

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Захарьиной 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 ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»

МЗава России по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая

фармакология.

Актуальность темы. Диссертационное исследование Ольги Юрьевны Захарьиной посвящено актуальной проблеме, а именно направленному поиску и исследованию антидиабетических свойств новых активаторов глюкокиназы. Широкая распространенность сахарного диабета и многообразие патогенетических вариантов данного заболевания обусловливают актуальность поиска и разработки новых сахароснижающих препаратов. К одной из перспективных белковых биомишеней для создания новых противодиабетических средств относится фермент глюкокиназа (ГК). Активаторы глюкокиназы представляют собой новый класс перспективных антидиабетических соединений, которые оказывают антигипергликемический эффект, доказанный в доклинических и клинических исследованиях и имеют целый ряд преимуществ перед известными препаратами. В частности, показано, что активаторы глюкокиназы не вызывают дислипидемии и не увеличивают массу тела. В связи с этим наблюдается повышенный интерес к поиску активаторов глюкокиназы как антидиабетических лекарственных средств

Таким образом, диссертационная работа О.Ю. Захарьиной, посвященная исследованию фармакологических свойств антидиабетических веществ нового поколения - активаторов глюкокиназы из класса производных азотсодержащих гетероциклических соединений, является актуальной, своевременной и имеющей значимость для фармакологии и клинической фармакологии.

Научная новизна исследования

В диссертации, проанализирована структура и проведены скрининговые исследования 155 новых соединений, являющихся производными 14 скаффолдов. В результате консенсусного виртуального скрининга *insilico* и экспериментального

тестирования *in vitro* из 14 изученных скаффолдов выявлены наиболее активные в отношении глюкокиназы – производные бифенилоксида, биспиридина, пиридина, пиримидина, хиназолина, тиазолидиниона и тиазолобензимидазола. Для 6 исследуемых классов химических структур (диазепинобензимидазолы, имидазобензимидазолы, биспиридины, тиазолобензимидазолы, триазолопирамидины и пептидомиметики) было впервые спрогнозировано и экспериментально доказано наличие ГК-активирующих свойств. Выявлен наиболее активный класс в отношении глюкокиназы – биспиридины.

Впервые показано, что соединение NP-006 обладает антидиабетическим действием на модели сахарного диабета 2 типа. Выявлено соединение NP-001, проявляющее антиоксидантные, антирадикальные и хелатирующие свойства *in vitro*, а также выявлена антитромботическая активность в условиях стрептозоцин-индукции сахарного диабета на модели тромбоза сонной артерии крыс, индуцированного 50-%-ным раствором FeCl₃.

Оформленные по теме диссертации 3 патента РФ на изобретение подтверждают научную новизну исследования.

Научно-практическая значимость исследования

Диссертация имеет высокую научно-практическую значимость, которая заключается в том, что исследованные производные биспиридина являются перспективным классом химических веществ для синтеза и дальнейшего поиска активаторов глюкокиназы. Созданы предпосылки для углубленного изучения соединений данного скаффолда в качестве потенциальных лекарственных средств для лечения сахарного диабета.

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, выводов и практических рекомендаций диссертации

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и практических рекомендаций в диссертационной работе Захарьящевой О.Ю. не вызывает сомнения. Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом экспериментального материала с использованием современных методов и методических подходов, соответствующих поставленным задачам. Сформулированные в диссертации выводы были подтверждены экспериментальным материалом, анализом литературы, адекватной статистической обработкой полученных результатов. Результаты работы многократно докладывались и обсуждались на конференциях, съездах, конгрессах всероссийского и международного уровня.

Общая оценка содержания и оформления диссертации

Диссертационная работа О.Ю.Захарьящевой оформлена в классическом стиле в соответствии с требованиями, предъявляемыми к диссертациям. Диссертация изложена на 214 страницах машинописного текста и состоит из введения, одиннадцати глав, выводов, практических рекомендаций, перечня сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложения. Работа иллюстрирована 37 рисунками (а также 1 рисунком в приложении) и 40 таблицами. Библиографический указатель включает 190 источников, из них 30 отечественных, 160 иностранных.

