

«Утверждаю»

Врио директора Томского НИМЦ,

В.И. Лебедев



2020 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» о научно-практической значимости диссертации Захарьящевой Ольги Юрьевны «Фармакологические свойства активаторов глюкокиназы – некоторых производных азотсодержащих гетероциклических соединений», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

Актуальность

Диссертационная работа Захарьящевой Ольги Юрьевны посвящена актуальной задаче поиска и исследования антидиабетических свойств новых активаторов глюкокиназы. Несмотря на широкий выбор пероральных гипогликемических препаратов, на сегодняшний день велика потребность в создании и внедрении в клиническую практику новых, эффективных, безопасных препаратов для лечения сахарного диабета 2 типа. Фермент глюкокиназа регулирует метаболизм глюкозы посредством двух ключевых аспектов: увеличение секреции инсулина поджелудочной железой при гипергликемии и улучшение утилизации глюкозы в печени [Kitao N., Nakamura A., Miyoshi H., Nomoto H. et al. The role of glucokinase and insulin receptor substrate-2 in the proliferation of pancreatic beta cells induced by short-term high-fat diet feeding in mice //Metabolism. – 2018. – Vol. 85. – P. 48-58.]. Активаторы глюкокиназы представляют собой перспективную группу

химических веществ для создания новых противодиабетических средств, который обладает оптимальным профилем безопасности, при этом наиболее значимыми положительными эффектами являются низкий риск гипогликемии, отсутствие влияния на уровень липидов, а также снижение массы тела, что подтверждено данными в доклинических и клинических испытаниях [Kurnianta P. D. M., Suksomboon N. Efficacy and safety of glucokinase activators for type 2 diabetes mellitus: A systematic review. Pharmaceutical Sciences Asia. – 2020. – Vol.47. - №.1. - P.1-20.].

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

Диссертационная работа Захарьящевой Ольги Юрьевны 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.

Новизна исследования и полученных результатов

В своей работе Ольга Юрьевна впервые провела скрининг 154 веществ, из которых 17 соединений относятся к производным бензимидазола, 2 - к производным бифенила, 8 - к производным бифенилоксида, 5 - к производным биспиридина, 4 - к производным 4Н-дiazепинобензимидазола, 2 - производные дигидробензофурана, 15 - к производным имидазобензимидазола, 2 - к пептидомиметикам, 53 - к производным пиридина, 16 - к производным пиримидина, 12 - к производным хиназолина, 2 - к производным тиазолидиндиона, 6 - к производным тиазолобензимидазола, 11 - к производным триазолопиримидина.

В результате консенсусного виртуального скрининга *in silico* и экспериментального тестирования *in vitro* из 14 изученных скаффолдов выявлены наиболее активные в отношении глюкокиназы – производные бифенилоксида, биспиридина, пиридина, пиримидина, хиназолина, тиазолидиндиона и тиазолобензимидазола. Для 6 исследуемых классов химических структур (дiazепинобензимидазолы, имидазобензимидазолы, биспиридины, тиазолобензимидазолы, триазолопиримидины и пептидомиметики) было впервые спрогнозировано и экспериментально доказано наличие ГК-активирующих свойств. Впервые установлена взаимосвязь «структура-активность», в результате выявлен наиболее активный класс в отношении глюкокиназы – биспиридины.

Впервые показано, что соединение NP-006 обладает антидиабетическим действием на модели сахарного диабета 2 типа при внутрибрюшинном введении. Выявлено соединение под шифром NP-001, проявляющее антиоксидантные, антирадикальные и хелатирующие свойства *in vitro*, а также выявлена антитромботическая активность в условиях стрептозоцин-индуцированного сахарного диабета на модели тромбоза сонной артерии крыс, индуцированного 50-%-ным раствором FeCl₃.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Практическая ценность полученных результатов заключается в том, обнаружен перспективный класс химических веществ для синтеза и дальнейшего поиска активаторов глюкокиназы - производные биспиридина; созданы предпосылки для углубленного изучения соединений данного скаффолда в качестве потенциальных лекарственных средств для лечения сахарного диабета. Для соединения NP-006 выявлен перспективный антидиабетогенный потенциал на мышах линии DIO-C57BL/6J с экспериментальным сахарным диабетом 2 типа при 3-х недельном внутрибрюшинном введении. Для соединения NP-001 в тестах *in vitro*

найжены антиоксидантные, хелатирующие и антиагрегантные свойства, а в исследованиях *in vivo* показано антитромботическое действие.

