

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе
государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
профессионального образования «Первый
Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет имени академика
И. П. Павлова» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
член-корреспондент РАН, доктор
медицинских наук, профессор:

_____ Ю.С. Полушин

19 ноября 2015 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Гуровой Наталии
Алексеевны "Производные бензимидазолов – новый класс
кардиопротекторных средств", представленной к защите на соискание учёной
степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 –
фармакология, клиническая фармакология.

Актуальность темы диссертационного исследования

Несмотря на достижения хирургических и фармакотерапевтических
методов лечения сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), проблема
кардиопротекции остается социально значимой, а поиск препаратов
определяет потребности здравоохранения. Одной из основных задач развития
научных исследований является создание новых лекарственных средств,
модулирующих эндогенный защитный потенциал органов ССЗ.

Известно о значительном влиянии ремоделирования сердца на
становление, развитие и прогрессирование ССЗ и их осложнений, в том
числе смертности. Поэтому для современных кардиотропных препаратов
большое значение имеет контроль над ионными, электрофизиологическими,

гемодинамическими и морфологическими компонентами ремоделирования миокарда.

Хотя в настоящее время процессы ремоделирования миокарда на системном, органном, молекулярном уровнях хорошо изучены и определены возможные мишени для лекарственных препаратов, степень фармакологической поддержки данного направления недостаточна. Это касается не только свойств известных лекарственных препаратов, но и поиска соединений, тормозящих и/или вызывающих обратное развитие процессов ремоделирования.

Среди производных бензимидазолов найдены соединения с кардиопротекторной активностью, в том числе вещества, способные стабилизировать работу сердца в условиях гипоксии и снижать агрегацию тромбоцитов; ингибирующие натрий-водородный обменник 1 изоформы (NHE-1); проявляющие признаки высокого сродства к ионным каналам, антиаритмические и инотропные препараты. Это подтверждает целесообразность проведения направленного поиска кардиопротекторов среди соединений данного класса с экспериментальным изучением их фармакологического потенциала.

Таким образом, актуальность диссертационного исследования Гуровой Наталии Алексеевны, посвященного проблеме направленного поиска веществ, оказывающих кардиопротекторное (ремоделирующее) действие, среди новых производных конденсированных и неконденсированных бензимидазолов, обладающих NHE-1-ингибирующими, антифосфодиэстеразными свойствами и блокирующими трансмембранные ионные токи с использованием методов фармакологии и медицинской химии, не вызывает сомнений.

Научная новизна исследования

В диссертационном исследовании автором впервые был проведен консенсусный прогноз в системе PASS и с помощью ИТ «Микрокосм» перспективности поиска веществ с кардиопротекторной активностью (19

видов биологической активности, релевантных антиаритмическому, противоишемическому, кардиотоническому действию) для 1393 конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола (N^1 -бензимидазола; 2,3-дигидро- N^1 -бензимидазола; N^9 -имидазо-[1,2-*a*]-бензимидазола; N^9 -2,3-дигидро-имидазо[1,2-*a*]-бензимидазола; N^1 -имидазо-[1,2-*a*]-бензимидазола; N^1 -2,3-дигидро-имидазо-[1,2-*a*]-бензимидазола; пиразоло[1,5-*a*]-бензимидазола; пиролло[1,2-*a*]-бензимидазола; тиазоло[3,2-*a*]-бензимидазола; 1,2,4-триазоло[1,5-*a*]-бензимидазола; пиримидо-[1,2-*a*]-бензимидазола, N^1, N^9 -имидазо[1,2-*a*]-бензимидазола).

Была создана иерархическая система целенаправленного поиска *in silico* новых эффективных противоишемических, антиаритмических и кардиотонических соединений с заданным механизмом действия. Проведен многоэтапный итеративный виртуальный и экспериментальный скрининг 468 соединений по влиянию на рефрактерность миокарда (способность увеличивать продолжительность рефрактерного периода), 59 соединений – на наличие NHE-1-ингибирующего действия, 60 соединений – антифосфодиэстеразной активности. *In silico* найдены значимые признаки высокого уровня антиаритмической активности: производные N^9 -имидазобензимидазола и N^1 -имидазобензимидазола, содержащие в положении R_2 - фенильный и в положении R_3 - диэтиламиноэтильный заместители. Выявлено, что наиболее перспективными для разработки структурно новых противоишемических соединений с NHE-ингибирующей активностью являются соединения класса N^1 -замещенных 2-аминобензимидазола, содержащие в положениях N^1 морфолиноэтильный заместитель.

