

## ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертацию Гуровой Наталии Алексеевны «Производные бензимидазолов - новый класс кардиопротекторных средств», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук в диссертационный совет Д.208.008.02 при Волгоградском государственном медицинском университете по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология**

### **Актуальность**

Несмотря на достижения фармакологии в лечении сердечно-сосудистых заболеваний, поиск препаратов с кардиопротекторной активностью продолжает оставаться социально значимой проблемой, так как имеющиеся в распоряжении клиницистов лекарственные средства не всегда отличаются достаточно высокой эффективностью [Оганов, 2012; Баланова, 2013; Скворцова, 2013; Шляхто, 2012]. В особенности, это касается процессов ремоделирования миокарда, так как её роль в становлении, развитии и прогрессировании сердечно-сосудистых заболеваний хорошо известна [Сонин, 2009, 2010; Харченко, 2012; Моисеев, 2012].

Этим определяется целесообразность проведения направленного поиска средств, воздействующих на процессы ремоделирования сердца. Интерес в этом аспекте представляют производные бензимидазолов, среди которых выявлены соединения, способные стабилизировать работу сердца в условиях гипоксии и снижать агрегацию тромбоцитов [Спасов, 1984, 2002, 2012; Науменко, 2012; Кучерявенко, 2013; Черников, 2013; Cui, 2002], ингибирующие натрий-водородный обменник 1 изоформы (NHE-1) [Zhang, 2007], проявляющие признаки высокого сродства к ионным каналам [Анисимова, 2009; Галенко-Ярошевский, 2009; Поротиков, 1979, 1982], обладающие антиаритмическими [Спасов, 1999; Петров, 2003; Каверина, 2004; Турилова, 2010] и инотропными [Анисимова, 1987; Ватолкина, 1984, 1992; Gordon, 2006; Endoh, 2008; Rao, 2009; Boswood, 2010] свойствами.

В соответствии с вышеизложенным, актуальность диссертационного исследования Гуровой Наталии Алексеевны, посвященного проблеме направленного поиска веществ, оказывающих кардиопротекторное (ремоделирующее) действие, среди новых производных конденсированных и неконденсированных бензимидазолов, обладающих NHE-1-ингибирующими, антифосфодиэстеразными свойствами и блокирующих трансмембранные ионные токи, не вызывает сомнений.

### **Научная новизна исследования**

Автором впервые проведен прогноз *in silico* перспективности поиска веществ с кардиопротекторной активностью среди конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола. Для 1393 соединений такой анализ проведен в первоначально системе PASS на наличие 19 видов биологической активности - антиаритмической, противоишемической, кардиотонической, а в дальнейшем - с помощью информационной

технологии «Микрокосм» методом сходства к эталонам, с расчетом модифицированного коэффициента сходства по Танимото. Проведен многоэтапный итеративный виртуальный и экспериментальный скрининг 468 соединений по влиянию на рефрактерность миокарда, у 59 соединений - NHE-1-ингибирующего действия, 60 соединений - на наличие антифосфодиэстеразной активности. Итогом этих исследований явилось создание современной иерархической системы целенаправленного поиска новых эффективных противоишемических, антиаритмических и кардиотонических соединений с заданным механизмом действия. Наиболее перспективными для поиска соединений с NHE-ингибирующей активностью являются 2-аминобензимидазол, содержащие в положениях N<sup>1</sup> морфолиноэтильный значимый заместитель.

Определены некоторые общие закономерности между химическим строением производных бензимидазола и кардиопротекторной активностью в совокупности с изученной антиаритмической, противоишемической, кардиотонической активностью, построен интегральный системный скаффолд, детерминирующий высокий уровень кардиопротекторной активности. Выявлены потенциальные 2D-фармакофоры соединений, обладающих, в том числе, кардиопротекторной активностью, которые являются фрагментами интегрального скаффолда и могут быть ответственными за взаимодействие с биомишенями.

Впервые на моделях коронарогенного и некоронарогенного повреждения миокарда *in vivo* были получены данные об антиремоделлирующих свойствах соединений-лидеров: ингибиторов NHE-1 вещества РУ-1355 в сравнении с зонипоридом, антифибрилляторных веществ амфедазола с амиодароном, ингибиторов фосфодиэстеразы соединения РУ-539 и амринона. Оценены возможные кардиальные и экстракардиальные побочные эффекты в эффективных дозах, а также острая токсичность высокоактивных соединений РУ-1355, амфедазола, РУ-539.

### **Научно-практическая значимость исследования**

В результате поиска новых веществ среди конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола сформирована база данных соединений, ингибирующих NHE-1, влияющих на рефрактерность изолированных предсердий крыс и сократительную активность изолированных предсердий крыс у соединений с антифосфодиэстеразной активностью.

Установленные *in silico* значимые признаки высокого уровня NHE-ингибирующего и антифибрилляторного эффектов, построенный интегральный скаффолд и найденные возможные 2D-фармакофоры, могут быть использованы для направленного синтеза и изучения новых кардиотропных веществ, обладающих высокой кардиопротекторной активностью.

