

ОТЗЫВ

Официального оппонента на диссертационную работу Мокрова Григория Владимировича «Создание оригинальных малых молекул с психотропной, противосудорожной и кардиотропной активностью методами молекулярного моделирования», представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.16 – медицинская химия

Социально значимые заболевания несут колоссальный ущерб для общества, связанный с их высокой распространенностью и такими последствиями для населения, как временная нетрудоспособность, инвалидность и смертность. При этом возникновение одной из болезней часто приводит к развитию других. К наиболее тяжелым относятся заболевания центральной нервной системы и сердечнососудистые заболевания, которые представляют собой серьезную проблему для здравоохранения как в Российской Федерации, так и во всем мире. Пандемия коронавирусной инфекции, политическая и экономическая ситуация в нашей стране и в мире вносят существенный вклад в распространенность и тяжесть течения неврологических и психических заболеваний, а также заболеваний сердечно-сосудистой системы. Существующие на сегодняшний день препараты для лечения этих заболеваний зачастую недостаточно эффективны и имеют нежелательные побочные эффекты, значительно ухудшающие общее состояние пациентов в условиях длительного применения.

Растущая потребность в эффективных и безопасных лекарственных препаратах, не обладающих серьезными побочными эффектами, влияющими на трудоспособность и качество жизни пациента, обуславливает **актуальность темы** рецензируемой диссертационной работы, которая посвящена поиску новых лекарственных средств с психотропной, противосудорожной и кардиотропной активностью.

Диссертационная работа имеет классическую структуру и состоит из введения, литературного обзора, обсуждения полученных результатов, экспериментальной части, выводов, списка литературы, включающего 611

наименований. Диссертация изложена на 421 странице, содержит 34 таблицы, 124 рисунка. Представленные в диссертационной работе результаты в полной мере отражены и в автореферате.

Во *Введении* автор обосновывает актуальность выполненного исследования, указывает его цель и задачи, демонстрирует научную новизну, теоретическую и практическую значимость полученных результатов, их апробацию.

Литературный обзор посвящен анализу современных стратегий дизайна в области создания новых нейрпсихотропных, противоэпилептических и кардиотропных лекарственных средств. Обзор включает три основных раздела по типу указанной физиологической активности. В первом разделе проводится детальный анализ строения и функций транслокаторного белка TSPO 18 кДа, одной из перспективных биологических мишеней для создания новых нейрпсихотропных препаратов. Приводятся данные о структуре TSPO, механизме его участия в нейростероидогенезе, а также обсуждаются ключевые эндогенные и синтетические лиганды этого белка, рассматриваются подходы к созданию на их основе новых аналогов с улучшенными свойствами. Во втором разделе обсуждаются современные стратегии дизайна противоэпилептических лекарственных препаратов, для которых с учетом их мультитаргетного действия показана предпочтительность метода фармакофорного моделирования с использованием элементов активных молекул. В данном разделе приведена информация о существующих противосудорожных препаратах, о создании на их основе известных фармакофорных моделей (Диммок, Пандей, Унферферт) и об использовании фармакофорного дизайна для конструирования новых соединений с противоэпилептической активностью. В третьем разделе рассматривается современная концепция разработки эффективных и безопасных кардиопротекторных средств, основанная на многофакторности сердечно-сосудистых заболеваний и необходимости комплексного механизма действия препаратов. Приводится единая обобщенная фармакофорная модель биароматических соединений, которая отражает структурное сходство широкого спектра соединений с

кардиопротекторными свойствами. Далее эта модель уточняется с учетом структурных параметров известных блокаторов различных ионных каналов, обеспечивающих функционирование сердечно-сосудистой системы. Таким образом, *Обзор литературы*, насчитывающий 326 ссылок, содержит исчерпывающую информацию по тематике диссертации и представляет собой фундаментальное обобщение имеющихся в литературе данных. Глубокий анализ литературного материала позволил автору обозначить область собственных новых исследований и сформулировать **цель работы**, которая заключалась в создании новых химических соединений – потенциальных лекарственных средств с психотропной, противосудорожной и кардиотропной активностью.