Были определены некоторые общие закономерности между химическим строением производных бензимидазола и кардиопротекторной активностью. Основываясь на совокупности изученных антиаритмических, противоишемических, кардиотонических свойств был построен

интегральный системный скаффолд, детерминирующий высокий уровень кардиопротекторной активности.

Были выявлены потенциальные 2D-фармакофоры соединений, обладающих высокими уровнями активности, релевантной кардиопротекторной, которые являются фрагментами интегрального скаффолда и могут быть ответственными за взаимодействие с биомишенями.

Впервые на моделях коронарогенного и некоронарогенного повреждения миокарда *in vivo* были получены данные об антиремоделлирующих свойствах соединений-лидеров: ингибиторов NHE-1 вещества РУ-1355 в сравнении с зонипоридом, антифибрилляторных веществ амфедазола с амиодароном, ингибиторов фосфодиэстеразы соединения РУ-539 и амринона. Оценены возможные кардиальные и экстракардиальные побочные эффекты в эффективных дозах, а также острая токсичность высокоактивных соединений РУ-1355, амфедазола, РУ-539.

Научная и практическая значимость исследования

В результате экспериментального поиска среди конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола новых веществ была сформирована база данных соединений, ингибирующих NHE-1, влияющих на рефрактерность изолированных предсердий крыс и сократительную активность изолированных предсердий крыс у соединений с антифосфодиэстеразной активностью.

Установленные *in silico* значимые признаки высокого уровня NHE-ингибирующего и антифибрилляторного эффектов могут использоваться для направленного синтеза и поиска новых высокоактивных соединений.

Построенный интегральный скаффолд может быть использован для поиска новых кардиотропных веществ, обладающих высокой кардиопротекторной активностью и сбалансированных по трем изучаемым видам действия.

Результаты расширенных фармакологических исследований *in vivo* подтвердили выраженные антиремоделлирующие (противоишемические,

антифибрилляторные и инотропные) свойства соединения РУ-1355 с выраженной NHE-ингибирующей активностью, амфедазола, проявляющего свойства антиаритмического вещества III класса, соединения РУ-539 с антифосфодиэстеразной активностью, и свидетельствуют о необходимости проведения расширенных доклинических исследований.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений

Все положения, постулируемые автором, выводы и заключения обоснованы и логично вытекают из текста диссертации.

В работе использованы современные высокоинформативные методы исследования *in silico*, *in vitro* и *in vivo* кардиопротекторной активности производных безимидазола в соответствии с методическими рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств, также методы, имеющихся в ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» МЗ РФ (ВолгГМУ), НИИ фармакологии ВолгГМУ и ГБУ "Волгоградский медицинский научный центр" (ГБУ ВМНЦ).

Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается также достаточным объемом экспериментальных исследований, проведенных на нелинейных половозрелых мышах (174) и крысах (860) обоего пола, 60 кошках обоего пола, 15 кроликах-самцах породы «Шиншилла»; использованием высокотехнологического оборудования и специфических маркеров, а также параметрических и непараметрических критериев статистической обработки данных.

Структура и содержание работы

Диссертация оформлена в соответствии с существующими требованиями, написана грамотным литературным языком, изложена на 277 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 34 рисунками и 40 таблицами. Работа состоит из введения, обзора литературы (глава I), экспериментальной части (главы II-VI), обсуждения результатов, выводов,

практических рекомендаций, списка литературы, включающего 480 источников, в том числе 272 зарубежных, и приложений.

Введение содержит обоснование актуальности темы диссертационного исследования и степень научной разработанности проблемы, четкие цель и задачи, научную новизну, теоретическую и практическую значимость, методологию и методы, реализацию результатов исследования, положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, личный вклад автора.

