

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заведующей лабораторией психофармакологии Федерального Государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В. В. Закусова Ворониной Татьяны Александровны на диссертацию Мирошникова Михаила Владимировича на тему «Анксиолитическая активность новых производных диазепино-[1,2- $\alpha$ ]-бензимидазола», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук в Диссертационный совет Д 208.008.06 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности 14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология.

### **Актуальность темы.**

Тревожные состояния являются наиболее распространенными психическими расстройствами, а в современным мире, с его травмирующими ситуациями число пациентов с тревожно-фобическими расстройствами неуклонно растет. Для лечения и коррекции тревоги в настоящее время применяется достаточно много препаратов с анксиолитическим (транквилизирующим) действием. В мировой клинической практике уже почти 50 лет с успехом применяются бензодиазепиновые транквилизаторы (диазепам, феназепам, лоразепам, медазепам, нитразепам и другие), но наличие у бензодиазепинов, особенно при нарушении схемы применения и использования высоких доз, побочных эффектов (седации, миорелаксации, нарушения памяти, лекарственной зависимости) ограничивает их применение, особенно в амбулаторной практике. Анксиолитики следующих поколений включают мембранные модуляторы ГАМКА-бензодиазепинового рецепторного комплекса (афобазол, мексидол), частичные агонисты бензодиазепинового рецептора (абекарнил), эндогенные модуляторы ГАМКА-бензодиазепинового рецепторного комплекса (эндозепины), агонисты ГАМКВ-рецепторного комплекса (фенибут), серотонинергические анксиолитики (буспирон) и некоторые другие. В большинстве случаев эти препараты в сравнении с бензодиазепиновыми анксиолитиками обладают менее выраженными побочными эффектами, но и меньшей активностью при терапии тревожно-фобических расстройств. Кроме того в последнее время для лечения тревоги назначаются антидепрессанты, преимущественно селективные ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина (флуоксетин идр), но они также не лишены побочных эффектов (склонность к суициду в начале терапии, репродуктивная токсичность и др.).

В связи с этим, возникает необходимость разработки новых препаратов с высокой противотревожной активностью и минимумом побочных эффектов.

Перспективным направлением при создании новых лекарственных средств является комбинирование привилегированных структур, обладающих несколькими фармакологическими активностями. Именно этот подход для поиска анксиолитиков нового типа был использован в диссертации М.В. Мирошникова.

Таким образом, диссертация Михаила Владимировича Мирошникова, посвященная поиску и детальному изучению анксиолитиков в новых рядах химических соединений - производных диазепино[1,2- $\alpha$ ]бензимидазола с использованием комбинирования привилегированных структур, представляется одним из наиболее перспективных направлений в современной медицине и является актуальной, своевременной работой, имеющей высокую значимость для фармакологии, клинической фармакологии.

### **Научная новизна полученных результатов.**

Диссертационная работа имеет высокую степень научной новизны, поскольку все результаты в ней получены впервые. Автором проведен скрининг 15-ти новых производных диазепино[1,2- $\alpha$ ]бензимидазола, направленный на выявление

анксиолитической активности и степени ее выраженности и на основании этих данных определено соединение – лидер под шифром ДАБ-21, являющееся производным 11-Диалкиламиноэтил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино - [1,2-а] – бензимидазола.

Убедительно доказано, что ДАБ-21 обладает широким спектром нейропсихотропных эффектов и проявляет высокую анксиолитическую активность, превосходящую активность и эффективность диазепама. Получены данные об отсутствии у соединения ДАБ-21 миорелаксирующего и седативного эффектов. Важно, что в отличие от бензодиазепиновых анксиолитиков, соединение ДАБ-21 обладает умеренным антидепрессивным эффектом. Установлено также, что острая токсичность соединения ДАБ-21 ниже, чем токсичность диазепама. Вышеизложенное свидетельствует о том, что соединение ДАБ-21 имеет преимущества перед диазепамом.

Существенный интерес и научную новизну имеет выполненный автором анализ зависимостей между химической структурой и фармакологической активностью. Структура соединения ДАБ-21, являющегося производным 11-Диалкиламиноэтил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино - [1,2-а] – бензимидазола, содержит в положении N<sup>11</sup> 2-пирролидиноэтильный радикал и именно этот радикал, по заключению автора, определяет наличие у соединения высокой анксиолитической активности.

