



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ»
(ФГБНУ «ИЭМ»)

ул. Академика Павлова, 12, Санкт-Петербург, 197022
тел.: +7 (812) 234-6868; факс: +7 (812) 234-9489; e-mail: iem@iemspb.ru; https://iemspb.ru

ОКПО 01897179 ОГРН 1037828000198 ИНН/КПП 7813045787/781301001

19.10.2022 № 424-1/2-604

на № _____ от _____



Утверждаю
Директор ФГБНУ «ИЭМ»
доктор биологических наук, профессор РАН
Александр Валентинович Дмитриев
«19» октября 2022 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины»
о научно-практической ценности диссертации
Борисова Александра Владимировича
«Иммуномодулирующая активность N-замещенных производных хиназолина с азотсодержащими функциональными группами в условиях экспериментальной патологии», представленной к публичной защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы выполненной работы и ее связь с соответствующими отраслями науки. Иммунная система организма относится к одной из трех (нервная, гормональная и иммунная) основных регуляторных систем. С точки зрения патологии и патологической физиологии, ее часто переоценивают, придавая определяющее значение для развития острых и хронических заболеваний, а с фармакологических позиций – слишком часто недооценивают. Это связано с распространенным заблуждением, что вмешиваться в регуляцию иммунных процессов не следует, поскольку последствия могут быть слишком серьезными и даже пагубными. Современная фармакология иммуотропных средств относится к быстро и активно развивающимся областям науки, прежде всего, из-за

успехов в развитии иммунологии. Выделено из природных ресурсов, создано химически и биотехнологически большое число иммуностропных препаратов, они, естественно, разного назначения, разной активности и разной перспективности использования. Следует подчеркнуть, что роль иммуномодуляторов в комплексном лечении разных заболеваний, например, воспалительных, аллергических, ишемических, неопластических, до настоящего времени остается не совсем ясной. Это в значительной степени определяется настороженностью клиницистов в отношении включения иммуномодуляторов в лечение из-за трудности выделения или вычленения именно иммунного компонента в комплексе действующих лекарств. Большинство из практикующих врачей не отвергает саму идею включения иммуномодуляторов в лечебный процесс, но каким образом оценить это действие, специалисты часто затрудняются.

В качестве предмета исследования А.В. Борисов выбрал изучение иммуностропной активности структурных аналогов пиримидинов – хиназолинов. Пиримидины входят в состав природных нуклеотидов, оказывающих полифункциональное влияние на процессы секреции иммунных медиаторов, пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток, их апоптоза и регенерации. Поэтому работа диссертанта представляет собой фундаментальный труд, направленный на решение важнейших фармакологических и практических медицинских задач. Следует отметить, что несмотря на неослабевающий интерес к проблеме иммуномодуляторов, их разработка и внедрение в практическую медицину достаточно ограничены, что чаще всего определяется неправильным или ненадлежащим их позиционированием. Работа А.В. Борисова поднимает важные и актуальные вопросы экспериментального изучения иммуномодуляторов, а также области их практического применения, что делает ее привлекательной и практически востребованной.

Настоящая работа выполнена в рамках научно-исследовательских программ, разрабатываемых в ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» МЗ РФ, где традиционно уделяют много внимания изучению фундаментальных и клинических проблем медицины.

Обоснованность основных научных положений, выводов и практических рекомендаций. Целью исследования диссертанта было изучение иммуномодулирующей активности и возможного механизма действия в ряду новых *N*-замещенных производных хиназолина с азотсодержащими функциональными группами, на основании фармакологического скрининга исследуемых производных *in vitro* и *in vivo* на моделях экспериментальной патологии. На основании цели

