

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

кандидата биологических наук, доцента Иванова Владимира Владимировича на диссертационную работу Понькиной Дарьи Андреевны на тему «Противодиабетическое действие бензилоксифенилпропановых производных изоборнилиамина и борнеола (экспериментальное исследование)», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Актуальность темы диссертационной работы

Одним из наиболее распространенных хронических заболеваний в мире является сахарный диабет 2 типа (СД2). Несмотря на наличие на современном фармацевтическом рынке различных классов гипогликемических препаратов для лечения СД2, зачастую сложно подобрать эффективную терапию в связи с наличием у этих препаратов побочных эффектов и противопоказаний. Поэтому, поиск новых противодиабетических средств, в частности влияющих на новые молекулярные мишени, до сих пор остается актуальной задачей.

К таким перспективным препаратам, привлекающим внимание исследователей, относят соединения-агонисты рецептора свободных жирных кислот - 1 (FFAR1), фармакологический эффект которых связан со стимуляцией секреции инсулина.

За последние несколько лет был разработан целый ряд агонистов FFAR1, но ни одна из молекул-кандидатов на сегодняшний день не достигла выхода на фармацевтический рынок. В то же время, сохраняет актуальность перспектива создания эффективного и безопасного агониста FFAR1, что позволит пациентам с СД2 поддерживать целевой уровень глюкозы в сыворотке крови и избежать развития диабет-ассоциированных метаболических нарушений.

Ранее сотрудниками Лаборатории физиологически активных веществ НИОХ СО РАН был синтезирован хлорид (1R,2R,4R)-N-(4-((4-(2-карбоксиэтил) фенокси) метил) бензил)-1,7,7-триметилбицикло [2.2.1] гептан-2-аммония под шифром QS-528, совмещающий в своей структуре фрагмент фенилпропановой кислоты с N-экзоборнильным фрагментом, полученным из камфоры. Эта молекула в тестах *in vivo* на мышах продемонстрировала

наличие гипогликемического эффекта, что связано с установленной способностью выступать в роли агониста FFAR1. Полученные результаты легли в основу разработки ряда новых структурных аналогов соединения QS-528, также являющихся потенциальными агонистами FFAR1.

Целью диссертационной работы являлось изучение противодиабетического действия соединения QS-528 и его структурных аналогов в экспериментах *in vivo* и *in vitro*.

В связи с вышеизложенным диссертационная работа Понькиной Дарьи Андреевны, несомненно, является актуальной поскольку рассматривает новый класс перспективных соединений, обладающих антидиабетической активностью и реализующих свой механизм через воздействие на новую молекулярную мишень – рецептор свободных жирных кислот - 1 (FFAR1).

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Большинство результатов, полученных в работе, имеют научную новизну. Автором впервые показана противодиабетическая активность соединений QS-528 и QS-619 ((3-(4-(4-(((1S,2R,4S)-1,7,7-триметилбицикло [2.2.1] гептан-2-илокси) метил) бензилокси) фенил) пропановая кислота)) в эксперименте. Большое значение имеют данные о гипогликемическом действии субстанции QS-619 в генетической и диет-индуцированной моделях СД2, а также гепатопротекторном эффекте соединения QS-528 в CCl₄-индуцированной модели гепатотоксичности.

Понькиной Дарьей Андреевной получены не описанные ранее свидетельства, указывающие на механизм действия соединения QS-619, который, аналогично структурному аналогу, опосредован взаимодействием с FFAR1. Новыми являются сведения о том, что соединения QS-619 и QS-528 являются полными агонистами этого рецептора так как они связываются с рецепторами как на β -клетках ПЖ, так и на энтероэндокринных клетках кишечника, что приводит к увеличению секреции инсулина и глюкозозависимого инсулиноотропного полипептида (GIP).

Впервые было обнаружено, что соединение QS-619 в клетках линии HepG2 повышает потребление глюкозы и высвобождение лактата, тогда как соединение QS-528 увеличивает их выживаемость в условиях культивирования в бессывороточной среде.

Полученные данные делают перспективным дальнейшее изучение таких соединений как инновационных антидиабетических средств – агонистов FFAR1.