В диссертации автором проведен подробный анализ зарубежной и отечественной литературы, подтверждающий перспективность производных бензимидазола для поиска кардиопротекторных средств.

В последующих главах представлены результаты направленного поиска высокоактивных соединений среди различных классов конденсированных и неконденсированных бензимидазолов с антиаритмической, противоишемической и инотропной активностями; расширенный комплексный анализ *in silico*, выявлены определенные закономерности влияния типа базовой структуры, заместителей и их положения на высокий уровень активности, построены целевые и интегральный скаффолды.

Описаны и проиллюстрированы результаты доклинического изучения антиремоделирующих (противоишемических, антифибрилляторных и инотропных) эффектов и возможных механизмов действия соединения РУ-1355, амфедазола, соединения РУ-539. Диссертация завершается 10 выводами, основанными на полученных результатах, и практическими рекомендациями. Выводы полностью аргументированы, в полной мере отражают результаты исследования, соответствуют поставленной цели и задачам. Практические рекомендации сформулированы конкретно, научно обоснованы, соответствуют представленному фактическому материалу.

Основное содержание диссертационной работы отражено в автореферате и 47 публикациях, в том числе в 16 статьях, опубликованных в

изданиях, рекомендованных ВАК РФ, и 6 патентах на изобретения.

Материалы диссертации докладывались и обсуждались на IV Международном славянском конгрессе по электростимуляции и клинической электрофизиологии сердца, Санкт-Петербург, 2000 г.; IV, V Международных научно-практических конференциях "Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины: материалы", Ростов-на-Дону, 2011, 2012 гг.; Всероссийской конференции с международным участием, посвящённой 85-летию со дня рождения В.А. Кухтина «Современные проблемы химической науки и фармации» Чебоксары, 2014; V Всероссийском научно-практическом семинаре «Геномные и протеомные технологии при создании лекарственных средств», Волгоград, 2013 г.; XVII, XVIII, XIX, XIX Российских национальных конгрессах «ЧЕЛОВЕК И ЛЕКАРСТВО», Москва, 2009, 2010, 2011, 2012 гг.; III съезде фармакологов России «Фармакология – практическому здравоохранению», Санкт-Петербург, 2007; IV съезде фармакологов России «Инновации в современной фармакологии», Казань, 2012 г.; Первой Российской конференции по медицинской химии (MedChemRussia-2013) с международным участием, Москва, 2013 г.; Втором международном конгрессе «ЕвразияБио-2010» Москва, 2010 г.; 5-th International Symposium "Methods and Applications of Computational Chemistry", Kharkiv, Ukraine, 2013; 20th EuroQSAR Understanding Chemical-Biological Interactions, St-Peterburg, 2014; Всероссийской конференции с международным участием, посвящённая 90-летию со дня рождения академика АМН СССР Артура Викторовича Вальдмана «Инновации в фармакологии: от теории к практике», Санкт-Петербург, 2014.

Результаты настоящего диссертационного исследования сопоставимы с данными научных исследований отечественных и зарубежных авторов по разрабатываемой проблеме и являются научно обоснованными.

Автореферат диссертации и опубликованные печатные работы полно отражают основные положения исследования.

Рекомендации по использованию результатов и выводов

диссертации

Созданные базы данных конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола, ингибирующих NHE-1, влияющих на рефрактерность изолированных предсердий крыс и сократительную активность изолированных предсердий крыс у соединений с антифосфодиэстеразной активностью, выявленные зависимости влияния типа базовой структуры и заместителей на уровни NHE-ингибирующего и антифибрилляторного эффектов, целевые и интегральные скаффолды, возможные фармакофорные фрагменты могут быть использованы для направленного синтеза и поиска новых высокоактивных соединений, а также включены в учебный материал для студентов медицинских высших учебных заведений.

Результаты исследования позволяют рекомендовать использование предложенной автором иерархической системы целенаправленного поиска *in silico* новых кардиопротекторных соединений научно-исследовательскими подразделениями, в том числе кафедр ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, НИИ фармакологии ВолгГМУ, Волгоградского медицинского научного центра, кафедр фармакологии Саратовского государственного медицинского университета, Пермского государственного медицинского университета имени академика Е.А. Вагнера, Воронежской государственной медицинской академии имени Н.Н. Бурденко, Белгородского государственного национального исследовательского университета.