сформулированы конкретные задачи исследования (их 7). Для их решения автор использовал большой набор современных фармакологических, биохимических, иммунологических, микробиологических и физиологических методов исследования, адекватных поставленным задачам. Методология исследования состояла в комплексном подходе, включающим отбор кандидатных соединений, их скрининг на первичных клеточных культурах, а также подробное изучение их иммуномодулирующего действия в условиях экспериментального системного воспалительного ответа. Последнее оценивали по влиянию на общее число лейкоцитов и их субпопуляционный состав (лейкоцитарная формула), фагоцитарную активность нейтрофилов, уровень провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-1 β , ФНО α) и индуцибельной NO-синтазы в сыворотке, лимфоидного индекса и количество ядро-содержащих клеток селезенки, экспрессию NF- κ B в спленоцитах и уровень циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке. Применение современных молекулярно-биологических и классических фармакологических и патофизиологических методических подходов к решению поставленных задач, использование высокотехнологичного оборудования, проведение экспериментальных исследований в соответствии с рекомендациями и стандартами доклинического изучения делают работу современной, яркой и показательной. Постановка цели и задач работы конкретны и логичны. Примененные методы исследования, а также характер и количество полученного материала адекватны задачам диссертации. Значительный объем данных, их статистическая обработка и высокий уровень анализа позволяют считать результаты диссертационной работы достоверными, а положения и выводы – обоснованными.

В ходе исследований диссертант сделал ряд важных находок. В частности, доказано, что наиболее перспективными для создания на их основе эффективных иммуномодуляторов являются производные хиназолина – соединения ВМА-21-10 и ВМА-13-15, обладающие выраженным иммуномодулирующим действием *in vitro* и *in vivo*. Важно отметить, что производные хиназолина ВМА-21-10 (1,3-бис-[(5-амино-1H-1,2,4-триазол-3-ил)метил]-хиназолин-2,4(1H,3H)-дион) и ВМА-13-15 (N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидин) не проявляют признаков цитотоксичности в тесте высвобождения лактатдегидрогеназы и МТТ-тесте в культуре перитонеальных макрофагов, после 72 часов инкубации в концентрации 100 мкМ. Автор выяснил, что в основе иммуномодулирующего действия соединения ВМА-21-10 и ВМА-13-15 в модели ЛПС-индуцированного системного воспаления лежит ингибирование экспрессии ядерного фактора транскрипции NF- κ B, что приводит к

снижению продукции «ключевых» цитокинов воспаления ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α и активности iNOS. Кроме того, доказано, что в основе иммунокорригирующего действия соединения ВМА-13-15 на показатели неспецифической резистентности, гуморального и клеточного иммунного ответа при циклофосфамид-индуцированной иммуносупрессии лежит активация лимфопролиферативных процессов в лимфоидных органах, восстановление их функциональности за счет регенерации Т-системы клеточного и В-системы гуморального звена иммунитета, стимуляция лимфо- и миелопоэза с повышением общего числа лейкоцитов крови, с частичным восстановлением их субпопуляций и фагоцитарной активности нейтрофилов.

Результаты исследований репрезентативны, корректно обработаны и не вызывают сомнений.

Представленный большой объем экспериментальных данных (опыты выполнены на 50 нелинейных самцах мышей, 50 самцах мышей линии C57bl/6J, 50 самцах крыс линии Wistar, 150 самцах мышей линии СВА с использованием большого набора специальных фармакологических средств в качестве анализаторов, а также набора тестов *in vitro*), их корректная статистическая обработка, четкое представление в виде рисунков, таблиц и обстоятельного описания, а также достаточный анализ позволяет квалифицировать результаты диссертационной работы как достоверные, а основные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации как вполне обоснованные.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Диссертант описывает в работе оригинальные данные, начиная с синтеза новых N-замещенных производных хиназолина с азотсодержащими функциональными группами до их обстоятельного комплексного иммунофармакологического исследования в условиях *in vitro* и *in vivo* при разной экспериментальной патологии иммунной системы, вызванной введением липополисахарида (воспалительный ответ в клеточных культурах, системный воспалительный ответ, острое повреждение легких, иммуносупрессия, вызванная цитостатиками). Результатом стало доказательство иммуномодулирующей активности исследуемых соединений, а также вскрытие механизма их действия, состоящего в снижении продукции «ключевых» цитокинов воспаления ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α и активности iNOS, нормализации показателей неспецифической резистентности, гуморального и клеточного иммунного ответа при иммуносупрессии.

Рецензируемая работа может быть квалифицирована как доказательное обстоятельное исследование в области фундаментальной и клинической фармакологии, а также медико-биологической науки в целом.

