

## ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертацию Гуровой Наталии Алексеевны «Производные бензимидазолов - новый класс кардиопротекторных средств», представленной 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

Сердечно-сосудистые заболевания являются одной из основных причин инвалидизации и смертности больных. Среди общей смертности в России они составляют 57%. Согласно современным рекомендациям российского кардиологического общества по кардиоваскулярной профилактике (2011) и рекомендациям ESC (2013) фармакологическая защита миокарда является неотъемлемой частью лечения патологии сердечно-сосудистой системы.

Теория так называемых «привилегированных» подструктур рассматривается многими учеными как оптимальный подход к созданию новых лекарственных препаратов. Подобные структуры представляют класс молекул, способных к взаимодействию с высоким сродством со многими биологическими мишенями и при модификации их свойства сохраняются. К таким молекулам относятся бензимидазолы, о чем свидетельствует широкий спектр проявляемой биологической активности, в том числе значительный процент высокоэффективных кардиотропных соединений.

Представленная диссертационная работа Н.А. Гуровой посвящена проблеме направленного поиска веществ, оказывающих кардиопротекторное (ремоделирующее) действие, среди новых производных конденсированных и неконденсированных бензимидазолов, обладающих NHE-1-ингибирующими, антифосфодиэстеразными свойствами и блокирующими трансмембранные ионные токи с использованием методов фармакологии и медицинской химии, что позволило перевести направленный поиск новых биологически активных соединений на качественно новый уровень системного поиска.

Учитывая вышеизложенное, диссертационная работа Гуровой Наталии Алексеевны на тему «Производные бензимидазолов - новый класс кардиопротекторных средств» представляется несомненно актуальной.

### **Научная новизна исследования**

Новизна исследования не вызывает сомнений. Автором был разработан качественно новый подход к проведению системного направленного поиска новых биологически активных кардиопротекторных соединений с противоишемическими, антифибрилляторными и кардиотоническими свойствами.

С помощью информационных технологических систем PASS и ИТ Микрокосм по сходству к референсным препаратам впервые была подтверждена перспективность изучения у ряда конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола кардиопротекторных свойств.

В результате поиска высокоактивных соединений, влияющих на рефрактерность (способность увеличивать продолжительность рефрактерного периода), ингибиторов NHE-1, кардиотонических соединений с антифосфодиэстеразной активностью было изучено 540 производных бензимидазола 12 классов.

В ходе проведения детального подструктурного анализа *in silico* влияния базовой структуры и ролей заместителей на уровни противоишемической и антифибрилляторной активностей различных классов производных бензимидазолов действительно были выявлены статистически значимые признаки, определяющие "очень высокий" уровень антиаритмической активности (способность увеличивать продолжительность рефрактерного периода), а именно производные N<sup>9</sup>-имидазобензимидазола и N<sup>1</sup>-имидазобензимидазола, содержащих в положении C<sup>2</sup> - фенил и в положении N<sup>1</sup> или N<sup>9</sup> - диэтиламиноэтильный радикал; и высокий уровень NHE-ингибирующей активности у производных 2-аминобензимидазола, наличие у них в положении N<sup>1</sup> морфолиноэтила.

На основании выявленных закономерностей между биологической активностью - наличием влияния на рефрактерность миокарда, NHE-1-ингибирующей и

антифосфодиэстеразной активностей каждой в отдельности, и химической структурой изучаемых соединений был построен уникальный интегральный скаффолд, определяющий высокий уровень кардиопротекторной активности и выявлены потенциальные 2D-фармакофоры, которые могут быть ответственными за взаимодействие соединений с биомишенями.

Таким образом, впервые была построена и апробирована иерархическая система целенаправленного поиска *in silico* новых кардиопротекторных соединений с заданным механизмом действия среди производных привилегированной подструктуры бензимидазола - эффективных противоишемических, антиаритмических и кардиотонических корректоров.

Автором впервые были проведены фармакологические исследования *in vivo*, на различных патологических моделях коронарогенного и некоронарогенного повреждения миокарда, в результате которых были детально изучены антиремоделирующие свойства соединений, обладающих наибольшей биологической активностью. Так, соединение РУ-1355 с выраженной NHE-ингибирующей активностью, продемонстрировало выраженные противоишемические, антифибрилляторные и антифибротические свойства; у амфедазола выявлены антифибрилляторные и противоишемические эффекты; а инотропное соединение РУ-539 с антифосфодиэстеразной активностью способствовало повышению сократительной активности и функциональных резервов миокарда.

