

## ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию Церковниковой Натальи Андреевны

«Синтез и исследование фармакологической активности

ингибиторов фактора Ха»

на соискание ученой степени

кандидата химических наук

по специальности 1.4.16 – «Медицинская химия»

### **Актуальность темы диссертации и научная новизна полученных результатов.**

В последние десятилетия, по данным Всемирной организации здравоохранения, сердечно-сосудистые заболевания, включая инфаркт миокарда, инсульт головного мозга, тромбозы и тромбоэмболии различной этиологии, являются основной причиной смертности. Для лечения и профилактики таких состояний показано использование антикоагулянтов - препаратов, которые блокируют полимеризацию фибрина и тем самым препятствуют формированию тромба. В связи с пандемией, вызванной вирусом SARS-COV-2, использование антикоагулянтов возросло многократно, поскольку именно эти препараты, как показывают многие заслуживающие доверия исследования, облегчают протекание заболевания. В настоящее время на рынке антикоагулянтов уже имеется ряд лекарственных средств, различающихся механизмом действия, способом введения и побочными действиями. Именно наличие побочных эффектов, таких как кровотечения, тромбоцитопения и другие, заставляет вести поиск новых безопасных антикоагулянтов.

В связи с этим, кандидатская диссертация Н.А. Церковниковой, посвященная мишень-направленному поиску новых антикоагулянтов на основе производных мочевины и амидинов, представляется весьма актуальным исследованием. В качестве мишени был выбран фактор Ха – фермент, который в каскаде коагуляции запускает превращение протромбина в тромбин, а тот, в свою очередь, катализирует полимеризацию фибриногена в фибрин. За основу было взято соединение DD217 – производное бензамидина, для которого ранее была показана значимая анти-Ха-активность. С использованием метода компьютерного моделирования (докинга) было предсказано еще 263 структуры – потенциальных ингибиторов фактора Ха. Из них впервые были получены 18 и охарактеризованы современными физико-химическими методами (ЯМР-спектроскопия и масс-спектрометрия). Кроме того, был предсказан метаболит DD217 и синтезирован для исследования. Все полученные соединения, включая DD217, были изучены в экспериментах *in vitro*. На основании оценки анти-Ха-активности и Протромбинового

времени были отобраны 7 производных DD217, которые были изучены в экспериментах *in vivo*. Полученные результаты свидетельствовали, что наиболее перспективным соединением для дальнейших исследований является производное бензамидина DD217. Далее была изучена активность DD217 в сравнении с фармпрепаратом Ривароксабан в экспериментах с плазмой крыс, обезьян и человека. В последнем случае активность DD217 превышала таковую для Ривароксабана. На финальном этапе был изучен ряд фармакодинамических параметров для DD217 при внутрижелудочном введении у крыс. Показаны сопоставимые величины МНО для DD217 и Ривароксабана в концентрации 15 мг/кг. Кроме того, на модели венозного тромба у крыс показан дозозависимый эффект для DD217: при увеличении концентрации от 0 до 50 мг/кг объем тромба уменьшается с  $4,8 \pm 1,6$  мм<sup>3</sup> до  $0,2 \pm 0,16$  мм<sup>3</sup>. Таким образом, автором впервые было проведено комплексное исследование ряда производных мочевины и амидинов, включающее теоретические расчеты, синтез и исследование антикоагулянтной активности в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Найдено соединение DD217, перспективное для дальнейших доклинических и клинических испытаний.

#### **Достоверность и обоснованность полученных результатов и выводов.**

Исследование проведено с применением современных методов синтеза, выделения, очистки и характеристики гетероциклических соединений, включая спектроскопию <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР и масс-спектрометрию. Биологические эксперименты были выполнены с использованием современных тест-систем в многократных повторах с вычислением требуемых статистических величин.

**Структура и объем работы.** Диссертационная работа содержит следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Обсуждение результатов» «Материалы и методы», «Экспериментальная часть», «Выводы», «Список литературы» и «Приложения». Диссертация изложена на 161 странице, содержит 18 таблиц и 58 рисунков, список литературы включает 175 источников.

Во «Введении» автор обосновывает актуальность работы и формулирует задачи исследования. Обзор литературы, состоящий из 15 разделов, посвящен современным антикоагулянтам различной природы (для каждого типа соединений – свой раздел). В целом, обзор литературы, представленный в диссертации, дает полную и исчерпывающую информацию по теме исследований, подчёркивает актуальность и новизну темы диссертационной работы. В разделе «Обсуждение результатов» автор последовательно излагает проведенные исследования: расчеты, синтез, биологические эксперименты. Полученные результаты наглядно представлены в таблицах и отображены на рисунках. В разделах «Материалы и методы» и «Экспериментальная часть» описаны

экспериментальные подробности проведенных работ. В разделе «Выводы» автор суммирует главные результаты, полученные в ходе работы.

В целом, можно заключить, что проведенное исследование с использованием разнообразных методов и методик характеризуется последовательностью и помогает понять механизм действия новых соединений. Представленные выводы конкретны, аргументированы и отражают полученные экспериментальные данные.

#### **Замечания и вопросы:**

1. На Рисунке 12 пропущена стадия восстановления нитропроизводного до соответствующего амина, хотя в Экспериментальной части этот этап синтеза описан подробно. Кроме того, в «Обсуждении результатов» не указаны выходы полученных соединений.
2. В тексте диссертации (с. 47) не указаны количественные критерии, по которым соединение DD217 было выбрано, как наиболее активное по итогам экспериментов *in vivo*. Отсутствие в Таблице 3 величин статистических отклонений для полученных результатов затрудняет оценку указанных значений.
3. Было бы желательно включить в Таблицы 2 и 3 данные для Ривароксабана, поскольку именно этот фармпрепарат используется в дальнейших экспериментах в качестве сравнения.
4. Влияет ли концентрация антитромбина III (природного ингибитора фактора Ха в плазме) на ингибирующую активность исследованных соединений?
5. В экспериментальной части не приведены расчетные величины молекулярных ионов.

#### **Заключение**

Автореферат и приведенные в нем публикации полностью отражают основное содержание диссертационной работы. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Считаю, что диссертационная работа «Синтез и исследование фармакологической активности ингибиторов фактора Ха» соответствует требованиям, установленным пунктами 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 в действующей редакции), а ее автор, Наталья Андреевна Церковникова заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.16 — медицинская химия.

Официальный оппонент:  
Кандидат химических наук  
Старший научный сотрудник  
Лаборатории химии гликоконъюгатов  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Института органической химии им. Н.Д. Зелинского  
Российской академии наук (ИОХ РАН)

Устюжанина Надежда Евгеньевна

15 ноября 2021 года

Ленинский проспект, д. 47, Москва, 119991

(499)135-6433

[ustnad@gmail.com](mailto:ustnad@gmail.com)

Специальность 02.00.03

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского

Российской академии наук (ИОХ РАН)

«Подпись сотрудника удостоверяю»

Ученый секретарь ФГБУН ИОХ РАН

кандидат химических наук



Коршевец И.К.