

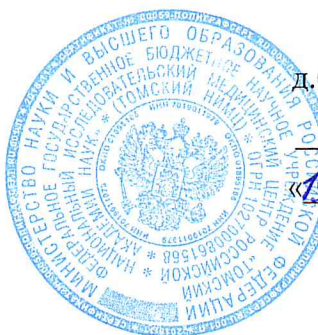
«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Томского НИМЦ

д.б.н., профессор, академик РАН

Степанов В.А.

«19» октября 2022 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» о научно-практической ценности диссертации Ускова Георгия Михайловича «Антикоагулянтные свойства новых конденсированных производных триазола», представленной к защите в Диссертационный совет 21.2.005.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Актуальность темы диссертационного исследования

Лечение венозных тромбозов и тромбоэмболических осложнений на протяжении длительного времени остаются актуальной проблемой, которая затрагивает врачей всех специальностей. Высокая распространенность венозных тромбозов связана с возрастающим числом оперативных вмешательств, расширением их объема и продолжительности, ортопедических операций на нижних конечностях по замене суставов, онкологических, аутоиммунных заболеваний, хронической сердечной недостаточности, а также вирусными и бактериальными инфекциями.

Особо актуализирует проблему тромбо-геморрагических осложнений недавняя пандемия новой вирусной инфекции, сопровождающейся

гиперцитокинемией и вызывающей частое повреждение эндотелия легочных сосудов с нарушением его защитных функций. В свою очередь системная дисфункция эндотелия определяет прокоагулянтные изменения в системе регуляции агрегатного состояния крови и повышает риски тромботических осложнений.

В этом ключе поиск и разработка программ профилактики тромбообразования занимает важное место в современной клинической практике. Долгое время для длительной антитромботической терапии пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий, а также других заболеваний, которые требуют постоянного применения антикоагулянтов, был варфарин. Однако у него имеется ряд недостатков, которые предусматривают мониторинг МНО для корректировки дозы. В настоящее время альтернативой применения варфарина являются новые оральные антикоагулянты. Преимущество их состоит в предсказуемом фармакокинетическом профиле, так как они имеют фиксированные дозы, что обуславливает отсутствие необходимости лабораторного контроля их антикоагулянтного эффекта. Однако у данной группы препаратов также имеются недостатки, которые ограничивают их применение (желудочно-кишечные кровотечения, гастропатии, подкожные кровоизлияния и др). Следовательно, необходим поиск и разработка новых антикоагулянтных препаратов с минимальными побочными эффектами. Согласно литературным данным соединения с гетероциклической структурой, а именно производные триазола являются высокоэффективными корректорами коагулопатий. Учитывая сказанное выше, весьма перспективным представляется поиск новых соединений, проявляющих антикоагулянтную активность, среди триазоло[1,5-а]пиримидинов и триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов.

На основании этого актуальность диссертационного исследования Ускова Георгия Михайловича, по поиску и изучению фармакологических свойств новых конденсированных производных триазола не вызывает сомнений.

Научная новизна исследования

Диссертация Ускова Георгия Михайловича «Антикоагулянтные свойства новых конденсированных производных триазола» имеет достаточно высокую степень научной новизны полученных данных. Автором впервые было изучено влияние новых соединений из групп конденсированных производных ряда триазола на параметры коагулограммы *in vitro* и *ex vivo*. Методом подструктурного анализа изучена зависимость между структурами изученных соединений, и их способностью ингибировать факторы коагуляционного гемостаза. Показано, что скаффолд [1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидина является более предпочтительным при поиске веществ с прямой антикоагулянтной активностью, чем скаффолд [1,2,4]триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазина.

Найдено и изучено новое соединение-лидер, проявляющее антикоагулянтные свойства *in vitro* и *ex vivo*. Впервые изучена антитромботическая активность соединения-лидера на различных моделях венозных тромбозов и изучен механизм антикоагулянтного действия данного вещества, связанный с ингибированием тромбина. Проведено углубленное изучение антикоагулянтного эффекта соединения-лидера, который рекомендован для проведения расширенных доклинических исследований, на различных моделях в условиях гиперцитокинемии, вызванной липополисахаридом *in vitro* и *in vivo*. Было установлено, что изучаемое соединение относится к классу малотоксичных веществ, что соответствует 4 классу токсичности.

