

официального оппонента профессора Резникова Константина Михайловича о диссертации 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

Поиск селективно действующих биологически активных веществ и установление для них новых акцепторов в тканях организма является важной задачей современной фармакологии. Различные виды повреждений миокарда сопровождаются нарушениями натрий-протонных процессов, инициированных патогенными факторами, эти процессы могут быть объектами действия лекарственных средств. Диссертационная работа Тимофеевой Анны Самовны, посвящена проблеме поиска и изучения кардиопротекторных свойств новых ингибиторов Na^+/H^+ обмена среди производных циклических гуанидинов и является весьма актуальной, поскольку позволяет наметить пути создания высокоэффективных селективно действующих лекарственных средств для коррекции различных состояний, возникающих при патологии сердца. Диссертационное исследование входит в план НИР Волгоградского медицинского университета.

Научная новизна исследования

Научная новизна диссертации заключается в выявлении активных соединений, относящихся к классу новых производных циклических гуанидинов, определении взаимоотношений структура-действие в исследованиях *in silico*, *in vitro* и *in vivo*, связанных с их высокой NHE-1-ингибирующей активностью.

В работе впервые была изучена NHE-1–ингибирующая активность новых производных, содержащих циклическую гуанидиновую группу: N¹ и N⁹ имидазо[1,2-*a*]бензимидазола и 2–аминобензимидазола. На основании этого показано, что выраженность NHE-1-ингибирующих свойств производных 2–аминобензимидазола определяется наличием аминогруппы в положении C₂, диэтиламиноэтильного, пиперидиноэтильного или морфолиноэтильного заместителя в N¹, фторбензоилметила в N³.

Комплексное исследование наиболее активного по NHE-1-ингибирующему действию соединения РУ-1355 из указанной химической группы, впервые показало его кардиопротекторную активность. Кроме того, установлено, что данное вещество обладает противоишемическим, антифибрилляторным и антиремоделирующим действием на моделях длительной и кратковременной ишемии/реперфузии, экспериментальной хронической сердечной недостаточности. Исследование проведено с использованием новой оригинальной мишени воздействия на NHE-1, имеющей большое значение в развитии ишемических повреждений в органах. Подобные исследования проводятся только в Волгограде под руководством Академика РАН А.А. Спасова. На основании анализа новизны исследования можно считать, что соискателем предложена новая научная идея – разработка на основе производного бензимидазола (лаб. шифр РУ1355) эффективных средств с кардиопротекторной активностью, дополняющая научную концепцию о путях поиска кардиотропных средств.

Научно-практическая значимость исследования

Выявленные в диссертации закономерности зависимости NHE-1-ингибирующей активности новых производных циклических гуанидинов от их химической структуры могут использоваться при синтезе новых веществ, а методы выявления высокоактивных соединений, способных модифицировать процессы ишемии кардиомиоцитов для проведения

направленного поиска соединений с противоишемическими свойствами в фармакологических лабораториях. Полученные данные подтверждают новое перспективное направление поиска и создания эффективных лекарственных препаратов для лечения патологий сердца.

Теоретические и прикладные положения диссертационного исследования рекомендуется использовать в некоторых разделах учебного процесса кафедр фармакологии, а именно: раздел - общая фармакология и раздел - лекарственные препараты, оказывающие влияние на сердечно-сосудистую систему.

Достоверность и обоснованность основных положений и выводов диссертационной работы

Эксперименты проведены на достаточном количестве лабораторных животных трёх видов с соблюдением принципов гуманного отношения к ним и правил их содержания. Рациональное распределение животных по группам и однотипный подход к организации каждого эксперимента позволили получить воспроизводимые результаты. В работе использованы современные методы оценки фармакологических эффектов, полученных на сертифицированном оборудовании в соответствии с рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств. В диссертации представлены цифровые материалы в таблицах и графиках, позволившие провести сопоставительный анализ и сформулировать основные положения научного исследования. Использование известных препаратов позитивного контроля и стандартное получение цифровых материалов 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 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.

В работе представлены основные вопросы цели исследования, а критерий внутреннего единства подтверждается последовательностью изложения полученных материалов, непротиворечивыми научными фактами и тесной взаимосвязью с ними выводов.

Введение содержит 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.

В обзоре литературы, которому посвящена 1 глава диссертации, подробно изложены современные представления об ингибиторах Na^+/H^+ обмена. Также детально рассмотрен класс производных циклических гуанидинов, имеющих широкий спектр биологической активности на основании данных литературы обоснован поиск среди данного класса веществ, препаратов, ингибирующих NHE-1. Заслуживает похвалы использование достаточного количества иллюстраций для визуализации физиологических и метаболических процессов. Желательно более подробно проанализировать стереоархитектонику кардиомиоцитов при анализе механизмов возникновения сердечной недостаточности и аритмий.