Коллективу кафедры фармакологии ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России следует продолжить изучение антиаритмических, NHE-ингибирующих и инотропных эффектов гетероциклических соединений, содержащие возможные фармакофорные фрагменты, других классов соединений в ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Замечания к работе

Принципиальных замечаний по рецензируемому диссертационному материалу и оформлению работы нет. В диссертации присутствует небольшое количество грамматических, стилистических ошибок. Указанные замечания не снижают научно-практической значимости исследования и не влияют на общую положительную оценку диссертации.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Гуровой Наталии Алексеевны на тему: "Производные бензимидазолов – новый класс кардиопротекторных средств", представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология, является законченной научно-квалификационной работой, которая содержит новое решение актуальной научной проблемы фармакологии – оптимизации поиска и изучения новых кардиопротекторных соединений среди конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола.

По своей актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов представленная работа соответствует 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 доктора медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

Отзыв обсужден на заседании кафедры фармакологии Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол №11 от 18 ноября 2015 года.

Заведующий кафедрой фармакологии,
Государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
профессионального образования
«Первый Санкт-Петербургский
государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
доктор медицинских наук,
профессор

Э.Э. Звартау

Подпись доктора медицинских наук, профессора Эдвина Эдуардовича
Звартау заверяю.

Специалист по кадрам Административного отдела
ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова

Я.В. Позднякова

Публикации, близкие к тематике диссертационного исследования

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова). 197022, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8
Административный отдел 8 (812) 338-78-95; Приемная ректора 8 (812) 338-67-99.
e-Mail: info@1spbgmu.ru, bhsm@mail.ru

1. КАРДИОПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ НЕКРОСТАТИНА-7 НА МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА У КРЫС Дмитриев Ю.В., Карпов А.А., Драчева А.В., Минасян С.М., Чефу С.Г., Васина Л.В., Демченко Е.А., Галагудза М.М. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2015. Т. 101. № 4. С. 408-414.

2. БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТЬ ТАБЛЕТИРОВАННЫХ ФОРМ ПРЕПАРАТОВ МЕМАНТИНОЛ (РОССИЯ) И АКАТИНОЛ МЕМАНТИН (ГЕРМАНИЯ) Мирошкина А.В., Артеева Т.Е., Вербицкая Е.В., Дей Г.Г., Кетлинская О.С., Звартау Э.Э., Трофимов В.И. Клиническая фармакология и терапия. 2015. Т. 24. № 1. С. 72-75.
3. ИЗМЕНЕНИЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ И ИОННЫХ ТОКОВ НЕЙРОНОВ МОЛЛЮСКОВ ПРИ ВНЕ И ВНУТРИКЛЕТОЧНОМ ДЕЙСТВИИ СЕВОФЛУРАНА И ДЕСФЛУРАНА Вислобоков А.И., Звартау Э.Э., Полушин Ю.С., Алферова В.В., Буханков И.Г. Вестник анестезиологии и реаниматологии. 2015. Т. 12. № 2. С. 65-75.
4. МОДЕЛИРОВАНИЕ ПОСТИНФАРКТНОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПУТЕМ ОККЛЮЗИИ ЛЕВОЙ КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ У КРЫС: ТЕХНИКА И МЕТОДЫ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ Карпов А.А., Ивкин Д.Ю., Драчева А.В., Питухина Н.Н., Успенская Ю.К., Ваулина Д.Д., Усков И.С., Эйвазова Ш.Д., Минасян С.М., Власов Т.Д., Бурякина А.В., Галагудза М.М. Биомедицина. 2014. Т. 1. № 3. С. 32-48.
5. СОМАТОСИМПАТИЧЕСКИЙ И СОМАТОСОМАТИЧЕСКИЙ РЕФЛЕКСЫ У КРЫС СО СПОНТАННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ Щербин Ю.И., Цырлин В.А. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2014. Т. 100. № 1. С. 61-72.
6. КАРДИОПРОТЕКЦИЯ фундаментальные и клинические аспекты Шляхто Е.В., Петрищев Н.Н., Галагудза М.М., Власов Т.Д., Нифонтов Е.М. / — СПб.: ООО Студия «НП-Принт», 2013. — 399 с
7. ДОЛГОВРЕМЕННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ: ФАКТЫ И ГИПОТЕЗЫ Цырлин В.А. Успехи физиологических наук. 2013. Т. 44. № 2. С. 14-29.
8. ARTERIAL BARORECEPTOR REFLEX COUNTERACTS LONG-TERM BLOOD PRESSURE INCREASE IN THE RAT MODEL OF RENOVASCULAR HYPERTENSION Tsyrlin V.A., Galagudza M.M., Kuzmenko N.V., Pliss M.G., Rubanova N.S., Shcherbin Yu.I. PLoS ONE. 2013. Т. 8. № 6. С. e64788.
9. СРАВНИТЕЛЬНАЯ МЕМБРАНОТРОПНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНОГО ИНДОЛА SS-68 И АМИОДАРОНА НА НЕЙРОНАХ МОЛЛЮСКОВ Вислобоков А.И., Богус С.К., Игнатов Ю.Д., Галенко-Ярошевский П.А., Мельников К.Н. Новые технологии. 2012. № 4. С. 283-290.
10. ИШЕМИЯ-РЕПЕРFUЗИЯ МИОКАРДА: ПОВРЕЖДЕНИЕ И АДАПТАЦИЯ. учебное пособие: [в 2 ч.] / М. М. Галагудза, Т. Д. Власов, Е. М. Нифонтов ; М-во здравоохранения и социального развития РФ, ГОУ ВПО "Санкт-Петербургский гос. мед. ун-т им. И. П. Павлова", ФГУ "Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова". Санкт-Петербург, 2011. (2-е изд.)
11. ОГЛУШЕННЫЙ (СТАННИРОВАННЫЙ) МИОКАРД: МЕХАНИЗМЫ И КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ Галагудза М.М. Трансляционная медицина. 2011. № 2. С. 5-12.
12. EFFECTS OF ALCOHOL WITHDRAWAL ON CARDIOVASCULAR SYSTEM Kähkönen S., Zvartau E., Lipsanen J., Bondarenko B. Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry. 2011. Т. 35. № 2. С. 550-553.
13. THE EFFECTS OF THE CARDIAC MYOSIN ACTIVATOR, OMECAMTIV MECARBIL, ON CARDIAC FUNCTION IN SYSTOLIC HEART FAILURE: A DOUBLE-BLIND, PLACEBO-CONTROLLED, CROSSOVER, DOSE-RANGING PHASE 2 TRIAL Cleland J.G.F., Teerlink J.R., Senior R., Nifontov E.M., McMurray J.J.V., Lang C.C., Tsyrlin V.A., Greenberg B.H., Mayet J., Francis D.P., Shaburishvili T., Monaghan M., Saltzberg M., Neyses L., Wasserman S.M., Clarke C.P., Goldman J.H., Lee J.H., Saikali K.G., Wolff A.A. et al. The Lancet. 2011. Т. 378. № 9792. С. 676-683.
14. ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА АНГИОТЕНЗИНПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА КВАДРОПРИЛА НА ДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СОСУДИСТОГО ТОНУСА В УСЛОВИЯХ БЛОКАДЫ СИНТЕЗА NO У НОРМОТЕНЗИВНЫХ И

СПОНТАННО ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС Сонин Д.Л., Галагудза М.М., Сыренский А.В., Цырлин В.А. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2011. Т. 151. № 3. С. 284-287.

15. ВКЛАД ОКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМЫ ПОТОК-ЗАВИСИМОЙ ВАЗОДИЛАТАЦИИ У НОРМО- И ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС Сонин Д.Л., Галагудза М.М., Сыренский А.В., Егорова Е.И., Некрасова М.К., Цырлин В.А. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2011. Т. 97. № 8. С. 814-823.