Выявленные Гуровой Н.А. вещества с широким спектром кардиотропной активности бесспорно являются перспективными в плане дальнейшего изучения и создания на их основе новых лекарственных препаратов, способных усовершенствовать фармакотерапию сердечно-сосудистых заболеваний.

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

Диссертационное исследование Гуровой Н.А. безусловно имеет высокий уровень как научной, так и практической значимости. Несомненным достижением проведённой работы является то, что выявленные закономерности между химической структурой и различными видами фармакологической активности производных

бензимидазола могут использоваться при направленном синтезе новых соединений, ингибирующих NHE-1, влияющих на рефрактерность предсердий и обладающих положительной инотропной активностью. Предложенные автором методические подходы к изучению кардиопротекторной активности, в том числе разработанная система целенаправленного поиска *in silico*, несомненно вносит весомый вклад в развитие направленного поиска веществ с данным видом действия.

Все исследования выполнены на высоком методическом уровне. Полученные диссертантом результаты имеют существенное значение для развития фармакологии сердечно-сосудистых средств и дают основание рассмотреть возможность создания на основе выявленных в ходе работы соединений–лидеров с выраженными антиремоделирующими свойствами: РУ-1355, амфедазол, РУ-539, отечественных кардиопротекторных препаратов.

Результаты диссертационного исследования рекомендуется использовать в таких разделах учебного процесса кафедр фармакологии, как создание новых лекарственных средств, лекарственные препараты, оказывающие влияние на сердечно-сосудистую систему.

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

Высокая степень достоверности полученных результатов и сделанных на их основе выводов и рекомендаций не вызывает сомнений, поскольку автор убедительно аргументирует теоретические заключения данными, полученными в ходе проведения внушительной экспериментальной работы. Эксперименты выполнены на достаточном количестве животных. Одним из ярко выраженных достоинств проведённого исследования является использование автором современных методов изучения фармакологических эффектов, выполненных на высокотехнологичном сертифицированном оборудовании в соответствии с рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств с антиангинальной, кардиотонической и антиаритмической активностью.

Для обработки полученных результатов диссертантом были применены современные методы статистического анализа.

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

Диссертация Гуровой Наталии Алексеевны написана по традиционной схеме и изложена на 277 страницах машинописного текста, иллюстрирована 40 таблицами, 34 рисунками, оформлена в соответствии с требованиями ВАК. Работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части (главы II-VI), обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций и приложений. Список литературы включает 208 отечественных и 272 иностранных источника.

**Во введении** автор аргументирует актуальность выполненного исследования, ясно излагает цель и задачи работы, научную новизну, научно-практическую значимость, приводит данные о методах исследования, внедрении, степени достоверности и апробации результатов исследования, формулирует положения, вынесенные на защиту.

**В первой главе** диссертации, представляющей обзор российских и международных исследований, приведены данные, действительно позволили обосновать целесообразность целенаправленного поиска веществ с антиремоделирующими свойствами среди производных бензимидазола. Подтверждается, что бензимидазол - активное гетероциклическое азотсодержащее соединение - является "привилегированной подструктурой". Описаны биологические свойства конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола. Особое внимание уделено оценке кардиотропных свойств исследуемого класса химических соединений. Подробно рассматриваются современные возможности фармакологической коррекции процессов гемодинамического, морфологического и электрофизиологического ремоделирования миокарда. Продемонстрированы признаки, позволяющие обосновать наличие высокого уровня кардиопротекторной активности у известных производных бензимидазола. Представлены возможные механизмы их действия.

**Во второй главе** приведены результаты поиска *in vitro*, *in vivo* и *in silico* веществ, влияющих на рефрактерность изолированных предсердий, обладающих NHE-1-ингибирующей и инотропной активностями среди производных бензимидазолов. Очевидным достоинством и исключительностью данной работы является использование автором современных технологий PASS и ИТ Микрокосм для прогнозирования вероятности наличия биологической активности, релевантной антиаритмическому, противоишемическому, кардиотоническому действию. Получены данные, позволяющие подтвердить перспективность экспериментального поиска соединений с кардиопротекторной активностью в ряду производных конденсированных и неконденсированных бензимидазолов.

