

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора фармацевтических наук, профессора, заведующего кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» Калениковой Елены Игоревны на диссертацию Атапиной Натальи Валентиновны на тему «Антиагрегантная, антитромботическая и церебропротективная активность новых производных гидроксibenзойных кислот», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук в Диссертационный совет 21.2.005.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинском университет» Минздрава России по специальности 3.3.6. - Фармакология, клиническая фармакология.

Актуальность проблемы

В диссертационной работе приведены результаты изучения фармакологических свойств новых производных гидроксibenзойных кислот, в частности их антиагрегантного, антитромботического и церебропротективного действия. Поиск и разработка новых лекарственных средств с подобным спектром фармакологического действия актуальны с точки зрения профилактики и терапии различных острых и /или хронических нарушений мозгового кровообращения, а также в комплексной терапии сахарного диабета 2 типа. Выбранное диссертантом направление исследования является одним из наиболее перспективных в современной фармакологии ввиду высокой распространённости и тяжести заболеваний, связанных с тромбозами, а ассортимент современных антиагрегантных препаратов, к сожалению, не обеспечивает все необходимые потребности врачей и пациентов. Диссертационная работа представляет собой законченный научный труд, в котором предложено решение насущных практических задач фармакологии. Она построена на современной концепции профилактики и лечения тромбозов, автор использует адекватные

и валидные экспериментальные модели заболеваний и оценивает возможность применения исследуемых веществ для профилактики осложнений.

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России – известной научной базе, сотрудники которой на высоком научном уровне занимаются решением фундаментальных и практических проблем биомедицинской науки и фармакологии, что лишний раз подтверждает значимость проведенной работы.

Обоснованность и достоверность результатов исследования

Представленный объем экспериментальных данных, полученных на достаточном количестве экспериментов *in vitro* и *in vivo* на экспериментальных животных (крысы и мыши обоего пола) или образцах плазмы, 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.

Теоретическая и научно-практическая значимость

В диссертационной работе Атапиной Н.В. экспериментально доказано, что синтез и изучение новых производных гидроксibenзойных кислот имеют перспективу для разработки на их основе антиагрегантных и антитромботических средств, которые обладают дополнительным эндотелио- и церебропротекторным действием. Выявлено наиболее активное вещество под лабораторным шифром С-60. На основе экспериментальных данных установлены оптимальные дозы, в которых данное соединение оказывало антиагрегантное, антитромботическое и церебропротективное действие. На экспериментальных моделях тромбозов, широко используемых в доклинических исследованиях (индуцированных хлоридом железа (III) или

электрическим током) на молодых и здоровых животных, животных с экспериментальным сахарным диабетом и старых получены новые данные об антитромботических свойствах исследуемого соединения С-60. Соединение С-60 в меньшей степени чем ацетилсалициловая кислота (АСК) влияло на продолжительность кровотечения. Исследование церебропротективной активности соединения С-60 позволило установить, что оно в более низкой дозе, чем АСК, проявляет сопоставимое церебропротективное и эндотелиопротективное действие у животных с острыми или хроническими формами нарушений мозгового кровообращения.

Полученные данные обладают несомненной научной новизной и имеют важное теоретическое и практическое значение.

Структура и оформление работы

Работа изложена на 141 страницах машинописного текста, иллюстрирована 34 рисунками и 7 таблицами. Построение диссертации классическое в соответствии с существующими требованиями. Она состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, четырёх глав, описывающих собственные результаты автора, главы обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, Литературный указатель содержит 64 отечественных и 154 зарубежных источника. Диссертация хорошо оформлена, написана литературным языком и легко читается.

В первой главе приведен литературный обзор по теме диссертации. Представлен современный взгляд на проблему тромбообразования, механизмы его возникновения и развития. Обсуждены как достижения, так и проблемы применения антиагрегантов в лечении и профилактике различных сосудистых событий. Проанализированы современные данные относительно фармакологических эффектов производных гидроксibenзойных кислот.

