

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Захарьящевой Ольги Юрьевны «Фармакологические свойства активаторов глюкокиназы – некоторых производных азотсодержащих гетероциклических соединений», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук в диссертационный совет Д 208.008.02 при Волгоградском государственном медицинском университете по специальности 14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология

Актуальность

Сахарный диабет представляет собой глобальную медико-социальную угрозу для здоровья человека и общества в целом, темпы роста распространенности которой приобрели масштаб мировой эпидемии [Дедов И. И., Шестакова, М. В., Викулова, О. К., Железнякова, А. В., Исаков, М. А. Сахарный диабет в Российской Федерации: распространенность, заболеваемость, смертность, параметры углеводного обмена и структура сахароснижающей терапии по данным федерального регистра сахарного диабета, статус 2017 г //Сахарный диабет. – 2018. – Т. 21. – №. 3.]. В настоящее время для клинического применения одобрены 11 классов антидиабетических лекарственных средств, и многие другие находятся в разработке, однако ни один из используемых препаратов не назначается в качестве монотерапии для достижения целевого уровня гликированного гемоглобина (HbA1c) – показателя, отражающего состояние компенсации углеводного обмена у больных СД.

Установлена регуляторная роль глюкокиназы в поддержании гомеостаза глюкозы при сахарном диабете, в связи с этим новый класс противодиабетических препаратов - активаторы глюкокиназы могут представлять интерес как важные синтетические объекты и потенциальные биологически активные вещества в разработке средств для лечения СД 2 типа, поскольку данный класс характеризуется 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., Suksumboon 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.]. Все вышеперечисленное вызывает высокий интерес к поиску активаторов глюкокиназы в качестве веществ для коррекции метаболизма при сахарном диабете.

Научная новизна исследования

В диссертации О.Ю. Захарьящевой содержатся подходы и научно обоснованные разработки, обеспечивающие решение важных задач экспериментальной фармакологии. Автором, в результате консенсусного виртуального скрининга *in silico* и экспериментального тестирования *in vitro* из 14 изученных скаффолдов, впервые было выявлено 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. Автором установлена взаимосвязь «структура-активность», в результате выявлен наиболее активный класс в отношении глюкокиназы – биспиридины.

Автором, также, 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.

Научно-практическая значимость исследования

Полученные данные о характере молекулярного взаимодействия активных соединений с аллостерическим сайтом ГК в дальнейшем могут быть использованы для направленного конструирования новых активаторов ГК с высокой активностью. 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* найдены антиоксидантные, хелатирующие и антиагрегантные свойства, а в исследованиях *in vivo* показано антитромботическое действие.

Научно-практическая значимость исследования подтверждается тремя патентами на изобретение РФ, полученными на выявленные соединения.

Полученные данные о способности новых производных биспиридина и тиазолобензимидазола активировать глюкокиназу используется при синтезе новых веществ в Научно-образовательном центре фармацевтики КФУ (г. Казань) и в НИИ ФОХ Южного Федерального университета (г. Ростов-на-Дону). В работе кафедры фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ 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) ВолгГМУ, фармацевтической и токсикологической химии ВолгГМУ, на кафедрах фармакологии Кубанского государственного медицинского университета и Сибирского государственного медицинского университета.

Достоверность и обоснованность основных положений и выводов диссертационной работы

Высокая степень достоверности научных положений, выводов и рекомендаций по полученным результатам в диссертационной работе О.Ю. Захарьящевой подтверждается достаточным объемом исследований *in silico*, *in vitro* и *in vivo* с использованием высокоточного оборудования, общепринятых и применяемых в современной экспериментальной фармакологии подходов к изучению механизмов действия, специфических и токсикологических свойств, адекватных методов статистической обработки данных.

Общая оценка содержания и оформления диссертации

Диссертационная работа изложена на 214 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 37 рисунками (а также 1 рисунком в приложении) и 40 таблицами. Работа оформлена в соответствии с существующими требованиями и состоит из введения, обзора литературы (глава I), материалов и методов (глава II), экспериментальной части (главы III-X), обсуждения результатов (XI), выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 190 источника, в том числе 160 зарубежных.

Во введении автор обосновывает актуальность темы диссертационного исследования и степень научной разработанности проблемы, ставит четкие цель и задачи, определяет научную новизну, теоретическую и практическую значимость, методологию и

методы, положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробацию результатов, личный вклад.