Во 2-й главе автором описаны методы экспериментальных исследований. В работе использованы современные методы, согласно современным руководствам по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Кардиопротекторные свойства изучали на модели хронической сердечной недостаточности с использованием

изопротереноловой интоксикации согласно методам [Ennis, 2003; Shibata, 2011]. Подобные модели были разработаны нами ещё 35 лет назад (получены 2 патента). Хотелось бы получить разъяснение о необходимости использования нескольких методов состояния сердца (ЭКГ, морфология, тропонин плазмы). Используются современные статистические методы для доказательства достоверности результатов включая множественный пошаговый регрессионный анализ, с отбором значимых переменных в режиме обратного отжига и корреляционный анализ в исследованиях *in silico*.

В 3-й главе приведены материалы изучения влияния новых производных циклических гуанидинов на процессы светопропускания тромбоцитов *in vitro*, а также зависимость их NHE-1-ингибирующей активности от химической структуры. На основании данных по острой токсичности, в соответствии с классификацией токсичности веществ [Березовская, 2003], исследуемые производные 2-аминобензимидазола были отнесены к классу умеренно токсичных (3 класс). Было найдено соединение-лидер РУ-1355, которое по уровню NHE-1 ингибирующей активности статистически значимо превосходило препарат позитивного контроля зонипорид по величине EC_{50} .

В 4-й главе автором показано противоишемическое действие нового производного 2-аминобензимидазола, что проиллюстрировано на большом количестве экспериментальных моделей.

Пятая глава содержит информацию по изучению антиаритмических и антифибрилляторных свойств соединения РУ-1355. Исследуемое соединение уменьшало тяжесть постреперфузионных нарушений ритма подобно препарату сравнения зонипорид. Было показано позитивное действие данного вещества на порог электрических фибрилляций желудочков сердца. В дополнение было изучено влияние соединения РУ-1355 на основные параметры ЭКГ у крыс.

В 6 главе представлены результаты исследования кардиопротекторных свойств соединения РУ-1355 на модели экспериментальной хронической сердечной недостаточности. Было изучено влияние соединения-лидера и препарата сравнения милдроната на сократительную активность миокарда у крыс при проведении пред- и постнагрузок. Исследовано влияние вещества РУ-1355 на маркеры повреждения тропонина I в плазме крови и МДА в тканях миокарда. Кроме того, в данной главе представлены материалы по изучению морфологических изменений миокарда.

В 7 главе диссертант описывает изучение общетоксикологических свойств соединения РУ-1355. Было показано, что исследуемое соединение в дозе 1 мг/кг не влияло на эмоциональное поведение животных, нервно-мышечную возбудимость, двигательную активность, мышечную координацию и не вызывало изменений в вегетативной нервной системе.

В последней (8-й) главе автор проводит детальное обсуждение полученных результатов с учетом материалов современной литературы. Все основные положения достаточно обоснованы и аргументированы.

На основании полученных данных работа логично завершается 9 выводами, которые отражают суть полученных сведений. В диссертации достигнута поставленная цель, поэтому она является законченной научно-исследовательской работой, выполненной на актуальную тему с использованием современных методов.

Автореферат отражает основные положения диссертации и оформлен в соответствии с современными требованиями.

По материалам диссертации опубликовано 28 печатных работ, в том числе 3 работы в журналах, рекомендуемых ВАК и 3 патента.

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

1. Из обзора литературы диссертации известно, что некоторые ингибиторы NHE-1 испытывались в клинической практике. Каковы результаты этих исследований, и какие были выявлены побочные эффекты?

2. Могут ли блокаторы NHE-1 быть эффективными при ишемии/реперфузии других органов – мозга, печени, почек и т.д.?

3. Как влияет изучаемое вами вещество РУ-1355 на другие подтипы NHE-1?

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, направленным на решение актуальной проблемы фармакологии по созданию эффективных и безопасных лекарственных средств, предназначенных для ингибирования Na^+/H^+ обмена.

По актуальности темы, методическому уровню выполнения, новизне и научно-практической 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, а диссертант заслуживает присвоения искомой степени.

Официальный оппонент:
заведующий кафедрой
фармакологии ВГМУ
имени Н.Н. Бурденко,
заслуженный деятель науки РФ,
д.м.н., профессор

К.М. Резников

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