### **Практическая значимость работы**

Диссертационное исследование М.В. Мирошникова имеет несомненную значимость для медицинской науки. В работе выявлены закономерности зависимости между анксиолитической активностью производных 11-замещенных-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]диазепино-[1,2-а]-бензимидазола и их структурой, а также физико-химическими свойствами. Полученные данные расширяют представления об исследуемом классе соединений. Результаты, свидетельствующие о наличии у соединения ДАБ-21 высокой анксиолитической и антидепрессивной активности, отсутствии миорелаксантных и седативных побочных эффектов и низкой токсичности, определяют его преимущества перед диазепамом и делают перспективным дальнейшее преклиническое изучение ДАБ-24.

В работе показано, что производные диазепино-[1,2-а]-бензимидазола, имеющие в своей структуре диазепиновый и бензимидазольный фрагменты, являются новым перспективным классом веществ для изыскания препаратов с нейропсихотропной активностью.

### **Структура и оформление диссертации.**

Диссертация изложена на 177 страницах машинописного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, описание материалов и методов работы, 5 глав собственных исследований, обсуждение результатов, выводы, научно-практические рекомендации, список литературы, содержащий 237 источника, из них 85 отечественных и 152 зарубежных. Диссертация иллюстрирована 28 рисунками и содержит 46 таблиц.

В **введении** представлены актуальность, степень разработанности проблемы, цель и задачи исследования, научная новизна, практическая значимость, положения, выносимые на защиту и степень достоверности результатов.

В **первой главе** автором изложен обзор отечественных и зарубежных литературных источников по теме диссертации, а также проанализированы данные литературы о причинах актуальности поиска и разработки новых молекул с высокой нейропсихотропной активностью среди производных бензимидазола. В заключительной части обзора высказано мнение о перспективности изучения производных диазепинобензимидазола, в качестве лекарственных средств для терапии и профилактики тревожно-фобических состояний.

Во **второй главе** изложены материалы и методы направленного поиска среди 15 новых производных 11-замещенных-2,3,4,5 – тетрагидро [1,3] диазепино-[1,2-а]-бензимидазола. Адекватность методов исследования и статистической обработки, анализ и интерпретация полученных результатов, а также их достоверность не вызывают сомнений.

**В третьей главе** описан направленный скрининг соединений с анксиолитической активностью в ряду 15 новых производных диазепино – [1,2- $\alpha$ ] – бензимидазола на модели «Приподнятого крестообразного лабиринта», в результате которого было выбрано вещество ДАБ-21, проявляющее выраженную противотревожную активность, превосходящую препараты сравнения диазепам и афобазол, для дальнейшего углубленного изучения его транквилизирующих свойств.

**В четвертой главе** автором представлены данные расширенного изучения противотревожной активности соединения ДАБ-21 в тестах «Темная-светлая камера» «Наказуемого взятия воды по Vogel», «Оценка тревожно-фобического состояния животных», «Открытое поле». По результатам полученных значений, было доказано, что вещество ДАБ-21 имеет выраженную анксиолитическую активность, превосходящую препарат сравнения диазепам.

**В пятой главе** описано изучение иных нейропсихотропных свойств соединения ДАБ-21. Так, в тестах «Горячая пластина» и «Отдергивание хвоста» была исследована анальгетическая активность вещества. В teste «Закапывание шариков» оценено обсессивно-компульсивное состояние исследуемых животных под действием изучаемого соединения. На модели «Резидент-интрудер» определена агрессивность при зоосоциальном взаимодействии. Антидепрессивное действие изучалось в тестах «Принудительное плавание по Porsolt» и «Подвешивание за хвост».

**Шестая глава** диссертационного исследования посвящена изучению взаимодействия соединения ДАБ-21 с основными агонистами / антагонистами различных нейромедиаторных систем. В результате эксперимента, проведенного с антагонистом бензодиазепиновых рецепторов – флумазенилом (1 мг/кг), было показано снижение анксиолитической активности соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг при внутрижелудочном введении, после чего можно предположить взаимодействие исследуемого вещества с бензодиазепиновым рецептором ГАМК-рецепторного комплекса. Вещество ДАБ-21 в установленной дозе, статистически увеличивало длительность стереотипии, вызванной фенамином и снижало каталептическое действие галоперидола, что позволяет предполагать наличие влияния изучаемого соединения на дофаминовую нейропередачу. К тому же, автором было показано, что соединение ДАБ-21 в рабочей дозе увеличивало эффекты 5-гидрокситриптофана, что подтверждает наличие у изучаемого соединения моноаминергического действия.