Во второй главе описаны материалы и методы исследования 14-ти новых производных гидроксibenзойных кислот с различными

заместителями: ГАМК, глицином, морфолином и таурином, синтезированных на кафедре химии ВолгГМУ. В экспериментах использовали крыс Wistar и беспородных мышей, условия содержания которых и протоколы проведения испытаний соответствовали требованиям методических руководств и нормативной документации. Скрининговое исследование *in vitro* для определения уровня антиагрегантной и антитромботической активности выявило соединение-лидер С-60, для которого определили острую токсичность, терапевтический потенциал и провели комплекс исследований по определению антитромбогенной активности. Затем было оценено влияние С-60 на психоневрологический статус, локальный мозговой кровоток и эндотелиальную функцию у животных с моделированным острым и хроническим нарушением мозгового кровообращения. Изучение возможных механизмов антиагрегантного действия С-60 на основании его эффектов на показатели коагуляционного гемостаза, вазодилатирующую функцию эндотелия *in vivo* основывалось на ответе пиальных сосудов на орошение индометацином.

Автором использован комплексный подход, вещества изучены на различных моделях *in vitro* и *in vivo* на интактных и животных с различными моделями патологий. Применен широкий спектр методик по оценке показателей сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза, различные модели тромбозов, методы изучения психоэмоционального состояния и когнитивных функций, а также методики определения уровня мозгового кровотока и эндотелий-зависимых реакций сосудов головного мозга. Использованные методы адекватны поставленным в диссертации задачам. Количество животных, использованных в экспериментах, позволяет получить достоверные результаты. Проведена адекватная статистическая обработка результатов.

Материалы собственных исследований изложены в главах 3 – 6.

В третьей главе приведены результаты скрининга *in vitro* и *in vivo* 14-ти новых производных гидроксibenзойных кислот, по результатам которого

определено 4 наиболее активных соединения. Для этих соединений-лидеров, проявляющих высокую антиагрегантную и антитромботическую активность *in vitro*, была произведена оценка эффективной дозы и острой суточной токсичности. Терапевтический индекс соединений определяли на здоровых животных на модели АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов. Выявленные эффективные дозы соединений С-60 и С-61, оказавшиеся ниже, чем для АСК, использовали в дальнейших экспериментах.

Исследование антиагрегантной активности *in vivo* 14-ти соединений на модели артериального тромбоза в результате воздействия FeCl₃ на сонную артерию подтвердило лидерство тех же 4-х соединений, для которых определили острую суточную токсичность и терапевтический индекс. Показано, что только два из 4-х соединений – С-60 и С-61 обладали выраженной антитромботической активностью.

В четвёртой главе описано влияние изучаемых соединений на антиагрегантную и антитромботическую активность у животных с преморбидным фоном (на модели сахарного диабета и старых животных), а также оценка побочного эффекта – длительности кровотечения из хвостовой вены. По совокупности результатов, полученных в исследованиях, наиболее перспективным для дальнейшего изучения было выбрано соединение С-60 – дикалиевая соль N-(3-оксибензоил)таурина.

В пятой главе и шестой главе описано влияние соединения лидера на психоневрологический статус, когнитивные функции, локальный мозговой кровоток и эндотелиальную функцию у животных с моделированным острым и хроническим нарушением мозгового кровообращения, показатели гемостаза, а также эндотелий-зависимую вазодилатацию мозговых сосудов в условиях острого, хронического и рецидивирующего нарушения мозгового кровообращения.

Изучение возможных механизмов антиагрегантного действия С-60 на основании его эффектов на показатели коагуляционного гемостаза,

вазодилатирующую функцию эндотелия *in vivo* основывалось на ответе пияльных сосудов на орошение индометацином.

