

ОТЗЫВ

официального оппонента проф. Резникова К.М. о диссертации 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

Диссертационная работа Гуровой Наталии Алексеевны, посвященная созданию нового класса кардиопротекторных соединений, является весьма актуальной, поскольку кардиологическая патология достаточно часто приводит к инвалидизации и даже к летальным исходам, тогда как большого спектра лекарственных средств действующих строго избирательно и безопасно не так много, как необходимо в существующих условиях. Объектом исследования явились конденсированные и неконденсированные производные бензимидазола, которые известны, как источник создания лекарственных средств с широким диапазоном фармакологической активности. При поиске и создании новых кардиопротекторных веществ важна комплексная оценка противоишемического, антифибрилляторного, инотропного действия на основе понимание ионных, электрофизиологических, гемодинамических, морфологических критериев ремоделирования, что было реализовано в рецензируемой работе.

Известные метаболические кардиопротекторы триметазидин, этилметилгидроксипиридина сукцинат, милдронат не решают все проблемы полного восстановления процессов проводимости, возбудимости и сократимости сердечной мышцы, а амиодарон, обладающий хорошим противоаритмическим и кардиопротекторным действием, может вызывать внесердечные побочные эффекты, требующих в ряде случаев отмены

препарата. В этой связи вполне объяснимо желание автора работы сделать акцент, помимо прочих подходов, на раскрытие механизмов активности ингибиторов NHE-I и миокардиальной ФДЭ, позволяющих оценить избирательность действия новых соединений.

Последовательное применение подходов *in silico*, *in vitro* и *in vivo* могут позволить в короткие сроки оценить перспективность каждого химического класса для направленного поиска и дают уверенность в получении позитивных научных материалов в диссертационной работе Н.А. Гуровой, Тема данной научной работы является частью НИР Волгоградского государственного медицинского университета.

Научная новизна исследования

Новизна исследования, проявляется уже на уровне планирования, когда автору удалось объединить использование методов фармакологии и медицинской химии для направленного поиска новых биологически активных соединений с противоишемическими, антифибрилляторными и кардиотоническими свойствами.

Использование информационных технологий компьютерного прогноза системы PASS и информационной технологии «Микрокосм», позволило теоретически обосновать перспективность изучения кардиопротекторных свойств производных конденсированных азотсодержащих гетероциклов с предполагаемыми механизмами противоишемического, антифибрилляторного и кардиотонического действия. На основании многоэтапного итеративного виртуального и экспериментального скрининга соединений, по влиянию на рефрактерность миокарда, наличие NHE-1-ингибирующей и антифосфодиэстеразной активностей у различных конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола удалось отобрать наиболее активные соединения.

С помощью оригинального анализа по средним и супрематическим оценкам автором были выявлены значимые, ранее неизвестные, признаки

высокого уровня антиаритмической активности у производных N¹-имидазобензимидазола и N⁹-имидазобензимидазола. NHE-ингибирующей активности у производных 2-аминобензимидазола. Установлено, что наиболее перспективными производными N⁹-ИМБИ и N¹-ИМБИ с антиаритмической активностью являются вещества, содержащие в положении C² (R₂) - фенильный и в положении N¹ или N⁹ (R₃) - диэтиламиноэтильный заместители; а производными N¹-замещенных 2-аминобензимидазола с NHE-ингибирующей активностью, содержащие в положении N¹ морфолиноэтильный значимым заместитель.

На основании полученных закономерностей между химическим строением производных бензимидазола и кардиопротекторной активностью, выявлены потенциальные 2D-фармакофоры соединений, которые могут быть активными группами взаимодействия с биомишенями. Полученные научные данные позволили с применением моделей патологии сердечно-сосудистой системы в эксперименте изучить кардиопротекторные свойства соединений-лидеров: ингибитора NHE-1 вещества РУ-1355, антифибрилляторного вещества амфедазола, ингибитора ФДЭ соединения РУ-539 и определить их токсичность.

Научно-практическая значимость исследования

Полученные *in silico* значимые признаки формирования кардиотропных эффектов производных имидазола, а также выявленные тонкости взаимодействия отдельных групп исследуемых соединений с мишенями организма могут использоваться для направленного синтеза и поиска новых высокоактивных веществ. Иерархическая система целенаправленного поиска *in silico* новых кардиопротекторных соединений, предложенная автором, может быть использована в исследовательской деятельности фармакологических лабораторий. Выявленные автором антире моделирующие свойства соединений РУ-1355, амфедазола, РУ-539

свидетельствуют о необходимости проведения расширенных доклинических исследований.

