

ОТЗЫВ

официального оппонента, директора Института фармакологии и фармации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северный государственный медицинский университет», доктора медицинских наук, доцента Крылова Ильи Альбертовича на диссертационную работу Мальцева Дмитрия Васильевича «Анксиолитические свойства изостеров бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов и их производных», представленной к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (биологические науки).

Актуальность исследования

Тревожные расстройства занимают ведущее место среди самых частых проблем, с которым сталкивается человек в настоящее время. Бремя стрессовой нагрузки на человека увеличивается с каждым годом. Тревога и стресс как факторы могут быть как первопричиной, так и следствием иных ментальных нарушений. В настоящее время выделяют несколько типов тревожных расстройств: генерализованное тревожное расстройство, посттравматическое стрессовое расстройство, паническое расстройство, обсессивнокомпульсивное расстройство, социальные фобии, тревожно-депрессивное расстройство. К классическим транквилизирующим препаратам относятся производные бензодиазепинов (феназепам, диазепам и другие). Тем не менее, существуют и иные препараты, преимущественным действием которых является анксиолитическое: производное β -карболина (аберканил), эндозепины, производное фенилмасляной кислоты (фенибут), представитель класса бензимидазолов (афобазол) и другие. Некоторые из них характеризуются перечнем побочных эффектов (психическая и физическая зависимость, миорелаксация, седация и другое), а другие менее активны при терапии фобических расстройств. Предложенный подход поиска новых веществ с противотревожным действием, использующий концепцию

изостеризма базовых привилегированных структур, представляется перспективным и интересным, а выбранные химические классы являются достаточно обоснованным как с экспериментальной, так и для направленного создания анксиолитических средств.

В связи с вышеизложенным, диссертационная работа Мальцева Дмитрия Васильевича является актуальной и имеет высокую степень научной новизны.

Научная новизна полученных результатов

Получены данные о перспективности изучения нейрорепродуктивных свойств новой группы производных диазепинобензимидазола, а также разработке и оптимизации структур наиболее активных соединений. Осуществлен скрининг более 80 соединений, сформированных на базе бензимидазольных и бензодиазепиновых химических каркасов. Изучена зависимость анксиолитического действия, протестированного на *in vivo* модели, от химического строения исследуемых молекул. Определены особенности химических структур, вносящих наибольший вклад в выраженность анксиолитического действия. В соответствии с рекомендациями по доклиническому изучению веществ с транквилизирующим действием, описанными в 16 главе Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств под редакцией Миронова от 2012 года, выполнен анализ анксиолитической активности наиболее активных соединений ДАБ-19 и ДАБ-21. Впервые установлены механизмы действия и фармакологический профиль 11-(4-*трет*-бутилбензил)-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазола гидробромида и 11-[2-(1-пирролидил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2а]бензимидазола дигидрохлорида. Найдено соединение ДАБ-19 с оригинальным механизмом действия, опосредующее свои анксиолитические эффекты через глутаматергический путь, посредством блокирующего действия на NMDA и AMPA рецепторы. Для

обоих соединений (ДАБ-21 и ДАБ-19) отмечается также ГАМК- и серотонинергические механизмы реализации противотревожного действия.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Проведенный анализ литературных данных в полной мере обосновывает актуальность проведенного исследования, а также отражает современное состояние проблемы. Использованные автором научно-методологические подходы соответствуют современным требованиям, предъявляемым к медико-биологическим наукам.

Объем изученного материала, качественный анализ и статистическая обработка полученных данных убедительно обосновывает полученные результаты и в полной мере позволяет утверждать о корректности сделанных по результатам исследования выводов, практических рекомендаций и положений, выносимых на защиту.

Выводы подтверждены достаточным количеством данных, полученных как классическими, так и современными методами исследования. Достоверность результатов, выводов и положений не вызывает сомнений и подтверждается достаточным числом наблюдений и повторений, корректными методами обработки информации и статистического анализа полученных данных.