**В седьмой главе** представлены результаты острой токсичности и побочных эффектов соединения ДАБ-21. При изучении острой токсичности соединения ДАБ-21 на одном виде животного – мышей-самцов, была получена величина среднесмертельной дозы ( $LD_{50}$ ) при внутрижелудочном введении - 826,1 мг/кг (3 класс токсичности [ГОСТ 12.1.007–76, 1976]), превосходящая по безопасности аналогичный показатель препарата сравнения диазепама. Для вещества ДАБ-21 не характерно изменение функционально-поведенческого статуса животных, изученного по методу S.Irwin в дозе 1,26 мг/кг и превышающие таковую в 20 раз – 25 мг/кг и 50 раз – 63 мг/кг, к тому же, по результатам, полученным в teste «Условное предпочтение места», для соединения ДАБ-21 было показано отсутствие развития аддикции.

**В восьмой главе** автором проведен анализ полученных результатов в сравнении с отечественными и зарубежными литературными данными.

### **Степень обоснованности и достоверности научных положений, рекомендаций и выводов.**

При выполнении диссертационной работы М.В. Мирошниковым проведены экспериментальные исследования с использованием широкого набора современных методов. Диссертантом получен обширный фактический материал, всесторонний анализ которого позволил автору решить поставленные в работе задачи и достичь заявленной цели. Достоверность полученных в ходе работы данных достигнута применением

общепринятых и адекватных поставленным задачам методов исследования с использованием интактных, контрольных и опытных групп экспериментальных животных. Представлен большой объем экспериментальных данных, таблицы, графики, рисунки, статистическая обработка и все это позволяет расценивать результаты исследования как достоверные.

Диссертация заканчивается 12 выводами и практическими рекомендациями, которые обоснованы, логичны, соответствуют поставленным целям и задачам исследования.

Все задачи решены диссидентом в ходе исследования. Научно-практические рекомендации сформулированы верно и отражают ценность полученных данных.

Автореферат диссертации полностью отражают суть и основное содержание данного диссертационного исследования.

Основные результаты исследования опубликованы в 23 печатных работах, из них 4 – в изданиях Перечня ВАК Минобрнауки РФ.

Среди отдельных недостатков можно отметить некоторые стилистические и смысловые неточности, неточное цитирование некоторых работ, а также опечатки. Указанные замечания по диссертационной работе не снижают ее ценности и не носят принципиального характера.

При ознакомлении с диссертацией возникли следующие вопросы:

1 Автором в качестве препарата сравнения выбран диазепам. Но исследование выявило существенные позитивные отличия ДАБ-21 от диазепама, в том числе антидепрессивный компонент действия. Сравнивал ли автор, хотя бы по данным литературы, ДАБ-21 с дневными анксиолитиками и антидепрессантами с анксиолитическим компонентом, в частности, с афобазолом и флуоксетином?

2 В клинической и амбулаторной практике анксиолитики применяются длительными курсами, и ко многим из них развивается толерантность. Исследовал ли автор эффекты ДАБ-21 при повторном, курсовом применении?

3 Известно, что к препаратам, реализующим эффекты через бензодиазепиновый рецептор, может развиться лекарственная зависимость (пример -бензодиазепиновые транквилизаторы). Полученные данные о том, что эффект ДАБ-21 устраняется флумазенилом, требуют повышенного внимания к исследованию аддиктивного поведения. В работе представлены результаты исследования вещества только в одной дозе и только в teste условного предпочтения места. Планируется ли более углубленное изучение этого вопроса?

4 В работе показано, что соединение ДАБ-21 показало эффективность в teste конфликтной ситуации по Вогелю, в котором наказующим фактором является болевое раздражение. Не связан ли положительный эффект ДАБ-21 в этом teste с его способностью ослаблять наказующее болевое раздражение, поскольку вещество обладает анальгетическим эффектом?

5 Каковы перспективы дальнейшего углубленного изучения соединения лидера ДАБ-21, а именно спектра специфических и побочных эффектов в более широком диапазоне доз, механизма действия, хронической токсичности, фармакокинетики?

Заданные вопросы носят дискуссионный, уточняющий характер и не снижают ценности диссертации.

**Заключение.**

Диссертация Мирошникова Михаила Владимировича на тему «Анксиолитическая активность новых производных диазепино-[1,2- $\alpha$ ]-бензимидазола», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи в области нейрофармакологии, а именно поиска новых отечественных препаратов с

анксиолитической активностью, имеющими преимущества перед известными препаратами.

