


«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии
наук» доктор биологических наук,
профессор, член-корреспондент РАН

Степанов Вадим Анатольевич

«» 01 _____ 2022 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» о научно-практической значимости диссертационной работы Клочкова Владлена Геннадиевича на тему: «Фармакологические свойства новых производных 2-оксиндола», представленной к защите в Диссертационный совет 21.2.005.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России на соискание ученой степени кандидата фармакологических наук по специальности 3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология.

Актуальность темы диссертационной работы

Сахарный диабет 2-го типа (СД2) является глобальной медико-социальной проблемой. При этом большое разнообразие разработанных классов противодиабетических препаратов в достаточной мере не обеспечивает все необходимые потребности здравоохранения. В связи с этим перспективным направлением является разработка новых противодиабетических препаратов, влияющих как на звенья патогенеза заболевания, так и на возникающие при нем ранние и поздние осложнения.

Обоснованность основных научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа Клочкова Владлена Геннадиевича выполнена с использованием современных методик, соответствующих поставленным цели и задачам исследования.

Целью данной работы являлось изучение фармакологических свойств новых производных 2-оксиндола.

Для достижения поставленной цели автором были поставлены 9 задач, отражающих ключевые этапы проведенного исследования: экспериментальный *in vitro* поиск ингибиторов киназы гликогенсинтазы типа 3 бета и альфа-глюкозидазы, изучение взаимоотношения «структура-активность» в представленном ряду новых производных 2-оксиндола, оценка влияния соединений на первичные клеточные линии, а также углубленное изучение *in vivo* и определение некоторых показателей токсичности (цитотоксичность, острая токсичность).

В своей работе Клочков Владлен Геннадиевич впервые провел изучение влияния 27 новых производных 2-оксиндола (синтезированы на кафедре медицинской химии и тонкого органического синтеза Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова под руководством к.х.н. Н.А. Лозинской) на активность альфа-глюкозидазы и/или киназы гликогенсинтазы типа 3 бета (GSK3B). Выявлены высокоактивные ингибиторы GSK3B, соединения К-167 и К-248, для которых подтверждено антидиабетическое, противовоспалительное, антиагрегантное и антитромботическое действие на клеточных и животных моделях. Вещество К-170(1) – микромолярный ингибитор альфа-глюкозидазы, оказывает выраженную антигипергликемическую активность в пероральных тестах толерантности к дисахаридам.

Новизна исследования, достоверность научных результатов

Впервые получены данные о влиянии новых производных 2-оксиндола на активность киназы гликогенсинтазы типа 3 бета, альфа-глюкозидазы, липополисахаридиндуцированную секрецию оксида азота и интерлейкина-6.

Выявлены высокоактивные ингибиторы GSK3B - производные К-167 и К-248, показана их высокая антидиабетической активности на животной модели СД2, нормализация показателей углеводного и липидного обменов, а также препятствование развитию хронического подострого воспаления и

оксидативного стресса. Соединения блокируют активацию макрофагов, выделение оксида азота и интерлейкина-6, что подтверждено на животной модели местного воспаления. Вещества К-167 и К-248 оказывают антиагрегантное действие при использовании индукторов АДФ и коллагена, а соединение К-167 также антитромботическое на модели окклюзии сонной артерии 50%-м раствором хлорида железа (3).

Выявлено производное К-170(1) с ингибирующей альфа-глюкозидазу активностью, оказывающее выраженное антигипергликемическое действие в пероральных тестах толерантности к дисахаридам.

Соединения К-167, К-170(1) и К-248 не вызывают гибель неонатальных фибробластов сердца крыс в конечной концентрации 20 мкМ и первичных перитонеальных макрофагов мышей в конечной концентрации 7 мкМ. Вещество К-167 относится к 5-му классу токсичности при пероральном введении мышам.

Экспериментальные данные подвергнуты адекватной статистической обработке. Научные положения, выносимые на защиту, выводы и рекомендации обоснованы результатами проведенных исследований.