Научная и практическая значимость исследования

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. Полученные данные об антитромботической активности соединения-лидера на различных моделях экспериментальных тромбозов, механизме антикоагулянтного действия, связанного с ингибированием Па фактора свертывания, а также о его влиянии на процессы иммунокоагуляции в условиях системной воспалительной реакции могут внести значительный вклад в предотвращение тромбозов, ассоциированных с вирусными и бактериальными инфекциями.

Комплексное исследование фармакодинамических свойств исследуемого вещества дает возможность провести фармакокинетические и токсикологические исследования с целью разработки инновационного лекарственного препарата для лечения состояний, сопровождающихся повышением тромбообразования без и в условиях гиперцитокинемии. Кроме того, полученные результаты имеют фундаментальное значение и расширяют представления о фармакологической активности антикоагулянтных препаратов.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений диссертационной работы

Все положения, постулируемые автором, выводы и заключения обоснованы и логично вытекают из текста диссертации. При выполнении исследований использованы современные скрининговые тесты, изучение фармакологических эффектов выполнены на высокотехнологичном оборудовании в соответствии с рекомендациями по доклиническому изучению

лекарственных средств. Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом выполненных экспериментальных исследований на различных видах лабораторных животных. Автором выполнена обработка цифрового материала методами вариационной статистики с использованием подходящих критериев.

Диссертантом представлены материалы исследований в таблицах и рисунках, которые явились основой для анализа полученных результатов и формулировки основных положений научной работы.

Структура и содержание работы

Диссертация оформлена в соответствии с существующими требованиями, написана в традиционной манере, изложена на 189 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 29 таблицами и 31 рисунком. Состоит из следующих глав: введение, обзор литературы, материал и методы, экспериментальная часть, обсуждение результатов, выводы, перечень сокращений и условных обозначений, список литературы, приложение. Список литературы включает в себя 204 источника, из них 27 отечественных и 177 зарубежных авторов.

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 1-й главе, посвященной обзору литературы, изложены современные представления о механизмах тромбообразования в результате активации коагуляционного гемостаза, последствиях тромботических осложнений. Подробно описаны физиология и патология коагуляционного гемостаза, и

представлены известные группы антикоагулянтных препаратов, используемые в клинической практике, включающие эффективность и побочное действие. Второй раздел посвящен гетероциклическим производным, которые оказывают влияние на процессы коагуляции. В заключительном разделе рассмотрены конденсированные производные триазолопиримидина и триазолотриазина, как потенциально активные вещества для коррекции коагуляционного гемостаза. Сформирована концепция исследования.

Во 2-й главе автором подробно описаны методы экспериментальных исследований и статистической обработки полученных данных.

В 3-й главе представлены данные по поиску веществ с антикоагулянтной активностью среди производных триазоло[1,5-*a*]пиримидинов и триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов *in vitro*. Выявлены наиболее активные соединения по влиянию на параметр коагулограммы - тромбиновое время. Описано выполнение оценки зависимости антикоагулянтного действия от химической структуры соединений. При изучении наиболее активных соединений в опытах *ex vivo* при однократном внутрижелудочном введении антитромбиновое действие было выявлено у соединения под шифром HC-NAR-0273b. Получены результаты исследования острой токсичности (LD₅₀) и цитотоксичности данного соединения с целью расчета условного терапевтического индекса. Соединение HC-NAR-0273b не проявляет цитотоксического действия на клетках линии HepG2 (гепатоцеллюлярной карциномы человека) при 48-ми часовой инкубации в диапазоне концентраций 0,01-1000 мкМ. Было установлено, что изучаемое соединение относится к классу малотоксичных веществ, что соответствует 4 классу токсичности.

В 4-й главе описаны результаты изучения влияния соединения-лидера на процессы тромбообразования. Показано, что на модели тромбоза нижней полой вены крыс, вызванной ее перевязкой, модели тромбоза бедренной вены крыс,

индуцированной аппликацией 50% раствора хлорида железа, модели тромбоза по Горогу, а также в условиях тромбин-индуцированного тромбоза легких мышей соединение-лидер оказывает выраженное антитромботическое действие, превосходя препарат сравнения дабигатрана этексилат.