В первой главе автором приводится литературный обзор современного состояния изучаемой проблемы, дается подробный анализ данных за последнее время, подтверждающий актуальность потребности в создании и внедрении в клиническую практику новых, эффективных, безопасных препаратов для лечения сахарного диабета 2 типа. Второй раздел посвящен роли глюкокиназы печени и поджелудочной железы в обмене глюкозы и регуляции массы β -клеток. В заключительном разделе описываются современные активаторы глюкокиназы как новые, перспективные лекарственные средства для терапии СД2, активное исследование и внедрение в клиническую практику которых, вероятно, может способствовать повышению качества и продолжительности жизни у пациентов с сахарным диабетом 2 типа, а также снижению риска возникновения микро- и макрососудистых осложнений.

Во второй главе описываются материалы и методы, использованные автором в исследовании. Изложение последних состоит из подразделов, позволяющих легко ориентироваться в широком спектре фармакологических методов исследования. Используемые в диссертации методы исследования заслуживают высокой оценки.

В третьей главе автором представлены результаты проведения виртуального скрининга веществ на наличие глюкокиназной активности *in silico*, где выявлены возможные высокоактивные скаффолды как перспективные источники соединений для поиска активаторов глюкокиназы.

В четвертой главе описан экспериментальный скрининг 155 новых химических соединений по влиянию на активность глюкокиназы *in vitro* в концентрации 100 мкМ в сравнении с соединением PF-04937319 и проведен кластерный анализ глюкокиназной активности в соответствии с химическим классом. Наибольшее количество активных соединений являются производными биспиридина – количество субстанций с высокой ГК-активностью составило 4 из 5 (80%).

Во второй части четвертой главы представлен механизм молекулярного взаимодействия соединений NP-001 и NP-006 с активным аллостерическим сайтом глюкокиназы, а также данные анализа построенной нейронной сети.

В пятой главе приведены результаты исследования антигипергликемических свойств наиболее активных соединений. Активность изучаемых веществ определяли пероральным тестом толерантности к глюкозе (глюкозная нагрузка 2 г/кг) на интактных нелинейных крысах-самцах. В качестве препарата сравнения использовался вилдаглиптин (10 мг/кг). Установлено, что из 6 наиболее активных соединений, отобранных по итогам прогнозной оценки и экспериментальной проверки *in vitro*, гипогликемическое действие проявили соединения NP-001 и NP-006 при внутрибрюшинном пути введения.

В шестой главе представлены данные анализа влияния соединений NP-001, NP-006 и PF-04937319 на удельное количество инсулин-позитивных и глюкагон-позитивных клеток поджелудочной железы на модели экспериментального стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета I типа у мышей.

В седьмой главе автором проводится изучение влияния высокожировой диеты на уровень глюкозы и динамику веса мышей линии C57BL/6J при моделировании сахарного диабета 2 типа, где отмечалось характерное для изучаемой патологии нарушение толерантности к глюкозе; кроме того, установлено увеличение инсулинорезистентности по показателю HOMA-IR и выраженная гиперинсулинемия у данной группы мышей.

В восьмой главе представлены данные об изучении антидиабетической активности соединений NP-001 и NP-006 при хроническом введении. В первой части главы представлены результаты исследования влияния соединений NP-001 и NP-006 на уровень глюкозы крови и массу тела, на уровень инсулина плазмы крови, висцеральные жировые отложения, воспалительную реакцию мышечной ткани DIO-C57bl/6J.

Вторая часть восьмой главы посвящена результатам влияния соединений NP-001 и NP-006 на содержание холестерина, триглицеридов и ЛПНП плазмы крови, а также биохимические показатели печени мышечной ткани линии DIO-C57bl/6J.

В 9 главе исследовано влияние соединений NP-001 и NP-006 на механизмы развития поздних осложнений сахарного диабета, а именно изучены антиоксидантные, антигликирующие, хелатирующие, антиагрегантные и антитромбогенные свойства субстанций-лидеров.

Важным этапом при изучении биологических свойств новых соединений является определение токсикологических и фармакокинетических свойств наиболее активных веществ, результаты которых представлены в десятой главе. В данной главе было экспериментально определено, что субстанции NP-001 и NP-006 относятся к 4 классу малотоксичных соединений, что подтверждено данными виртуального прогноза *in silico*. Кроме того, по расчетным оценкам консенсусного прогноза ADMET характеристик был определен высокий средний индекс лекарственного подобия обоих веществ.

Глава 11 посвящена обсуждению полученных результатов. Автором представлен анализ современных литературных данных и собственных экспериментальных исследований, на основании которых обсуждены полученные результаты, и рассматриваются перспективы дальнейшего поиска веществ. В заключении автором кратко формулируются выводы и практические рекомендации по использованию результатов работы. Основные выводы диссертации соответствуют цели и поставленным задачам. Все задачи решены, выводы обоснованы, логично вытекают из представленного материала и дают основание для практических рекомендаций.

