



РОССИЙСКАЯ
ВОЕННО-
МЕДИЦИНСКАЯ
АКАДЕМИЯ

КАФЕДРА
ФАРМАКОЛОГИИ



Санкт-Петербург, 194044, ул. Лебедева, д. 6
E-mail: shabanov@mail.rcom.ru

Тел./факс: (812) 542-43-97

ОТЗЫВ

официального оппонента профессора П.Д. Шабанова на диссертацию ЯКОВЛЕВА Дмитрия Сергеевича на тему: «Конденсированные азолы – новый класс лигандов серотониновых рецепторов», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

Актуальность проблемы

Поиск и изучение новых лекарственных веществ традиционно составляют основу фармакологии. Принципов изыскания два. Первый из них связан с выявлением превалирующей фармакологической активности соединения, полученного из природного сырья либо в результате химического синтеза, либо генноинженерных конструкций с дальнейшим определением его механизма действия и молекулярных мишеней. Этот принцип и алгоритм доминирует в современной фармакологии, поскольку исследователь изначально позиционирует будущий препарат по его преобладающей активности, сравнивает с существующими аналогами по активности и механизму и, в случае наличия преимуществ, готовит для внедрения. Второй принцип изыскания новых лекарственных средств появился сравнительно недавно на основе создания информационных баз проявления предполагаемой активности будущего препарата в зависимости от химической структуры. Он реализуется по оценке вероятностных видов активности и в дальнейшем требует такого же, как в первом случае, более детального изучения будущего препарата, как с точки зрения его фармакологических свойств, так и механизмов (мишеней) действия. Диссертационная работа Д.С.ЯКОВЛЕВА, которая по своей сути представляет фундаментальный труд, направленный на решение важнейших физиологических, фар-

макологических и практических медицинских задач, отражает второй описанный подход, то есть, выявление активности соединения через информационный поиск с дальнейшей детализацией действия препаратов и их механизмов. Подобное сочетание – фундаментальность и практическая применимость – делает диссертационное исследование Д.С. ЯКОВЛЕВА не только актуальным, но и практически значимым. Следует также подчеркнуть, что число подобных исследований, проводимых в России, пока еще сравнительно мало из-за сложных методологических задач, тонких методических подходов, наличия дорогостоящих фармакологических агентов-анализаторов, высокоточной исследовательской техники и аппаратуры. Однако это не умаляет данную проблему, а указывает лишь на то, что не всякая лаборатория способна заниматься решением подобных задач.

Настоящая работа выполнена в рамках научно-исследовательских программ, разрабатываемых в Волгоградской государственной медицинской академии, где традиционно уделяют много внимания изучению молекулярных механизмов различных физиологических и патологических состояний и способам их коррекции.

Оценка наиболее значимых результатов, полученных автором

Целью исследования диссертанта было исследование серотонинергических, а именно 5-HT_{2A}-, 5-HT₃- и 5-HT₄-опосредованных свойств конденсированных производных азола, а также экспериментальное обоснование перспективности использования представителей данного класса в качестве новой основы для разработки оригинальных серотонинергических средств. На основании цели сформулированы конкретные задачи исследования (их 8). Для решения этих вопросов автор использовал большой набор современных физиологических, фармакологических, биохимических, информационных и инструментальных методов исследования. Среди них методы прогностической оценки фармакологического действия химических соединений в системе «PASS», поведенческие методы исследования нейротропного действия на грызунах, оценка скорости мозгового кровотока доплерографическим методом, исследо-

вание антагонистической активности к разным подтипам серотониновых рецепторов *in vitro*, радиолигандный анализ, исследование антиэметического действия у собак, изучение анальгетических свойств соединений в нескольких поведенческих тестах у грызунов, методы фармакологического и статистического анализа. Постановка цели и задач работы конкретны и логичны. Примененные методы исследования, а также характер и количество полученного материала адекватны задачам диссертации. Значительный объем данных, их статистическая обработка и высокий уровень анализа позволяют считать результаты диссертационной работы достоверными, а положения и выводы – обоснованными.

В ходе исследований диссертант сделал ряд важных находок. В частности, доказано, что для представителей конденсированных азолов, а именно индолов и бензимидазолов, характерна высокая 5-НТ_{2A/3}-антагонистическая и 5-НТ₄-агонистическая активность. Отличия определяются наличием заместителей при втором атоме углерода и девятом атоме азота для производных бензимидазола и вариантами замещения при первом атоме азота. Автор выявил ряд активных соединений, одно из которых (авазол) проявляет выраженные анксиолитические, противомигренозные и анальгетические свойства, а второе (эметазол) – противорвотное, антидиарейное и анальгетическое действие, что связано с блокадой 5-НТ_{2A} и 5-НТ₃ рецепторов серотонина соответственно. Результаты исследований репрезентативны, корректно обработаны и не вызывают сомнений.