Большое значение имеет выявление закономерностей между уровнем биологической активности и базовыми структурами, а также расположением заместителей в структуре производных бензимидазола, что позволило построить целевые скаффолды.

Результатом кропотливой и методологически грамотно проведённой работы явилось определение соединений-лидеров с максимальной активностью: соединение РУ-1355 с NHE-1-ингибирующей активностью, амфедазол, влияющий на рефрактерность миокарда и РУ-539, обладающее инотропной активностью среди ингибиторов ФДЭ. Данные соединения по своей фармакологической активности превосходили препараты сравнения.

**Третья глава** посвящена детальному изучению кардиотропной активности соединения РУ-1355 с NHE-1-ингибирующей активностью. Автором было проведено достаточное количество экспериментов с использованием моделей коронарогенного и некоронарогенного повреждения миокарда, что позволило выявить и изучить механизмы влияния соединения РУ-1355 на процессы ремоделирования миокарда: ионного, электрофизиологического, гемодинамического и морфологического. При этом изучаемое вещество по своей активности превосходило препарат сравнения - селективный ингибитор NHE-1 зонипорид.

**В четвертой главе** продемонстрированы данные по выявлению антиремоделирующих свойств амфедазола. Исследования были проведены на экспериментальных моделях нарушений ритма ишемического и неишемического генеза, в качестве препарата сравнения был использован известный антиаритмик 3 класса амиодарон. Были изучены антифибрилляторные и противоишемические свойства. Установлено, что выявленные виды активности определяют механизм кардиопротекторного действия данного соединения.

**В пятой главе** приведены результаты изучения антиремоделирующей активности соединения РУ-539. Было продемонстрировано протекторное влияние данного соединения на сократительную активность миокарда и сохранность функциональных резервов с использованием модели подострой сердечной недостаточности. В качестве препарата сравнения использовали селективный ингибитор ФДЭ амринон.

**Шестая глава** диссертационной работы посвящена изучению общетоксикологических и кардиальных побочных эффектов, а также острой токсичности соединений-лидеров. При проведении исследований у изучаемых соединений в эффективных дозах не было обнаружено кардиодепрессивных, аритмогенных и экстракардиальных свойств, а полученная величина ЛД<sub>50</sub> позволила отнести исследуемые производные бензимидазола (соединения РУ-1355, амфедазол, РУ-539) к классу умеренно токсичных (3 класс).

**В последней главе** диссертантом проводится подробное обсуждение полученных результатов в сравнении с данными современных российских и международных исследований. Полученные данные консенсусного прогноза, виртуального и экспериментального скрининга, кластерного и подструктурного анализов, методов средних и супремальных оценок в совокупности с литературными данными позволяют с достаточно высокой степенью вероятности утверждать, что производным бензимидазола присущи кардиопротекторные свойства. Механизмы реализации защиты миокарда связаны со способностью влиять на трансмембранные ионные токи и увеличивать продолжительность рефрактерного периода предсердий,

ингибировать NHE-1 или ФДЭ кардиомиоцитов. Рассматриваются перспективы дальнейшего поиска веществ с кардиопротективной активностью.

Диссертация завершается 10 выводами, основанными на результатах анализа полученных данных.

Диссертационное исследование Гуровой Н.А. является многоплановой законченной научно-исследовательской работой, выполненной в соответствии с требованиями, предъявляемым к научно-квалификационным трудам.

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

Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям диссертации, оформление отвечает современным требованиям.

Принципиальных замечаний по работе нет. Однако при ознакомлении с диссертацией возникли следующие вопросы:

1. Почему при прогнозе в системе PASS Вами для каждого исследуемого химического класса не был рассчитан процент положительного и отрицательного прогноза. И что Вам известно на сколько совпадают прогнозы в PASS с полученными вами результатами для лидеров?

2. В рекомендациях по доклиническому изучению новых соединений нет такого раздела как методы поиска кардиопротекторных веществ. Объясните, каков принцип выбора экспериментальных моделей. И почему, изучая антиремоделирующее действие, по всем трем лидерам Вы не используете единого набора экспериментальных моделей?

3. Почему для наиболее активных кардиопротекторных веществ, производных бензимидазолов – РУ-1355, РУ-539 и Амфедазол - была использована классификация по острой токсичности, предложенная И.В. Березовской?

