



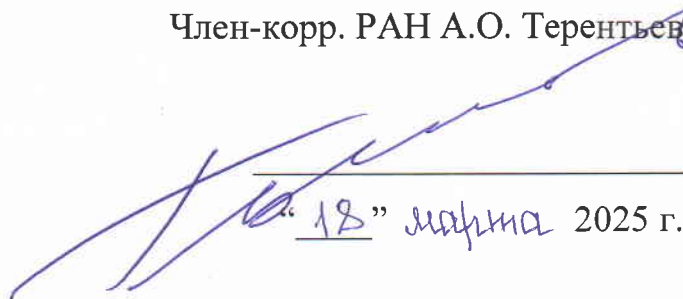
“УТВЕРЖДАЮ”

Директор Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Института
органической химии им. Н.Д.

Зелинского Российской академии наук

Член-корр. РАН А.О. Терентьев

18.03.2025
№12104-221/2171-01


18 марта 2025 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации 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.

Диссертационная работа Мокрова Григория Владимировича посвящена дизайну и синтезу новых фармакологически активных малых органических молекул. Тематика работы связана с успешно развивающимися на протяжении ряда лет фундаментальными и прикладными исследованиями в области создания средств для лечения психических заболеваний, эпилепсии и сердечно-сосудистых расстройств в ФГБНУ "ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий". Такого рода лекарственные соединения очень востребованы для решения задач здравоохранения, что требует разработки новых методов и подходов,

созданию которых в значительной степени посвящено диссертационное исследование Мокрова Г.В. Ниже рассматриваются соответствующие характеристики работы, представленной к защите.

Актуальность темы диссертационного исследования.

Несмотря на кажущийся прогресс в борьбе со многими заболеваниями в мире, количество пациентов продолжает неуклонно расти, что требует разработки новых подходов к их лечению и оригинальных эффективных лекарственных средств. Одними из самых распространенных заболеваний, как в России, так и в мире являются расстройства центральной нервной системы и сердечно-сосудистые заболевания. От них страдают более миллиарда человек по данным Всемирной организации здравоохранения. При этом сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смерти в мире, а по данным «Всемирной федерации сердца» за последние 30 лет смертность от них выросла на 60%. Дополнительный отягощающий вклад в распространенность и тяжесть психических, неврологических и сердечно-сосудистых расстройств внесла пандемия COVID-19.

Таким образом, конструирование, синтез и изучение новых малых молекул с психотропной, противосудорожной и кардиотропной активностью является актуальным направлением в современной медицинской химии.

Структура и содержание диссертационной работы.

Диссертационная работа имеет достаточно традиционную структуру и состоит из введения, обзора научной литературы, обсуждения полученных результатов, экспериментальной части, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка используемой литературы (611 литературных ссылок на публикации отечественных и зарубежных авторов). Общий объем диссертации составляет 421 страницу, включая 34 таблицы и 124 рисунка.

Во **введении** обоснована актуальность, а также сформулированы цель и задачи диссертационной работы. Кроме этого, во введении обоснована научная новизна проведенных исследований, их оригинальность, как и теоретическая и практическая значимости.

Первая глава представляет собой литературный обзор, в котором рассмотрено современное состояние науки в области объектов диссертационного исследования. Обзор включает в себя четыре раздела. Первый посвящен описанию современных подходов к дизайну потенциальных биологически активных соединений. Во втором приводятся данные о 18 кДа транслокаторном белке, его структуре, функциях. Подробно проанализированы использовавшиеся в других лабораториях подходы к конструированию лигандов этой биомишени. В третьем разделе в хронологическом порядке приводится опыт использования фармакофорного подхода при конструировании веществ с потенциальной противосудорожной активностью. В четвертом разделе литобзора собраны сведения о биароматических молекулах с кардиотропной активностью и характеризующиеся различными механизмами действия, с учётом которых Мокрова Г.В. была выдвинута гипотеза об «универсальном биароматическом фармакофоре».

Вторая глава содержит обсуждение полученных результатов и состоит из трёх частей. Они логично обосновываются соответствующими разделами литературного обзора, материалы которого непосредственно были использованы в дизайне соединений, впервые синтезированных в работе Мокрова Г.В. В первой части обсуждения полученных результатов представлены данные по конструированию, синтезу и изучению психотропной активности новых лигандов 18 кДа транслокаторного белка. Во второй части продемонстрировано успешное применение фармакофорного подхода к созданию веществ различных групп с антиэпилептической активностью. В третьей части рассмотрены дизайн и синтез новых структур ряда бисарилазаалканов, которые были предложены с

применением оригинальной гипотезы о едином биароматическом фармакофоре и которые показали высокую кардиопротекторную эффективность в животных моделях.