Практическая значимость

3-арилиден-2-оксиндол является перспективным скаффолдом для поиска соединений, влияющих на активность киназы гликогенсинтазы типа 3 бета. Обоснована необходимость проведение расширенных доклинических исследований ингибиторов GSK3B производных К-167 и К-248, а также ингибитора альфаглюкозидазы соединения К-170 в качестве перспективных противодиабетических средств.

Содержание и оформление диссертации

Диссертация оформлена в классическом стиле в соответствии с существующими требованиями и изложена на 176 страницах машинописного текста, иллюстрирована 82 рисунками и 23 таблицами. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, двух глав, описывающих собственные результаты автора, главы обсуждения

результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 15 отечественных и 174 зарубежных источника.

В первой главе автором проведен анализ литературных данных по теме диссертации. Рассмотрены преимущества и недостатки одобренных для клинического применения антидиабетических препаратов. Представлен современный взгляд на основные механизмы развития СД2.

Во второй главе описаны материалы и методы проведенных исследований.

Использованные автором методы исследования адекватны поставленным задачам. Полученные результаты обработаны с использованием методов статистической обработки и их достоверность не вызывает сомнений.

Материалы собственных исследований изложены в главах 3 и 4.

В третьей главе приведены данные по поиску веществ с ингибирующей киназу гликогенкиназу типа 3 бета активностью, проведено описание взаимодействия веществ с ферментом путем молекулярного докинга и анализ зависимости ингибирующей активности от структуры новых производных 2-оксиндола: производные 3-арилиден-2-оксиндола оказались более перспективными и активными в сравнении с 3,3-дизамещенными-2-оксиндолами, в положении С3 (R1) наличие шестичленного ароматического цикла с гетероатомом в орто-положении или гидроксильной группой в пара-положении повышало ингибирующую GSK3B активность. Выявлены соединения: К-167 – наномолярный ингибитор GSK3B и К-248 – микромолярный ингибитор с выраженным противовоспалительным действием. Далее проведено их расширенное фармакологическое изучение.

Показано, что вещество К-167 оказывает выраженный антигипергликемический эффект при однократном пероральном введении животным с экспериментальным СД2. Для дальнейшего исследований была выбрана доза 30 мг/кг, эквивалентная по активности препарату сравнения вилдаглиптину (10 мг/кг п/о). Соединение при хроническом введении в

течении 3 месяцев нормализует показатели углеводного и липидного обменов, а также препятствует развитию хронического подострого воспаления и оксидативного стресса. Соединение К-167 оказывает противовоспалительную активность, снижая выработку оксида азота и ИЛ-6 стимулированными липополисахаридом первичными макрофагами мышей. Данный эффект подтвержден на животной модели местного воспаления. Выявлено наличие антиагрегантной и антитромботической активности, что может быть использовано для коррекции осложнений СД2. По результатам исследования острой токсичности соединение К-167 отнесено к 5 классу токсичности.

Для производного К-248 выявлена антидиабетическая активность при хроническом введении. Соединение оказывает выраженный противовоспалительный эффект, как *in vitro*, так и *in vivo* (при однократном введении и на модели СД2). Кроме того, выявлено наличие антиагрегантной активности.

В четвертой главе описано изучение влияния соединений на активность альфа-глюкозидазы, установлено, что производные 3-арилиден-2-оксиндола оказались более перспективными и активными в сравнении с 3,3-дизамещенными-2-оксиндолами, в положении С3 (R1) наличие гетероциклических радикалов снижало, а карбоциклических радикалов с заместителем в пара-положении увеличивало ингибирующую альфа-глюкозидазу активность, наличие амидной группировки в положении С5 (R2 для 3-арил-2-оксиндолов и в положении R3 для 3,3-дизамещенных-2-оксиндолов) также увеличивало активность соединений. Показано, что соединение К-170(1) является микромолярным ингибитором. При проведении молекулярного докинга показано аллостерическое взаимодействие вещества с ферментом. Исследуемое производное оказывает выраженный антигипергликемический эффект при пероральном введении (5 мг/кг), сопоставимый с препаратом сравнения акрбозой (5 мг/кг) в пероральном тесте толерантности к дисахаридам (мальтоза, сахароза).