В результате проведенного комплекса исследований доказано, что пероральное введение соединения С-60 животным с острым и хроническим нарушением мозгового кровотока оказывает выраженное церебропротективное действие, повышая эндотелий-зависимую вазодилатацию сосудов мозга, улучшая показатели тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза, повышая поведенческую активность и снижая тяжесть психоневрологических нарушений.

Седьмая глава посвящена обсуждению результатов исследования. Описаны и проанализированы полученные результаты скрининговых и углубленных исследований производных гидроксibenзойных кислот. Обобщая результаты экспериментальных исследований автор делает вывод, что данное соединение можно рекомендовать для проведения расширенного доклинического исследования в качестве потенциального антиагрегантного лекарственного средства.

По результатам диссертации сформулировано 7 выводов и 2 пункта практических рекомендаций, которые вытекают из содержания работы. Высокая степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключения диссертационного исследования не вызывает сомнений, т.к. обеспечивается достаточным объемом экспериментального материала диссертации и качеством его обработки.

Статистика

Полученные данные корректно обработаны с применением современных методов статистики. Использованные статистические методы были выбраны с учетом характера полученных данных, в соответствие с которым применяли параметрические и непараметрические критерии. Различия признавались статистически значимыми при $p < 0,05$. Нормальность распределения данных определяли критерием Шапиро-Уилка. Если данные

подчинялись нормальному распределению их анализировали критерием Ньюмена-Кейлса, если нет – установление различий между двумя группами осуществляли с применением критерия Мана-Уитни, между несколькими группами – Краскела-Уоллиса. Множественное сравнение групп между собой проводили критерием Данна.

Публикации

Основное содержание диссертационной работы отражено в 20 публикациях, из них 5 – в журналах, рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени; получено 2 патента на изобретение РФ. Публикации в целом отражают основные результаты, полученные в диссертационной работе.

Автореферат

Основные положения автореферата диссертации полностью соответствуют разделам и содержанию диссертационной работы.

Вопросы и замечания

Принципиальных возражений и вопросов к основному содержанию диссертационной работе не имею. Вместе с тем, имеется ряд замечаний, касающихся оформления и представления результатов исследования и не затрагивающих существа работы:

1. В обзоре литературных данных цитируемые источники представлены не как номер из списка литературы в квадратных скобках, а в круглых скобках как фамилии авторов с годом публикации. Там же, во многих подрисуночных подписях не приводится расшифровка всех приведенных на рисунках символов, что затрудняет их восприятие.

2. На гистограммах, отражающих влияние изучаемых соединений на неврологический статус животных различных экспериментальных групп, по оси ординат приведены абсолютные суммы баллов по соответствующим

шкалам их оценки, но в названиях этих рисунков – «неврологический дефицит».

3. В тексте встречаются слэнговые выражения (мочевыводящее кровотечение, уровень тощаковой гликемии и т.п.), неудачные и несогласованные выражения, орфографические и пунктуационные ошибки.

Данные замечания не снижают высокую научно-практическую ценность и общую положительную оценку диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Атапиной Натальи Валентиновны «Антиагрегантная, антитромботическая и церебропротективная активность новых производных гидроксibenзойных кислот», выполненная под руководством доцента, д.фарм.н. Д.В. Куркина и представленная к защите на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.3.6. - Фармакология, клиническая фармакология, является завершённой, самостоятельно выполненной научной квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи в области экспериментальной и клинической фармакологии, состоящей в поиске и углубленном фармакологическом изучении новых производных гидроксibenзойных кислот с антиагрегантной активностью, что имеет большое значение для фармакологии. Работа полностью соответствует паспорту специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (п.4 «Исследование взаимодействий между организмом и лекарственными средствами, изучение их фармакодинамики, фармакокинетики и метаболизма»). Научная новизна и практическая значимость результатов исследования позволяют утверждать, что данная работа соответствует п.9 Положения ВАК Министерства образования РФ, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, о порядке присуждения ученых степеней на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук, а её автор, Атапина Наталья Валентиновна, по своей эрудиции, компетенциям, научному и практическому опыту достойна присуждения искомой степени.