Обоснованность и достоверность результатов исследования

Представленный большой объем экспериментальных данных (опыты выполнены на 1158 неинбредных крысах, 615 неинбредных мышах, 12 собаках, 12 кроликах Шиншилла, 30 морских свинках, проведен теоретический анализ 1532 химических структур, экспериментальный анализ 240 структур из их числа), их корректная статистическая обработка, четкое представление в виде рисунков, таблиц и обстоятельного описания, а также достаточный анализ позволяет квалифицировать результаты диссертационной работы как дос-

товерные, а основные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации как вполне обоснованные.

Научная новизна

Диссертант описывает в работе оригинальную методологию поиска новых высокоактивных соединений – антагонистов рецепторов серотонина второго(A) и третьего подтипов, основанную на консенсусном виртуальном прогнозе активности и дополненными исследованиями *in vitro*. Впечатляет объем проведенной исследовательской работы, он включает скрининг 240 новых производных конденсированных азолов на предмет выявления сродства к разным подтипам рецепторов серотонина. Автор провел обстоятельный анализ между структурой химических соединений и их активностью, выявил наиболее значимые субструктуры, ответственные за 5-HT_{2A/3}-антагонистические и 5-HT₄-агонистические свойства. С привлечением современных методов исследования диссертант изучил рецепторные механизмы действия наиболее активных препаратов (авазола и этемазола), дал подробную характеристику их специфической активности (антимигренозного и антиэметического действия). Рецензируемая работа может быть квалифицирована как доказательное обстоятельное исследование в области фундаментальной фармакологии и медико-биологической науки в целом.

Теоретическая и научно-практическая значимость

Теоретическое значение диссертационной работы Д.С. ЯКОВЛЕВА следует оценить как высокое, поскольку она изначально является фундаментальной по направленности. Кроме этого, работа ориентирована на практическую применимость результатов. В частности, в работе разработана новая методология поиска лекарственных средств, агонистов и антагонистов рецепторов серотонина, основанная на вероятностном выявлении наиболее активных соединений с помощью информационного поиска (с использованием базы данных для методов виртуального компьютерного QSAR/SAR-зависимого прогноза биологической активности соединений) и дополненная исследованиями *in*

in vitro по выявлению и характеристике рецепторных нейромедиаторных мишеней, подкрепляющими либо опровергающими данные молекулярные мишени. Это позволяет сократить расходы на исследования in vivo, рационализировать поиск новых соединений, отработать современную логистику фармакологических исследований. Такой подход позволил выявить высокоселективные антагонисты 5-HT_{2A} (авазол) и 5-HT₃-рецепторов (эметазол). Оба препарата прошли весь цикл доклинических исследований, на них сформировано досье для регистрации в Фармакологическом комитете МЗ РФ. Полученные данные следует рассматривать как новые, имеющие важное теоретическое и практическое значение для фармакологии, фармакохимии, клинической фармакологии и общемедицинской практики.

Результаты исследований Д.С. ЯКОВЛЕВА могут быть полезны для научно-исследовательских работ, проводимых в Военно-медицинской академии им. С.М.Кирова МО РФ (Санкт-Петербург), Институте медико-биологических проблем РАН, НИИ фармакологии РАМН им. В.В.Закусова (Москва), НИИИ военной медицины МО РФ (Москва, Санкт-Петербург), учреждениях Российской академии наук, Федерального агентства научных организаций, Министерства сельского хозяйства и ветеринарной медицины.

Структура и оформление работы

Работа изложена на 339 страницах машинописи, иллюстрирована 36 рисунками и 120 таблицами, 63 из которых приведены в приложении. Построение диссертации традиционное и соответствует ГОСТу РФ. Диссертация включает введение, обзор литературы (глава 1), экспериментальный раздел исследований (главы 2-6), обсуждение результатов (глава 7), заключения с выводами, практические рекомендации, список использованной литературы и приложения. Литературный указатель содержит 254 ссылки (61 отечественных и 193 иностранных) на работы, опубликованные в основном за последние 10 лет. Диссертация написана хорошим литературным языком и легко читается.

Статистика

Полученные данные корректно обработаны с применением современных методов статистики. Использованные статистические методы позволяют адекватно оценивать полученные результаты.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 50 работ, включая 17 статей в журналах, рекомендованных ВАК, 2 патента, 31 работу в сборниках научных публикаций и тезисов. Публикации в целом отражают основные результаты, полученные в диссертационной работе.

Автореферат

Основные положения автореферата диссертации полностью соответствуют разделам и содержанию диссертационной работы.