Значимого влияния на толерантность к глюкозе выявлено не было, что подтверждает механизм действия соединения. Проведен *in silico* анализ ADMET, согласно которому, соединение хорошо абсорбируется в ЖКТ и относится к классу всасываемых ингибиторов альфа-глюкозидазы, для которого характерна меньшая частота возникновения побочных эффектов.

Пятая глава посвящена обсуждению результатов, полученных в проведенном исследовании, позволяющих сделать вывод о целесообразности проведения доклинических исследований выявленных соединений.

Диссертация завершается 11 выводами, соответствующими полученным результатам. Практические рекомендации логичны и соответствуют полученным данным.

Основное содержание диссертационной работы отражено в автореферате и представлено в 11 публикациях, из них 3 в журналах, рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени, получен 1 патент на изобретение РФ.

В целом, рецензируемая диссертация В.Г. Клочкова производит самое благоприятное впечатление, включает большой объем экспериментальных данных, полученных с использованием широкого спектра *in silico*, *in vitro* и *in vivo* методик. При этом использование данных методик научно обоснованно, полученные результаты адекватно интерпретированы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Клочкова Владлена Геннадиевича на тему: «Фармакологические свойства новых производных 2-оксиндола», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, является законченной научно-квалификационной работой, соответствует паспорту специальности 3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология, удовлетворяет всем требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

Диссертационная работа содержит новое решение актуальной научной задачи фармакологии – поиска и разработки новых лекарственных средств с антидиабетическим действием, имеющих существенное значение для фармакологии, клинической фармакологии, фундаментальной и практической медицины, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология.

Отзыв на диссертацию обсужден на заседании лаборатории фармакологии кровообращения НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», протокол № 1 от «21» января 2022 г.

Заведующий отделом фармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга» Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, доктор биологических наук, профессор

«24» января 2022 г.

Марк Борисович Плотников

Подпись М.Б.Плотникова заверяю:

заместитель директора по научно-организационной работе и
внешним связям, ученый секретарь Томского НИМЦ
канд. биол. наук



Ирина Юрьевна Хитринская

634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5
Тел: 8 (3822) 51-33-06,
E-mail: center@tnimc.ru
www.tnimc.ru

Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
(Томский НИМЦ)

Кооперативный пер., д. 5, Томск, 634009
Тел./ факс (3822) 51 10 39/ 51 40 97
E-mail: center@tnimc.ru

ОКПО 01895186, ОГРН 1027000861568,
ИНН/КПП 7019011979/701701001

На № 0/4 от 19. XI 2012

Председателю Диссертационного
Совета 21.2.005.02 при
ФГБОУ ВО «Волгоградский
государственный медицинский
университет» Минздрава России,
академику РАН В.И. Петрову

Согласие ведущей организации

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» не возражает выступить в качестве ведущей организации по диссертации Ключкова Владлена Геннадиевича на тему: «Фармакологические свойства новых производных 2-оксиндола», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Отзыв будет подготовлен в соответствии с требованиями п. 24 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года №842 и направлен в диссертационный совет 21.2.005.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России в установленные сроки.