В главе 5 описано изучение механизма антикоагулянтного действия соединения-лидера. В результате проведенных экспериментов показана способность исследуемого вещества связывать фактор IIa на хромогенном субстрате S-2238, а также при использовании метода иммуноферментного анализа. При проведении Hemoclot kit теста соединение-лидер сохраняет способность антикоагулянтной активности при разведении плазмы животных. Также в данной главе описаны результаты влияния исследуемого вещества на параметры тромбоэластограммы и агрегацию тромбоцитов, индуцированную тромбином, подтверждающие его антитромбиновое действие.

В 6-й главе описываются исследования антикоагулянтной активности соединения HC-NAR-0273b в условиях гиперцитокинемии, вызванной липополисахаридом. В результате исследований было выявлено усиление антикоагулянтного действия соединения HC-NAR-0273b в условиях системной воспалительной реакции, что указывает на возможное наличие у него противовоспалительной активности.

В 7-й главе представлены результаты изучения общетоксических свойств соединения-лидера по методу Irwin S., на мышах при однократном внутрижелудочном введении в возрастающих дозах: 5,5; 55; 550 и 2000 мг/кг. Было показано, что соединение HC-NAR-0273b не влияет на двигательную активность и координацию животных, не вызывает изменения эмоционального поведения животных, тремора, судорог и парезов. Не отмечено влияние данного вещества и на вегетативную систему.

8-я глава посвящена обсуждению полученных результатов, в которой автор подробно анализирует полученные результаты с учетом анализа современной литературы. Выдвигаемые положения достаточно обоснованы и аргументированы.

Работа логично завершается 12 выводами, которые отражают суть полученных сведений и вытекают из содержания работы.

Автореферат отражает основные положения диссертации и оформлен в соответствии с современными требованиями. По материалам диссертации опубликовано 7 печатных работ, из них 3 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для опубликования основных научных результатов кандидатских и докторских диссертаций.

Материалы работы 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».

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Экспериментальные данные по способности новых соединений ингибировать звенья коагуляционного звена гемостаза, а также анализ влияния различных заместителей на уровень антикоагулянтной активности в ряду новых конденсированных производных триазоло[1,5-*a*]пиримидинов используется при

синтезе новых соединений в Институте Органического Синтеза Уральского отделения Российской академии наук (г. Екатеринбург) и в Уральском федеральном университете (г. Екатеринбург). В работе кафедры фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ, Научного центра инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством при университете ВолгГМУ применяется новый комплексный подход к изучению антикоагулянтной активности веществ. Коллективу исследователей следует продолжать поиск и изучение новых антикоагулянтных соединений в ряду конденсированных производных триазоло[1,5-*a*]пиримидинов для профилактики тромботических осложнений, в том числе и в условиях системной воспалительной реакции.

Соответствие содержания диссертации паспорту специальности

Область диссертации включает поиск новых биологически активных фармакологических веществ, обладающих антикоагулянтными свойствами среди впервые синтезированных соединений. В соответствии с формулой специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, выполненная диссертационная работа соответствует основным задачам данной специальности: поиску новых биологически активных фармакологических веществ среди впервые синтезированных соединений на экспериментальных моделях патологических состояний; исследованию зависимости «структура–активность» в различных классах фармакологических веществ; исследованию механизмов действия фармакологических веществ в экспериментах на животных, на изолированных органах и тканях; экспериментальному (доклиническое) изучению безопасности фармакологических веществ – токсикологические исследования, включающему изучение токсичности потенциальных лекарственных препаратов в условиях острых и хронических экспериментов на животных.

Диссертация соответствует областям исследования, утвержденным в паспорте специальности, конкретно – пунктам 1, 2, 3 и 5.

Автореферат содержит основные положения выполненного исследования.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Ускова Георгия Михайловича «Антикоагулянтные свойства новых конденсированных производных триазола», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, является законченной научно-квалификационной работой, которая содержит в себе решение актуальной научной задачи фармакологии – по поиску и изучению новых биологически активных фармакологических веществ, обладающих антикоагулянтными свойствами среди производных триазола.