Выводы

Диссертация содержит 10 выводов. Все выводы обоснованы и логично вытекают из основного содержания диссертации. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключений соискателя следует признать высокой, что обеспечивается как количественной стороной изученного материала, так и качеством его обработки.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний и возражений по диссертационной работе нет. Вместе с тем, в ходе рецензирования диссертационной работы возникли следующие вопросы и некоторые спорные моменты, требующие дополнительного пояснения и уточнения:

1. В работе выделенный препарат авазол (антагонист 5-HT_{2A}-рецепторов серотонина) сопоставлялся с аналогами ципрогептадином, кетансерином и ритансерином (стр. 28-29 автореферата). Ципрогептадин, как известно, имеет высокое сродство к H₁-рецепторам гистамина и M-

холинорецепторам. Просьба уточнить, в какой степени у авазола присутствуют (или отсутствуют) холинолитические и антигистаминные свойства. В работе (стр. 27 автореферата) лишь упоминается об отсутствии заметного влияния авазола на адренергическую и холинергическую системы по данным анализа агонизма/антагонизма с соответствующими анализаторами.

2. Как все же правильнее позиционировать авазол для практического применения: только как антагонист 5-HT_{2A}-рецепторов серотонина, либо как анальгетик, противотревожное средство, противомигренозное средство? Если только как «противомигренозное средство с анальгетическими, антиагрегантными и анксиолитическими свойствами» (стр. 40 автореферата), какие, по мнению автора, иные фармакологические эффекты могут быть выявлены у авазола, почему? Например, если анальгетическая активность у авазола соответствует активности буторфанолола (вывод 6 диссертации), который активнее морфина в 3-5 раз, то было бы уместным и позиционировать авазол как мощный анальгетик, пригодный, в том числе, и для лечения мигрени? И не обладает ли авазол в таком случае опиоидной активностью и способностью вызывать зависимость? Тогда вполне объяснимо и его противотревожное действие, как характерное для опиоидных анальгетиков. Просьба уточнить и дать развернутый ответ.

3. Имеются небольшие замечания по оформлению диссертации, некоторая избыточность представления материала, отдельное дублирование фактологического материала в таблицах и рисунках, вынесение громадного количества таблиц в приложение.

В целом, работа производит весьма благоприятное впечатление, как по сути, так и по оформлению.

Все приведенные вопросы и замечания не затрагивают существа работы и сформулированы в плане дискуссии.

Заключение

Диссертация ЯКОВЛЕВА Дмитрия Сергеевича на тему: «Конденсированные азолы – новый класс лигандов серотониновых рецепторов», представлен-

ная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология, является законченной, самостоятельно выполненной научной квалификационной работой, в которой содержится решение крупной научной проблемы в области фундаментальной и клинической фармакологии, состоящей в обосновании новых принципов поиска серотонинергических средств, выявлении и изучении новых селективных антагонистов серотонина (авазол, эметазол), что имеет большое значения для фармакологии и медицины в целом. Работа полностью соответствует паспорту специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология. Научная новизна и практическая значимость результатов исследования позволяют утверждать, что данное исследование соответствует п.9 Положения ВАК Министерства образования РФ, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (редакция от 21.04.2016 г. №335) о порядке присуждения ученых степеней на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а ее автор, ЯКОВЛЕВ Дмитрий Сергеевич, по своей эрудиции, научному и практическому опыту достоин присуждения искомой степени.

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой фармакологии
Военно-медицинской академии им. С.М.Кирова,
Главный фармаколог Минобороны РФ,
доктор медицинских наук профессор

П.Д.Шабанов

«02» июня 2016 года

Шабанов Петр Дмитриевич
тел. 8-921-900-1951, e-mail: pdshabanov@mail.ru

Подлинность подписи заверяю
Заместитель начальника отдела кадров
подполковник медицинской службы А. Цымбаленко

Список основных работ оппонента, соответствующих тематике диссертационного исследования:

1. Анальгетическое действие тропалгина при термической боли у крыс с различным болевым порогом [Текст] / И.В. Зарубина, О.В. Федорова, П.Д. Шабанов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2015. – Т.78. – №8. – С.7-9.
2. Функциональное значение димерных (гетеромерных) рецепторов в ЦНС позвоночных [Текст] / А.А. Букинич, П.Д. Шабанов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2015. – Т.13. – №1. – С.25-31.
3. Влияние острой гипоксии с гиперкапнией на содержание моноаминов в симметричных структурах головного мозга самцов мышей линии balb/c [Текст] / И.В. Карпова, В.В. Михеев, В.В. Марышева, Е.Р. Бычков, П.Д. Шабанов // Биомедицинская химия. – 2014. – Т.60. – №2. – С.258-263.