работы.

1. Почему в качестве экспериментальной патологии при изучении антитромботической активности ДАБ-15 была выбрана модель изопротеренолового инфаркта миокарда?

2. Учитывая наличие в структуре исследуемых соединений diazepinového фрагмента, можно ли предполагать для ДАБ-15 развитие психотропных эффектов?

Заключение

Диссертация Сиротенко Виктора Сергеевича «Антитромбогенные свойства новых трициклических производных diazepino[1,2-a]бензимидазола», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, является законченным исследованием, может считаться новым достижением в развитии фармакологии средств снижающих тромбогенный потенциал крови.

По разделам работам полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней (Постановление Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 г.)», предъявляемым к

диссертациям на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

«07» сентября 2018 года

Заведующий кафедрой управления и экономики фармации ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России, доктор фармацевтических наук, доцент



А.В. Крикова

Подпись А.В. Криковой заверяю:
ученый секретарь ученого совета
ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России,
кандидат медицинских наук, доцент




В.С. Петров

Адрес: Россия, 214019, г. Смоленск, ул. Крупской, 28
Телефон: 8 920 308 69 79
E-mail: anna.krikova@mail.ru

Публикации, близкие к тематике диссертационного исследования

1. Рафальский В.В., Крикова А.В., Павлюченкова Н.А. Низкодозовый аспирин: разнообразие лекарственных форм // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. - 2017. - Т.16(4). - С.68-75.
2. Рафальский В.В., Кисилева А.Н., Крикова А.В. Изучение фармацевтических свойств низкодозовой кишечнорастворимой формы ацетилсалициловой кислоты//Кардиоваскулярная терапия и профилактика. - 2016. - Т.15(1). - С.73-76.
3. Рафальский В.В., Крикова А.В. Клиническая фармакология ацетилсалициловой кислоты и особенности лекарственных форм – ключ к эффективному и безопасному применению для профилактики тромбозов//Медицинский совет. - 2016. - №5. - С.26-33.