Центральная часть диссертационной работы – глава «*Обсуждение результатов*» изложена в трех основных разделах. Первый раздел посвящен дизайну и разработке новой группы лигандов белка TSPO в ряду производных пирроло[1,2-*a*]пиразинов с использованием комбинации мишень- и лиганд-ориентированных подходов. Приводится описание синтеза новых соединений, результаты скрининга *in vivo* их нейропсихотропной активности, на примере наиболее активных соединений проводится оценка механизмов их действия (взаимодействие с сайтом связывания белка TSPO). Также в этом разделе содержатся результаты доклинических исследований наиболее перспективного соединения ГМЛ-1, описание лабораторного регламента на производство его фармацевтической субстанции и данные по изучению фармакологической активности, фармакокинетические и токсикологические параметры (острая и хроническая токсичность, иммунотоксичность, аллергенность, репродуктивная токсичность, мутагенность и канцерогенность). Вторая часть *Обсуждения результатов* включает описание исследований по конструированию новых структур с потенциальной противосудорожной активностью на основе стратегии фармакофорного моделирования в ряду производных бензоилпиридинов, 4-фенилпирролидона, гексагидродибензофуранона, кумарина, тиокумарина и хинолин-2-она. Для всех структурных типов соединений предложены оптимальные методы синтеза, проведен *in vivo* скрининг противосудорожной

активности и анализ зависимости «структура – активность». В этой же части работы с использованием метода молекулярного докинга проведена оценка наиболее вероятных биологических мишеней для изученных соединений с противосудорожной активностью, а для соединения-лидера ГИЖ-298 получено экспериментальное подтверждение действия на некоторые биомишени. Также для соединения ГИЖ-298, выбранного для дальнейшей разработки в качестве потенциального противосудорожного препарата, приводятся данные доклинических исследований. В третьем разделе работы представлено направление, связанное с созданием мультитаргетных кардиотропных средств с использованием универсальной биароматической фармакофорной модели. С учетом литературных данных о биароматических кардиопротекторах были сконструированы и синтезированы 4 серии новых биароматических производных азаалканов, для которых была выявлена антиаритмическая и антиишемическая активность. Анализ связи «структура – активность» позволил выбрать соединение-лидер АЛМ-802, для которого экспериментально был подтвержден с мультитаргетный механизм действия. Также приводятся данные по разработке лабораторного регламента получения АЛМ-802 с целью проведения расширенных доклинических исследований. **Обоснованность положений**, выносимых на защиту, в полной мере обусловлена текстом обсуждения результатов.

В ходе выполнения диссертационного исследования Г.В. Мокровым был получен ряд новых важных и интересных результатов, которые определяют **Научную новизну и Практическую значимость работы**. Автор впервые осуществил мишень-ориентированный дизайн новых лигандов транслокаторного белка TSPO на основе пирроло[1,2-а]пиразинового скаффолда с использованием методов молекулярного докинга, фармакофорного моделирования и ADMET-оптимизации. Для получения целевых соединений на основе реакции [3+3]-циклоприсоединения (пиррол)арилкетонс к производным 2-азидоакриловой кислоты был разработан эффективный синтетический подход, позволяющий из доступных предшественников с хорошими препаративными выходами получать необходимые новые производные пирроло[1,2-а]пиразинов с

большим разнообразием заместителей. По результатам проведенных *in vivo* тестов по изучению нейрорепродуктивной активности автору удалось выявить соединения-лидеры, обладающие высокой анксиолитической, антидепрессивной, нейропротекторной и ноотропной активностью. Чрезвычайно важным результатом работы являются экспериментально полученные доказательства механизма действия новых TSPO-лигандов (ГМЛ-1 и ГМЛ-3), обнаружение зависимости фармакологических эффектов этих соединений от взаимодействия с сайтом связывания белка TSPO и от нейростероидогенеза в сочетании с отсутствием лигандных свойств в отношении ГАМК_A-рецептора. Также в качестве практически значимого результата работы хочется отметить проведенный автором полный цикл доклинических исследований соединения ГМЛ-1 в качестве потенциального высокоактивного анксиолитика без нежелательных побочных эффектов препаратов бензодиазепинового ряда.