Научно-практическая значимость исследования подтверждается 3 патентами на изобретение РФ.

Полученные данные о способности новых производных биспиридина и тиазолобензимидазола активировать глюкокиназу используется при синтезе новых веществ в Научно-образовательном центре фармации КФУ (г. Казань) и в НИИ ФОХ Южного Федерального университета (г. Ростов-на-Дону). В работе кафедры фармакологии и биоинформатики ВолГМУ применяется новый комплексный подход к поиску новых активаторов глюкокиназы. Результаты работы включены в учебный процесс на кафедрах фармакологии и фармации ИНМФО (Института непрерывного медицинского и фармацевтического образования) ВолГМУ, фармацевтической и токсикологической химии ВолГМУ, на кафедрах фармакологии Кубанского государственного медицинского университета и Сибирского государственного медицинского университета.

Обоснованность и достоверность научных положений,

выводов и заключения

Заключение и выводы логически обоснованы, закономерно следуют из содержания диссертации, отражают основные полученные фактические результаты. Цель, поставленная автором, достигнута в полной мере.

Достоверность результатов, сформулированных положений и выводов подтверждена значительным объемом проведенных исследований, выполненных с привлечением современных методов, а также полученных результатов, которые были подвергнуты корректной статистической обработке. Задачи исследования соответствуют теме работы и позволили диссертанту достичь поставленной цели. Выводы грамотно сформулированы и адекватны цели и задачам исследования, логично вытекают из полученных автором материалов.

Содержание и оформление диссертации

Диссертация оформлена в классическом стиле в соответствии с существующими требованиями и изложена на 214 страницах машинописного текста, иллюстрирована 37 рисунками в основных главах и 1 рисунком в приложении, 40 таблицами. Работа состоит из введения, обзора литературы (глава I), экспериментальной части (главы II-X), обсуждения результатов (глава XI), выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 190 источников, и одного приложения.

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

В I главе автором приведён обзор отечественных и зарубежных литературных источников по теме диссертации. В заключительной части обзора высказано мнение о перспективности изучения активаторов глюкокиназы в качестве лекарственных средств для терапии сахарного диабета 2 типа.

Во II главе изложены методы компьютерной обработки информации скрининга *in silico*, скрининговые модели и методы для изучения фармакологических свойств новых производных азотсодержащих гетероциклических соединений *in vitro*, методы оценки зависимости фармакологической активности изучаемых соединений от их химической структуры, методы исследования антидиабетической активности соединений при хроническом введении и изучения влияния активаторов глюкокиназы на процессы регенерации β -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы при стрептозотоцин-индуцированном диабете. Приведено описание экспериментов по изучению механизмов антиоксидантного, антигликирующего, антиагрегантного и антитромбогенного действия наиболее активных соединений и исследованию токсикологических свойств соединений.

В III-X главах представлены основные результаты исследований *in silico* и *in vitro* 154 соединений, являющихся производными 14 скаффолдов, а также данные по изучению наиболее активных соединений *in vivo*. Для соединений-лидеров установлены показатели EC₅₀, IC₅₀ и LD₅₀, проведен анализ влияния химической структуры на уровень фармакологической активности, выявлены токсикологические и фармакокинетические свойства *in silico*, *in vitro* и *in vivo*.

По результатам консенсусного компьютерного прогноза, данным чувствительности нейронов искусственной нейронной сети и экспериментального тестирования *in vitro* автором показано, что к высокоактивным соединениям по отношению к глюкокиназе относятся производные биспиридина. Наиболее эффективными производными скаффолда по данным направленного скрининга *in vitro* и значениям EC₅₀ были субстанции под шифром NP-001 (33,40 мкМ) и NP-006 (18,56 мкМ против препарата сравнения PF-04937319, EC₅₀ 6,80 мкМ).