Во введении работы хорошо обоснована её актуальность, показана новизна и научно-практическая значимость, представлены положения, выносимые на защиту; сформулированы цель и задачи диссертационной работы.

Обзор литературы включает 3 части, где подробно описаны основные группы препаратов для лечения СД2, одобренные для клинического применения и обоснована роль 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.

Во второй главе дано подробное описание материалов и методов исследования, которые были использованы при выполнении поставленных в диссертации задач. Автором представлен обоснованный алгоритм научного поиска, который полностью соответствует рекомендациям «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» под ред. Миронова А.Н.

Третья глава посвящена поиску и консенсусному прогнозу соединений с глюкокиназной активностью *insilico*. Сформированы базы данных по структуре новых

соединений, а также по структуре и уровню активности известных активаторов глюкокиназы.

В четвертой главеописывается поиск новых активаторов глюкокиназы в тест-системе *in vitro*. Также, проведен кластерный анализ экспериментальных значений глюкокиназной активности новых соединений в соответствии с химическим классом изучаемых субстанций. В работе валидирована методика поиска новых активаторов глюкокиназы спектрофотометрическим методом в тест-системе *i nvitro*. Рассчитаны показатели EC₅₀ веществ с наиболее высокими уровнями активности. Исследована взаимосвязь между структурой и фармакологической активностью изучаемых соединений. Проведен анализ зависимости фармакологических свойств исследованных производных бифенила и бензимидазола от их химической структуры. Выявлен механизм молекулярного взаимодействия соединений NP-001 и NP-006 с активным аллостерическим сайтом глюкокиназы.

Пятая глава содержит результаты изучения влияния на углеводный обмен наиболее активных соединений при однократном введении интактным животным.

Данные влияния соединений NP-001 и NP-006 на процессы пролиферации α- и β-клеток островков лангерганса поджелудочной железы при стрептозотоцин-индуцированном сахарном диабете 1 типа представлены в шестой главе.

В главе 7 представлены результаты моделирования сахарного диабета 2 типа высокожировой диетой (вжд) на мышах линии C57BL/6J

В восьмой главе приводятся результаты исследования антидиабетической активности соединений NP-001 и NP-006 при хроническом введении. В ходе вышеуказанного изучения выявлено наиболее активное соединение - NP-006, которое может быть рекомендовано для дальнейшего изучения в качестве потенциального перорального сахароснижающего препарата.

В 9 главе исследовано влияние соединений NP-001 и NP-006 на механизмы развития поздних осложнений сахарного диабета. По результатам данного изучения в тестах *in vitro* и *in vivo* было найдено соединение-лидер - NP-001, которое проявляло значительные антиоксидантные свойства в хемилюминесцентной методике окисления люминола, а также антирадикальный эффект в teste с ДФПГ. Кроме того, данное вещество показало выраженные свойства хелаторов металлов переходной валентности. Также, был отмечен значительный антитромбогенный потенциал наиболее активной субстанции в условиях стрептозоцин-индуцированного сахарного диабета на модели тромбоза сонной артерии крыс, индуцированного 50-%-ным раствором FeCl₃.

В десятой главе представлены результаты оценки токсикологических и фармакокинетических свойств наиболее активных веществ. В исследованиях острой токсичности на крысах и мышах было определено, что субстанции NP-001 и NP-006 относятся к 4 классу малотоксичных соединений, что соответствует данным виртуального прогноза *in silico*. Обе изучаемые субстанции не проявляют цитотоксических свойств на перитонеальных макрофагах мышей и неонатальных фибробластах крыс.

Глава 11 посвящена обобщению и обсуждение результатов, полученных в ходе исследования. Обобщаются полученные данные о фармакологической активности новых производных азотсодержащих гетероциклических соединений и обсуждаются дальнейшие перспективы поиска высокоактивных соединений среди группы биспиридина.

В заключении кратко обобщаются все полученные данные, формулируются выводы и практические рекомендации по использованию результатов работы.

Выводы диссертации полностью отражают основные результаты исследования, являются обобщением полученных данных и полностью подтверждают достижение поставленной цели.

Автореферат диссертации оформлен в соответствии с предъявляемыми требованиями и отображает основные положения диссертации.

