

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной и инновационной деятельности ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

доктор технических наук, профессор,

Константинов Игорь Сергеевич

2017 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации – Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ») на диссертационную работу Бригадировой Анастасии Андреевны «Фармакологические свойства новых производных бифенила», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

Актуальность

Диссертационная работа Бригадировой Анастасии Андреевны посвящена актуальной задаче поиска соединений с высокой биологической активностью среди новых производных, содержащих структурную комбинацию привилегированных фрагментов – бифенила и конденсированных азолов. Несмотря на то, что именно скрининг доступных органических соединений позволяет выйти на новые биологические мишени, более актуальными являются методы, основанные на использовании так называемых привилегированных структур – фрагментов, имеющих молекулярный остов потенциальных кандидатов в лекарственные средства (DeSimone R.W. et al. Comb. Chem. High Throughput Screen. 2004. № 5. P. 473-494; Costantino L. et al. Curr. Med. Chem. 2006. № 1. P. 65-85; Duarte C.D. et al. Mini Rev. Med. Chem. 2007. № 11. P. 1108-1119; Bachurin S.O., Zefirov N.S.

Herald of the Russian Academy of Sciences. 2010. № 3. P. 279-284), и методы, направленные на получение максимального разнообразия фокусированных библиотек соединений из соответствующим образом модифицированного молекулярного каркаса.

В связи с этим многие производные бифенила и бензимидазола, как одни из представителей привилегированных структур, могут представлять интерес как важные синтетические объекты и потенциальные биологически активные вещества, для которых характерен широкий спектр различных фармакологических свойств (Bansal Y. et al. Bioorg. Med. Chem. 2012. № 21. P. 6208-6236; Jain Z.J. et al. Arab. J. Chem. 2017. Suppl. 2. P. S2051-S2066). На сегодняшний день уже разработаны и успешно применяются соединения, содержащие комбинацию указанных привилегированных подструктур, при этом наиболее востребованными являются лекарственные средства с выраженным антагонистическим действием по отношению к ангиотензиновым АТ₁-рецепторам (кандесартан, валсартан и телмисартан). В связи с этим, актуальность темы диссертационной работы Бригадировой А.А. не вызывает сомнений.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа Бригадировой Анастасии Андреевны выполнена с применением современных методик, которые соответствуют поставленным цели и задачам исследования. Выбранный дизайн исследования обеспечивает комплексный подход и объективность полученных результатов. Данные, полученные в ходе исследования, подвергнуты адекватной статистической обработке. Научные положения, выводы и рекомендации обоснованы, корректно сформулированы, основываются на достоверных данных.

Достоверность и новизна исследования полученных результатов

В своей работе Анастасия Андреевна впервые провела скрининг по 10 видам фармакологической активности для 35 веществ, из которых 6

относятся к производным бифенила, связанных с бензимидазолом через метиленовую или оксоэтильную группу, 8 соединений – к производным замещенного бифенила, связанного с имидазо[1,2-*a*]бензимидазолом через метиленовую группу, или непосредственно связанного с гетероциклическим кольцом имидазо[1,2-*a*]бензимидазола, 7 соединений – к производным бифенила, связанным с имидазолом или тиазолом через оксоэтильную группу, и 14 соединения □ – к производным дифенилоксида.

Показано преимущество гибридных линкерных структур, содержащих два фрагмента – бифенил и бензимидазол, с помощью анализа *in silico*. Впервые создана и опробована системная сетевая фармакологическая модель оценки антидиабетического действия с учетом взаимозависимости активностей для прогнозирования и отбора наиболее перспективных веществ для исследований *in vivo*.

Впервые у производных, содержащих комбинацию бифенильного и конденсированных азольных фрагментов, а именно 1-диалкиламиноалкил-3-бифенил-2-иминобензимидазолинов, 9-замещенных 2-дифенилимидазо[1,2-*a*]бензимидазолов и 9-замещенных 2,3-дигидроимидазо[1,2-*a*]бензимидазолов выявлены высокая антиоксидантная, регликирующая, антиагрегантная, протеинтирозинфосфатаза 1В (PTP1B)-ингибирующая и АМФ-активируемая протеинкиназа (АМРК)-активирующая активность.

Установлено, что соединение DF-5 (9-бензил-2-бифенилимидазо[1,2-*a*]бензимидазол) по уровню способности разрывать сшивки в гликированных белках превосходит вещество сравнения алагебриум (ALT-711). Показано нефрозащитное действие DF-5 в дозе 12,5 мг/кг на модели стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета с диабетической нефропатией.

Среди гибридных линкерных структур были найдены две молекулы – 9-метил-2-бифенилимидазо[1,2-*a*]бензимидазол (DF-1) и 9-диметиламиноэтил-2-бифенилимидазо[1,2-*a*]бензимидазол (DF-6) – с высокими антиоксидантными и антирадикальными свойствами, впервые был изучен их механизм действия *in vitro*.