Третья глава содержит экспериментальную часть, где приводится описание синтетических методик, физико-химических характеристик соединений, расчетных методов и биологических экспериментов, использованных в настоящей работе.

Обстоятельно и тщательно проведенный анализ литературных данных позволил автору выбрать основные направления своего исследования и обосновать используемые методы и подходы. Цели и положения работы звучат следующим образом.

Цель работы – создание новых химических соединений – потенциальных лекарственных средств с психотропной, противосудорожной и кардиотропной активностью.

На защиту выносятся следующие положения:

- Созданы оригинальные лиганды TSPO на базе пирроло[1,2-*a*]пиазинового скэффолда, обладающие анксиолитической, антидепрессивной, нейропротекторной и ноотропной активностью. Разработаны синтетические методы получения 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиазин-3-карбоксиамидов. Фармакологические эффекты новых TSPO-лигандов зависят от взаимодействия с сайтом связывания белка TSPO и от нейростероидогенеза. Отобрано соединение-лидер ГМЛ-1 для последующей разработки в качестве перспективного быстрого безопасного анксиолитика без побочных эффектов; оптимизирован и масштабирован способ его синтеза.

- Получено нескольких групп гетероциклических соединений с противосудорожной активностью с использованием фармакофорного дизайна. Разработаны синтетические методы получения *O*-замещенных оксимов бензоилпиридинов; *O*-замещенных оксимов 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она; ариламидов (2-оксо-4-

фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты; 4-ГАМК-замещенных 3-нитрокумаринов, 1-тиокумаринов, хинолин-2-онов. Выявлены соединения с антиишемическими и ноотропными свойствами. *In silico* определены возможные биомишени новых соединений, обладающих противосудорожной активностью; некоторые из них подтверждены экспериментально. Отобраны соединения-лидеры в качестве потенциальных средств для лечения эпилепсии, в том числе, обладающие дополнительными ноотропными или антиишемическими эффектами. Оптимизирован и масштабирован способ синтеза соединения-лидера ГИЖ-298.

▪ Предложена и доказана гипотеза создания потенциальных мультитаргетных кардиотропных средств на основе универсального биароматического фармакофора. Получено нескольких групп биароматических производных ди- и триазаалканов с антиаритмической и антиишемической активностью. Отобрано соединение-лидер АЛМ-802 с широким спектром кардиопротекторного действия и мультитаргетным механизмом действия для последующей разработки; оптимизирован и масштабирован способ его получения.

Тщательный анализ текста диссертации и её автореферата позволяют сделать однозначный вывод, что цель работы достигнута и все задачи полностью выполнены.

Оценка достоверности и научной новизны результатов, представленных в диссертационной работе. Обоснованность и достоверность результатов синтетических исследований, представленных в работе, обеспечена применением адекватных методов физико-химического анализа структур полученных новых органических соединений (ЯМР-, ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия, элементный анализ). Достоверность результатов определения биологической активности синтезированных в диссертационной работе соединений обусловлена выбором релевантных

протоколов *in vitro* тестов по определению целевых биомишеней и валидированных фармакологических *in vivo* моделей, статистической обработкой полученных данных с использованием общепринятых критериев достоверности. Результаты работы интерпретированы в рамках современных теоретических представлений, не противоречат имеющимся литературным данным, опубликованы в рецензируемых профильных и междисциплинарных журналах.

Наиболее значимыми с точки зрения **научной новизны** результатами работы являются:

1. Успешное применение комплексного подхода для конструирования новых лигандов TSPO, включающего 3D-фармакофорное моделирование, молекулярный докинг и ADMET-оптимизацию.
2. Получение фармакологически-пригодных селективных лигандов TSPO, обладающих спектром нейростероид-подобной активности, включая анксиолитическую, антидепрессивную, нейропротекторную и ноотропную.
3. Осуществление синтеза производных 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиазинов с использованием реакции [3+3]-циклоприсоединения пирроларилкетонов с производными 2-азидоакриловой кислоты.
4. Успешное применение метода фармакофорного моделирования в конструировании соединений с противосудорожной активностью и выявление нескольких новых эффективных моделей.
5. Получение веществ с противосудорожной активностью в группах производных оксимов бензоилпиридинов, оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она, 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты, ГАМК-производных кумаринов, 1-тиокумаринов и хинолин-2-онов.

