

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Гайдуковой Ксении Андреевны «Антитромбогенная активность новых производных бензимидазола, имеющих в структуре экранированный фенольный заместитель», представленную к защите в Диссертационный Совет Д 208.008.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология.

Актуальность

Сердечно-сосудистые заболевания на данный момент являются ведущей причиной глобальной инвалидизации и смертности во всем мире. По данным Всемирной организации здравоохранения к 2030 году будет зарегистрировано более 20 миллионов смертей в год от заболеваний, связанных с повышением тромбогенного потенциала крови. Среди них - ишемическая болезнь сердца, инсульт, нарушение периферического кровообращения, осложнения сахарного диабета и др. Известные к настоящему времени данные позволяют, без сомнения, утверждать, что, средняя продолжительность жизни человека увеличилась при использовании антиагрегантных и других средств при различных проявлениях активации тромбоцитарного звена гемостаза. Поэтому антиагрегантная терапия является важной составляющей в различных областях клинической практики. Также, имеются данные, подтверждающие тот факт, что используемые в настоящее время антиагрегантные средства имеют высокий класс доказательности. Однако несмотря на их несомненную эффективность они обладают такими нежелательными побочными эффектами, проявляющимися в виде гастротоксичности, повышения риска кровотечений и развития резистентности. Именно поэтому поиск и исследование новых антиагрегантных препаратов является актуальной задачей практической медицины.

Научная новизна исследования

Автором впервые был найден новый класс производных бензимидазола, имеющих в своей структуре экранированный фенольный заместитель. Также было показано, что соединения со скаффолдами на основе *N*-7-дитретбутил-4-гидроксифенил пиримидобензимидазолов и *N*-9-дитретбутил-4-гидроксифенил бензимидазолов проявили более выраженные антиагрегантную и антиоксидантную активности, превосходя остальные группы соединений. В ходе исследования выявлено наиболее активное соединение под шифром РУ-1144, проявляющее высокие антиагрегантную и антиоксидантную активности, а также получены данные о способности данного соединения оказывать антитромботическое действие на различных моделях артериальных и венозного тромбозов в тестах *in vivo*, в условиях некоронарного инфаркта миокарда, а также на модели тромбоза по Горогу в тесте *in vitro*. Проведено исследование механизма действия соединения РУ-1144 и выявлено его мультитаргетное действие.

Научно-практическая значимость исследования

В результате данного исследования установлено наличие сочетанной антиагрегантной и антиоксидантной активности при включении в структуру бензимидазольного скаффолда экранированного фенольного заместителя. Получены данные подтверждающие способность соединения РУ-1144 ингибировать процесс образования тромбов в сонной артерии крыс при аппликации хлорида железа (III) и воздействия электрического тока, при моделировании экспериментального некоронарного инфаркта миокарда, на моделях клеточного тромбоза легочных артерий и тромбоза глубоких вен. Соединение-лидер РУ-1144 проявляет менее выраженное действие на длительность кровотечения при сравнении с данными групп исследования препаратов сравнения ацетилсалициловой кислоты и клопидогрела. Установлено, наличие у данного соединения комбинированного антитромбоцитарного механизма действия, сочетающегося с антиоксидантной активностью.

Достоверность и апробация результатов исследования

Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается необходимым объемом и качеством выполненных исследований, проведенных на различных лабораторных животных, таких как кролики, мыши и крысы, с использованием современных методов и методических подходов, высокотехнологического оборудования в соответствии с рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств с антитромбогенной активностью, а также необходимых критериев статистической обработки данных.

Основные материалы диссертации докладывались и обсуждались на XVII - XXII и XXIV Региональных конференциях молодых исследователей Волгоградской области, Волгоград, 2012, 2015 - 2019; 72, 73 - 76 открытых научно-практических конференциях молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины», Волгоград, 2014 - 2018 гг.; открытых научно-практических конференциях молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием, Волгоград, 2015, 2017; на конференции, посвященной Микроциркуляции и гемореологии X, XI Международной научной конференции, Ярославль, 2015; X международной (XIX Всероссийской Пироговской конференции студентов и молодых ученых), Москва, 2015; VI Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», Санкт-Петербург, 2016; IV Всероссийской научно-практической конференции "Беликовские чтения", г. Пятигорск, 2016, 2017; Материалы "XX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии", Екатеринбург, 2016; на Объединенном Конгрессе «Congress on Open Issues in Thrombosis and Hemostasis» совместно с 8-ой Всероссийской конференцией по клинической гемостазиологии и гемореологии Москва, 2016; Научно-практической конференции с международным участием, посвященной ПГФА, Пермь, 2015, 2016.

