

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородского государственного национального исследовательского университета» Минобрнауки РФ Покровского Михаила Владимировича на диссертацию Ускова Георгия Михайловича «Антикоагулянтные свойства новых конденсированных производных триазола», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук в Диссертационном совете 21.2.005.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградского государственного медицинского университета» Минздрава России по специальности 3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология.

Актуальность темы исследования. В силу распространённости венозных тромбозов и связанной с ними тромбоэмболией лёгочных артерий может столкнуться специалист, работающий в любой области клинической медицины. Хорошо известен высокий риск развития тромбозов после хирургических вмешательств, при длительной иммобилизации в ортопедической практике, флеботромбоз у больных с онкологическими заболеваниями, когда при контакте опухолевых клеток с кровью выделяются прокоагулянтные компоненты – тканевой фактор и тромбин. Также велика вероятность тромбообразования у пациентов с вирусными и бактериальными инфекциями, связанная выраженной иммунной реакцией организма. Поэтому профилактика тромбообразования занимает важное место в современной клинической практике.

Среди средств, для предотвращения венозных тромбозов лидирующее место занимают антикоагулянты. В настоящее время в качестве новых оральных антикоагулянтов используют прямые ингибиторы IIa и Xa фактора. Однако у данной группы препаратов также имеется ряд недостатков, включающие гастропатии, подкожные кровоизлияния, низкая биодоступность. Поэтому необходимо проводить поиск новых антикоагулянтов для перорального приема с минимальными побочными эффектами.

В связи с этим, диссертационное исследование Ускова Георгия Михайловича, посвященное изучению влияния новых конденсированных производных триазола на коагуляционный каскад, является актуальным для разработки новых антикоагулянтных препаратов.

Работа выполнена за счёт средств гранта "Медицинская химия в создании лекарств нового поколения для лечения социально значимых заболеваний".

Научная и практическая значимость исследования.

Диссертационная работа Ускова Г.М. «Антикоагулянтные свойства новых конденсированных производных триазола» имеет высокую степень научной новизны. Автором впервые изучено влияние 42 новых производных триазоло[1,5-*a*]пиримидина и триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазина на антикоагулянтную активность. Производные триазола синтезированы в Уральском федеральном университете имени первого Президента России Б.Н. Ельцина (г. Екатеринбург) и в институте органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук (г. Екатеринбург). Результаты выявленной зависимости между антикоагулянтной активностью новых конденсированных производных триазолов и их химической структурой могут служить основой для направленного поиска новых антикоагулянтных соединений и дают возможность раскрыть аспекты их механизма антикоагулянтного действия. В результате экспериментального скрининга выявлено вещество с антитромбиновой активностью, изучен его механизм антикоагулянтного действия, получены данные о его антитромботической активности на различных моделях экспериментальных венозных тромбозов и острой тромбоэмболии легочной артерии. Изучено влияние данного вещества на процессы иммунокоагуляции в условиях системной воспалительной реакции. Полученные результаты имеют важное значение для дальнейшего проведения доклинических исследований с целью создания нового антикоагулянтного средства.

Структура и содержание диссертации. Работа изложена на 189 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 29 таблицами и 31 рисунком. Включает в себя разделы: введение, обзор литературы, материал и методы, экспериментальная часть, обсуждение результатов, выводы, перечень сокращений и условных обозначений, список литературы включающий в себя 204 источника (27 отечественных и 177 зарубежных авторов), приложение.

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

В первой главе проведен анализ литературных данных по теме диссертации. Подробно описаны физиология и патология коагуляционного гемостаза, и представлены известные группы антикоагулянтных препаратов, используемые в клинической практике, включающие эффективность и побочное действие. Описаны гетероциклические производные, которые оказывают влияние на процессы коагуляции. Рассмотрены конденсированные производные триазолопиримидина и триазолотриазина, как потенциально активные вещества для коррекции коагуляционного гемостаза.

Во второй главе автором описаны материалы и методы исследования. Проведена статистическая обработка результатов.

В третьей главе приведены результаты поиска и изучения влияния веществ на антикоагулянтную активность среди новых конденсированных производных триазоло[1,5-*a*]пиримидинов и триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов *in vitro*, проанализирована взаимосвязь активности производных от химической структуры: производные триазоло[1,5-*a*]пиримидинов оказались более перспективными и активными в сравнении с триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинами. Выявлены наиболее активные соединения по влиянию

на параметр коагулограммы - тромбиновое время. Определены четыре наиболее активных веществ под шифром HC-NAR-0273b, FV-174/Na, KC-G и KC-786, удлиняющие данный показатель.

Среди изученных наиболее активных соединений в опытах *ex vivo* при однократном внутрижелудочном введении антитромбиновое действие выявлено только у соединения под шифром HC-NAR-0273b. Был рассчитан условный терапевтический индекс по полученным результатам исследования острой токсичности (LD_{50}) и цитотоксичности данного соединения.

