

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Тимофеевой Анны Самовны «Фармакологические свойства производных циклических гуанидинов – ингибиторов Na^+/H^+ обмена», 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

Основные принципы современной кардиопротекции направлены на сохранение коронарного кровотока, замедление ремоделирования камер сердца, повышение толерантности к повреждающему действию различных факторов. Среди новых подходов перспективным является использование соединений, влияющих на возникновение «ишемического прекондиционирования», своеобразной тренировки сердечной мышцы, увеличивающей ее адаптационные возможности к ишемии и реперфузии. Одной из таких групп являются ингибиторы NHE-1. Многократно подтвержденные в эксперименте кардиопротекторные свойства данных ингибиторов NHE-1 позволили начать клинические исследования. Спектр клинического применения включает профилактику риска инфаркта миокарда у больных с нестабильной стенокардией; при проведении операций по замене аортального клапана; сохранение ультраструктуры и восстановление функции донорских сердец при использовании консервирующих растворов, при остром инфаркте миокарда с помощью ангиопластики. Поскольку у данных веществ выявлены побочные эффекты, представляется целесообразным продолжить поиск соединений с новыми химическими структурами. В связи с этим исследования А.С.

Тимофеевой по изучению влияния новых производных циклических гуанидинов на Na^+/H^+ обмен, являются весьма актуальными.

Научная новизна исследования

Новизна исследования несомненна. Она заключается в изучении NHE-1–ингибирующей активности новых производных, содержащих циклическую гуанидиновую группу: N¹ и N⁹ имидазо[1,2-*a*]бензимидазола и 2–аминобензимидазола. В результате поиска высокоактивных соединений среди представителей вышеуказанных рядов, выявлено вещество-лидер под шифром РУ-1355. Соединение РУ-1355 по NHE-1–ингибирующему эффекту превосходило препарат сравнения зонипорид *in vitro*. Вещество эффективно снижало размер зоны некроза, рост миокардиального маркера повреждения тропонина I в плазме крови при длительной ишемии/реперфузии *in vivo*. Соединение РУ-1355 оказывало антиаритмические и антифибрилляторные эффекты. Впервые показана способность вещества РУ-1355 снижать повреждающее действие изопротеренола на миокард, улучшать сократительную активность миокарда и функциональные резервы при экспериментальной хронической недостаточности.

Научно-практическая значимость исследования

Выявленные закономерности между химической структурой и NHE-1–ингибирующей активностью производных циклических гуанидинов могут использоваться при синтезе новых соединений, а методические подходы к изучению кардиопротекторной активности - для проведения направленного поиска веществ с данным видом действия.

Все исследования выполнены на высоком методическом уровне. Полученные диссертантом результаты дают основание рассматривать

производные 2-аминобензимидазола для создания на их основе отечественные кардиопротекторные препараты.

Результаты диссертационного исследования рекомендуется использовать в некоторых разделах учебного процесса кафедр фармакологии.

Достоверность и обоснованность основных положений и выводов диссертационной работы

Эксперименты проведены на достаточном количестве животных. При выполнении исследований использованы современные методы изучения фармакологических эффектов, выполненные на высокотехнологичном сертифицированном оборудовании в соответствии с рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств с противоишемической активностью. Достоверность выводов не вызывает сомнения, так как представленные материалы обработаны с применением современных статистических методик и грамотно обобщены.

Общая оценка содержания и оформления диссертации

Диссертация Тимофеевой А. С. написана в традиционной манере и изложена на 175 страницах машинописного текста, иллюстрирована 24 таблицами, 34 рисунками, состоит из введения, обзора литературы (глава I), материалов и методов (глава II), экспериментальной части (главы III-VII), обсуждения результатов (глава VIII), выводов. Список литературы включает 131 отечественных и 48 иностранных источника.