Официальный оппонент:

заведующая кафедрой
фармацевтической химии,
фармакогнозии и организации
фармацевтического дела факультета
фундаментальной медицины, ФГБОУ ВО
«Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова»,
доктор фармацевтических наук,
профессор



Каленикова Елена Игоревна

« 22 » июня 2022г.

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: infoi@rector.msu.ru

www.msu.ru

Подпись Калениковой Елены Игоревны

Подтверждаю

Декан факультета
фундаментальной медицины, ФГБОУ ВО
«Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова»,
академик РАН



Гкачук Всеволод Арсеньевич

« 22 » июня 2022г.

**Сведения об официальном оппоненте
по диссертации Атапиной Натальи Валентиновны «Антиагрегантная,
антитромботическая и церебропротективная активность новых
производных гидроксibenзойных кислот», на соискание ученой
степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.3.6. -
Фармакология, клиническая фармакология**

Ф.И.О. оппонента	Каленикова Елена Игоревна
Учёная степень	доктор фармацевтических наук
Шифр и наименование специальностей, по которым защищена диссертация	14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология
Ученое звание	профессор
Полное наименование организации, являющейся основным местом работы оппонента	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»
Занимаемая должность	Заведующая кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела Факультета фундаментальной медицины
Почтовый индекс, адрес	119991, г. Москва, Ломоносовский проспект, д.27, корп.1
Телефон	(495) 932 88 14 тел./факс: (499) 726 55 47
Адрес электронной почты	eikaleni@fbm.msu.ru eikaleni@yandex.ru
Список основных публикаций официального оппонента по профилю диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15 публикаций)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Обоснование подходов к коррекции нарушений липидного обмена и неалкогольной жировой болезни печени у детей с экзогенно-конституциональным ожирением / Поварова О.В., Городецкая Е.А., Куляк О.Ю., Демяненко А.Н., Алимова И.Л., Каленикова Е.И., Медведев О.С. // Ожирение и метаболизм. – 2022. – Т. 19, № 1, С. 19-26 2. Pharmacokinetics and tissue distribution of oxidized and reduced coenzyme q10 upon intravenous administration / Kalenikova E.I., Gorodetskaya E.A., Obolenskaya O N., Shapavo N.S., Makarov V.G., Medvedev O.S. // Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2021. – Т. 55 - №7. – С. 633-63. 3. Quantitative anatomical characteristics of the leaf blades of the several species of crataegus L. / Sagaradze V.A., Babaeva E. YU., Kalenikova E.I., Trusov N.A., Peshchanskaya E.V. // Drug Development & Registration. – 2021. – Т.10 - №4. –

C138-146.

4. Роль антиоксидантов в комплексной терапии пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием / Хатламаджиян М. Г., Харитоновна Е. В., Щербакова Л. Н., Каленикова Е. И., Медведев О. С., Алексеенкова М. В., Панина О. Б. // Вопросы Гинекологии, Акушерства и Перинатологии. – 2020. – Т.19. - №6. – С. 28-33.

5. Метаболические маркеры и окислительный стресс в патогенезе ожирения у детей / Поварова О.В., Городецкая Е.А., Каленикова Е.И., Медведев О.С. // Российский Вестник Перинатологии и Педиатрии. – 2020. – Т.65. - №1. – С.22-29.

6. Intravenous administration of Coenzyme Q10 in acute period of cerebral ischemia decreases mortality by reducing brain necrosis and limiting its increase within 4 days in rat stroke model / Obolenskaya O.N., Gorodetskaya E.A., Kalenikova E.I., Belousova M.A., Gulyaev M.V., Makarov V.G., Pirogov Yu A., Medvedev O.S. // ANTIOXIDANTS. – 2020. – Т. 9. – № 12. – С 1-17.