Таким образом, научная новизна диссертационного исследования Понькиной Дарьи Андреевны, полученных результатов, а также выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов по диссертации

Достоверность результатов диссертационной работы Понькиной Дарьи Андреевны обеспечивается использованием большого количества экспериментального материала, современных методологических приемов и высокоинформативных лабораторных методов исследования, включая применение трансфекции клеток при оценке способности тестируемых соединений активировать FFAR1. В работе использованы корректные статистические методы обработки полученных результатов. Точность экспериментальных данных обеспечивается использованием аттестованного оборудования.

Основные положения, выносимые на защиту, и выводы корректно сформулированы, аргументированы и логично вытекают из содержания проведенного исследования, обосновывают достижение поставленной цели и задач.

Работа была поддержана грантом Российского научного фонда (РНФ) № 21-73-00246 «Синтез фенилпропановых кислот, содержащих фрагменты терпеноидов, в качестве потенциальных агонистов FFAR1 и изучение их противодиабетической активности».

Полученные при проведении диссертационного исследования результаты прошли апробацию на 10 научных конференциях всероссийского и международного уровней.

Выводы, сформулированные в диссертации, подтверждены экспериментальным материалом, анализом литературы и статистической обработкой.

Основные результаты диссертации обсуждались на научных конференциях различного уровня, а также отражены в публикациях: из 13 печатных научных работ 3 статьи опубликованы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, входящих в международные базы данных Web of Science и Scopus.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Полученные автором данные представляют высокую научную и практическую ценность. Результаты расширяют теоретическую базу о фармакологических свойствах агонистов FFAR1, на основании чего возможно создание соединений данного класса препаратов, обладающих большей эффективностью и безопасностью. Стоит отметить, что у некоторых агонистов FFAR1 было обнаружено гепатотоксическое действие, из-за чего их дальнейшее исследование было прекращено на разных стадиях клинических испытаниях. В диссертационном исследовании Понькиной Д.А. показано, что новые агонисты FFAR1 не обладают гепатотоксичностью, а напротив, демонстрируют гепатопротекторное действие, что выгодно отличает их от описанных ранее соединений. Можно надеяться, что практическое применение новых агонистов FFAR1, обладающих как гипогликемическим, так и гепатопротекторным действием, будет распространяться на пациентов с СД2, осложненным развитием неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП).

Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертация Понькиной Дарьи Андреевны грамотно структурирована и оформлена согласно ГОСТ Р 7.0.11-2011. Работа содержит необходимые разделы: введение, обзор литературы, главу с изложением материалов и методов исследования, главу с изложением и обсуждением результатов собственных исследований, выводы, список сокращений и список литературы.

Текст диссертации изложен на 132 страницах, иллюстрирован 11 таблицами и 41 рисунком. Список литературы включает 169 источников, из которых 161 – зарубежные.

Согласно поставленной цели и задачам выбраны методологически оправданные, корректные и информативные методы исследования.

Во введении диссертации проведено обоснование актуальности исследования, степени разработанности проблемы, сформулированы цель и задачи, охарактеризована научная новизна и практическая значимость исследования. Представлены положения, выносимые на защиту. Приведены данные по апробации результатов, структуре диссертации и количеству опубликованных работ. Обозначен личный вклад автора. Приведено описание связи диссертационной работы с научными программами, планами, темами.

В первой главе «Обзор литературы» автор дает современное представление об эпидемиологии, патогенезе СД2, приводит информацию о противодиабетических препаратах, используемых в настоящее время в клинической практике. Кроме того, автор сообщает о новых молекулярных мишенях, в частности FFAR1, представляющих особый интерес с позиций поиска новых эффективных и безопасных противодиабетических препаратов. В ходе написания данной главы автором был использован достаточный объем литературных источников.

Вторая глава «Материалы и методы» посвящена описанию исследуемого соединения QS-528 и его структурных аналогов, препаратов сравнения, используемых экспериментальных моделей и подходов к изучению механизма действия. Автор подробно описывает фармакологические модели и тесты, использованные в данной работе для экспериментов *in vivo*.

Сильной стороной исследования является то, что эксперименты по оценке противодиабетического действия проведены на двух моделях: диет-индуцированной модели СД2 на мышах CD1 и генетически обусловленной модели с использованием мышей линии C57Bl/6J Ay/a. Приводится подробное описание экспериментов *in vitro* на клетках линии HepG2. Выбранные методы исследования являются современными,

высокоинформативными и позволяют полностью решить поставленные задачи.