6. Применение метода мультидокингового анализа для оценки спектров возможных механизмов действия соединений с антиэпилептической активностью.
7. Использование метода 3D-фармакофорного моделирования для генерации соответствующих моделей биароматических лигандов ключевых биомишеней кардиопротекторов.
8. Подтверждение гипотезы об универсальности биароматического фармакофора в кардиопротекции и мультитаргетности молекул, отвечающих такому строению.
9. Выявление биароматических соединений, эффективных в широком наборе различных моделей аритмии и ишемии на грызунах.

Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации. Диссертационная работа Мокрова Григория Владимировича является законченным научным исследованием, отличается очевидной практической значимостью и научной новизной, выполнена на хорошем теоретическом и экспериментальном уровне с использованием современных *in silico*, *in vitro* и *in vivo* методов. Достоверность полученных данных не вызывает сомнения. Автореферат полностью отражает содержание диссертационного исследования. Материал, представленный в диссертации, опубликован в 44 статьях в периодических научных изданиях из списка ВАК (40 статей в журналах, индексируемых в Web of Science и Scopus), 19 патентах РФ на изобретение и в 30 тезисах устных и стендовых докладов на российских и международных конференциях.

Практическая значимость полученных результатов. В результате выполнения диссертационного исследования был отобран ряд оригинальных малых молекул, которые имеют хорошие перспективы для использования в разработке соответствующих лекарственных препаратов. Так, в ряду

лигандов TSPO с пирроло[1,2-*a*]пиразиновым ядром был создан потенциальный быстрый и безопасный анксиолитик ГМЛ-1, свободный от побочных эффектов бензодиазепинов. В группе бензоилпиридинов было выявлено потенциальное противосудорожное средство ГИЖ-298, эффективное в широком наборе моделей эпилепсий различного типа. Среди производных 4-фенилпирролидона отобрано соединение ГИЖ-290, сочетающее антиэпилептическое и ноотропное действие, а в группе *O*-замещенных оксимов гексагидродибензофуранов выявлено соединение ГИЖ-272, сочетающее противосудорожную, антиишемическую и антигипоксическую активность. В ряду биароматических структур был выявлен потенциальный мультитаргетный кардиопротектор АЛМ-802, сочетающий антиаритмическое и антиишемическое действие, эффективный в модели хронической сердечной недостаточности. Для большинства перечисленных потенциальных препаратов проводилась разработка лабораторных регламентов их получения. По всем практически значимым результатам исследований получены патентные свидетельства (19 патентов, 3 заявки на патенты). Соединение ГМЛ-1 уже успешно прошло полный цикл доклинических исследований в рамках программы «Фарма-2020».

Критические замечания по диссертационной работе.

Принципиальных замечаний по работе не выявлено, однако следует отметить следующее:

1. Литературный обзор. При описании 3D-структур 18 кДа транслокаторного белка TSPO отсутствуют данные по представленным в Protein Data Bank комплексам некоторых подтипов этого белка с порфиринами, описанным в публикации: Liu J, Hiser C, Li F, Hall R, Garavito RM, Ferguson-Miller S. New TSPO Crystal Structures of Mutant and Heme-Bound Forms with Altered Flexibility, Ligand Binding, and Porphyrin Degradation Activity. *Biochemistry*. **2023**; 62(7):1262-1273. doi: 10.1021/acs.biochem.2c00612

2. Литературный обзор. На рисунке 25 (стр. 51) приведены основные противозепилептические препараты и сокращенно указаны их биомишени. Однако не все сокращения биомишеней приводятся в тексте и в списке сокращений (например, GAD, CA).
3. Обсуждение результатов. В главе «2.1. Направленный дизайн и синтез лигандов TSPO в ряду производных пирроло[1,2-а]пиразина, изучение их нейрорсихотропной активности» после стадий дизайна и синтеза новых соединений сразу идет этап их изучения на животных моделях в поведенческих тестах, а уже только потом соединения лидеры анализируются *in vitro* для выяснения активности по отношению к биомишени TSPO. Чем обусловлена такая последовательности исследований? Не логичнее ли было сначала осуществить *in vitro* скрининг всех молекул в отношении TSPO, и далее исследовать наиболее аффинные соединения?
4. Обсуждение результатов. В главе «2.3. Дизайн и синтез новых соединений с кардиотропной активностью» одной из основных реакций в синтезе биароматических соединений с диаминоалкановым линкером является восстановительное аминирование, которое проводится в подавляющем большинстве случаев с использованием каталитического гидрирования на палладиевом катализаторе. В двух случаях для восстановления были использованы боргидриды. Были ли предприняты попытки использовать в гидрировании в качестве катализатора существенно более простого агента - никеля Ренея? Особенно это касается условий отработки синтеза соединения-лидера АЛМ-802.
5. Экспериментальная часть. Имеются небольшие разногласия в представлении экспериментальных данных. Например, обозначение «синглет» где-то сокращается как «с», а где-то как «с.» (например, страницы 307, 319, 320, 321, 322, 327). В некоторых случаях между значением температурой плавления и обозначением «°С» имеется