7. Генерация супероксидных радикалов митохондриями сердца и антиоксидантное действие водорастворимой формы убихинола-10 / Дудылина А.Л., Иванова М.В., Калатанова А.В., Каленикова Е.И., Макаров В.Г., Макарова М.Н., Шумаев К.Б., Рууге Э.К. // Биофизика. – 2019. – Т.64. - №2. – С.282-289.

8. Анализ ассортимента российского рынка лекарственных растительных препаратов седативного действия / Токарева М.Г., Прожогина Ю.Э., Каленикова Е.И., Джавахян М.А. // Вопросы Обеспечения Качества Лекарственных Средств. – 2019. - №2 (24). – С. 4-19.

9. Study of the variability of rutin, vitexin, hyperoside, quercetin in "crataegi folium cum flore" of hawthorn (crataegus l.) Species from russian flora / Sagaradze V.A., Kalenikova E.I., Babaeva E.Y., Ufimov R.A., Trusov N.A.// Journal Of Applied Research On Medicinal And Aromatic Plants. – 2019. – Т. 15. – С.100217.

10. Preclinical study of the pharmacokinetics of a new intravenous dosage form of ubiquinol / Kalenikova E.I., Gorodetskaya E.A., KULYAK O.Y., Kozaeva L.P., Medvedev O.S., Makarov V.G.,

Pozharitskaya O.N., Shikov A.N. // Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2018. – Т.51. - №11. - С.949-953.

11. Фармакогностические и фармакологические аспекты создания новых седативных препаратов на основе лекарственного растительного сырья / ТОКАРЕВА М.Г., ПРОЖОГИНА Ю.Э., КАЛЕНИКОВА Е.И., ДЖАВАХЯН М.А. // Вопросы Биологической, Медицинской И Фармацевтической Химии. – 2018. – Т.21. - №3. – С. 3-10.

12. 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. – Т. 81. - №4. – С.8-11.

13. Динамика тканевых уровней и редокс-статус коэнзима Q10 у крыс после внутривенного введения убихинола / Каленикова Е.И., Городецкая Е.А., Оболенская О.Н., Шаповал Н.С., Макаров В.Г., Медведев О.С. // Химико-Фармацевтический Журнал. – 2018. – Т.52. - №8. – С. 12-15.

14. Убихинол и убихинон: противоишемическая эффективность при внутривенном введении у крыс / Каленикова Е.И., Городецкая Е.А., Медведев О.С. // Технологии Живых Систем. – 2018. – Т.15. - №5. – С. 31-36.

Официальный оппонент

Каленикова Е.И.

Подпись Калениковой Е.И. подтверждаю
Декан факультета фундаментальной медицины
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»
Академик РАН

Ткачук В.А.

«18» сентября 2022г.



СОГЛАСИЕ ОППОНЕНТА

Я, Каленикова Елена Игоревна, доктор фармацевтических наук по специальности 14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология, заведующая кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела Факультета фундаментальной медицины ФФМ ФГБОУ ВО МГУ им. М. В. Ломоносова, даю свое согласие выступить в качестве официального оппонента по диссертации Атапиной Натальи Валентиновны «Антиагрегантная, антитромботическая и церебропротективная активность новых производных гидроксibenзойных кислот», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.3.6. - Фармакология, клиническая фармакология.

Членом экспертного совета ВАК не являюсь.

О месте и дате защиты информирована.

"18" сентября 2022 г.

 _____

Подпись доктора фармацевтических наук, доцента Е.И. Калениковой
«подтверждаю»

Декан
Факультета фундаментальной медицины
ФГБОУ ВО МГУ им. М. В. Ломоносова
Академик РАН


В.А. Ткачук



ФФМ ФГБОУ ВО МГУ
им. М. В. Ломоносова
тел: (495) 932 88 14
тел./факс: (499) 726 55 47
eikaleni@fbm.msu.ru
eikaleni@yandex.ru