Диссертационная работа Ускова Г.М. по актуальности, научной новизне, практической ценности и достоверности полученных результатов, полноте изложения и обоснованности выводов соответствует требованиям пункта 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 11.09.2021 № 1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Отзыв на диссертационную работу Ускова Г.М. заслушан, обсужден и одобрен на совместном заседании лаборатории фармакологии кровообращения и лаборатории физиологии, молекулярной и клинической фармакологии «НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга» Федерального

государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», протокол № 3 от «17» октября 2022 г.

Заместитель директора по научной и лечебной работе, заведующий лабораторией физиологии, молекулярной и клинической фармакологии НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ, доктор медицинских наук (по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология), профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ



Удут В.В.

Подпись д.м.н., профессора, члена-корреспондента РАН, заслуженного деятеля науки РФ Удута Владимира Васильевича заверяю:

Ученый секретарь
Томского НИМЦ, к.б.н.



Хитринская Ирина Юрьевна

Адрес: 634009, Россия, г. Томск, пер. Кооперативный, д. 5

Томский НИМЦ

Тел.: +7(3822) 51-33-06,

e-mail: center@tnimc.ru

В диссертационный совет 21.02.005.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава РФ (400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1)

СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

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

Полное название организации	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»
Сокращенное наименование организации	Томский НИИМЦ
Адрес организации	634009. г. Томск, пер. Кооперативный 5.
Контактный телефон (с кодом города)	8 (3822) 51-22-28
Ведомственная подчиненность	Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Сведения о руководителе ведущей организации	Степанов Вадим Анатольевич, академик РАН, доктор биологических наук, профессор Контактная информация: Тел: 8 (3822) 51-22-28 e-mail: center@tnimc.ru
Сведения о заместителе	Лебедев Игорь Николаевич – заместитель директора по научной работе Томского НИИМЦ, доктор биологических наук, профессор РАН.

руководителя ведущей организации по научной работе	Контактная информация: Тел: 8 (3822) 51-11-09 Факс: 8 (3822) 51-37-44 e-mail: igor.lebeded@medgenetics.ru
Сведения о составителе отзыва ведущей организации	Удуг Владимир Васильевич – заместитель директора по научной и лечебной работе НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ Контактная информация: Тел: (3822) 41-88-92 e-mail: udutv@mail.ru
Основные работы (за последние 5 лет)	1. Антитромботические эффекты сочетания антикоагулянта и тромболитика в условиях поражения сосудистого русла легких при моделировании системного тромбоза / Мадонов П.Г., Ершов К.И., Мишенина С.В., Байкалов Г.И., Чуринов А.А., Фёдорова Е.П., Фомина Т.И., Филонова М.В., Удуг В.В. // Бюллетень медицинской науки. 2021. № 1 (21). С. 88-93. 2. Возможности мониторинга фармакодинамики дабигаатрана этексилата /Соловьев М.А., Момот Д.А., Котловская Л.Ю., Тютрин И.И., Удуг В.В. // Якутский медицинский журнал. 2021. № 4 (76). С. 47-51. 3. Персонализированная коррекция расстройств системы гемостаза у пациентов с COVID-19 / Тютрин И.И., Шитикова О.Г., Слизевич Д.С., Борзов Е.А., Клименкова В.Ф., Удуг В.В. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2021. Т. 84. № 11. С. 3-8. 4. Способ коррекции гиперкоагуляционного состояния при введении противоопухолевого препарата цисплатина / Филонова М.В., Федорова Е.П., Чуринов А.А., Федорова Ю.С., Котловская Л.Ю., Соловьев М.А., Удуг В.В. // Патент на изобретение 2743848 С1, 26.02.2021. Заявка № 2020121642 от 25.06.2020. 5. Система принятия решения онлайн-оценки гемостатического потенциала на

	основе нейронных сетей / Тютрин И.И., Слизович Д.С., Клименкова В.Ф., Шписман М.Н., Котловская Л.С., Жуков Е.Л., Гуляев Н.И., Момот Д.А., Тарабрин О.А., Удуд В.В. // Анестезиология и реаниматология (Медиа Сфера). 2022. № 1. С. 68-75.
--	--

И.о. директора Томского НИМЦ

В.И. Лебедько

«14» 08 2022 г.

634009, г. Томск, пер. Кооперативный 5.

Тел: 8 (3822) 51-22-28

e-mail: center@tnimc.ru