Значимость для науки и практической деятельности полученных соискателем результатов. Теоретическое значение диссертационной работы А.В. Борисова следует оценить как высокое, поскольку она изначально является фундаментальной по направленности. Кроме этого, работа ориентирована на практическую применимость результатов. В частности, автором получены данные об иммуномодулирующей активности производных хиназолина с азотсодержащими функциональными группами в условиях экспериментальной патологии. Выявленные механизмы иммуномодулирующего действия и возможности коррекции иммунного ответа под влиянием исследуемых соединений предполагают их дальнейшую разработку и последующее внедрение в практику здравоохранения. Приоритетность исследования подтверждается их выполнением в рамках Соглашения о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий в соответствии с пунктом 4 статьи 78.1 Бюджетного кодекса Российской Федерации, г. Москва, «1» октября 2020 г. № 075-15-2020-777.

Полученные данные следует рассматривать как новые, имеющие важное теоретическое и практическое значение для фармакологии, клинической фармакологии, иммунологии и общемедицинской практики.

Структура и содержание работы. Работа изложена на 190 страницах машинописи, иллюстрирована 18 рисунками и 18 таблицами. Построение диссертации традиционное и соответствует ГОСТу РФ. Диссертация включает введение (С.7-18), обзор литературы (глава 1, С.19-41), главу материалов и методов исследований (глава 2, С.42-78), 4 глав собственных исследований (главы 3-6, С.79-138), обсуждение полученных результатов (глава 7, С.139-148), выводы (С.149-150), практические рекомендации (С.161), перечень сокращений (С.162-163), список использованной литературы (С.164-190). Литературный указатель содержит 252 ссылки (45 отечественных и 207 иностранных) на работы, опубликованные в основном за последние 10 лет. Диссертация написана хорошим литературным языком и легко читается.

В обзоре литературы (глава 1) представлены данные отечественных и зарубежных литературных источников, раскрывающие понятие иммуномодуляции, физиологические и патофизиологические механизмы действия иммуномодулирующих средств, фармакологические подходы к созданию новых иммуномодуляторов.

В главе 2 «Материалы и методы» изложены ход эксперимента, представлен дизайн исследования, методы с их подробным описанием, оборудование, на котором выполнялись эксперименты, и статистический аппарат, использованный для обработки первичных данных.

Главы 3-6 объединяют результаты собственных исследований автора, включая поиск соединений, обладающих иммуностропной активностью, среди N-замещенных производных хиназолина с азотсодержащими заместителями в условиях *in vitro* (глава 3, С.79-97), влияние ВМА-13-15 и ВМА-21-10 на состояние иммунной системы животных в условиях липополисахарид-индуцированной патологии (глава 4, С.98-113), влияние соединения ВМА-21-10 на воспалительный процесс при липополисахарид-индуцированном остром повреждении легких (глава 5, С.114-127), иммуномодулирующее действие соединения ВМА-13-15 в условиях иммуносупрессии, вызванной циклофосфамидом (глава 6, С.128-138).

Глава 7 представляет собой обобщение и обсуждение полученных результатов, сравнение их с литературными данными, анализ итогов выполненного исследования, рекомендации и описание перспектив дальнейшей разработки темы.

Полученные данные корректно обработаны с применением современных методов статистики. Использованные статистические методы позволяют адекватно оценивать полученные результаты.

По теме диссертации опубликовано 7 научных работ, включая 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК (2 из списка Web of Science и Scopus), и 4 работы в сборниках научных публикаций и тезисов. Публикации в целом отражают основные результаты, полученные в диссертационной работе.

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

Диссертация содержит 7 выводов и 3 положения практических рекомендаций. Все выводы обоснованы и логично вытекают из основного содержания диссертации. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключений соискателя следует признать высокой, что обеспечивается как количественной стороной изученного материала, так и качеством его обработки.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы. Результаты исследований А.В. Борисова могут быть полезны для научно-исследовательских работ, проводимых в Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова МО РФ (Санкт-Петербург),

Институте медико-биологических проблем РАН, НИИ фармакологии им. В.В. Закусова (Москва), НИИИ военной медицины МО РФ (Москва, Санкт-Петербург), Санкт-Петербургском государственном химико-фармацевтическом университете МЗ РФ (Санкт-Петербург), учреждениях Российской академии наук, Министерства здравоохранения РФ, Министерства науки и высшего образования РФ.