В четвертой главе представлены результаты изучения влияния соединения HC-NAR-0273b на процессы тромбообразования. Установлено, что на модели тромбин-индуцированной тромбоэмболии у мышей данное соединение при однократном внутрижелудочном введении в два раза увеличивало количество выживших мышей, по сравнению с группой контроля, и было сравнимо с препаратом сравнения дабигатраном этексилатом. Данные результаты подтверждаются гистологическими исследованиями срезов легких на предмет образования тромбов.

Также на модели тромбоза нижней поллой вены крыс, вызванной ее перевязкой, модели тромбоза бедренной вены крыс, индуцированной аппликацией 50% раствора хлорида железа, модели тромбоза по Горогу, соединение-лидер оказало выраженное антитромботическое действие.

В пятой главе автор посвятил изучению механизма антикоагулянтного действия соединения HC-NAR-0273b. После проведенных экспериментов была доказана его способность связывать тромбин на хромогенном субстрате S-2238 и при использовании метода иммуноферментного анализа в тестах *in vivo*.

При проведении исследования на разведенное тромбиновое время с помощью Hemoclot kit теста показало, что соединение-лидер сохраняет способность антикоагулянтной активности при разведении плазмы животных. Также изучено ингибирующее влияние соединения HC-NAR-0273b на тромбин-индуцированную агрегацию тромбоцитов.

В шестой главе описаны исследования соединения HC-NAR-0273b на процессы коагуляции в условиях гиперцитокинемии *in vitro* и *in vivo*, вызванной липополисахаридом. В результате проведенных исследований показано, что соединение-лидер проявляет более выраженное антикоагулянтное действие в условиях системной воспалительной реакции, что позволяет предположить наличия у него влияния на процессы иммунокоагуляции.

В седьмой главе автором описаны данные по изучению общетоксических свойств соединения-лидера. В результате экспериментального исследования данного соединения при внутрижелудочном введении в возрастающих дозах мышам показано отсутствие его влияния на рефлексы, реактивность, мышечную и двигательную координацию, а также на вегетативную систему животных.

Восьмая глава посвящена обсуждению результатов исследования. Автором подробно проанализированы полученные в ходе работы данные с учетом анализа современной литературы.

Диссертация завершается 12 выводами, которые отражают полученные результаты. Практические рекомендации логичны и соответствуют полученным данным. Автореферат оформлен в соответствии с современными требованиями и отражает основные положения диссертации. Основные результаты работы отражены в 7 публикациях, из них 3 в журналах, рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени.

Материалы диссертации были представлены на конференции MedChem-Russia 2021; XXVI Региональной конференции молодых исследователей Волгоградской области; 79 и 80-й открытой научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины», Волгоград, 2021, 2022 гг.; на LXXXIII научно-практической конференции с международным участием, посвященная 125-летию юбилею ПСПбГМУ

им. акад. И.П. Павлова «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины–2022».

Степень обоснованности и достоверности научных положений, рекомендаций и выводов.

Представленный большой объем экспериментальных данных, описание и их анализ позволяют квалифицировать результаты диссертационной работы как достоверные, а основные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации как обоснованные. Автором проведена обработка полученных результатов современными методами статистики.

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:

Заданные вопросы носят дискуссионный характер и не снижают ценности работы.

1. Несомненным достоинством работы является комплексная методология оценки антиромбической активности соединений, однако прошу пояснить почему при исследовании антиагрегационной активности Вами использован индуктор тромбин, а не АДФ.
2. Вы убедительно показали, что соединениеНС-NAR-0273b имеет преимущества перед дабигатраном по активности и безопасности. Можно ли сейчас попробовать сопоставить их ценовые характеристики.

Заключение

Диссертация Ускова Георгия Михайловича на тему: «Антикоагулянтные свойства новых конденсированных производных триазола», представленная на соискание ученой степени кандидата

медицинских наук является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи фармакологии по поиску и изучению новых перспективных биологически активных фармакологических молекул, обладающих антикоагулянтными свойствами в ряду производных триазола, что имеет важное значение для фармакологии.

Диссертационная работа Ускова Г.М. актуальности, научной новизне, достоверности полученных результатов, обоснованности выводов и научно-практической ценности полностью соответствует соответствующим всем требованиям пункта 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в ред. Постановления Правительства РФ от 01.10.2018 № 1168, с изм. от 26.05.2020), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор Усков Георгий Михайлович достоин присуждения ученой степени кандидата медицинских наук степени по специальности 3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент

Заведующий кафедрой
фармакологии и клинической
фармакологии ФГАОУ ВО
«Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет» Минобрнауки РФ,
доктор медицинских наук,
профессор

Покровский М.В.

Подпись д.м.н., профессора Покровского Михаила Владимировича заверяю:

Адрес: 308015, Российская Федерация, г. Белгород, ул. Победы, 85

Телефон: 8-910-314-73-93,

E-mail: mpokrovsky@yandex.ru

« 13 » октября 2022 г.