Результаты диссертационного исследования рекомендуется использовать в некоторых разделах учебного процесса кафедр фармакологии, а именно в разделах - создание новых лекарственных средств, лекарственные препараты, оказывающие влияние на сердечно-сосудистую систему. Они внедрены в лекционные курсы фармакологии ряда медицинских вузов.

Достоверность и обоснованность основных положений и выводов диссертационной работы

Для достижения цели, поставленной в диссертационной работе, автором реализован комплекс современных методик с использованием 4-х видов лабораторных животных (мыши - 174, крысы - 860, кошки - 60 и кролики - 15), сертифицированных приборов и устройств, позволивших получить объективные данные по скринингу и исследованию кардиопротекторных механизмов действия соединений-лидеров. В ходе экспериментов учтены этические принципы и современные требования к проведению изучения противоишемического (антиангинального) действия, кардиотонической активности, антиаритмических свойств новых биологически активных соединений. Использование общепринятых методик моделирования контрольных экспериментов, препаратов позитивного контроля позволило получить повторяемые результаты. Цифровые материалы представлены в виде таблиц и рисунков, позволяющих легко провести сопоставительный анализ выявленных изменений и установить обоснованность основных положений. Практически автором разработана концепция принципов зависимостей «структура- действие-эффект» в дериватах бензимидазола.

Стандартное получение цифровых данных дало возможность использовать для анализа проверяемые данные, которые можно сравнивать с

результатами других исследователей. Достоверность выводов не вызывает сомнения, поскольку представленные материалы обработаны с применением, современных параметрических и непараметрических статистических методик: и грамотно обобщены.

Общая оценка содержания и оформления диссертации

Материалы диссертации Гуровой Н.А. изложены в традиционном стиле на 277 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 40 таблицами, 34 рисунками. Она состоит из введения, обзора литературы (глава I), экспериментальной части (главы II-VI), обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций и приложений. Список литературы включает 208 отечественных и 272 иностранных источника.

Во введение представлено обоснование актуальности исследования, цель и задачи исследования, приведены данные о научной новизне, научно-практической значимости, внедрении и апробации результатов исследования, указаны положения, выносимые на защиту.

Первая глава диссертации посвящена систематическому изложению данных литературы по изучаемой проблеме, где представлен подробный анализ публикаций отечественных и зарубежных авторов за последние 10 лет. Подтверждена исключительность данного химического класса соединений, связанная со способностью этих соединений взаимодействовать с различными мишенями в соответствии с биоизостерическими свойствами. Автору удалось обосновать целесообразность проведения целенаправленного поиска среди конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола перспективных соединений, влияющих на ионное (ингибиторов МНЭ), электрофизиологическое (на трансмембранные ионные токи и рефрактерность миокарда), гемодинамическое (среди ингибиторов ФДЭ) и морфологическое ремоделирование.

Во второй главе представлены результаты проведения поиска соединений, обладающих кардиопротекторной активностью, в ряду

производных конденсированных и неконденсированных бензимидазолов с использованием экспериментальных моделей *in vitro* и *in vivo* и методов компьютерной обработки информации. Здесь представлены данные о том, что класс производных конденсированных и неконденсированных бензимидазолов является перспективным для проведения экспериментального поиска кардиопротекторов. В результате были найдены соединения РУ-1355 с NHE-1-ингибирующей активностью, амфедазол, влияющий на рефрактерность миокарда, РУ-539, обладающее инотропной активностью среди ингибиторов ФДЭ, которые по своей активности превосходили препараты сравнения.

3-я глава посвящена установлению наличия антиремоделирующих (замедление ионного, электрофизиологического, гемодинамического и морфологического ремоделирования) свойств у 2-амино-1-морфолиноэтил-3-(4-фторфенацил)-бензимидазолия хлорида - соединения РУ-1355 с NHE-1-ингибирующей активностью, что проиллюстрировано на большом количестве экспериментальных моделей коронарогенного и некоронарогенного повреждения миокарда.

В 4-й главе автором описаны выявленные антиремоделирующие свойства 1-(2-диэтиламиноэтил)-2-фенилимидазо[1,2-а]бензимидазола - амфедазола - в сравнении с антиаритмиком 3 класса амиодароном, в том числе в условиях экспериментальных нарушений ритма ишемического и неишемического генеза. Важно, что антиремоделирующие свойства сопровождаются выраженной антифибрилляторной активностью на моделях суправентрикулярных и вентрикулярных фибрилляций, в том числе при ишемическом повреждении миокарда, высокой способностью увеличивать порог электрических фибрилляций желудочков и снижать максимально воспроизводимую частоту, противоишемическим действием.

