

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Яковлева Дмитрия Сергеевича «Конденсированные азолы - новый класс лигандов серотониновых рецепторов», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук в диссертационный совет Д 208.008.02 при Волгоградском государственном медицинском университете по специальности 14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология

Актуальность

Проблема поиска новых физиологически активных соединений является, наряду с изучением их механизма действия, приоритетным направлением фармакологии и медицины, в целом.

Известно, что серотонинергическая система регулирует различные функции организма, участвуя в работе многочисленных его органов, и играет важную роль в патогенезе нарушений сосудистого тонуса, функции тромбоцитов, в развитии болевого синдрома, стресса, тревожных состояний, нарушений функций желудочно-кишечного тракта.

Несмотря на немалое количество химических соединений, способных взаимодействовать с различными типами серотониновых рецепторов, и созданных на их основе препаратов, необходимость изыскания новых средств, воздействующих на серотонинергическую систему, продолжает оставаться актуальной. Это обусловлено их недостаточной эффективностью и большим числом нежелательных побочных свойств.

Поэтому актуальность диссертационной работы Д.С. Яковлева «Конденсированные азолы — новый класс лигандов серотониновых рецепторов», посвященной разработке оптимальной методологии выявления новых 5-НТ_{2А}-, 5-НТ₃-антагонистов и 5-НТ₄-агонистов, изучению серотонинергических свойств соединений — представителей расширенного класса конденсированных азолов, а также их доклиническому фармакологическому изучению, не вызывает сомнений.

Научная новизна исследования

В диссертации Д.С. Яковлева содержатся новые подходы и научно обоснованные разработки, обеспечивающие решение важных задач экспериментальной фармакологии. Автором была разработана новая методология поиска новых соединений, проявляющих высокую 5-HT_{2A}-, 5-HT₃-антагонистическую активность, основанная на сочетании методов многопараметрового компьютерного информационного прогноза биологической активности и экспериментального фармакологического исследования *in vitro*.

С ее использованием проведен многоэтапный скрининг более 1500 новых производных конденсированных азолов с экспериментальным тестированием *in vitro* на предмет наличия 5-HT_{2A/3/4}-активности, выявлены высокоактивные соединения авазол и эметазол.

Автором проведен комплексный анализ зависимости 5-HT_{2A}-, 5-HT₃- и 5-HT₄-серотонинергической активности от химического строения и физико-химических свойств соединений. Результатом явилось дополнение к существующим и выявление новых структурно-функциональных закономерностей. Автором выявлены целевые скаффолды для развития 5-HT_{2A}- и 5-HT₃-антагонистической активности, а также структурные фрагменты, влияющие на проявление 5-HT₄-агонистического действия.

С помощью широкого набора методов были выявлены специфические антиэметические, противодиарейные, сосудистые, тромбоцитарные, анальгетические, анксиолитические эффекты и исследованы механизмы действия наиболее эффективных соединений.

Научно-практическая значимость исследования

Разработанный информационно-экспериментальный подход к направленному поиску биологически активных соединений с 5-HT_{2A}- и 5-HT₃-антагонистическими свойствами позволяет оптимизировать методы выявления новых фармакологически активных веществ.

Выявленные обобщенные признаки высокого уровня 5-НТ_{2A/3}- антагонистической и 5-НТ₄-агонистической активности могут быть использованы в качестве основы для улучшения виртуального конструирования и направленного синтеза соединений с данными видами активности.

Высокую практическую значимость имеют полученные данные о механизмах действия и фармакологической активности соединений - 5-НТ₃- антагониста эметазола и 5-НТ_{2A}-антагониста авазола. Полученные автором результаты представляют основу и обосновывают целесообразность расширенных исследований их свойств с целью создания новых лекарственных препаратов с аниэметическими, противомигреновыми, анальгетическими и анксиолитическими свойствами соответственно.

Научно-практическая значимость исследования подтверждается двумя патентами, полученными на выявленные соединения.

Достоверность и обоснованность основных положений и выводов диссертационной работы

Высокая степень достоверности научных положений, выводов и рекомендаций по полученным результатам в диссертационной работе Д.С. Яковлева подтверждается достаточным объемом исследований *in silico*, *in vitro* и *in vivo* с использованием высокоточного оборудования, общепринятых и применяемых в современной экспериментальной фармакологии подходов к изучению механизмов действия, специфических и токсикологических свойств, адекватных методов статистической обработки данных.