Теоретическая и научно-практическая значимость полученных результатов

В работе убедительно доказана целесообразность использования изостеризации, как подхода при поиске веществ с психотропной активностью, в частности при поиске анксиолитических эффектов соединений, содержащих фрагменты бензимидазолового и бензодиазепинового скаффолдов. Их оптимизация позволила выявить соединения, по уровню проявляемого эффекта не только не уступающих эталонным препаратам, но и по ряду показателей превосходящих их. Также в работе указана возможность комбинирования привилегированных структур,

что позволило сформировать новый класс соединений диазепинобензимидазолов, который, на основании полученных результатов, можно считать высокоперспективным для создания на его базе новых классов нейрорепрессивных препаратов.

Выявленные высокоактивные соединения ДАБ-21 и ДАБ-19. Проведен вдумчивый и глубокий анализ активности новых соединений, изучены нейрорепрессивные эффекты лидеров, доказан высокий уровень анксиолитической активности как при однократном введении, так и при двухнедельном введении веществ. Определены механизмы реализации основного эффекта. Для соединения ДАБ-19 установлен оригинальный механизм действия, связанный с неселективным блокированием AMPA и NMDA рецепторов. Определены токсикологические характеристики соединений, в том числе, отсутствие развития вторичной зависимости при длительном приеме.

Полнота изложения основных результатов исследования

По материалам диссертационного исследования опубликовано 38 печатных работ, в том числе 21 - в изданиях научных журналов, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации. По результатам исследования оформлено 4 патента и зарегистрирована 1 база данных. Обоснованность результатов, выводов и рекомендаций подтверждена при обсуждении материалов диссертации на многочисленных международных и всероссийских конференциях.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертационная работа написана в соответствии с требованиями Высшей аттестационной комиссии и соответствует пяти пунктам паспорта заявленной научной специальности:

Пункт 3. Изыскание, дизайн *in silico*, конструирование базовых структур, воздействующих на фармакологические мишени. Выявление фармакологически активных веществ среди природных и впервые

синтезированных соединений, продуктов биотехнологии, генной инженерии и других современных технологий на экспериментальных моделях *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*;

Пункт 4. Исследование зависимости «структура–активность» в различных классах фармакологических веществ. Целенаправленный синтез и скрининг фармакологических веществ;

Пункт 5. Исследование механизмов действия фармакологических веществ в экспериментах на животных, на изолированных органах и тканях, а также на культурах клеток;

Пункт 6. Изучение фармакодинамики, фармакокинетики и метаболизма лекарственных средств. Установление связей между дозами, концентрациями и эффективностью лекарственных средств. Экстраполяция полученных данных с биологических моделей на человека;

Пункт 7. Экспериментальное (доклиническое) изучение безопасности лекарственных средств. Изучение токсичности при однократном и многократном введении, включая оценку специфической токсичности и нежелательных побочных эффектов.

Оценка содержания диссертации и её завершённости. Структура и оформление работы

Диссертационная работа написана в классическом стиле и содержит 347 страниц машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов работы, 4 глав собственных исследований, обсуждения результатов работы, выводов и практических рекомендаций, библиографического списка и приложения. Работа иллюстрирована 38 таблицами и 77 рисунками.

В главе первой приведен составленный автором обзор литературных источников как отечественных, так и зарубежных авторов, по теме современного состояния и проблеме фармакокоррекции тревожных состояний. Актуализированы современные подходы, используемые при поиске новых анксиолитических средств, а также отмечены последние

достижения в вопросе разработки препаратов с противотревожным действием.

В главе второй представлен дизайн исследования, описаны основные группы химических соединений, изученные в работе, а также приведена методология исследования. Методы статистической обработки, использованные автором, адекватны поставленным задачам исследования и не оставляют сомнений в достоверности полученных результатов.