Пятая глава содержит экспериментальные данные по изучению влияния на гемодинамическое ремоделирование миокарда 2-бензил-1-морфолиноэтил-3-пивалоилметил-бензимидазолия бромида - соединения РУ-

539 на сократительную активность миокарда и сохранность функциональных резервов в условиях экспериментальной подострой сердечной недостаточности в сравнении с селективным ингибитором ФДЭ амриноном.

Материалы шестой главы характеризуют исследования общетоксикологических и кардиальных побочных свойств соединений-лидеров. Показано, что по величине ЛД₅₀ в соответствии с классификацией токсичности веществ по Березовской, исследуемые производные бензимидазола (соединения РУ-1355, амфедазол, РУ-539) можно отнести к классу умеренно токсичных (3 класс).

В последней главе автор проводит детальное обсуждение полученных результатов с учетом обзора современной литературы. Анализ многочисленных данных экспериментов, тщательно отобранные материалы других исследователей, логика научного поиска, умение представлять точные формулировки, анализировать фактический материал и делать вполне аргументированные выводы свидетельствуют о научной зрелости соискателя и его большом творческом потенциале.

Обобщением полученных данных работа завершается в форме 10 полностью аргументированных выводов, которые полностью отражают суть полученных научных данных. Цель диссертационного исследования достигнута, поэтому её можно считать завершённой. Автореферат отражает основные положения диссертации и оформлен в соответствии с современными требованиями.

По материалам диссертации опубликовано 47 печатных работ, в том числе 19 статей, из которых 16 - статьи в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, приоритет научной работы подтверждён 6 патентами на изобретения.

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

1. Объясните, в чем заключается физический смысл построенного Вами интегрального скаффолда. На сколько выявленные Вами активные

соединения соответствуют, этому скаффолду, в том числе в плане возможного взаимодействия с рассматриваемыми вами мишенями. Для каких целей он построен?

2. Известно, и Вы в своем обзоре литературы подтвердили, что производные бензимидазолов обладают целым спектром биологических эффектов способствующих кардиопротекции, например, такими, как антиоксидантные, гемореологические, антигипоксические и др. свойства. Почему тогда Вы позиционируете, что кардиопротекторные свойства соединения РУ-1355 связаны именно с блокадой NHE-1?

3. Влияет ли изучаемое Вами соединение РУ-1355 на другие изоформы натрий-водородного обменника?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Гуровой Наталии Алексеевны «Производные бензимидазолов - новый класс кардиопротекторных средств», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная проблема фармакологии, заключающаяся в разработке новых принципов создания эффективных и безопасных кардиопротекторных лекарственных средств. По своей актуальности, методическому уровню выполнения, анализу и глубине обобщения, 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:
профессор кафедры фармакологии
ГБОУ ВПО «Воронежский
государственный медицинский
университет имени Н.Н. Бурденко»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
заслуженный деятель науки РФ,
д.м.н., профессор

К.М. Резников

«___»_____ 2015 года
394005 г. Воронеж, ул. Студенческая, 10
Тел.: (473) 253-10-65, VRKMF@yandex.ru

Подпись проф. К.М. Резникова удостоверяю:

Начальник УК ВГМУ

С.И. Скорынин

1. Мониторирование действия лекарственных средств у больных в раннем восстановительном периоде инфаркта мозга как основа корректирующей терапии / Борисова Е.А., Резников К.М., Агасаров Л.Г.// Традиционная медицина. 2015. № 1 (40). с. 41b-46.
2. Антиаритмические свойства 2-(2'-гидрокси-2'-замещенных) этилоктагидропирроло [1,2-а]пиразинов /Филиппова О.В., Крыжановский С.А., Пересада В.П., Лихошерстов А.М., Ревенко С.В., Каверина Н.В., Резников К.М. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2004. Т. 67. № 4. С. 26-29.
3. Биоэнергетические альтернативы миокарда Труды XXII Международной конференции и дискуссионного клуба. Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии. Крым. Ялта.Гурзуф.- 2014. – С.115-116.
4. Азациклоалканы XXXIV. Синтез и антиаритмическая активность 2-(2'-г-2'-гидроксиэтил)-1,2,3,4-тетрагидропирроло-[1,2-а]пиразинов / Лихошерстов А.М., Филиппова О.В., Пересада В.П., Крыжановский С.А., Вититнова М.Б., Каверина Н.В., Резников К.М. // Химико-фармацевтический журнал. 2003. Т. 37. № 1. С. 8-11.