Работа полностью соответствует паспорту специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология. Актуальность, методический комплекс, научная новизна и научно-практическая значимость работы полностью соответствуют всем требованиям п.9, указанным в «Положении о порядке присуждения ученых степеней», утвержденном Правительством РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ №355 от 24.04.16), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология, а ее автор М.В. Мирошников достоин присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент: доктор медицинских наук  
(шифр специальности: 14.03.06 – фармакология,  
клиническая фармакология), профессор, заслуженный деятель науки РФ,  
заведующая лабораторией психофармакологии  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
фармакологии имени В.В. Закусова»



Татьяна Александровна Воронина

«26 » ноября 2020 г.

Подпись доктора медицинских наук,  
профессора Т.А. Ворониной «ЗАВЕРЯЮ»  
ученый секретарь ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
фармакологии имени В.В. Закусова»  
к.б.н.

Б.А. Крайнева

«26 » ноября 2020 г.  
МП



федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»  
125315, Россия, г. Москва, ул. Балтийская, д.8  
Телефон: +7 (499) 151 18 81; e-mail: [zakusovpharm@mail.ru](mailto:zakusovpharm@mail.ru)

**СВЕДЕНИЯ ОБ ОПИОНЕНТЕ**  
по диссертации Миронникова Михаила Владимира "Анксиолитическая активность новых производных диазепино-[1,2-*a*]-бензимидазола" на сопискание ученой  
степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология

| Ф.И.О.                               | Год рождения, гражданство   | Место основной работы<br>(с указанием<br>организации,<br>ее ведомственной<br>принадлежности, города),<br>должность                             | Ученая<br>указанием<br>специальности, по которой<br>защитена диссертация)      | Степень<br>шифра<br>специальности,<br>кафедре) | Ученое звание (по<br>специальности и<br>отрасль науки     | Основные 3 работы (за последние<br>5 лет)   |
|--------------------------------------|-----------------------------|--|--|--|---|---|
| Воронина<br>Татьяна<br>Александровна | 9 марта 1938,<br>Москва, РФ | Федеральное Государственное<br>бюджетное<br>учреждение<br>«Научно-<br>Исследовательский<br>институт<br>фармакологии имени<br>В.В.<br>Закусова» | Доктор медицинских наук,<br>14.03.06-Фармакология,<br>клиническая фармакология | Профессор                                      | 14.03.06-<br>Фармакология,<br>клиническая<br>фармакология | <p>1. Капица И.Г., Иванова Е.А.,<br/>Воронина Т.А., Середенин<br/>С.Б. Особенности поведенческого<br/>фенотипа мышей линии BALB/c<br/>//Российский физиологический<br/>журнал им. ИМ Сеченова. – 2020. –<br/>Т. 106. – №. 3. – С. 373–373–383.</p> <p>2. Капица И.Г., Иванова Е.А.,<br/>Воронина Т.А., Калинина А.П.,<br/>Середенин С.Б. Коррекция<br/>афобазолом тревоги при<br/>моделировании аутизма<br/>//Экспериментальная и клиническая<br/>фармакология. – 2019. – Т. 82. – №.<br/>10. – С. 3–7.</p> <p>3. Кудряшов Н.В., Калинина Т.С.,<br/>Шимширт А.А., Волкова А.В.,<br/>Жмуренко Л.А., Воронина<br/>Т.А. Экспериментальная оценка<br/>анксиолитической активности<br/>производного пиразоло [c] пиридина<br/>ГИЖ-72 в условиях хронического<br/>непредсказуемого стресса<br/>//Экспериментальная и клиническая<br/>фармакология. – 2018. – Т. 81. – №.<br/>1. – С. 3–8.</p> |

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

В.А. Крайнева



М.А. Крайнева

## СОГЛАСИЕ ОППОНЕНТА

Я, Воронина Татьяна Александровна, доктор медицинских наук по специальности 14.00.25 Фармакология, клиническая фармакология, З.Д.Н. РФ, д.м.н., профессор, заведующая лабораторией психофармакологии ФГБНУ НИИ фармакологии имени В.В. Закусова, даю свое согласие выступить в качестве официального оппонента по диссертации Мирошникова Михаила Владимировича на тему: «Анксиолитическая активность новых производных диазепино-[1,2- $\alpha$ ]-бензимидазола» 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.

"\_9\_" сентября 2020 г.

  
подпись

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

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

  
В.А. Крайнева

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