Результаты расширенных фармакологических исследований *in vivo* подтвердили выраженные антиремоделлирующие (противоишемические, антифибрилляторные и инотропные) свойства соединения РУ-1355 с выраженной NHE-ингибирующей активностью, амфедазола, проявляющего свойства антиаритмического вещества III класса, соединения РУ-539 с антифосфодиэстеразной активностью, и свидетельствуют о необходимости проведения расширенных доклинических исследований.

## **Достоверность и обоснованность основных положений и выводов диссертационной работы**

Высокой оценки заслуживают использованные в диссертационной работе современные высокоинформативные методы исследования *in silico*, *in vitro* и *in vivo* кардиопротекторной активности производных бензимидазола, которые соответствуют методическим рекомендациям по доклиническому изучению лекарственных средств. Высокая степень достоверности научных положений, выводов и рекомендаций по полученным результатам подтверждается достаточным объемом экспериментальных исследований с использованием высокотехнологического оборудования и специфических маркеров, а также параметрических и непараметрических критериев статистической обработки данных.

## **Общая оценка содержания и оформления диссертации**

Диссертационная работа изложена на 277 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 34 рисунками, 40 таблицами. Оформлена в соответствии с существующими требованиями и состоит из введения, обзора литературы (глава I), экспериментальной части (главы II-VI), обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 480 источников, в том числе 272 зарубежных, и приложений. Раздел "материалы и методы" выделен к каждой главе, что облегчает прочтение работы.

Введение содержит обоснование актуальности темы диссертационного исследования и степень научной разработанности проблемы, четкие цель и задачи, научную новизну, теоретическую и практическую значимость, методологию и методы, реализацию результатов исследования, положения, выносимые на защиту, степень достоверности, апробацию результатов и личный вклад автора.

В первой главе, где автор демонстрирует хорошие знания современного состояния изучаемой проблемы, содержится подробный анализ данных, подтверждающий перспективность производных бензимидазола для поиска кардиопротекторных средств. Обсуждается потенциал биологической, в том числе кардиотропной, активности привилегированной подструктуры бензимидазола. Дается подробный анализ особенностей современных представлений об кардиопротекторной активности. Рассматриваются наличие антиоксидантной, метаботропной, гемореологической активностей и антитромбогенного потенциала, прямые и косвенные признаки высокого сродства к ионным каналам, трансмембранным ионным обменникам, позволяющие предположить антире моделирующие (противоишемические, антиаритмические и антифибрилляторные, инотропные) свойства. При этом автором было убедительно показано, что недостаточная эффективность кардиотропных средств продиктовала необходимость направленного поиска среди производных бензимидазола соединений, влияющих ионное, электрофизиологическое, гемодинамическое и морфологическое ремоделирование, с последующим экспериментальным изучением фармакологического потенциала.

Во 2-й главе описаны результаты поиска веществ, влияющих на рефрактерность изолированных предсердий, обладающих NHE-1-ингибирующей и инотропной активностями среди производных бензимидазолов с использованием разработанной автором иерархической системы, включающей исследования *in silico*, *in vitro* и *in vivo*. Для прогнозирования вероятности наличия биологической активности и поиска возможных 2D фармакофоров автор применил современные технологии *in silico* PASS Professional Extended 2010, ИТ «Микрокосм» с использованием баз данных по структуре известных лекарственных и биологически активных веществ, кроме того кластерный анализ, методы подструктурного анализа, медианных и супремальных, а также средних ранговых оценок уровней активности. Результатом исследований *in silico* и *in vitro* явилось выявление соединений-лидеров максимально соответствующих как по вычислительным, так и по экспериментальным оценкам «обобщенному образу» активного соединения и превосходящих препараты сравнения: соединения РУ-1355 с NHE-1-ингибирующей активностью, амфедазола, влияющего на рефрактерность миокарда и соединения РУ-539, обладающего инотропной активностью среди ингибиторов фосфодиэстеразы.

В 3-й главе изучены антиремоделирующие свойства нового ингибитора NHE-1 - соединения РУ-1355. В исследованиях на различных моделях ишемического и неишемического повреждения миокарда с использованием электрофизиологических, биохимических, гемодинамических, морфометрических методов автором было подтверждено влияние соединения РУ-1355 на процессы ионного, электрофизиологического, гемодинамического и морфологического ремоделирования сердца. При этом изучаемое вещество по совокупности эффектов превосходило селективный ингибитор NHE-1 зонипорид.

В 4-й главе представлены данные об антиремоделирующих свойствах нового антиаритмического вещества 3 класса - амфедазола. На различных экспериментальных моделях нарушений ритма ишемического и неишемического генеза было подтверждено влияние амфедазола на процессы электрофизиологического ремоделирования миокарда. При этом изучаемое вещество по совокупности эффектов не уступало известному антиаритмику 3 класса амиодарону.