По теме диссертации опубликовано 29 работ (из них 11 статей в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ), получен 1 патент.

Общая оценка содержания и оформления диссертации

Диссертация Гайдуковой К.А. выполнена в соответствии с существующими требованиями ВАК Минобрнауки РФ и изложена на 191 страницах машинописного текста, иллюстрирована 17 рисунками и 48 таблицами. Работа состоит из введения, обзора литературы (глава 1), экспериментальной части (главы 2-6), обсуждения результатов (глава 7), выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 49 отечественных и 176 зарубежных источника.

Во введении автором представлены актуальность, степень разработанности проблемы, цель и задачи исследования, научная новизна, практическая значимость, положения, выносимые на защиту и степень достоверности результатов.

В первой главе собран обзор отечественных и зарубежных литературных источников посвященных теме диссертации. В первом разделе представлены основные механизмы активации тромбоцитарно-сосудистого звена гемостаза. Второй раздел посвящен описанию антиагрегантных средств, которые структурированы по принципам доказательной медицины, эффективности и побочному действию современных антиагрегантных средств. Также представлены разделы, в которых описывается обоснование роли перекисного окисления в тромбообразовании, спектр фармакологической активности производных бензимидазола и объяснение целесообразности выявления в данном ряду у комплексных молекул, содержащих такие фрагменты как бензимидазол и экранированный фенольный заместитель, антиагрегантной и антитромбогенной активности.

Во второй главе изложены материалы и методы исследований *in vitro* и *in vivo*, а также методы статистической обработки результатов. Автором представлено логичное обоснование выбора вида и количества лабораторных

животных, а также подробно описаны методы исследований. Адекватность методов исследования и статистической обработки, анализ и интерпретация полученных результатов, а также их достоверность не вызывают сомнений.

Далее следуют главы, включающие материалы собственных исследований.

В третьей главе представлены результаты скрининга 26 новых производных бензимидазола, имеющих в структуре экранированный фенольный заместитель на наличие антиагрегантной и антиоксидантной активности. Кроме этого, проведено исследование зависимости активности соединений от их химического строения. В результате проведенных исследований по влиянию на АДФ- индуцированную агрегацию тромбоцитов *in vitro* было выявлено 13 высокоактивных соединений, а также 12 высокоактивных веществ, обладающих антиоксидантной активностью. Для определения соединения-лидера были проведены исследования *in vivo* на предмет ингибирования агрегации тромбоцитов в результате было найдено соединение РУ-1144, которое было исследовано в дальнейших тестах.

В четвертой главе описана антитромбогенная активность соединения РУ-1144 на различных моделях артериальных и венозного тромбоза в тесте *in vivo*, а также проведено исследование соединения в тест-системе Горога *in vitro*. Соединение РУ-1144 было исследовано в условиях некоронарогенного инфаркта миокарда и проведено изучение влияния тестируемого образца РУ-1144 на время кровотечения. Каждое исследование сопровождалось данными групп препаратов сравнения.

Пятая глава посвящена исследованию механизма действия соединения РУ-1144. Автором приводятся результаты исследования соединения-лидера на процесс агрегации тромбоцитов, индуцированный различными индукторами. С целью исследования влияния соединения РУ-1144 на уровень тромбоксана В₂ и 6-кето-простагландина был использован метод ИФА.

В шестой главе представлено исследование общетоксических свойств тестируемого образца РУ-1144. В результате проведенного исследования при

однократном внутривенном введении соединения РУ-1144 было выявлено, что данное вещество в исследуемых дозах практически не вызывает изменений в эмоциональном поведении животных, а также влияет на развитие побочных вегетативных эффектов в виде экзофтальма, птоза. При изучении соединения РУ-1144 в максимальных дозах равных 400 и 600 мг/кг наблюдались изменения со стороны центральной нервной системы (снижение двигательной координации) и высшей нервной деятельности (заторможенные поведенческие реакции).

Седьмая глава посвящена обсуждению результатов исследования, с подробным обобщением и интерпретацией полученных результатов.

Диссертация завершается 9 выводами, основанными на полученных результатах, и практическими рекомендациями.