Третья глава посвящена изучению перспективности исследования противотревожной активности соединений различных химических классов, являющихся изостерами бензодиазепинового и бензимидазолового скаффолдов. Автором приводятся данные о результатах скринингового исследования выполненного методами сетевой фармакологии в системе PASS-online, а также методами *in vivo* на модели «Приподнятый крестообразный лабиринт». После проведения скринингового исследования осуществлялся эмпирический анализ зависимости активности соединений от химического строения молекул, с последующим анализом перспективности изучения каждого из 7 изученных классов. Наиболее активной была признана группа, содержащая в своей основе химерную структуру, комбинирующую бензимидазоловый и diaзепиновый фрагменты. Определены наиболее перспективные соединения – ДАБ-21 и ДАБ-19. Завершающим этапом являлось построение многофункционального фармакофора.

В четвертой главе представлены результаты подтверждения анксиолитического действия ранее найденных соединений, расширения представления о диапазоне доз, в которых сохраняется противотревожный эффект соединений, а также длительности действия. Изучены нейрорепроductive эффекты соединений: антидепрессивный, обезболивающий, противосудорожный, седативный, психостимулирующий и другие. По результатам исследования сформированы профили соединений.

Пятая глава диссертации включает информацию о механизмах действия соединений ДАБ-21 и ДАБ-19. Информация о веществах разделена

и включена в главы 5.2 и 5.3. Глава 5.1 посвящена представлению прогнозной оценки возможных механизмов анксиолитического действия веществ, на основании чего автор формирует пул тестов для изучения наиболее вероятных путей реализации эффекта. Проводится оценка взаимодействия соединений с лигандами нейромедиаторных систем, а также методами *in vitro* по влиянию на глутаматовую и серотониновую системы. По завершению глав формируется профиль механизмов действия соединений лидеров.

Шестая глава посвящена оценке безопасности производных diazепинобензимидазола. В частности, приводятся данные об острой токсичности соединений, нейротоксикологическом потенциале, прогнозировании безопасности по ADMET, а также потенциале соединений ко вторичной аддикции. Вещества ДАБ-19 и ДАБ-21 относятся ко 2 и 3 классу токсичности, соответственно. Для обоих соединений не характерно аддиктивного потенциала в тесте «Условная реакция предпочтения места».

В главе «Обсуждение результатов» автор обобщает основные результаты работы. Интерпретирует данные в соответствии с результатами современных исследований, описанных в литературе. Выводы работы конкретны и вытекают из сути диссертационного исследования. Практические рекомендации отражают возможные дальнейшие пути применения результатов работы. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний по диссертационному материалу и представлению работы нет.

Работа оставляет положительное впечатление. Тем не менее, хотелось бы получить ответы на следующие вопросы:

1. Принимая во внимание полигранность механизмов действия соединения ДАБ-21, какой из выявленных фармакодинамических эффектов

является преимущественным и каковы перспективы его фармакотерапевтического применения?

2. Соединение ДАБ-19 показало достаточно высокий уровень токсичности. По какому ГОСТ дана характеристика класса токсичности соединений-лидеров? Проводили ли Вы исследования хронической токсичности соединений для детализации профиля безопасности?

3. Для оценки острой токсичности в каждой группе использовали по 6 особей животных. На основании чего было взято такое количество лабораторных животных в группе?

4. Считаете ли Вы достаточным выполнение методики ADMET для того, чтобы не проводить исследования на специфическую токсичность?

5. В работе представлены реквизиты пяти правоохранных документов на результаты интеллектуальной деятельности. Как Вы оцениваете потенциал дальнейшей их коммерциализации (интеграции в реальное промышленное производство каждого продуктового решения)?

Все приведённые вопросы носят дискуссионный характер и не затрагивают основной смысл работы.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Мальцева Дмитрия Васильевича на тему: «Анксиолитические свойства изостеров бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов и их производных» на соискание ученой степени доктора биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований осуществлено решение крупной научной проблемы поиска новых подходов к лечению тревожно-депрессивных заболеваний, имеющей важное народнохозяйственное значение, что соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. No 842, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Мальцев Дмитрий Васильевич заслуживает присуждения искомой ученой степени по

специальности - 3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология
(биологические науки).