Общая оценка содержания и оформления диссертации

Диссертационная работа изложена на 339 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 36 рисунками, 57 таблицами в основной части и 63 таблицами в приложениях. Работа оформлена в соответствии с существующими требованиями

и состоит из введения, обзора литературы (глава I), экспериментальной части (главы II-VI), обсуждения результатов, заключения, включающего выводы, практические рекомендации, списка литературы, включающего 254 источника, в том числе 193 зарубежных, и приложений.

Во *введении* автор обосновывает актуальность темы диссертационного исследования и степень научной разработанности проблемы, ставит четкие цель и задачи, определяет научную новизну, теоретическую и практическую значимость, методологию и методы, положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробацию результатов, личный вклад.

В *первой главе* автором приводится литературный обзор современного состояния изучаемой проблемы, дается подробный анализ данных за последнее время, подтверждающий актуальность исследования серотонинергических свойств производных конденсированных азолов. Детально описываются актуальные представления о строении, локализации и функциях 5-HT_{2A}-, 5-HT₃- и 5-HT₄-рецепторов, особенностях и перспективах клинического использования их лигандов. В этой главе обсуждается анксиолитический, противомигренозный, анальгетический потенциал 5-HT_{2A}-антагонистов. Рассматривается способность 5-HT₃-антагонистов и 5-HT₄-агонистов регулировать гастроэнтерокинетиические процессы, болевые реакции, эметогенез.

В заключение первой главы проводится анализ химических структур известных серотонинергических соединений, обозначается перспективность исследования указанных свойств у веществ, содержащих азольный фрагмент и его производные. Обзор литературы оставляет очень хорошее впечатление.

Во *второй главе* описываются материалы и методы, использованные автором в исследовании. Изложение последних состоит из подразделов, позволяющих легко ориентироваться в примененных виртуальных информационных технологиях, а также широком спектре фармакологических методов исследования. Использованные в диссертации методы исследования заслуживают высокой оценки.

В *третьей главе* автором представлены результаты проведения направленного поиска агонистов и антагонистов серотониновых рецепторов среди различных подклассов производных азола. Соискателем предложена новая идея комбинации методов компьютерного прогноза систем TestSim и PASS, обобщения ретроспективных данных об активности и структуре, а также экспериментального проспективного тестирования.

Полученные результаты позволили подтвердить перспективность экспериментального поиска соединений с серотонинергической активностью в ряду производных конденсированных азолов, с высоким уровнем достоверности выявить зависимость уровня биологической активности от базовых структур, заместителей и их расположения в структуре молекулы, что в конечном итоге дало возможность построить целевые скаффолды.

Другим не менее важным научно-практическим результатом исследований *in silico* и *in vitro* явилось выявление соединений-лидеров авазола и эметазола с высокой 5-НТ_{2A}- и 5-НТ₃-антагонистической активностью соответственно, превосходящей по величине ряд используемых в настоящее время препаратов сравнения.

В *четвертой главе* описаны результаты исследования фармакологических свойств авазола.

Данные представлены в соответствии с поставленными автором задачами. В первой части приводятся результаты, раскрывающие аспекты механизма действия нового 5-НТ_{2A}-антагониста. Обращает на себя внимание широкий набор использованных методов, как прямых *in vitro*, позволяющих напрямую оценить рецепторное взаимодействие, так и вспомогательных тестов на уровне взаимодействия с различными нейромедиаторными системами *in vivo*.

Во второй части четвертой главы представлены результаты влияния авазола на специфические 5-НТ_{2A}-зависимые фармакологические свойства. На экспериментальных моделях серотонинового спазма сосудов головного мозга, сонных артерий было показано антисеротониновое действие авазола, превосходящее эффект ципрогептадина.

Представлены данные, демонстрирующие влияние на системную гемодинамику, позволяющие оценить более избирательное действие в сравнении с ципрогептадином и кетансерином. Также показано наличие антиагрегантного действия, анальгетических и анксиолитических эффектов.

В *пятой главе* приведены результаты изучения фармакодинамических свойств эметазола. Структура главы построена аналогичным образом. Автором детализированы аспекты механизма действия соединения, что определило спектр изучения фармакологических свойств на моделях экспериментальной патологии.

Сокискателем было выявлено антиэметическое, противодиарейное и анальгетическое действие эметазола, в большинстве случаев, превосходящее эффекты 5-НТ₃-антагониста ондансетрона. Заслуживает внимания тщательное отношение автора к полученным результатам и адекватная их интерпретация.

