

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе
Государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
профессионального образования Российский
национальный исследовательский
медицинский университет имени Н.И.
Пирогова Министерства здравоохранения
Российской Федерации, д.б.н., Д.В. Ребриков

« 16 » мая 2016 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации - Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации на диссертационную работу Яковлева Дмитрия Сергеевича "Конденсированные азолы – новый класс лигандов серотониновых рецепторов", представленную к защите на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология в Диссертационный совет Д 208.008.02 при ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Актуальность темы диссертационного исследования

Серотонинергическая система одна из основных нейромедиаторных систем организма, принимающая участие в регуляции множества физиологических процессов и патофизиологических реакций. Исследования последних лет позволили существенно детализировать участие серотонина в развитии нарушений системной и локальной гемодинамики, кровоснабжения головного мозга, поведенческих и, в том числе, когнитивных реакций, ноцицепции и антиноцицепции, работы желудочно-кишечного тракта, выделительной, иммунной систем. В настоящее время в клинической практике частично используется регуляторный потенциал лигандов 5-HT_{1B/D}-рецепторов «триптанового» ряда для купирования приступов мигрени, 5-HT_{3/4}-рецепторов в терапии цитостатического и лучевого эметогенеза, синдрома раздраженного кишечника.

Вместе с тем отмечается существенный недостаток эффективных средств для коррекции указанных патологических состояний, а также практически нереализованный к настоящему времени анальгетический, антиагрегантный, психотропный потенциал соединений с серотонинергическими механизмами действия. В этой связи диссертационное исследование Д.С. Яковлева на тему «Конденсированные азолы – новый

класс лигандов серотониновых рецепторов», направленное на поиск и разработку новых высокоактивных агонистов и антагонистов серотониновых рецепторов, исследование их фармакологических свойств, а также обоснование целесообразности разработки на их основе оригинальных лекарственных средств с анальгетическим, анксиолитическим, противомигренозным и антиэметическим действием, является весьма актуальным и востребованным в научно-практическом плане.

Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций

Новизна диссертационного исследования, а также новизна и достоверность полученных результатов, основных выводов и рекомендаций не вызывает сомнений.

Автором была разработана новая методология целенаправленного поиска высокоактивных соединений – антагонистов 5-HT_{2A}-, 5-HT₃-рецепторов, впервые сочетающая многоэтапное использование элементов ретроспективного обобщения данных об активности наиболее близких по химическому строению соединений, использование методов 2D-QSAR/SAR анализа с помощью прогнозных систем определения активности неиспытанных химических веществ PASS и TestSim, использование методов консенсусного обобщения результатов прогнозов активности с экспериментальными ретроспективными данными об активности соединений, а также проспективное экспериментальное тестирование новых химических соединений.

В работе впервые проведен многоэтапный скрининг 1532 новых производных конденсированных азолов на предмет наличия 5-HT_{2A/3/4}-активности на различных моделях *in silico* и *in vitro*, принадлежащих к различным подклассам: индолы (1,3-дизамещенные индолы; индолы, сопряженные с бицикло[3.3.1]нонановыми и бицикло[3.2.1]октановыми каркасами); N¹-бензимидазолы; пиримидо[1,2-*a*]бензимидазолы; пиразоло[1,2-*a*]бензимидазолы; 2,3-дигидро-N¹-бензимидазолы; N¹-имидазо[1,2-*a*]бензимидазолы; N⁹-дигидроимидазо[1,2-*a*]бензимидазолы; N⁹-имидазо[1,2-*a*]бензимидазолы; N¹-1,2,3,4-тетрагидропиримидо[1,2-*a*]бензимидазолы.

Автором проведен комплексный анализ зависимости 5-HT_{2A}-, 5-HT₃- и 5-HT₄-серотонинергической активности от химического строения и физико-химических свойств соединений. Получены новые, а также дополнены ранее известные представления, о наиболее значимых субструктурах, ответственных за развитие 5-HT_{2A/3}-антагонистического и 5-HT₄-агонистического действия. Показано наличие статистически значимой зависимости высокого антисеротонинового эффекта в отношении 2A и 3 типа рецепторов от общей химической структуры, впервые определены целевые «скаффолды» для производных конденсированных азолов, ответственные за проявление указанных видов активности. Впервые выявлено, что наличие 5-HT₄-агонистического действия среди представителей конденсированных азолов зависит от сочетания в структуре таких дескрипторов как N⁹-замещенное имидазо[1,2-*a*]бензимидазольное ядро молекулы и C²-нафтальный заместитель.