Официальный оппонент:

директор Института фармакологии и фармации ФГБОУ ВО СГМУ, доцент,
доктор медицинских наук (14.00.25)

«26» мая 2024 года



Крылов Илья Альбертович

Подпись доктора медицинских наук Крылова Ильи Альбертовича
удостоверяю:

Начальник отдела кадров
Ильин С.А.



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Северный государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес организации: 163069, Северо-Западный федеральный округ,
Архангельская область, город Архангельск, проспект Троицкий, дом 51
Тел. (8182)28-57-91 E-mail: info@nsmu.ru Официальный сайт:
<https://www.nsmu.ru/>

В Диссертационный Совет 21.2.005.02 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, ученой степени доктора наук, созданного при ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

СВЕДЕНИЯ

об оппоненте Крылове Илье Альбертовиче по диссертации Мальцева Дмитрия Васильевича на тему: «**Анксиолитические свойства изостеров бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов и их производных**» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (биологические науки)

Фамилия, имя, отчество	Год рождения, гражданство	Место основной работы (организация, должность)	Ученая степень, ученое звание, специальность, по которой защищена диссертация	Основные научные работы
Крылов Илья Альбертович	1976, Российская Федерация	директор Института фармакологии и фармации СГМУ, заведующий кафедрой фармакологии и фармации	Доктор медицинских наук, доцент, 14.00.25 - фармакология, клиническая фармакология.	<ol style="list-style-type: none"> Опыт профилактики эмоционального стресса с помощью методик музыкотерапии и медленных манипуляционных движений у рыбаков во время длительного морского рейса / В. В. Лупачев, Р. В. Кубасов, Е. Д. Кубасова [и др.] // Образовательный вестник. – 2022. – Т. 24, № 9. – С. 4-11. Психо-физиологическое состояние у сотрудников силовых структур в зависимости от интенсивности занятий огневой подготовкой / Р. В. Кубасов, Е. Д. Кубасова, И. А. Крылов [и др.] // Образовательный вестник. – 2022. – Т. 24, № 8. – С. 12-20. Оценка острой токсичности новых металлокомплексных соединений / И. А. Крылов // Бюллетень Северного государственного медицинского университета. – 2004. – № 2. – С. 110-111. Изучение острой токсичности оригинальной фармацевтической субстанции с антиэкссудативной активностью на основе альгиновой кислоты / Р. Н. Зеленцов, И. А. Крылов, Д. В. Незговоров // Фармацевтический кластер как интеграция науки, образования и производства : сборник материалов 4-й

				<p>международной научно-практической конференции, Белгород, 09–16 апреля 2014 года. – Белгород: Белгородский государственный национальный исследовательский университет, 2014. – С. 137-139.</p> <p>5. Определение конфликтных зон рыбаков с помощью методики "незаконченные предложения" / Р. В. Кубасов, В. В. Лупачев, Е. В. Тихонова [и др.] // Образовательный вестник Сознание. – 2022. – Т. 24, № 8. – С. 4-11.</p>
--	--	--	--	--

Согласен на оппонирование, не имею научных работ в соавторстве с соискателем, не являюсь членом Экспертного совета Высшей аттестационной комиссии Министерства образования и науки Российской Федерации

Оппонент

Доктор медицинских наук, доцент,
директор Института фармакологии и фармации СГМУ,
заведующий кафедрой фармакологии и фармации



Крылов Илья Альбертович

Подпись доктора медицинских наук Крылова Илья Альбертовича удостоверяю:





Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес организации: 163069, Северо-Западный федеральный округ, Архангельская область, город Архангельск, проспект Троицкий, дом 51
Тел. (8182)28-57-91

E-mail: info@nsmu.ru

Официальный сайт: <https://www.nsmu.ru/>