В третьей главе автор приводит результаты, полученные в ходе проведенных экспериментов и их подробное обсуждение. Результаты иллюстрированы достаточным количеством таблиц и рисунков и позволяют с уверенностью судить о наличии гипогликемического действия у соединения QS-619 и гепатопротекторного действия у соединения QS-528. Данные, полученные в ходе исследования механизма фармакологического действия соединений QS-619 и QS-528, доказывают, что молекулы действительно являются полными агонистами FFAR1, связываясь с рецепторами как на β -клетках ПЖ, так и на энтероэндокринных клетках кишечника, что приводит к увеличению секреции инсулина и GIP. Наличие гипогликемического действия у соединения QS-619 и гепатопротекторного действия у соединения QS-528 подтверждается результатами исследований *in vitro* с использованием клеточной линии HepG2.

В заключении обобщены и проанализированы результаты диссертации. Выводы вытекают из содержания работы, сформулированы конкретно, соответствуют поставленным целям и задачам.

Автореферат соответствует содержанию диссертационной работы и оформлен в соответствии с требованиями ВАК при Минобрнауки России.

Принципиальных замечаний по представленной работе нет. В целом отмечается высокий уровень выполненного диссертационного исследования. Вместе с общим положительным мнением о выбранных методологических подходах и полученных результатах исследования, возникли вопросы дискуссионного характера и рекомендации:

1. Учитывая многогранный механизм фармакологического действия новых агонистов FFAR1, в качестве иллюстрации к заключению диссертационной работы, хотелось бы видеть заключительную схему молекулярного механизма гипогликемического действия этих веществ на модели СД2 у животных.

2. На основании каких данных автором был осуществлен выбор референтных препаратов и их дозировок в экспериментах по оценке

гипогликемической/гепатопротективной активности соединений QS-619 и QS-528?

3. Автор указывает, что соединение QS-528 в модели CCl₄-индуцированной гепатотоксичности сохраняет синтетическую способность печени на основании того, что концентрация общего белка на фоне введения препарата не отличается от значений группы интактного контроля. В то же время, в группе отрицательного контроля уровень общего белка также не отличался от интактного контроля (Таблица 10), что свидетельствует об отсутствии нарушений синтетической функции печени в данной модели.

4. Чем обусловлен выбор периода наблюдения за клиническим состоянием лабораторных животных (10 суток) в эксперименте по оценке острой токсичности соединений QS-619 и QS-528 при пероральном введении?

5. В модели диет-индуцированного СД2 у мышей автору рекомендуется указать точные критерии достижения животными нарушения толерантности к глюкозе перед распределением на экспериментальные группы перед началом введения исследуемых субстанций.

В тексте диссертационной работы имеются отдельные стилистические неточности и незначительные погрешности (опечатки). Так, в разделе 3.4.2. изменение активности АЛТ, выраженное в ед./л, представлено как изменение концентрации. В таблице 8 допущены опечатки в обозначении концентраций общего холестерина и триглицеролов в крови мышей (моль/л вместо ммоль/л). Эти небольшие погрешности не умаляют достоинств диссертационной работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Понькиной Дарьи Андреевны на тему «Противодиабетическое действие бензилоксифенилпропановых производных изоборниламина и борнеола (экспериментальное исследование)», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, является самостоятельной, законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача, а именно выявлены новые агонисты FFAR1 – бензилоксифенилпропановые производные изоборниламина и

борнеола, которые обладают противодиабетическим действием, имеющая значение для развития фармакологии, клинической фармакологии.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Понькиной Дарьи Андреевны соответствует требованиям пункта 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 25.01.2024 г. № 62), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Понькина Дарья Андреевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент:

доцент кафедры биохимии и
молекулярной биологии с курсом
клинической лабораторной
диагностики ФГБОУ ВО СибГМУ
Минздрава России, кандидат
биологических наук, доцент



Иванов Владимир Владимирович

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Адрес: 634050, Томская область, г. Томск, Московский тракт, 2. Телефон: +7 (3822) 90-11-01 доб. 1853. Адрес электронной почты: ivanovvv1953@gmail.com

Подпись к.б.н. Иванова В.В. заверяю,

Ученый секретарь ФГБОУ ВО
СибГМУ Минздрава России

«25» 03 2024 г.



Терехова М.В.