В рамках создания новых противоэпилептических препаратов автор продемонстрировал эффективность применения метода фармакофорного моделирования в дизайне молекул с противосудорожной активностью. С использованием данных о структуре известных соединений с подтвержденными противоэпилептическими свойствами и различными механизмами действия были созданы 4 новых фармакофорных модели, на основе которых были сконструированы различные группы гетероциклических соединений с потенциальной противосудорожной активностью: новые производные бензоилпиридинов, 4-фенилпирролидона, гексагидродибензофуранона, кумарина, тиокумарина и хинолин-2-она. Для всех серий соединений автор разработал рациональные эффективные синтетические подходы, позволяющие варьировать заместители в широком диапазоне, что особенно важно для анализа зависимости «структура-свойство». Следует отметить, что в ходе экспериментального изучения противоэпилептической активности на животных моделях в каждой из предложенных групп соединений были выявлены структуры с высокой активностью, что свидетельствует в пользу эффективности применения фармакофорного дизайна. В частности, в группе бензоилпиридинов было

выявлено потенциальное противосудорожное средство ГИЖ-298, эффективное в широком наборе моделей эпилепсий. Среди производных 4-фенилпирролидона найдено соединение ГИЖ-290, сочетающее антиэпилептическое и ноотропное действие, а в группе О-замещенных оксимов гексагидродибензофуранов обнаружено соединение ГИЖ-272, сочетающее противосудорожную, антиишемическую и антигипоксическую активность. Особого внимания заслуживают проведенные методом молекулярного докинга исследования по оценке для новых соединений с противосудорожной активностью средства к биологическим мишеням, вовлеченным, по данным литературы, в проявление противосудорожных эффектов. Важно также отметить, что результаты мультидокингового анализа для соединения-лидера ГИЖ-298 были экспериментально *in vitro* и *ex vivo* подтверждены для некоторых из теоретически вычисленных биомишеней. Кроме того, с учетом отсутствия в медицинской практике отечественных противоэпилептических препаратов высокую практическую значимость приобретает доклиническая разработка соединения ГИЖ-298 в качестве перспективного лекарственного средства.

Впервые выдвинута гипотеза об универсальности биароматического фармакофора для соединений с кардиопротекторной активностью и об их мультитаргентном механизме действия. На основе информации о структуре известных биароматических кардиопротекторов и с использованием уточненных фармакофорных моделей автор сконструировал несколько групп новых биароматических соединений с различными азаалкановыми линкерами и предложил оптимальные пути их синтеза. Проведенные *in vivo* эксперименты на грызунах позволили диссертанту обнаружить большое количество веществ с антиаритмической и антиишемической активностью во всех структурных группах, выявить соединение-лидер АЛМ-802, сочетающее оба типа активности и воздействующее на несколько экспериментально подтвержденных биологических мишеней.

Безусловно, проведенные исследования вносят новый вклад в развитие **теоретических представлений** о трехмерном фармакофоре лигандов TSP0, о новых фармакофорных моделях соединений с противосудорожной

активностью, об универсальности биароматического фармакофора для конструирования мультитаргетных кардиопротекторов и о фармакофорном анализе, в целом.

Экспериментальная часть содержит характеристики используемых в работе приборов, методики получения соединений, их выделения и очистки, спектральные и аналитические данные. Разработанные автором экспериментальные методики позволяют получать целевые соединения в необходимых количествах с высокой чистотой, необходимой для биологических исследований. Глава также содержит описание методов молекулярного моделирования, биологических экспериментов *in vitro*, *ex vivo* и фармакологических исследований (*in vivo*) на лабораторных животных. **Достоверность** результатов синтетических исследований обеспечена применением комплекса современных научных экспериментальных подходов, согласованностью с литературными данными, надежным доказательством строения всех полученных соединений с использованием современных спектральных методов анализа (ЯМР спектроскопии, в том числе, с применением двумерных методик, ИК спектроскопии, масс-спектрометрии). Брутто-формулы новых соединений подтверждены элементным анализом, масс-спектрами высокого разрешения, для некоторых соединений также выполнен рентгеноструктурный анализ или исследование методом порошковой рентгеновской дифракции. Изучение биологической активности проводилось с использованием методов компьютерного молекулярного моделирования (метод молекулярного докинга, фармакофорное моделирование, ADMET-анализ), сертифицированных биологических методик (*in vitro* радиолигандные исследования, оценка экспрессии генов, электрофизиологические исследования и др.), различных методов и моделей исследований *in vivo* на лабораторных животных.

В результате анализа текста диссертации, автореферата и публикаций Мокрова Г.В. можно заявить, что цель работы достигнута и все запланированные задачи выполнены. Выводы по работе отражают ее основные результаты. Собственные труды автора представлены в 44

публикациях в журналах из перечня ВАК Минобрнауки РФ и 19 патентах РФ на изобретение. Работа прошла прекрасную апробацию, результаты исследований докладывались на многочисленных международных и всероссийских конференциях. Содержание автореферата соответствует тексту диссертации, автореферат четко и логично структурирован, содержит всю необходимую информацию.