Замечания к работе. Принципиальных замечаний и возражений по диссертационной работе нет. Вместе с тем, в ходе рецензирования диссертационной работы возникли следующие вопросы и некоторые спорные моменты, требующие дополнительного пояснения и уточнения:

1. В обзоре литературы (С.19-20) автор описывает основные виды иммуотропного действия лекарственных средств как модулирующее, корригирующее, стимулирующее и депрессивное. В выводах (С.159-160) дается их характеристика как иммуномодулирующих (выводы 1 и 5), иммунокорригирующих (вывод 7) и противовоспалительных (выводы 2 и 6). Вопрос: по мнению автора, коррелирует ли иммуномодулирующее и противовоспалительное действие исследованных соединений? Если это положительная корреляция, на чем это основано (какие механизмы лежат в основе данного эффекта)?

2. Пункт 3 практических рекомендаций перекликается с требованиями «Руководства по доклиническому исследованию лекарственных средств» при изучении иммуномодулирующих средств.

3. При оценке влияния фармакологических веществ на ядро-содержащие клетки крови, тимуса и селезенки часто используют прием подсчета числа микроядер в клетке как показатель кариостабильности генома. Планирует ли диссертант в дальнейшем вводить данный показатель в число предпочтительных, а может быть обязательных (?) методов изучения иммунного ответа?

4. Имеются небольшие замечания по оформлению диссертации, некоторая избыточность представления материала и литературных ссылок, отдельное дублирование фактологического материала в таблицах и рисунках.

В целом, работа производит весьма благоприятное впечатление, как по сути, так и по оформлению.

Все приведенные вопросы и замечания не затрагивают существа работы и сформулированы в плане дискуссии.

Заключение. Диссертация Борисова Александра Владимировича на тему: «Иммуномодулирующая активность *N*-замещенных производных

хиназолина с азотсодержащими функциональными группами в условиях экспериментальной патологии», выполненная под научным руководством члена-корреспондента РАН, доктора медицинских наук профессора И.Н. Тюренкова и представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, является законченной, самостоятельно выполненной научной квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи в области фундаментальной и клинической фармакологии, состоящей в изучении новых производных хиназолина в качестве иммуномодулирующих средств, что имеет большое значение для фармакологии и клинической фармакологии, а также медицины в целом. Работа полностью соответствует паспорту специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (п. 3 «Исследование механизмов действия фармакологических веществ в экспериментах на животных, на изолированных органах и тканях, а также на культурах клеток» и п.4 «Исследование взаимодействий между организмом и лекарственными средствами, изучение их фармакодинамики, фармакокинетики и метаболизма. Установление связей между дозами, концентрациями и эффективностью лекарственных средств. Экстраполяция фармакологических параметров с биологических моделей на человека»). Научная новизна и практическая значимость результатов исследования позволяют утверждать, что данное исследование соответствует п.9 Положения ВАК Министерства образования РФ, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (редакция от 21.04.2016 г. №335 и от 20.03.2021 г. №426) о порядке присуждения ученых степеней на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор, Борисов Александр Владимирович, по своей эрудиции, научному и практическому опыту достоин присуждения искомой степени.

Отзыв на диссертацию обсужден и утвержден на научном заседании отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», протокол №10 от 18.10.2022 г.

Заведующий отделом нейрофармакологии им. С.В. Аничкова
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»

доктор медицинских наук профессор

Петр Дмитриевич Шабанов

Тел. 8-921-900-1951, e-mail: pdshabanov@mail.ru,

197022 Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12

18 октября 2022 года

Подпись *Шабанов*
Удостоверяется
Нач. отдела кадров ФГБНУ «ИЭМ»



Шабанов ПД

В диссертационный совет 21.02.005.02
 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский
 университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
 (400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д.1)

СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

предоставившей отзыв на диссертационную работу Борисова
 Александра Владимировича «Иммуномодулирующая активность *N*-замещенных
 производных хиназолина с азотсодержащими функциональными группами в
 условиях экспериментальной патологии» на соискание ученой степени
 кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6 – Фармакология,
 клиническая фармакология