Автором впервые изучены аспекты механизма действия, а также специфические фармакологические эффекты выявленного в ходе поиска высокоактивного 5-HT_{2A}-антагониста авазола на моделях, отражающих противомигренозные, анальгетические и анксиолитические свойства. Проведено исследование механизмов действия,

специфических антиэметических, противодиарейных, анальгетических, анксиолитических эффектов выявленного нового соединения с 5-НТ₃-антагонистическими свойствами – эметазола. Изучена их острая токсичность и нейротоксикологический профиль. Впервые определены диапазоны доз, для которых не характерны нейротоксические реакции.

В диссертации представлены новые рекомендации по совершенствованию системы поиска новых серотонинергически активных соединений; по использованию новых выявленных структурно-функциональных закономерностей для виртуального конструирования, синтеза и разработки соединений с серотонинергическими свойствами; обоснованы рекомендации по расширенному доклиническому исследованию новых высокоактивных антагонистов серотониновых рецепторов.

Научная и практическая значимость исследования

Результаты работы имеют важное значение для развития экспериментальной и клинической фармакологии. Основные научные положения диссертации соответствуют п.1 «Поиск новых биологически активных фармакологических веществ среди природных и впервые синтезированных соединений, продуктов биотехнологии, геной инженерии и других современных технологий на экспериментальных моделях патологических состояний», п.2 «Исследование зависимости «структура–активность» в различных классах химических веществ, проведение направленного синтеза и скрининга фармакологических веществ», п.3 «Исследование механизмов действия фармакологических веществ в экспериментах на животных, на изолированных органах и тканях, а также на культурах клеток» паспорта специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

Высокую практическую значимость для медицины при разработке новых лекарственных веществ имеет разработанная методология поиска активных серотонинергически активных соединений, позволяющая существенно оптимизировать этап скрининга, повысить его эффективность. Полученные обобщенные данные о структурно-функциональной зависимости 5-НТ_{2A/3}-антагонистического и 5-НТ₄-агонистического действия представляют высокую научно-практическую значимость и являются фундаментальными для конструирования, синтеза и разработки новых активных соединений с указанными видами активности.

Выявленные высокоактивные антагонисты 2A и 3 типов серотониновых рецепторов авазол и эметазол, а также результаты исследования, раскрывающие аспекты их механизма действия, фармакологической активности и эффективности представляют научно-практическую значимость для разработки на их основе новых оригинальных лекарственных препаратов для лечения мигрени, тревожного синдрома, купирования эметического действия цитостатиков, коррекции синдрома раздраженного кишечника.

Общая оценка использованных методов, содержания и оформления диссертации

В диссертационной работе Д.С. Яковлева использованы современные высокоинформативные методы исследования серотонинергической активности *in silico*, *in vitro* и *in vivo* в соответствии с основными методическими рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств с противомигренозной, анальгетической, анксиолитической активностью, а также в соответствии с

используемыми в современной фармакологии подходами к изучению механизмов действия, специфических и токсикологических свойств. В исследовании использована методическая база ГБОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России, ГБУ Волгоградский медицинский научный центр, отдела нейронауки и исследований мозга Итальянского института технологий.

Высокая степень достоверности полученных результатов обусловлена адекватным применением методов исследования, достаточным объемом экспериментальных исследований, а также критическому анализу полученных экспериментальных данных с позиций доказательности в медицине.

Диссертационная работа оформлена в соответствии с существующими требованиями и изложена на 339 страницах машинописного текста, иллюстрирована 57 таблицами в основных главах и 63 таблицами в приложениях, 36 рисунками, состоит из введения, 7 глав, отражающих основное содержание исследования, заключения включающего выводы, практические рекомендации, списка литературы и приложений. Список литературы состоит из 254 источников: отечественных 61, иностранных 193.

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

В I главе автором проведен подробный анализ зарубежной и отечественной литературы, раскрывающий современное состояние проблемы поиска новых лигандов серотониновых рецепторов, перспективы клинического использования антагонистов 5-НТ_{2A/3}- и агонистов 5-НТ₄-рецепторов, а также предпосылки детального изучения представителей производных конденсированных азолов как источника биологически активных соединений.

Во II-VII главах представлены использованные методические подходы, материалы и методы, приведены результаты исследований: разработки методологии поиска, многоэтапного направленного скрининга высокоактивных серотонинергически активных соединений, анализ влияния химической структуры и физико-химических свойств на уровень фармакологической 5-НТ_{2A/3/4}-активности. Описаны, проиллюстрированы и обсуждены результаты фармакологического изучения аспектов механизма действия наиболее высокоактивных соединений, их специфической фармакологической активности, связанной с 5-НТ_{2A}- и 5-НТ₃-антагонистическими свойствами. Диссертация завершается заключением, 10 выводами, основанными на полученных результатах.