В *шестой главе* представлены данные о токсикологических характеристиках изученных соединений-лидеров. Автором определена острая токсичность авазола и эметазола, рассчитаны показатели среднесмертельной дозы, определены классы токсичности соединений. Для более детального представления о токсикологических характеристиках соединений, а также безопасности эффективных доз были определены минимальные токсические дозы, оказывающие влияние на поведенческие и неврологические реакции животных.

В *седьмой главе* автором проводится детальное обсуждение полученных результатов, их сопоставление с современными литературными данными, рассматриваются перспективы дальнейшего поиска веществ с серотонинергической активностью. Обобщаются полученные данные о фармакологической активности авазола и эметазола. Эметазол предлагается в качестве перспективного биологически активного вещества с высокой антиэметической и антидиарейной активностью, не уступающее по величине ондансетрону; с выраженной анальгетической активностью, превосходящей ондансетрон и диклофенак, при этом в 3 раза менее токсичное, чем

ондансетрон. Авазол не обладает нейротоксическими эффектами в диапазоне эффективных сосудистых, антиагрегантных, анальгетических и анксиолитических доз и менее токсичен, чем препарат сравнения ципрогептадин, при большей антисеротониновой активности.

В *заключении* автором кратко обобщаются все полученные данные, формулируются выводы и практические рекомендации по использованию результатов работы. Основные выводы диссертации соответствуют цели и поставленным задачам. Все задачи решены, выводы обоснованы, логически вытекают из представленного материала и дают основание для практических рекомендаций. Практические рекомендации обоснованы, информативны.

По материалам диссертации опубликовано 50 печатных работ, отражающих основные положения диссертации, в том числе 17 статей в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, получено 2 патента на изобретения.

Автореферат и опубликованные работы полностью отражают основное содержание диссертации.

Принципиальных замечаний по работе нет. Однако при ознакомлении с диссертацией возникли следующие вопросы:

1. Предложенная Вами методология поиска активных соединений представляет большой интерес. Однако, каков был процент совпадений данных компьютерного моделирования, опытов *in vitro* и *in vivo*?
2. Каким Вам представляется механизм анксиолитического действия авазола?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, 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, в которой на основании выполненных

автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение - оптимизация изыскания и изучения новых серотонинергических соединений среди производных конденсированных азолов, имеющее существенное значение для фармакологии и клинической фармакологии.

По актуальности темы, методическому подходу к решению поставленных задач, новизне полученных результатов и их научно-практической значимости диссертация Д.С. Яковлева полностью 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 по специальности 14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент:

Заведующий лабораторией фармакологии
цереброваскулярных расстройств
ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»,
З.д.н. РФ, д.м.н., профессор

Р.С. Мирзоян

Подпись Р.С. Мирзояна заверяю:
Ученый секретарь ФГБНУ имени В.В. Закусова»
к.б.н.

В.А. Крайнева

« 12 » мая 2016 г.

125315 г. Москва, ул. Балтийская, 8.

тел. (495)601-21-57, (499) 151-18-81

Адрес электронной почты: zakusovpharm@mail.ru; cerebropharm@mail.ru

Список основных работ оппонента, соответствующих тематике диссертационного исследования:

1. Ганьшина Т.С. Тропоксин — новое средство для лечения мигрени [Текст] / Т. С. Ганьшина, А.А. Горбунов, А.В. Гнездилова, А.И. Турилова, Л.М. Косточка, Б.М. Пятин, Н.И. Авдюнина, Л.Н. Грушевская, Р.С. Мирзоян // Химико-фармацевтический журнал. – 2016. – Т.50. – №1. – С. 19-23.

2. Мирзоян Р.С. ГАМК-ергический компонент в механизме цереброваскулярного противоишемического эффекта докозагексаеновой кислоты [Текст] / Р.С. Мирзоян, Т.С. Ганьшина, А.В. Гнездилова, Г.И. Ковалёв, Ю.Ю. Фирстова, В.В. Безуглов, Н.М. Грецкая // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2015. – Т.78. – № 1. – С. 16-20.

3. Ганьшина Т.С. Сравнительное изучение влияния S-амлодипина никотината и амлодипина безилата на артериальное давление бодрствующих крыс [Текст] / Т.С. Ганьшина, Г.А. Ким, А.В. Гнездилова, А.А. Горбунов, Р.С. Мирзоян // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2014. – Т. 77. – № 8. – С. 20-22.