Председателю диссертационного
Совета 21.2.005.02
Академику РАН, д.м.н., профессору
В.И.Петрову
на базе Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения
высшего образования «Волгоградский
государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения РФ
(400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д.1)

СОГЛАСИЕ ОППОНЕНТА

Я, Покровский Михаил Владимирович, доктор медицинских наук по специальности 3.3.6. (14.03.06) Фармакология, клиническая фармакология, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Минобрнауки РФ, даю свое согласие выступить в качестве официального оппонента по диссертации Ускова Георгия Михайловича «Антикоагулянтные свойства новых конденсированных производных триазола», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки).

Членом экспертного совета ВАК не являюсь.

О месте и дате защиты проинформирован.

«23» августа 2022 г.


подпись

Подпись доктора медицинских наук, профессора Михаила Владимировича Покровского заверяю

Адрес: 308007 г. Белгород, ул. Победы, 85
ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный
исследовательский университет»
Телефон: 8-910-314-73-93
e-mail: mpokrovsky@yandex.ru

Личную подпись
удостоверяю
Ведущий специалист
по кадрам управления
по развитию
персонала и
кадровой работе



Председателю диссертационного
Совета 21.2.005.02
Академику РАН, д.м.н., профессору
В.И.Петрову
на базе Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения
высшего образования «Волгоградский
государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения РФ
(400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д.1)

Сведения об официальном оппоненте

по диссертации Ускова Георгия Михайловича на тему «Антикоагулянтные свойства новых конденсированных производных триазола», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Фамилия, имя, отчество официального оппонента	Покровский Михаил Владимирович
Год рождения	1960
Ученая степень	Доктор медицинских наук, 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки; 14.03.06)
Ученое звание	Профессор по специальности «Фармакология, клиническая фармакология»
Место основной работы (Полное и сокращенное название организации)	Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»)
Почтовый адрес	308015, г. Белгород, ул. Победы, 85
Телефон	8-910-314-73-93
Адрес электронной почты	mpokrovsky@yandex.ru
Наименование подразделения	фармакология и клиническая фармакология
Должность	Заведующий кафедрой

Список основных публикаций официального оппонента, близких к теме рецензируемой диссертационной работы	1. Puchenkova O. A., Soldatov V. O., Belykh A. E., Bushueva O., Piavchenko, G. A., Venediktov A. A., Shakhpazyan N. K., Deykin A. V., Korokin M. V., & Pokrovskiy M. V. Cytokines in Abdominal Aortic Aneurysm: Master Regulators With Clinical Application. Biomarker insights, 17. Apr. 25. 2022. 2. Пат. 2751964 С1 Российская федерация, МПК А61К 38/08, А61Р 7/02. Способ снижения агрегационной способности тромбоцитов / О.В. Анциферов, М.В. Корокин, В.В. Гуреев, А.С. Нетребенко, В.О. Солдатов, М.В. Покровский, Т.Г. Покровская, А.А. Пересыпкина, О.С. Гудырев, М.А. Затолокина, А.С. Победа, В.М. Покровский, В.И. Якушев, Л.В. Корокина, А.В. Гуреева, И.С. Кочкарова, И.М. Колесник, Ю.Е. Бурда, С.А. Алехин; заявитель и патентообладатель НИУ «БелГУ» - № 2021104025; заявл. 17.02.2021; опубл. 21.07.2021. 3. Mikhail V. Korokin, Vladislav O. Soldatov, Alesia A. Tietze, Ivan V. Golubev, Andrey E. Belykh, Marina V. Kubekina, Olesya A. Puchenkova, Tat'Yana A. Denisyuk, Vladimir V. Gureyev, Tat'Yana G. Pokrovskaya, Oleg S. Gudyrev, Maksim A. Zhuchenko, Mariya A. Zatolokina, Mikhail V. Pokrovskiy 11-amino acid peptide imitating the structure of erythropoietin α-helix b improves endothelial function, but stimulates thrombosis in rats // Фармация и фармакология. 2019. №6 (eng). 4. Лукьянова Ю.С., Покровский М.В. Основные патофизиологические и молекулярные механизмы хронических заболеваний вен и их фармакологическая коррекция. Клиническая фармакология и терапия. 2019;28(3):52-61. 5. Soldatov V.O., Malorodova T.N., Pokrovskaya T.G. [et al.] / Ultrasonic dopplerography for the evaluation of endothelial function in the conduct of
---	--

pharmacological vascular samples in an experiment // International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences. - 2018. - Vol.9, N3. - P. 735-740.

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», доктор медицинских наук, профессор


ПОДПИСЬ

Покровский М.В.

Подпись Покровского Михаила Владимировича заверяю

Проректор по науке и инновациям
НИИ «БелГУ»



ПОДПИСЬ

Репников Н.И.

«23» августа 2022 г.