Во введении автор аргументирует актуальность и степень разработанности исследования, четко формулирует цель и задачи работы, приводит данные о научной новизне, научно-практической значимости,

методологии и методах исследования, внедрении, степени достоверности и апробации результатов исследования, указывает положения, вынесенные на защиту.

В 1 главе обзора, представлены современные данные отечественной и зарубежной литературы об ингибиторах натрий–водородного обменника. В первом разделе рассматривается биологическая роль NHE-1: основные изоформы, строение, регуляция, физиологическое значение, а также участие в патологии сердечно-сосудистой системы. Второй раздел литературного обзора посвящен анализу известных на сегодняшний день селективных и неселективных блокаторов NHE-1. В заключительном разделе обзора рассматриваются производные циклических гуанидинов как потенциальные высокоселективные ингибиторы NHE-1.

Во 2-й главе автором описаны использованные методы экспериментальных исследований. Все эксперименты были одобрены Этическим комитетом Волгоградского государственного медицинского университета протокол № 126-2011 от 02 февраля 2011 года. Исследуемые вещества синтезированы в НИИ физической и органической химии Южного федерального университета ведущим научным сотрудником, к.х.н. В.А. Анисимовой. Было изучено влияние исследуемых соединений по методу [Roskopf, 1991; Kusumoto, 2002], на степень светопропускания тромбоцитов *in vitro*. Проведен метод исследования количественной связи между химической структурой веществ и их биологической активностью – QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationships) анализ, основанный на описании структуры соединения с помощью набора числовых характеристик и построении корреляций между величиной активности и их значениями. В условиях *in vivo* проводилась оценка противоишемической, антиаритмической,

антифибрилляторной и антиремоделирующей активности. Для статистической обработки использовали непараметрический метод сравнения независимых групп с помощью U-критерия Манна-Уитни («Statistica 6.0»). Гипотезу о существовании различий между выборками принимали при уровне $p < 0,05$.

В 3-й главе приведены результаты экспериментального поиска веществ с NHE-1-ингибирующей активностью в ряду новых производных циклических гуанидинов *in silico*, *in vitro*. Исследована зависимость высокой NHE-1-блокирующей активности производных имидазо[1,2-*a*]бензимидазола и 2-аминобензимидазола. С использованием «средних» и «супремальных» оценок NHE-1-ингибирующей активности производных циклических гуанидинов было показано, что бициклический кор - базовая структура неконденсированного 2-аминобензимидазола является наиболее перспективной структурой для поиска новых высоко активных ингибиторов NHE-1. Производные 2-аминобензимидазола являются наиболее активным классом не только в плане вклада базового химического ко́ра в общий уровень активности, но и в плане усиления этой активности за счет введения дополнительных заместителей. В результате проведенного поиска для дальнейшего углубленного изучения данной активности в норме и при экспериментальной патологии было выбрано соединение РУ-1355.

В 4-й главе представлен подробный анализ выраженного противоишемического влияния нового производного 2-аминобензимидазола соединения РУ-1355 на модели 60-ти минутной ишемии с последующей 60-ти минутной реперфузией у крыс. Было выявлено, что в условиях патологии исследуемое соединение ограничивало зону некроза и превосходило препарат сравнения зонипорид. Кроме того показано влияние данного вещества на ограничение роста в плазме крови маркера повреждения миокарда тропонина I.

В 5 главе диссертант описывает антиаритмическое и антифибрилляторное действие соединения РУ-1355 на моделях длительной и кратковременной ишемии/реперфузии у крыс. Проведена оценка эффективности действия данного вещества на порог электрических фибрилляций желудочков сердца, во время проведения серий прямоугольных электрических импульсов. Также изучено влияние соединения РУ-1355 на основные параметры ЭКГ у крыс.

Шестая глава включает изучение кардиопротекторных свойств соединения РУ-1355 на модели хронической сердечной недостаточности. Диссертантом было исследовано влияние вещества и препарата сравнения милдроната на сократительную активность миокарда при экспериментальной ХСН у крыс при проведении пред- и постнагрузок. Изучено влияние исследуемого вещества на маркеры повреждения тропонина I в плазме крови и МДА в тканях миокарда. Кроме того в данной главе были изучены морфологические изменения миокарда, как по общей плотности, так и по уровню коллагена соединительной ткани.

