

«УТВЕРЖДАЮ»

Врио директора Федерального государственного
бюджетного научного учреждения «Научно-
исследовательский институт фармакологии имени
В.В. Закусова», доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент РАН

_____ Дурнев Андрей Дмитриевич

«30» мая 2016 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации - Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова» на диссертационную работу Муравьевой Варвары Юрьевны «Церебропротекторные свойства новых производных циклических гуанидинов ингибиторов Na^+/H^+ обмена», представленную 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 темы диссертационного исследования

Цереброваскулярные заболевания остаются одной из острейших медико-социальных проблем, наносящих огромный экономический ущерб обществу. Особое место среди них занимает церебральный инсульт в связи с высоким уровнем летальности, значительной инвалидизацией и социальной дезадаптацией пациентов. Наряду с восстановлением кровоснабжения мозга, важным направлением лечения инсульта является нейропротекция. Её целью является активация механизмов защиты нейронов, эндотелиальных и глиальных клеток от повреждающего действия ишемии. Известно, что основным фактором повреждения нейронов является запуск так называемого глутамат-кальциевого каскада, который приводит к перегрузке клетки кальцием и ее гибели. Одним из новых подходов ограничивающих внутриклеточное накопление кальция в условиях ишемии/реперфузии является ингибирование Na^+/H^+ обменника первой изоформы (NHE-1).

NHE-1 широко представлен в нейронах, глиальных клетках, эндотелиальных клетках мозговых капилляров и клетках крови: тромбоцитах и эритроцитах. В настоящее

время в клинической практике применяются ингибиторы обменника, которые проявили противоишемическое действие при сердечно-сосудистой патологии. Однако, эти препараты не лишены побочных эффектов и поэтому представляется целесообразным продолжить поиск соединений с новыми химическими структурами. На сегодняшний день ингибиторы классифицируют по химическому строению, однако все они имеют в своей структуре гуанидиновую группу. Появились данные о наличии способности ингибировать Na^+/H^+ обменник у производных бензимидазола, отличительной особенностью которых является наличие как встроенной в цикл, так и свободной гуанидиновой группы.

В соответствии с этим, актуальность диссертационного исследования Муравьевой Варвары Юрьевны, посвященного изысканию и изучению среди новых производных циклических гуанидинов, обладающих NHE-1–ингибирующей активностью, не вызывает сомнений.

Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций

В исследованиях *in silico* диссертантов впервые показано, что уровень NHE-1-ингибирующей активности определяется электронными параметрами, центрированными на гуанидиновый фрагмент. Автором показано, что соединения, имеющие частично встроенную гуанидиновую группу (производные 2–аминобензимидазола) обладают более высокой NHE-1-ингибирующей активностью по сравнению с веществами, содержащими в своей структуре полностью встроенную гуанидиновую группу (производные N⁹-замещенные имидазо[1,2-*a*]бензимидазола).

Дальнейшие исследования в опытах *in vitro* было позволили диссертанту обнаружить наиболее активное соединение РУ-1355 - 2-амино-1-морфолиноэтил-3-(4-фторфенацил)бензимидазолия хлорид, которое по NHE-1–ингибирующему эффекту статистически значимо превосходит препарат сравнения зонипорид.

Наконец, при изучении соединения РУ-1355 на модели ишемического повреждения головного мозга с последующей реперфузией установлено его нейропротекторная и гемореологическая активность. Соединение ограничивает уровень нейроспецифической енолазы NSE в сыворотке крови, снижает размеры некроза и выраженности отека головного мозга, уменьшает неврологические и поведенческие нарушения. РУ-1355 снижает агрегацию тромбоцитов и эритроцитов, влияет на вязкостные свойства крови и удлиняет время образования тромба. При этом, оно не влияет на эффекты дофаминергических, ГАМК-ергических нейромедиаторных систем и не ингибирует МАО.

Научная и практическая значимость исследования

Выявленная автором *in silico* зависимость уровня NHE-1–ингибирующей активности новых производных циклических гуанидинов от электронных параметров, центрированных на гуанидиновый фрагмент, а также сформированная база данных производных циклических гуанидинов с NHE-1 ингибирующей активностью, может быть использована для направленного синтеза и поиска новых соединений с высокой активностью.

Результаты проведенных фармакологических исследований, которые выявили подтвердили противоишемическое действие соединения РУ-1355, проявившееся в уменьшении повреждения головного мозга и коррекции тромбогенных и гемореологических нарушений, которые обусловлены ингибированием NHE-1, свидетельствует о целесообразности проведения расширенных доклинических исследований.

Общая оценка использованных методов, содержания и оформления диссертации

В диссертационной работе В.Ю. Муравьевой для исследования NHE-1 ингибирующей активности использованы современные высокоинформативные методы исследования *in silico*, *in vitro* и *in vivo* позволяющие в соответствии с методическими рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств. Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом экспериментальных исследований, использование высокотехнологического оборудования и специфических маркеров, а также параметрических и непараметрических критериев статистической обработки данных.