Автореферат отражает краткое содержание диссертации и оформлен в соответствии с требованиями.

Принципиальных замечаний по работе нет, однако имеются некоторые вопросы, которые носят уточняющий характер.

1. Как можно объяснить, что влияя на продукты циклооксигеназного каскада соединение-лидер уменьшало уровень TxV_2 в тромбоцитах крыс и при этом не угнетало уровень 6-кето-простагландина $\text{F1}\alpha$ в отличие от ацетилсалициловой кислоты?
2. Объясните с какой целью для оценки антитромбогенной активности соединения была использована тест-система Горога, и почему не приводятся данные препарата сравнения?

Заключение

Диссертационная работа Гайдуковой Ксении Андреевны на тему: «Антитромбогенная активность новых производных бензимидазола, имеющих в структуре экранированный фенольный заместитель», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, соответствует

паспорту специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология, удовлетворяет всем требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук. Диссертационная работа содержит новое решение актуальной научной проблемы фармакологии – поиск и разработка новых лекарственных средств, имеющей существенное значение для фундаментальной и практической медицины, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент:

Директор НИИ фармакологии живых систем НИУ «БелГУ Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Белгородский государственный университет» Минобрнауки России, д.м.н., профессор



М.В. Покровский

«14» сентября 2020 года

Подпись доктора медицинских наук, профессора Михаила Владимировича Покровского «удостоверяю».

Адрес: 3008015, г. Белгород,
ул. Победы, 85.
Телефон: (4722) 30-12-11
Факс: (4722) 30-10-12, (4722) 30-12-13
E-mail: Info@bsu.edu.ru



СОГЛАСИЕ ОППОНЕНТА

Я, Покровский Михаил Владимирович, доктор медицинских наук по специальности 14.00.25 Фармакология, клиническая фармакология, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО Белгородского государственного национального исследовательского университета, даю свое согласие выступить в качестве официального оппонента по диссертации Гайдуковой Ксении Андреевны на тему: «Антитромбогенная активность новых производных бензимидазола, имеющих в структуре экранированный фенольный заместитель» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология.

Членом экспертного совета ВАК не являюсь.

О месте и дате защиты информирован.

"10" марта 2020 г.


_____ подпись

Подпись доктора фармацевтических наук, профессора Покровского Михаила Владимировича «удостоверяю».



Адрес: 308015, г. Белгород,
ул. Победы, 85,
Телефон (4722) 30-12-11
E-mail: info@bsu.edu.ru

СВЕДЕНИЯ ОБ ОППОНЕНТЕ

по диссертации Гайдуковой Ксении Андреевны "Антипромогенная активность новых производных бензимидазола, имеющих в структуре экранированный фенольный заместитель" на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология

Ф.И.О.	Год рождения, гражданство	Место основной работы (с указанием организации, ее ведомственной принадлежности, города, должность)	Ученая степень (с указанием шифра специальности, по которой защищена диссертация)	Ученое звание (по специальности, кафедре)	Шифр специальности и отрасли науки	Основные 3 работы (за последние 3 года)
Покровский Михаил Владимирович	1960 РФ	Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»), директор НИИ фармакологии живых систем НИУ «БелГУ», заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии	Доктор медицинских наук, 14.03.06- Фармакология, клиническая фармакология	Профессор	14.03.06- Фармакология, клиническая фармакология	1. Корокина Л.В., Покровский М.В., Кудрявцев К.В., Корокин М.В., Гудырев О.С., Голубев И.В. Пути поиска новых мишеней для фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции// Экспериментальная и клиническая фармакология.- 2019.- Т. 82.- № 9.- С. 36-44. 2. Покровский М.В., Корокин М.В., Кудрявцев К.В., Покровская Т.Г., Гудырев О.С., Гурьев В.В., Корокина Л.В., Повесткин С.В. Исследование эндотелиопротективной активности фенольных производных - ингибиторов ангиотензиновых рецепторов//Бюллетень экспериментальной биологии и медицины-2017.-163(4).-С. 431-434. 3. Yakushev V.I., Rokrovskii M.V. Cardiovascular effects of an arginase II selective inhibitor//Research Result: Rheumatology and Clinical Rheumatology-2016.-2(3).-P. 28-46.

Проректор по науке НИУ «БелГУ» — Н.И.Репников