В 7 главе диссертант подробно описывает изучение общетоксикологических свойств соединения РУ-1355. В результате проведённого исследования установлено, что вещество РУ-1355 в эффективной дозе не влияло на эмоциональное поведение животных, нервно-мышечную возбудимость, двигательную активность, мышечную координацию и не вызывало изменений со стороны вегетативной нервной системы. В дозе 25 мг/кг (1/14 LD₅₀), наблюдается снижения спонтанной двигательной активности, координации, расслабляющего эффекта, угнетение горизонтальной активности и уровня эмоционального реагирования.

В восьмой главе приводится подробное обсуждение полученных результатов, их сопоставление с современными литературными данными,

рассматриваются перспективы дальнейшего поиска веществ с NHE-1-ингибирующей активностью.

Диссертация завершается 9 выводами, основанными на результатах анализа полученных данных. Автореферат отражает основные положения диссертации и оформлен в соответствии с современными требованиями. По материалам диссертации опубликовано 28 работ (в том числе 3 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендуемых Минобрнауки РФ, 3 патента на изобретения).

Принципиальных возражений по работе нет, однако имеются вопросы, которые носят уточняющий характер и не умаляют общей положительной оценки работы.

1. Могут ли исследуемые соединения под лабораторным шифром РУ влиять на Na^+/H^+ обменник интактных органов?
2. Почему в исследованиях в качестве потенциальных блокаторов Na^+/H^+ обменника были выбраны производные бензимидазолов?
3. Влияет ли ваше соединение-лидер на диурез и салурез?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Тимофеевой Анны Самовны «Фармакологические свойства производных циклических гуанидинов – ингибиторов Na^+/H^+ обмена», представленная на соискание ученой степени кандидата 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 и объему проведенной работы, методическому уровню выполнения, новизне, достоверности и значимости полученных результатов диссертация Тимофеевой Анны Самовны «Фармакологические свойства производных циклических гуанидинов – ингибиторов Na^+/H^+ обмена» 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 кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

Заведующий кафедрой
фармакологии Белгородского
государственного национального
исследовательского университета.
доктор медицинских наук,
профессор

М.В. Покровский

« » _____ 2015 года

Адрес: РОССИЯ, 308015, Белгород, ул. Победы, 85
Телефон: 8 910 314 73 93
E-mail: mpokrovsky@yandex.ru

Публикации, близкие по тематике диссертационного исследования

1. Использование L-аргинина в коррекции эндотелиальной дисфункции при экспериментальной преэклампсии / Покровский М.В., Покровская Т.Г., Гуреев В.В., Барсук А.А., Проскурякова Е.В., Корокин М.В., Гудырев О.С., Белоус А.С., Кочкаров В.И., Даниленко Л.М., Левашова О.В., Мальцева Н.В., Полянская О.С. // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2012.-Т. 75, № 2.-С. 14-16.
2. Коррекция дистантным ишемическим прекондиционированием эндотелиальной дисфункции при adma-подобном экспериментальном гестозе / Гуреев В.В., Покровский М.В., Должиков А.А., Алехин С.А., Должикова И.Н., Гуреева Е.Г., Колесник И.М., Головченко И.О., Корокин М.В. // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация.-2012.- Т. 17, № 4-1 (123).- С. 128-134.
3. Коррекция эндотелиальной дисфункции комбинацией L-норвалина и мексидола / Коновалова Е.Л., Черноморцева Е.С., Покровский М.В., Покровская Т.Г., Дудина Э.Н., Лопатин Д.В., Денисюк Т.А., Котельникова Л.В., Лесовая Ж.С. // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация.- 2012. -Т. 17, № 4-1 (123).- С. 175-181