Директор Томского НИМЦ,
доктор биологических наук, профессор,
член-корреспондент РАН



В.А. Степанов

В диссертационный совет 21.02.005.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1)

СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

по диссертации Ключкова Владлена Геннадиевича «Фармакологические свойства новых производных 2-оксиндола» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Полное название организации	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» Томский НИМЦ
Сокращенное наименование организации	Томский НИМЦ
Адрес организации	634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5
Контактный телефон (с кодом города)	8 (3822) 51-33-06
Ведомственная подчиненность	Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Сведения о руководителе ведущей организации	Степанов Вадим Анатольевич - директор Томского НИМЦ, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН Контактная информация: Тел: 8 (3822) 51-22-28 e-mail: center@nime.ru
Сведения о заместителе руководителя ведущей организации по научной работе	Лебедев Игорь Николаевич, заместитель директора по научной работе, доктор биологических наук, профессор РАН Контактная информация: Тел. 8 (3822) 51-11-09 e-mail: igor.lebedev@medgenetics.ru
Сведения о составителе отзыва ведущей организации	Плотников Марк Борисович – заведующий отделом фармакологии НИИФIRM им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ, доктор биологических наук, профессор

	<p>Контактная информация: Тел: 8 (3822) 41-83-73 e-mail: mbr2001@mail.ru</p>
<p>Основные работы (за последние 5 лет)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Antihyperglycaemic, haemorrheological and antioxidant activities of Lycium chalcedonica L. extract in a streptozotocin-induced rat model of diabetes mellitus / M. B. Plotnikov, L. N. Zibareva, A. S. Vasiliev [et al.] // J. Complement. Integr. Med. – 2019/ – Vol. 17, No 2 : j/jcim.2020.17.issue-2/jcim-2017-0028/jcim-2017-0028.xml. 2. Protective effects of new c-Jun N-terminal kinase inhibitor in the model of global cerebral ischemia in rats / M. B. Plotnikov, G. A. Chernysheva, O. I. Aliev [et al.] // Molecules. – 2019. – Vol. 24, No 9. – p.ii. 1722. 3. Antidiabetic effects of bisamide derivative of dicarboxylic acid in metabolic disorders / A. V. Pakhomova, O. V. Pershina, V. A. Krupin [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21. – No 3. – P. 991. 4. Mechanism underlying the formation of a cluster of metabolic syndrome / S. I. Kseneva, E. V. Borodulina, V. V. Udut, V. P. Fisenko // Endocrine, Metabolic and Immune Disorders - Drug Targets. – 2020. – Vol. 20. – No 4. – P. 564-569. 5. Adipocytokines and metabolic syndrome in patients with schizophrenia / I. A. Mednova, A. S. Boiko, E. G. Kornetova [et al.] // Metabolites. – 2020. – Vol. 10. – No 10. – P. 1-13. 6. Body Fat Parameters, Glucose and Lipid Profiles, and Thyroid Hormone Levels in Schizophrenia Patients with or without Metabolic Syndrome / E. G. Kornetova, I. A. Mednova, O. A. Lobacheva [et al.] // Diagnostics. – 2020. – Vol. 10. – No 9. – P. 683. 7. Cortisol and DHEAS related to metabolic syndrome in patients with schizophrenia / A. S. Boiko, I. A. Mednova, E. G. Kornetova [et al.] // Neuropsychiatric Disease and Treatment. – 2020. – Vol. 16. – P. 1051-1058.

	<p>8. Neuroprotective effects of a novel inhibitor of c-Jun N-terminal kinase in the rat model of transient focal cerebral ischemia / M. B. Plotnikov, G. A. Chernyshova, V. I. Smolyakova [et al.] // Cells. – 2020. Vol. 9, No 8. – E1860.</p> <p>9. Oximes: Novel Therapeutics with Anticancer and Anti-Inflammatory Potential / I. A. Schepetkin, M. B. Plotnikov, A. I. Khibnikov [et al.] // Biomolecules. – 2021. – Vol. 11, No. 6: 777.</p> <p>10. Plotnikov M.B., Plotnikova T.M. Tyrosol as a neuroprotector: strong effects of a "weak" antioxidant // Curr. Neuropharmacol. – 2021. – Vol. 19, No. 4. – P. 434–448.</p>
--	---

Ученый секретарь Томского НИМЦ, к.б.н.

« 18 / X / 2021 г.



И.Ю. Хитринская