Полное название организации	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования РФ
Сокращенное наименование организации в соответствии с Уставом	ФГБНУ «ИЭМ»
Руководитель организации	Дмитриев Александр Валентинович, доктор биологических наук, профессор РАН
Место нахождения организации	г. Санкт-Петербург
Почтовый адрес	197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12
Телефон	8 (812) 234-68-68
Адрес электронной почты	iem@iemspb.ru
Адрес официального сайта в сети «Интернет»	https://iemspb.ru/
Сведения о лице, утвердившем отзыв ведущей организации	Шамова Ольга Валерьевна, член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, заместитель директора ФГБНУ «ИЭМ» по научной работе
Сведения о лице, составившем отзыв ведущей организации	Шабанов Петр Дмитриевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом нейрофармакологии имени академика РАМН С.В. Аничкова
Список основных публикаций работников	1. Мокренко Е.В., Вязьмин А.Я., Шабанов П.Д., Сусликова М.И., Мокренко М.Е., Губина М.И. Цитокиновый профиль крови крыс при экспериментальном пародонтите и действии

ведущей организации по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (перечень согласно ГОСТу)	иммуномодуляторов // Современные проблемы науки и образования. – 2020. – № 6. – С. 179. 2. Mokrenko E.V., Shabanov P.D. Cytokine profile of rat blood serum during experimental bronchopulmonary inflammation and immunomodulator administration // Medical Academic Journal. – 2019. – Т. 19, № 5. – С. 217-219. 3. Мокренко Е.В., Шабанов П.Д. Цитокины крови крыс при экспериментальном простатите и действии иммуномодуляторов // Медицинский академический журнал. – 2019. – Т. 19, № 5. – С. 226-227. 4. Darenskaya M.A., Mokrenko E.V., Shabanov P.D., Suslikova M.I., Kostritsky I.Yu., Goncharov I.S., Mokrenko M.E., Kostritsky E.I., Sinyova Yu.O., Kolesnikova L.I., Kolesnikov S.I. Cytokine profile and its correction by immunomodulators in experimental bronchopulmonary inflammation in rats // International Journal of Biomedicine. – 2019. – Т. 9, № 4. – С. 361-365. 5. Зарубина И.В., Мокренко Е.В., Шабанов П.Д. Оценка метаболических и противовоспалительных эффектов иммуномодуляторов трекрезана и полиоксидония при экспериментальном простатите и гиперплазии предстательной железы у крыс // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81, № 5. – С. 90. 6. Мокренко Е.В., Шабанов П.Д. Изменение цитокинового профиля сыворотки крови крыс при моделировании бронхолегочного воспаления и введении иммуномодуляторов // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2018. – Т. 154, № 3. – С. 18-21. 7. Зарубина И.В., Мокренко Е.В., Болехан А.В., Шабанов П.Д. Бронхолегочное воспаление как объект воздействия иммуномодуляторов разной химической структуры // Клиническая патофизиология. – 2018. – Т. 24, № 2. – С. 70-77.
--	--

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины» подтверждает, что соискатель Борисов Александр Владимирович не является его сотрудником и не имеет научных работ по теме диссертации, подготовленных на базе вышеупомянутой организации или в соавторстве с ее сотрудниками.

Директор ФГБНУ «ИЭМ»

доктор биологических наук профессор РАН

А.В. Дмитриев

«23» августа 2022 г.





МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ»
(ФГБНУ «ИЭМ»)

ул. Академика Павлова, 12, Санкт-Петербург, 197376

тел.: +7 (812) 234-6868; факс: +7 (812) 234-9489; e-mail: iem@iemspb.ru; https://iemspb.ru

ОКПО 01897179 ОГРН 1037828000198 ИНН/КПП 7813045787/781301001

23.08.2022 № 424-1/2-457

на № _____ от _____

Председателю Диссертационного
Совета 21.2.005.02 при
ФГБОУ ВО «Волгоградский
государственный медицинский
университет» Министерства
здравоохранения РФ
академику РАН В.И. Петрову

Глубокоуважаемый Владимир Иванович!

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины» дает согласие быть ведущей организацией и предоставить отзыв по диссертации Борисова Александра Владимировича на тему: «Иммуномодулирующая активность N-замещенных производных хиназолина с азотсодержащими функциональными группами в условиях экспериментальной патологии», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология.

Отзыв будет подготовлен в соответствии с требованиями п. 24 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года №842 и направлен в диссертационный совет 21.2.005.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России в установленные сроки.

Директор ФГБНУ «ИЭМ»
доктор биологических наук профессор РАН

А.В. Дмитриев