Работа практически лишена методических экспериментальных и оформительских недостатков. Замечания не затрагивают сущность работы, носят характер пожеланий или вопросов, а также касаются оформления работы.

- Для изучения в качестве лигандов белка TSPO были отобраны соединения с учетом расчетных величин взаимодействия «лиганд-рецептор» («docking score») и ADMET параметров. По результатам экспериментальных исследований активности показано, что разница этих величин для активных и неактивных соединений не превышает 0.32. Насколько велика вероятность исключения активных\перспективных соединений при таком отборе?

- При получении 2-азидоакриламидов дегидрогалогенирование соответствующего дибромида происходит в условиях обработки азидом натрия, в то время как аналогичная реакция образования эфира 2-азидоакриловой кислоты требует более сильного основания (DBU). Какова причина разницы в реакционной способности производных 1,2-дибромпропановой кислоты?

- Для синтеза производных 1-арилпирроло[1,2-а]пиазинов в работе была использована реакция [3+3]-циклоприсоединения пирроларилкетон с производными 2-азидоакриловой кислоты, условия которой (время реакции, растворитель, основание) никак не комментируются. Проводилась ли оптимизация условий или использовались известные литературные данные для аналогов (ссылка на методику отсутствует)? Также возникает вопрос о необходимости использования стратегии синтеза (2), включающей получение амидов 1-фенилпирроло[1,2-а]пиазин-3-карбоновых кислот на последней

стадии: чем объясняется возможность более широкого варьирования аминов в этой синтетической последовательности?

- При получении серий О-замещенных оксимов диарил\гетарилкетонов 2.2.1, 2.2.3 в ряде случаев наблюдалось образование смеси Z/E изомеров. Возможно ли оценить (например, методом компьютерного моделирования) необходимость определенной конфигурации для обеспечения противосудорожной активности?

- В дизайне производных кумарина, тиокумарина и хинолин-2-она 2.2.21-2.2.23 нитрогруппа в гетероциклическом кольце, очевидно, необходима для успешного протекания процесса ароматического нуклеофильного замещения. Оправдано ли наличие этой группы с точки зрения биологической активности?

- Для построения фармакофорных моделей в дизайне соединений с кардиотропной активностью автор использовал, в том числе, структуры препаратов иного назначения (например, астемизол, лоперамид и др.) Насколько общепринятым является такой подход в фармакофорном анализе?

- Для характеристик соединений было бы полезно более широко использовать спектры ЯМР ^{13}C .

- В целом, автореферат и диссертация хорошо оформлены, однако имеется небольшое количество опечаток, неточностей. Например, на схеме 20 над стрелками отсутствуют условия Б (стр.183), на схеме 22 в таблице должно быть $\text{X} = \text{NH}$ (не N, стр. 232) и др.

Очевидно, что указанные замечания не имеют принципиального характера и не снижают общую высокую оценку диссертационной работы Мокрова Г.В. Результаты, полученные диссертантом, имеют существенное значение. Диссертация является научно-квалификационной работой, в которой автором на основании выполненных исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как крупное научное достижение в области дизайна новых структур с потенциальной психотропной, противосудорожной и кардиотропной активностью, а также медицинской химии в целом.

Таким образом, диссертационная работа Мокрова Григория Владимировича «Создание оригинальных малых молекул с психотропной, противосудорожной и кардиотропной активностью методами молекулярного моделирования», представленная на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.16 – медицинская химия, удовлетворяет всем требованиям (в том числе пп. 9-14), предъявляемым к докторским диссертациям «Положением о присуждении учёных степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; -11.09.2021 г. № 1539; 26.10.2023 г. № 1786), а её автор - **Мокров Григорий Владимирович** заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.16 – медицинская химия

Официальный оппонент: Аверина Елена Борисовна,
доктор химических наук
профессор кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза
Химического факультета МГУ им. М.В.Ломоносова

Подпись Е.Б. Авериной заверяю:

И.о. декана Химического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова,
Профессор



Карлов Сергей Сергеевич

Почтовый адрес: 119991 Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3

Телефон: +74959393969; адрес электронной почты: elaver@med.chem.msu.ru

Наименование организации:

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени
М.В.Ломоносова», Химический факультет

25 марта 2025 г.