По материалам диссертации опубликовано 22 печатные работы, отражающие основные положения диссертации, в том числе 12 статей в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, получены 3 патента на изобретение.

Аннотация и опубликованные работы полностью отражают основное содержание диссертации.

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

1. Насколько обоснована рекомендация выявленного соединения-лидера как потенциального сахароснижающего средства для лечения сахарного диабета 2 типа при внутрибрюшинном введении?

2. Возможна ли комбинация активаторов глюкокиназы (ГКА) с метформином, будет ли она рациональной? И возможно ли при этом повышение риска развития лактат-ацидоза, как одного из редких побочных эффектов метформина?

3. С чем можно связать снижение массы тела на фоне введения исследуемых соединений-лидеров у животных с ожирением?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, 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, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение - изыскания и изучения новых активаторов глюкокиназы в качестве антидиабетических соединений, имеющие 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 О.Ю. Захарьящевой 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 кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент:
Заведующий кафедрой фармакологии
и клинической фармакологии
ФГАОУ ВО «Белгородский государственный
национальный исследовательский университет»
Минздрава РФ, д.м.н., профессор

М.В. Покровский

Подпись М.В. Покровского заверяю:

« » _____ 2020 г.

308015 г. Белгород, ул. Победы, 85
Тел.: +7 (4722) 30-12-11
Адрес электронной почты:
Info@bsu.edu.ru

Личную подпись
удостоверяю
Документовед
управления
по развитию
персонала и
кадровой работе



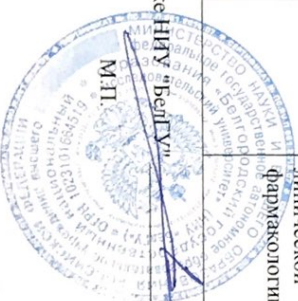
20 ____ г.

СВЕДЕНИЯ ОБ ОПОНЕНТЕ

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

Ф.И.О.	Год рождения, гражданство	Место основной работы (с указанием организации, ее ведомственной принадлежности, города), должность	Ученая степень (с указанием шифра специальности, по которой защищена диссертация)	Ученое звание (по специальности, кафедре)	Шифр специальности и отрасли науки	Основные 3 работы (за последние 3 года)
Покровский Михаил Владимирович	1960 РФ	Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»), директор НИИ Фармакологии живых систем НИУ «БелГУ», заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии	Доктор медицинских наук, 14.03.06- Фармакология, клиническая фармакология	Профессор	14.03.06- Фармакология, клиническая фармакология	1. Корокина М.В., Покровский М.В., Покровская Т.Г., Корокина Л.В. и др. Способ коррекции стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета у крыс с использованием лекарственного средства на основе амида гетероциклических кислот. Патент на изобретение RU 2687979, 17.05.2019. Заявка № 2018109513 от 19.03.2018. 2. Корокина Л.В., Покровский М.В., Кудрявцев К.В., Корокина М.В., Гудырев О.С., Голубев И.В. Пути поиска новых мишеней для фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции //Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2019. – Т. 82. – №. 9. – С. 36-44. 3. Shakhno E. A., Savitskaya T. A., Grinshpan D. D., Roktouskaya T. G., Yakushev V. I., Roktouskii M. V. L-Arginine–Cellulose–Acetate–Sulfate Complex and its Influence on Endothelial Dysfunction in Rats //Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2018. – Т. 51. – №. 11. – С. 970-974.

Проректор по науке НИУ «БелГУ» _____ Н.И.Ретников



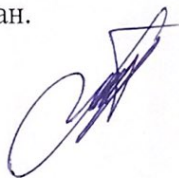
СОГЛАСИЕ ОППОНЕНТА

Я, Покровский Михаил Владимирович, доктор медицинских наук по специальности 14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», даю свое согласие выступить в качестве официального оппонента по диссертации Захарьяцевой Ольги Юрьевны «Фармакологические свойства активаторов глюкокиназы – некоторых производных азотсодержащих гетероциклических соединений» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология.

Членом экспертного совета ВАК не являюсь.

О месте и дате защиты информирован.

"10" марта 2020 г.



подпись

Подпись доктора медицинских наук, профессора Покровского Михаила Владимировича «удостоверяю».



308015 г. Белгород, ул. Победы, 85

Тел.: +7 (4722) 30-12-11

Адрес электронной почты:

Info@bsu.edu.ru