Впервые показано, что соединение AZH-141 (гидробромид 1-(2,2-диметиламиноэтил)-3-бифенил-4-ил-метил-1,3-дигидробензимидазол-2-илиден-амин) проявляет свойства ингибитора РТР1В и активатора АМРК. Установлены антигипергликемический эффект соединения AZH-141 и его способность снижать массу жировой ткани в дозе 30 мг/кг на модели стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета у крыс, находящихся на высокожировой диете.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Практическая ценность полученных результатов заключается в том, что обнаружены активные соединения среди новых комбинированных производных бифенила и конденсированных азолов, обладающие высокими антиоксидантными и антидиабетическими свойствами. Выявленная в ходе проведенного исследования большая вариабельность в аспекте проявления различных видов фармакологической активности гибридных линкерных структур, содержащих бифенил и конденсированные азолы, может быть использована при целенаправленном поиске и синтезе новых высокоактивных веществ.

Научно-практическая значимость исследования подтверждается одним патентом и одной подтвержденной заявкой на патент, полученными на выявленные соединения.

Полученные в работе данные используются химиками-синтетиками Волгоградского государственного технического университета и НИИ физической и органической химии Южного Федерального университета (г. Ростов-на-Дону) при целенаправленном синтезе новых соединений, а также в учебном процессе на кафедрах фармакологии и биоинформатики, фармакологии и биофармации ФУВ, фармацевтической и токсикологической химии Волгоградского государственного медицинского университета и в лаборатории экспериментальной фармакологии ГБУ ВМНЦ.

Содержание и оформление диссертации

Диссертация оформлена в классическом стиле в соответствии с существующими требованиями и изложена на 173 страницах машинописного текста, иллюстрирована 46 рисунками в основных главах и 4 рисунками в приложении, 35 таблицами в основных главах и 5 таблицами в приложении. Работа состоит из введения, обзора литературы (глава I), экспериментальной части (главы II-VII), обсуждения результатов (глава VIII), заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 235 источников, и одного приложения.

Во введении представлены актуальность, цель и задачи исследования, научная новизна, практическая значимость, положения, выносимые на защиту и степень достоверности результатов.

В I главе автором проанализированы данные литературы о причинах актуальности поиска и разработки новых молекул с высокой биологической активностью среди производных бифенила, бензимидазола и дифенилоксида. В заключительной части обзора высказано мнение о перспективности изучения фармакологических свойств гибридных соединений, содержащих комбинацию азолов и бифенила в базовой структуре.

Во II главе изложены методы скрининга *in vitro* по определению АТ₁-антагонистической, антиагрегантной, антигликирующей, регликирующей, антиоксидантной активности соединений, а также их влияния на активность ферментов ДПП-4, гликогенфосфорилазы, АМРК, РТР1В и глюкокиназы. Приведено описание экспериментов по изучению механизмов антиоксидантного действия наиболее активных соединений и исследованию антидиабетогенных эффектов соединений-лидеров на экспериментальных моделях сахарного диабета.

В III-VIII главах представлены основные результаты скрининговых фармакологических исследований производных бифенила, бензимидазола и дифенилоксида. Для наиболее активных соединений установлены показатели EC₅₀, IC₅₀ и LD₅₀. Проведен анализ влияния химической структуры на уровень фармакологической активности соединений.

Описаны, проиллюстрированы и обсуждены результаты фармакологического изучения аспектов механизма действия наиболее высокоактивных соединений, их специфической фармакологической активности в исследованиях *in vivo*.

При дозозависимом исследовании антиоксидантных свойств наименьшие значения IC_{50} были выявлены у соединений DF-1 (0,19 мкмоль/л) и DF-6 (0,36 мкмоль/л). При последующем изучении механизмов антиоксидантного действия данных соединений выявлена их высокая антирадикальная активность на моделях окисления радикала ABTS• и люминол-зависимой хемиллюминесценции.

Соединение DF-5 (0,31 ммоль/л) превосходило показатель IC_{50} вещества сравнения ALT-711 (1,89 ммоль/л) по способности разрывать поперечные сшивки гликированных белков. Оно было выбрано к последующему изучению его антидиабетических свойств на модели стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета с диабетической нефропатией. В ходе исследования было отмечено высокое нефрозащитное действие соединения DF-5 в дозе 12,5 мг/кг, сопоставимое с эффектом ALT-711.

С учетом позитивных характеристик по показателям изменения активности ферментов PTP1B и AMPK, умеренной острой токсичности, а также рассчитанному наиболее высокому значению антидиабетического функционала вещество AZH-141 было выбрано для исследования его антидиабетического эффекта на модели стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета у крыс, находящихся на высокожировой диете. При этом антигипергликемический эффект и способность снижать массу жировой ткани *in vivo* AZH-141 оказались сопоставимыми с соответствующими эффектами референтного препарата сравнения метформина.

Диссертация завершается заключением, 7 выводами, основанными на полученных результатах, и практическими рекомендациями.

Основное содержание диссертационной работы отражено в автореферате и представлено в 22 публикациях, в том числе в 8 статьях, опубликованных в изданиях, рекомендованных ВАК РФ. По результатам разработок получен 1 патент РФ на изобретение.