Основное содержание диссертационной работы отражено в автореферате и представлено в 50 публикациях, в том числе в 17 статьях, опубликованных в изданиях, рекомендованных ВАК РФ. По результатам разработок получено 2 патента РФ на изобретения.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Методология поиска веществ с 5-НТ_{2A}- и 5-НТ₃-антагонистическими свойствами может быть использована для выявления новых соединений с указанными видами активности, а также адаптирована для скрининга других видов активности.

Накопленные данные о структуре соединений, демонстрирующих эффекты 5-HT_{2A}-, 5-HT₃-антагонистов и 5-HT₄-агонистов, а также уровне указанных видов активности, выявленные интегральные скаффолды могут быть использованы для направленного поиска новых высокоактивных соединений, а также включены в учебный материал для студентов медицинских высших учебных заведений.

Выявленные обобщенные признаки высокого уровня 5-HT_{2A/3}-антагонистической и 5-HT₄-агонистической активности рекомендуется использовать для направленного синтеза соединений с данными видами активности.

Результаты исследования позволяют рекомендовать использование предложенной автором системы направленного поиска *in silico* новых серотонинергических соединений научно-исследовательскими подразделениями физической и органической химии, экспериментальной фармакологии, а также лабораториями фармакологического профиля медицинских ВУЗов.

Коллективу кафедры фармакологии ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России следует продолжить изучение серотонинергических свойств соединений производных конденсированных азолов, а также близких к ним по структуре соединений, содержащих выявленные структурно-функциональные дескрипторы; продолжить доклиническое фармакологическое исследование выявленных высокоактивных соединений авазола и эметазола.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Яковлева Дмитрия Сергеевича на тему: "Конденсированные азолы – новый класс лигандов серотониновых рецепторов", представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук является законченной научно-квалификационной работой, соответствует специальности 14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология, удовлетворяет всем 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. Диссертационное исследование содержит новое решение актуальной научной проблемы фармакологии – оптимизации фармакологического поиска и изучения новых серотонинергических соединений среди класса производных конденсированных азолов, имеющей существенное значение для медицины, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология.

Отзыв обсужден на заседании кафедры молекулярной фармакологии и радиобиологии им. академика П.В. Сергеева Медико-биологического факультета Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский

медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол № 12 от "16" мая 2016 года.

Заведующий кафедрой молекулярной фармакологии и радиобиологии им. академика П.В. Сергеева медико-биологического факультета, чл.-корр. РАН, профессор, доктор медицинских наук по специальности 14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология профессор

Шимановский Николай Львович

Подпись доктора медицинских наук, профессора Шимановского Николая Львовича заверяю.

Ученый секретарь Максина А.Г.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; исполняющий обязанности ректора академик РАН, д.б.н. С.А. Лукьянов; проректор по научной работе д.б.н. Д.В. Ребриков.

117997, Российская федерация, город Москва, улица Островитянова, дом 1.

Тел.: +7 (495) 434-14-22, e-mail: rsmu@rsmu.ru

Список основных работ организации, соответствующих тематике диссертационного исследования (за последние 5 лет):

1. Свешников Д.С. Серотонинергические механизмы регуляции просвета сосудов большого круга кровообращения [Текст] / Д.С. Свешников, А.В. Кучук, В.М. Смирнов, Г.В. Черепанова // Казанский медицинский журнал. – 2016. – Т.97. – №1. – С.89-94.
2. Смирнов В.М. Доказательства наличия серотонинергических нервных волокон, усиливающих сокращения двенадцатиперстной кишки [Текст] / В.М. Смирнов, Д.С. Свешников, И.Л. Мясников, Т.Е. Кузнецова, Ю.Н. Самко // Вестник российской академии медицинских наук. – 2015. – №6. – С.718-726.
3. Федотчева Т.А. Перспективы применения наночастиц золота, серебра и оксида железа для повышения эффективности химиотерапии опухолевых новообразований [Текст] / Т.А. Федотчева, А.Ю. Оленин, К. М. Старостин, Г.В Лисичкин, В.В. Банин, Н.Л. Шимановский // Химико-фармацевтический журнал. – 2015. – Т. 49. – №4. – С. 11-22.
4. Хайруллина В.Р. Количественный анализ взаимосвязи «структура-активность» ингибиторов циклооксигеназы-2 среди производных тетрагидро-2H-изоиндола [Текст] / В.Р. Хайруллина, А.Я. Герчиков, А.А. Лагунин, Ф.С. Зарудий // Биохимия. – 2015. – Т.80. – №1. – С. 96-110.
5. Богус С.А. Влияние производного индола SS-68, обладающего антиаритмическими и антиангинальными свойствами, на $\alpha 1$ -, $\beta 1$ - и $\beta 2$ -адренорецепторы [Текст] / С.А. Богус, П.А. Галенко-Ярошевский, А.С. Духанин, Н.Л. Шимановский // Новые технологии. – 2012. – №4. – С. 232-235.