В 5-й главе приведены результаты изучения антиремоделирующей активности ингибитора фосфодиэстеразы с инотропной активностью соединения РУ-539. В исследованиях на экспериментальной модели некоронарогенного некроза миокарда с использованием гемодинамических тестов автором было подтверждено протекторное влияние данного соединения на сократительную активность миокарда и сохранность функциональных резервов, то есть на процессы гемодинамического ремоделирования сердца. При этом изучаемое вещество по совокупности эффектов не уступало известному селективному ингибитору фосфодиэстеразы амринону.

В 6 главе представлены результаты исследования кардиальных и некоторых экстракардиальных побочных эффектов соединений-лидеров в эффективных дозах и кардиодепрессивных, аритмогенных и экстракардиальных свойств выявлено не было. В соответствии с классификацией токсичности веществ по И.В.Березовской исследуемые

производные бензимидазола - соединения РУ-1355, амфедазол, РУ-539 -могут быть отнесены к 3 классу умеренно токсичных.

Далее следует детальное обсуждение полученных результатов, их сопоставление с современными литературными данными, рассматриваются перспективы дальнейшего поиска веществ с кардиопротекторной (антиремоделирующей) активностью, в том числе и с критических позиций. Практические рекомендации обоснованы, информативны и оставляют хорошее впечатление.

Основные выводы диссертации соответствуют цели и поставленным задачам. Все задачи решены, выводы обоснованы, логически вытекают из представленного материала и дают основание для практических рекомендаций.

Автореферат оформлен в соответствии с современными требованиями и отображает основные положения диссертации.

По материалам диссертации опубликовано 47 печатных работ, отражающих основные положения диссертации, в том числе 19 статей, из которых 16 - в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, получено 6 патентов на изобретения.

Принципиальных замечаний по работе нет. Однако при ознакомлении с диссертацией возникло одно замечание и вопрос. Замечание касается вывода №10, где Вы приводите данные об острой токсичности исследованных соединений. Мне кажется, что этот вывод можно было исключить, а данные представить в пунктах, посвященных конкретным соединениям. Что касается вопроса, то он заключается в следующем: с чем Вы связываете тот факт, что при сравнении активности соединения РУ-1355 и зонипорида *in vitro* эффект соединения РУ-1355 значительно превосходит препарат сравнение на 2 порядка, тогда как в исследованиях *in vivo* это преимущество менее значимо и не всегда достоверно?

Высказанное замечание касается формы изложения материала и не может повлиять на общую положительную оценку диссертационной работы.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, диссертационная работа Гуровой Наталии Алексеевны на тему: "Производные бензимидазолов - новый класс кардиопротекторных средств", представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение – оптимизация изыскания и изучения новых кардиопротекторных веществ среди конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола, имеющее существенное значение для фармакологии и клинической фармакологии.

По актуальности темы, методическому подходу к решению поставленных задач, новизне полученных результатов и их научно-практической значимости диссертация Т.А.Гуровой полностью удовлетворяет всем требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ от

24.09.2013 № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук. Работа соответствует специальности 14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент:

Заведующий лабораторией фармакологии  
цереброваскулярных расстройств  
ФГБНУ «НИИ фармакологии  
имени В.В. Закусова»,  
З.д.н. РФ, д.м.н., профессор

Р.С. Мирзоян

Подпись Р.С. Мирзояна заверяю:

Ученый секретарь ФГБНУ «НИИ фармакологии  
имени В.В. Закусова»,  
к.б.н.

В.А. Крайнева

125315 г. Москва, ул. Балтийская, 8  
тел. (495)601-24-19, (499) 151-18-81  
Адрес электронной почты:  
zakusovpharm@mail.ru  
cerebropharm@mail.ru

### **Публикации, близкие по тематике диссертационного исследования**

1. ГАМК-ергический компонент в механизме цереброваскулярного противоишемического эффекта докозагексаеновой кислоты // Мирзоян Р.С., Ганьшина Т.С., Гнездилова А.В., Ковалёв Г.И., Фирстова Ю.Ю., Безуглов В.В., Грецкая Н.М. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015. Т. 78. № 1. С. 16-20.
2. Различие в цереброваскулярных и противоишемических эффектах дофамина, докозагексаеноилдофамина и конъюгата ГАМК с докозагексаеноилдофамином // Р.С.Мирзоян, Т.С.Ганьшина, А.В.Топчян, Н.А.Хайлов, И.Н.Курдюмов, Г.И.Ковалёв, И.А.Зимин, Ю.Ю.Фирстова, Е.В.Васильева, Н.М.Грецкая, В.В.Безуглов // Хим. фарм. журнал, 2015, т.49 №10, с.19-24.
3. Сравнительное изучение влияния S-амлодипина никотината и амлодипина безилата на артериальное давление бодрствующих крыс / Ганьшина Т.С., Ким Г.А., Гнездилова А.В., Горбунов А.А., Мирзоян Р.С. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2014. Т. 77. № 8. С. 20-22.