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

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет.

При ознакомлении с диссертацией возникли следующие вопросы:

1. Почему доза используемых веществ в различных тестах различная и варьирует от 50 до 300 мг/кг?
2. На каком основании был выбран препарат сравнения PF-04937319, если он находится на II фазе клинических испытаний? Имеет ли он достаточную доказательную базу в доклинических/клинических испытаниях?
3. Почему в исследовании используются разные препараты сравнения (Вилдаглиптин, Метформин)?

Заключение

Диссертационная работа Захарьевской Ольги Юрьевны «Фармакологические свойства активаторов глюкокиназы – некоторых производных азотсодержащих

гетероциклических соединений», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой и содержит новое решение актуальной научной задачи, связанной с разработкой новых антидиабетических средств, имеющей существенное значение для фундаментальной и практической медицины. Диссертация соответствует паспорту специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология, удовлетворяет всем требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями Постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

Заведующая лабораторией психофармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология, профессор

7 сентября 2020 г.

Татьяна Александровна Воронина

Подпись профессора . Т.А. Ворониной удостоверяю:

Ученый секретарь ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»,

к.б.н.

7 сентября 2020 г.

В.А. Крайнева

125315 г. Москва, ул. Балтийская, 8

Тел.: (495)601-21-84, (495)601-24-23

Адрес электронной почты: zakusovpharm@mail.ru



СВЕДЕНИЯ О ПРОИОНЕНТЕ
по диссертации Захарьяшевой Ольги Юрьевны «Фармакологические свойства активаторов глюкокиназы –
некоторых производных азотодержащих гетероциклических соединений» на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук по специальности 14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

ФИО	Год рождения, гражданство	Место основной работы (с указанием организации, ее ведомственной принадлежности, города), должность,	Ученая степень (с указанием специальности, по которой защищена диссертация)	Ученое звание (по специальности, кафедре)	Шифр специальности и отрасль науки	Основные 3 работы (за последние 3 года)
Воронина Татьяна Александровна	1938 г., РФ	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», ведомственная принадлежность Федеральное агентство научных организаций, г. Москва, заведующая лабораторией психофармакологии	Доктор медицинских наук (14.03.06-фармакология, я, клиническая фармакология)	Профессор	14.03.06-фармакология, клиническая фармакология, медицинские науки	<p>1. Воронина Т. А., Вальдман Е. А., Капица И. Г., Калинина А. П., Иванова Е. А.. Изучение эффектов комбинации гимантана и пирибедила на модели МФГП-индуцированного паркинсонического синдрома у мышей линии C57BL/6 //Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2019. – Т. 17. – №. 2.</p> <p>2. Воронина Т. А., Кудряшов Н. В., Калинина Т. С., Шимширт А. А., Волкова А. В., Жмуренко Л. А. Экспериментальная оценка анксиолитической активности производного пиразоло [c] пиридина</p>

		<p>ГМЖ-72 в условиях непредсказуемого хронического умеренного стресса //Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81. – №. 1.– С. 3-8.</p> <p>3. Иванова Е. А., Золотов, Н. Н., Позднев В. Ф., Воронина Т. А. Активность дипептидилпептидазы IV при экссудативном воспалении у крызунов //Патогенез. – 2018. – Т. 16.– №. 1. – С. 51-57.</p>	

Ученый секретарь ФГБНУ «НИИ фармакологии
имени В.В. Закусова», к.б.н.

В.А. Крайнева



СОГЛАСИЕ ОПРОВЕДНИКА

Я, Воронина Татьяна Александровна, доктор медицинских наук по специальности 14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология, профессор, заведующая лабораторией психофармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», дано свое согласие выступить в качестве официального оппонента по докторской Захарьяшевой Ольги Юрьевны «Фармакологические свойства активаторов гликокиназы – 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.

12 мая 2020 г.
подпись

Подпись доктора медицинских наук, профессора Ворониной Татьяны Александровны «Удостоверяю».



125315 г. Москва, ул. Балтийская, 8
Тел.: (495)601-21-84, (495)601-24-23
Адрес электронной почты:
zakusovpharm@mail.ru