При прочтении работы возникли следующие непринципиальные вопросы:

1. К какой фармакологической группе антиагрегантов можно отнести обнаруженные производные бифенила.

2. Почему для исследования антиоксидантной активности использована модель окисления радикала АВТS и люминол-зависимой хемилюминесценции.

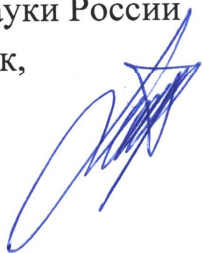
3. Почему в качестве препарата сравнения при исследовании гипогликемической активности выбран метформин.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Бригадировой Анастасии Андреевны на тему: «Фармакологические свойства новых производных бифенила», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, соответствует паспорту специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология, удовлетворяет всем требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Диссертационная работа содержит новое решение актуальной научной проблемы фармакологии – поиск и разработка новых лекарственных средств, имеющей существенное значение для фундаментальной и практической медицины, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

Отзыв на диссертацию обсужден на заседании кафедры фармакологии и клинической фармакологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», протокол № 7 от 24 октября 2017 года.

Директор НИИ Фармакологии живых систем
НИУ «БелГУ», заведующий кафедрой фармакологии
и клинической фармакологии Федерального
государственного автономного образовательного
учреждения высшего образования «Белгородский
государственный национальный исследовательский
университет», Минобрнауки России
доктор медицинских наук,
профессор



Покровский Михаил Владимирович

Личную подпись
удостоверяю
Документовед
управления
по развитию
персонала и
кадровой работе



308015, г. Белгород, ул. Победы, д. 85
Тел.: +7 (4722) 30-12-11, e-mail: Info@bsu.edu.ru
<http://www.bsu.edu.ru>

В диссертационный совет Д 208.008.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава РФ
(400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1)

СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

**по диссертации Бригадировой Анастасии Андреевны
тема «Фармакологические свойства новых производных бифенила»
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальности 14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология**

Полное наименование организации	Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»
Сокращенное наименование организации	ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», НИУ «БелГУ»
Адрес организации	308015, Российская федерация, город Белгород, улица Победы, дом 85
Контактный телефон (с кодом города)	Тел: +7 (4722) 30-12-11
Адрес электронной почты	Info@bsu.edu.ru
Ведомственная подчиненность	Министерство образования и науки Российской Федерации (Минобрнауки России)
Сведения о руководителе ведущей организации	Полухин Олег Николаевич – ректор, доктор политических наук, профессор Контактная информация: Тел.: +7 (4722) 30-12-11 Факс: +7 (4722) 30-12-13 e-mail: Rector@bsu.edu.ru
Сведения о заместителе руководителя ведущей организации	Константинов Игорь Сергеевич – проректор по научной и инновационной деятельности, доктор технических наук, профессор Тел.: + 7(4722) 30-10-23 e-mail: ViceRectorScience@bsu.edu.ru

<p>Сведения о составителе отзыва из ведущей организации</p>	<p>Покровский Михаил Владимирович – заведующий кафедрой фармакологии Медицинского института, директор Научно-исследовательского института фармакологии живых систем НИУ «БелГУ», доктор медицинских наук, профессор Контактная информация: Тел.: +7 (4722) 30-18-59 e-mail: pokrovskii@bsu.edu.ru</p>
<p>Основные работы (за последние 5 лет)</p>	<p>1) Ким Г.А. ГАМК_A-рецепторные механизмы противоишемического цереброваскулярного эффекта S-амлодипина никотината [Текст] / Г.А. Ким, Т.С. Ганьшина, Е.В. Васильева [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2017. – Т. 80, № 5. – С. 7-10. 2) Покровский М.В. Исследование эндотелиопротективной активности фенольных производных – ингибиторов аргиназы-2 и тромбина [Текст] / М.В. Покровский, М.В. Корокин, К.В. Кудрявцев [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 163, № 4. – С. 431-434. 3) Бесхмельницына Е.А. Молекулярный поиск перспективных молекул-кандидатов в селективные антагонисты ионного канала TRPA₁ [Текст] / Е.А. Бесхмельницына, Д.В. Кравченко, М.В. Покровский [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2017. – Т. 7, № 3. – С. 186-189. 4) Kesarev O.G. Study of dose-dependent effect of 2-ethyl-6-methyl-3 hydroxypyridine succinate on the contractile function of isolated rat heart [Text] / O.G. Kesarev, L.M. Danilenko, M.V. Pokrovskii, A.S. Timokhina, A.V. Khovanskii // Research Result: Pharmacology and Clinical Pharmacology. – 2017. – Т. 3, № 1. – С. 3-9. 5) Бурда Ю.Е. Тест-система для оценки активности ингибиторов GSK-3 в качестве антигипоксантов и индукторов дифференцировки эндотелиальных предшественников in vitro [Текст] / Ю.Е. Бурда, С.В. Надеждин, Е.В. Зубарева [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2016. – № 1. – С. 29-32.</p>

Проректор по научной и инновационной деятельности,
 д.т.н., профессор



И.С. Константинов