### **Заключение**

Диссертационная работа Гуровой Наталии Алексеевны «Производные бензимидазолов - новый класс кардиопротекторных средств», представленная на

соискание ученой степени доктора медицинских наук, является законченным самостоятельным исследованием, совокупность теоретических положений которого можно квалифицировать как новое достижение в развитии фармакологии, направленное на решение важной проблемы по созданию эффективных лекарственных средств, обладающих кардиопротекторной активностью.

По актуальности темы, методическому уровню выполнения, новизне и научно-практической значимости полученных результатов диссертация Гуровой Наталии Алексеевны «Производные бензимидазолов - новый класс кардиопротекторных средств» полностью соответствует критериям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней (Постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г., №842), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология, а диссертант заслуживает присвоения искомой степени.

**Официальный оппонент:**

Заведующий отделом фармакологии,  
акционерного общества  
"Всероссийский научный центр  
по безопасности биологически  
активных веществ",  
д.б.н., профессор

Н.М. Митрохин

«    » \_\_\_\_\_ 2015 года

Подпись проф. Н.М. Митрохин удостоверяю:

Ученый секретарь ОАО "ВНЦ БАВ",  
д.м.н.

В.В. Яснецов

Адрес: РОССИЯ, 142450, Московская область, Старая Купавна, ул. Кирова, 23.  
Телефон: 8(903)142-51-21, факс 8(495)702-95-86  
E-mail: , [mitrokhin007@mail.ru](mailto:mitrokhin007@mail.ru)

## Публикации, близкие к тематике диссертационного исследования.

1. Синтез биологически активных веществ и биофармацевтические аспекты полиморфных и сольватоморфных модификаций / Скачилова С.Я., Шилова Е.В., Митрохин Н.М. // Известия Академии наук. Серия химическая. 2014. № 5. С. 1057.
2. Влияние винпоцетина при терапии с комбинацией антигипертензивных средств на метаболизм мозга животных с артериальной гипертензией и гипертензией, осложненной ишемией мозга / Митрохин Н.М., Турянский Е.Э., Макарова Л.М., Погорелый В.Е., Скачилова С.Я. // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. 2014. Т. 26. № 11-1 (182). С. 98-103.
3. Патент РФ RU 2453310. Средство, обладающее нейропротекторным действием в условиях ишемического поражения мозга и гипоксии, представляющее собой 2-аминоэтансульфонат магния, фармацевтические композиции // Сернов Л.Н., Кесарев О.Г., Скачилова С.Я., Погорелый В.Е., Олейникова О.Н., Макарова Л.М., Шилова Е.В., Митрохин Н.М., Кесарева З.А., Будунова А.П., Шулешкина Н.С. // опубл. 20.06.2012. Бюл. Изобретений. – 2012. - №17. - 10 С.
4. Патент РФ RU 2377237. 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиний гидроксипутандиоат, обладающий противоишемической, церебропротекторной, нейротропной и липидрегулируемой активностями, фармацевтические композиции и лекарственное средство / Сернов Л.Н., Кесарев О.Г., Скачилова С.Я., Митрохин Н.М., Алешина В.А., Кесарева З.А., Желтухин Н.К. // опубл. 27.12.2009. Бюл. Изобретений. – 2009. - №36. - 23 С.
5. Патент РФ RU 2341254. Стабильная фармацевтическая композиция, обладающая антигипертензивным действием Сернов Л.Н., Скачилова С.Я., Митрохин Н.М., Ермакова Г.А., Шилова Е.В., Чазова И.Е. // опубл. 20.12.2008. Бюл. Изобретений. – 2008. - №35. - 9 С.
6. Патент РФ 2377237 от 27 декабря 2009 г 22с.. 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиний-гидроксипутандиоат, обладающий противоишемической, церебропротекторной, нейротропной и липидрегулируемой активностями, фармацевтические композиции и лекарственное средство / Сернов Л.Н., Кесарев О.Г., Скачилова С.Я., Митрохин Н.М., Алешина В.А., Кесарева З.А., Желтухин Н.К.
7. Патент РФ 2552647 от 8 мая 2015 г., Способ получения 2-метил-1,3-динитроксипропана и применение 2-метил-1,3-динитроксипропана в качестве противоишемического средства / Карепин А.Г., Глушакова Н.М., Митрохин Н.М., Веселов С.В.