пробел (например, страница 328). Имеются отличия в обозначении величин констант спин-спинового расщепления (варианты: 3J , J_1 , J).

6. Экспериментальная часть. Для полученных соединений, не являющихся кристаллическими, отсутствуют данные масс-спектров высокого разрешения, что является обязательной альтернативой элементному анализу.

Указанные выше замечания и вопросы не являются принципиальными и нисколько не затрагивают существа сформулированных выводов и в целом не умаляют общих достоинств данной работы.

Рекомендации по использованию результатов диссертации: результаты, полученные в диссертационной работе могут быть использованы в следующих организациях, занимающихся вопросами медицинской, органической и биоорганической химии: ФГБУН Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН (г. Москва), ФГБУН ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (г. Москва), ФГБНУ «Институт биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича» (г. Москва), Химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН (г. Черноголовка), Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, Волгоградский государственный медицинский университет и др.

Заключение. Диссертационная работа по содержанию соответствует паспорту научной специальности 1.4.16. Медицинская химия по следующим направлениям исследований:

1. Поиск, структурный дизайн и синтез соединений-лидеров - потенциальных физиологически активных (лекарственных) веществ;

2. Использование фундаментальных методов математической химии (компьютерного молекулярного моделирования) с целью прогнозирования возможности взаимодействия определенных химических соединений с предполагаемой биологической мишенью, а также для выявления взаимосвязи между химической структурой и физиологической активностью;

5. Рациональное создание физиологически активных соединений, действующих на две и более молекулярные мишени (в т. ч. двойных, двоякодействующих, гибридных, мультитаргетных лекарств);

6. Биологическое и физиологическое (*in vitro* и *in vivo*) тестирование сконструированных и синтезированных соединений на предмет изучения особенностей их взаимодействия с молекулярными мишенями организма.

По актуальности темы, объему выполненных исследований, новизне полученных результатов, методам исследований, практической значимости, обоснованности сделанных выводов и уровню исполнения диссертационная работа «Создание оригинальных малых молекул с психотропной, противосудорожной и кардиотропной активностью методами молекулярного моделирования» соответствует требованиям к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, установленным пунктами 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, в действующей редакции), а ее автор, Мокров Григорий Владимирович заслуживает присуждения ему ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.16 – Медицинская химия.

Отзыв рассмотрен, обсужден и одобрен на заседании расширенного семинара лаборатории химии гликоконъюгатов ИОХ РАН (Присутствовало на семинаре 20 человек, результаты голосования: «за» – единогласно, протокол № 23 от 11 марта 2025 г.).

Отзыв подготовил ведущий научный сотрудник лаборатории химии гликоконъюгатов Государственного бюджетного учреждения науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук (ИОХ РАН),

Д.х.н.

Д.В. Яшунский

Председатель научного коллоквиума лаборатории химии гликоконъюгатов ИОХ РАН, заведующий лабораторией химии гликоконъюгатов,
Чл.-корр. РАН

Н.Э. Нифантьев

Секретарь научного коллоквиума лаборатории химии гликоконъюгатов ИОХ РАН, старший научный сотрудник,

к.х.н.

О.Н. Юдина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского Российской академии наук (ИОХ РАН). 119334, г. Москва, Ленинский проспект, 47. Телефон: +7 499 137-29-44. E-mail: secretary@ioc.ac.ru. Сайт: <https://zioc.ru/>

Подписи Н.Э. Нифантьева, Д.В.Яшунского и О.Н. Юдиной заверяю.

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института органической химии им. Н.Д. Зелинского,

к.х.н.



Коршевец И.К.