При изучении гипогликемического действия на интактных животных при пероральной нагрузке глюкозой (2 г/кг) субстанция NP-006 проявила выраженный эффект в дозах 300 и 500 мг/кг внутрибрюшинно, данный эффект сопоставим с аналогичным у препарата сравнения вилдаглиптина (10 мг/кг в/б). На модели стрептозотозин-индуцированного сахарного диабета вещество NP-006 повышало пролиферативную активность инсулиноцитов островков Лангерганса поджелудочной железы мышей при однократном введении, сопоставимую с таковой у соединения сравнения – активатора глюкокиназы PF-04937319.

В ходе исследования антидиабетической активности выявлено, что соединение NP-006 обладает следующими типичными для активаторов ГК эффектами: нормализация показателей гликемии, снижение массы тела, улучшение чувствительности к инсулину, стимулирование гликолиза и синтеза гликогена, ингибирование глюконеогенеза, активирование глюкокиназы и увеличение триглицеридов печени, не вызывающее внешних

патологических изменений печени при аутопсии. В исследованиях влияния на механизмы развития отдаленных последствий СД не обнаружено значимых изменений для вещества NP-006, тогда как для субстанции NP-001 отмечено наличие антирадикальных, хелатирующих, антиагрегантных и антитромбогенных свойств.

По расчетным оценкам консенсусного компьютерного прогноза характеристик ADMET для изучаемых соединений был установлен высокий средний индекс лекарственного подобия, сопоставимый с соединением сравнения. Исследование острой токсичности на крысах и мышах показало, что субстанции NP-001 и NP-006 относятся к 4 классу токсичности, что соответствует данным виртуального прогноза *in silico*. Таким образом, выявлено соединение под шифром NP-006, характеризующееся наиболее перспективным антидиабетогенным профилем, которое может быть рекомендовано для дальнейшего изучения и оптимизации для разработки перспективного антидиабетического средства.

Диссертация завершается обсуждением результатов, 9 выводами, основанными на полученных результатах, и практическими рекомендациями.

Замечания к диссертационной работе

Замечаний, принципиально влияющих на выводы по диссертации, нет. Отдельные орфографические ошибки ни в коей мере не умаляют достоинства этой значительной по объёму и глубокой по содержанию диссертационной работы.

Хотелось бы получить ответ на следующий вопрос:

1. Планируется ли дальнейшее исследование субстанций NP-001 и NP-006 на других моделях патологии с нарушением обмена глюкозы? Если да, то на каких?

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Основное содержание диссертационной работы Захарьящевой Ольги Юрьевны отражено в автореферате. Автореферат диссертации четко структурирован и хорошо оформлен. Основные положения диссертационной работы полностью отражены в автореферате. Представленные иллюстрации и таблицы способствуют легкому восприятию собственных результатов исследования.

Подтверждения опубликованных основных результатов диссертации в научной печати

По теме диссертации опубликовано 22 научных статьи, в том числе 12 статьи, опубликованных в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации основных материалов кандидатских диссертаций. По результатам разработок получено 3 патента РФ на изобретение.

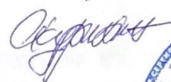
ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Захарьящевой Ольги Юрьевны на тему: «Фармакологические свойства активаторов глюкокиназы – некоторых производных азотсодержащих гетероциклических соединений», 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.

Диссертация и отзыв обсуждены на заседании лаборатории регенеративной фармакологии Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» 23.07.2020 г., протокол заседания № 11.

Заведующий лабораторией регенеративной фармакологии
НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ,
доктор медицинских наук, профессор



Скурихин Е.Г.

Подпись Скурихина Евгения Германовича заверяю:
Ученый секретарь Томского НИМЦ,
кандидат биологических наук



Хитринская И.Ю.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (Томский НИМЦ)

Адрес: 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

телефон: +7 (3822) 51-33-06

e-mail: center@tnimc.ru

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

СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

по диссертации Захарьяшевой Ольги Юрьевны
на тему «Фармакологические свойства активаторов глюкокиназы – некоторых производных азотсодержащих
гетероциклических соединений», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальности 14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология

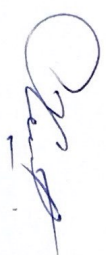
Полное наименование организации	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»
Сокращенное наименование организации	Томский НИМЦ
Адрес организации	634009, Российская федерация, город Томск, пер. Кооперативный, 5
Контактный телефон (с кодом города)	Тел: +7(3822) 51-33-06
Адрес электронной почты	center@tmmc.ru
Ведомственная подчиненность	Министерство науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России)
Сведения о руководителе ведущей организации	Степанов Валдим Анатольевич – директор, член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор Контактная информация: Тел.: +7 (3822) 51-22-28 e-mail: center@tmmc.ru
Сведения о составителе отзыва из ведущей организации	Скурихин Евгений Германович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией регенеративной фармакологии Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ Тел.: + 7 (3822) 41-83-75 e-mail: nii@rhamtso.ru

Основные работы
(за последние 5 лет)

- 1) Rakhtomova A.V., Nebolsin V.E., Peshina O.V., Klyurin V.A., Sandtikhina L.A. et al. Antidiabetic Effects of Bisamide Derivative of Dicarboxylic Acid in Metabolic Disorders // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – Vol. 21 (3). – Стаття № 991.
- 2) Дыгай А.М., Скурихин Е.Г., Пахомова А.В., Першина О.В. Стволовые клетки при метаболическом синдроме и сахарном диабете: реалии и перспективы использования в клинике. Монография, Москва: Издательство РАН. 2019. – 202 с.
- 3) Муслимова Э.Ф., Ахмедов Ш.Д., Афанасьев С.А. Оценка экспрессии генов $\alpha 2+$ -транспортирующих белков $\alpha 2a 2$ и $\alpha 2u 2$ у больных хронической сердечной недостаточностью при наличии сахарного диабета 2-го типа // *Материалы III Российской мультидисциплинарной конференции с международным участием «Сахарный диабет-2019: от мониторинга к управлению»* / Под ред. А.Ю. Летягина, В.В. Климонтова. – 2019. – С. 108-111.
- 4) Skutikhin E.G., Peshina O.V., Rakhtomova A.V. et al. Endothelial Progenitor Cells as Pathogenetic and Diagnostic Factors, and Potential Targets for GLP-1 in Combination with Metabolic Syndrome and Chronic Obstructive Pulmonary Disease // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2019. – Vol. 20(5). – Стаття № 1105. DOI: 10.3390/ijms20051105.
- 5) Skutikhin E.G., Peshina O.V., Emtakova N.N., Emtakova L.A., Klyurin V.A. et al. Polytherapy with Reserpine and Glucagon-like Peptide-1 (GLP-1) Improves the Symptoms in Stereozotocin-Induced Type-1 Diabetic Mice by Reducing Inflammation and Inducing Beta Cell Regeneration // *Journal of Stem Cell Research & Therapy*. – 2018. – Vol. 8(8): 434. – P. 1-11. DOI: 10.4172/2157-7633.1000434.
- Скурихин Е.Г., Пахомова А.В., Еланчиков А.А. и др. Роль предшественников бета-клеток в регенерации продуцирующих инсулин бета-клеток поджелудочной железы под влиянием пептированной формы глюкагоноподобного пептида-1 // *Вопросы экспериментальной биологии и медицины*. – 2018. – Т. 165, № 5. – С. 587-591.

Ученый секретарь Томского НИМЦ,
К.Б.Н.

Подпись



И.Ю. Хитринская



Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
**«ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»**
(Томский НИМЦ)

Кооперативный пер., д. 5, Томск, 634009
Тел./ факс (3822) 51 10 39/ 51 40 97
E-mail: center@tnimc.ru

ОКПО 01895186, ОГРН 1027000861568,
ИНН/КПП 7019011979/701701001

20.03.2020 № 02-302/1

На № _____ от _____

Председателю
Диссертационного совета
Д 208.008.02 при ФГБОУ ВО
«Волгоградский государственный
медицинский университет»
Минздрава России
академику РАН Петрову В.И.

Глубокоуважаемый Владимир Иванович!

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» дает согласие выступить в качестве ведущей организации по диссертации Захарьящевой Ольги Юрьевны на тему: «Фармакологические свойства активаторов глюкокиназы – некоторых производных азотсодержащих гетероциклических соединений» по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология, представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Отзыв будет подготовлен в соответствии с требованиями п. 24 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, и направлен в диссертационный совет Д208.008.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России в установленные сроки.

Директор Томского НИМЦ,
член-корр. РАН, д.б.н., профессор



Степанов В. А.