Диссертационная работа изложена на 204 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 16 рисунками, 41 таблицами. Работа состоит из введения, обзора литературы (глава I), главы материалы и методы (глава II), экспериментальной части (главы III-VII), обсуждения результатов, заключения, выводов и списка литературы, включающего 180 источников, в том числе 104 зарубежных.

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 обзоре литературы автором проведен подробный анализ отечественной и зарубежной литературы подтверждающий перспективность производных циклических гуанидинов для поиска средств с NHE-1 ингибирующей активностью.

В последующих главах представлены результаты поиска высокоактивных соединений среди соединений имеющих частично встроенную гуанидиновую группу (производные 2-аминобензимидазола) и веществами, содержащими в своей структуре полностью встроенную гуанидиновую группу (производные N⁹-замещенные имидазо[1,2-*a*]бензимидазола), представлен анализ полученных данных на наличие зависимостей между проявляемой активностью соединений, структурой и физико-химическими характеристиками изучаемых веществ. Описаны и проиллюстрированы результаты доклинического изучения соединения РУ-1355 на наличие противоишемической и гемореологической активности. Диссертация завершается 7 выводами, основанными на полученных результатах.

Основное содержание диссертационной работы отражено в автореферате и 29 публикациях, в том числе в 3 статьях, опубликованных в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, и 3 патентах на изобретения.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Необходимо продолжить изучение производных циклических гуанидинов с целью выявления закономерностей между их структурой и NHE-1-ингибирующей активностью в ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Полученные в диссертации данные о биологической активности производных циклических гуанидинов, могут служить основанием для синтеза новых соединений в НИИ Физической и органической химии Южного федерального университета (г. Ростов-на-Дону) и проведения целенаправленных научно-исследовательских работ в ФГБУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», на кафедрах фармакологии факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко, Саратовского государственного медицинского университета, Белгородского государственного национального исследовательского университета.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, диссертационная работа Муравьевой Варвары Юрьевны «Церебропротекторные свойства новых производных циклических гуанидинов

ингибиторов Na^+/H^+ обмена», выполненная под руководством академика РАН, проф. А.А. Спасова и представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук в диссертационный совет Д.208.008.02 при Волгоградском государственном медицинском университете, является законченной квалификационной научно-исследовательской работой, в которой содержится новое решение актуальной задачи по изысканию и изучение новых нейропротекторов - ингибиторов NHE-1 среди производных циклических гуанидинов, имеющей существенное значение для фармакологии и клинической фармакологии.

По актуальности темы, новизне полученных результатов, методологическому и методическому уровню, объему проведенных исследований, новизне полученных результатов, научно-практической значимости работа полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденному постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – В.Ю. Муравьева заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 фармакология, клиническая фармакология.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании лаборатории фармакологии цереброваскулярных расстройств (протокол № 27 от 26 мая 2016 г.).

Заведующий лабораторией фармакологии
цереброваскулярных расстройств
ФГБНУ «НИИ фармакологии
имени В.В. Закусова»,
Заслуженный деятель наук РФ, профессор

Р.С. Мирзоян

Подпись Р.С. Мирзояна заверяю:

Ученый секретарь ФГБНУ «НИИ фармакологии
имени В.В. Закусова»,
к.б.н.
125315 г. Москва, ул. Балтийская, 8
тел. (495)601-21-57, (499) 151-18-81
Адрес электронной почты:
zakusovpharm@mail.ru
cerebropharm@mail.ru

В.А. Крайнева

Список опубликованных работ, близких тематике диссертационного исследования

1. ГАМК-ергический компонент в механизме цереброваскулярного противоишемического эффекта докозагексаеновой кислоты / Мирзоян Р.С., Ганьшина Т.С. [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015. Т. 78. № 1. С. 16-20.
2. Цереброваскулярная фармакология отдельной и сочетанной сосудистой патологии мозга и сердца / Мирзоян Р.С., Ганьшина Т.С. [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2014. Т. 77. № 3. С. 3-8.
3. Особенности цереброваскулярных эффектов конъюгата ГАМК с докозагексаеноилдофамином при сосудистой патологии мозга и сердца / Мирзоян Р.С., Ганьшина Т.С., Хайлов Н. А. [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2012. Т. 75. № 7. С. 15-19.
4. Производное адамантана усиливает кровоснабжение ишемизированного мозга / Мирзоян Р.С., Ганьшина Т.С. [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2012. Т. 75. № 6. С. 27-30.
5. Фармацевтическая композиция с противомигреновым действием (варианты) / Середенин С.Б., Пятин Б.М., Мирзоян Р.С. [и др.] // патент на изобретение RUS 2424803 07.04.2008.
6. Цереброваскулярные эффекты конъюгата ГАМК с арахидоновой кислотой в условиях отдельной и сочетанной сосудистой патологии мозга и сердца / Гнездилова А.В., Ганьшина Т.С., Масленников Д.В. [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2011. Т. 74. № 8. С. 28-31.
7. Мексидол и сочетанная сосудистая патология мозга и сердца / Гнездилова А. В. , Лебедева М. А., Ганьшина Т. С., [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2011. Т. 74. № 6. С. 20-23.