

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.2.063.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФГБОУ ВО «САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ» МИНЗДРАВА РОССИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК**

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 16.04.2024 г. № 9

О присуждении **Вишнякову Евгению Владимировичу**, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата фармацевтических наук.

Диссертация «Синтез, установление структуры и скрининговая оценка биологической активности комплексов металлов с фенольными соединениями растительного происхождения» по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия принята к защите 30 января 2024 г., протокол № 3 диссертационным советом 21.2.063.01, созданным на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197022, г.Санкт-Петербург, вн.тер.г. муниципальный округ Аптекарский остров, ул.Профессора Попова, д.14, лит. А) на основании приказа Минобрнауки России № 105/нк от 11.04.2012 г.

Соискатель Вишняков Евгений Владимирович, 31 октября 1995 года рождения.

В 2019 году окончил с отличием федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности «Фармация».

В 2023 году окончил очную аспирантуру федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-

фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по направлению подготовки «Фармация».

Работает в должности химика-аналитика Испытательной лаборатории (Центр контроля качества лекарственных средств) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация выполнена на кафедре фармацевтической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель – доктор фармацевтических наук, доцент Тернинко Инна Ивановна, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Испытательная лаборатория (Центр контроля качества лекарственных средств), начальник.

Официальные оппоненты:

1. Селиванова Ирина Анатольевна – доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), кафедра химии, профессор.

2. Катаев Валерий Алексеевич – доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный

медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармации, заведующий

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Пермь) в своем положительном отзыве, подписанном Замираевой Татьяной Михайловной, доктором химических наук, доцентом, заведующей кафедрой фармацевтической химии и Бобровской Ольгой Васильевной, доктором фармацевтических наук, доцентом, профессором кафедры фармацевтической химии, указала, что диссертационная работа Вишнякова Евгения Владимировича «Синтез, установление структуры и скрининговая оценка биологической активности комплексов металлов с фенольными соединениями растительного происхождения», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, является самостоятельным законченным научным исследованием, имеет теоретическую и практическую значимость и содержит решение актуальной задачи современной фармацевтической отрасли по поиску и синтезу новых лекарственных средств на основе фенолов растительного происхождения и металлов. По актуальности научного направления, научной новизне, методам решения поставленных задач, объему и уровню исследований, теоретической и практической значимости диссертация «Синтез, установление структуры и скрининговая оценка биологической активности комплексов металлов с фенольными соединениями растительного происхождения» соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от

28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 20.03.2021 г. № 426, от 11.09.2021 г. № 1539, от 26.09.2022 г. № 1690, от 26.01.2023 г. № 101, от 18.03.2023 г. № 415, от 26.10.2023 г. № 1786), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Вишняков Евгений Владимирович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Соискатель имеет 12 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 12 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 2 работы. Общий объем опубликованных работ составляет 3,5 печатных листа, авторский вклад – 85%. В опубликованных работах рассмотрены вопросы синтеза, изучения строения и применения комплексов металлов с фенольными соединениями растительного происхождения, а также представлены ключевые экспериментальные результаты исследования, отражающие основное содержание диссертации.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах, в которых изложены основные научные результаты исследования.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Вишняков, Е. В. Оценка микро- и макроэлементного профиля растительного сырья с потенциальным противодиабетическим действием / Е. В. Вишняков, И. И. Тернинко, Ю. Э. Генералова, В. И. Топоркова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2021. – Том 24. – № 11. – С. 42-46.

2. Вишняков, Е. В. Оптимизация способа спектрофлуориметрического определения примеси алюминия в субстанциях / Е. В. Вишняков, А. А. Толстикова, Ю. Э. Генералова, А. К. Калдыбаева, И. И. Тернинко // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2024. – Том 13. – № 1. – С. 18-25.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. От главного научного сотрудника отдела химии природных соединений ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», доктора фармацевтических наук, профессора РАН Зилфикарова И.Н. Отзыв положительный, замечаний и вопросов к диссертанту нет.

2. От заведующей кафедрой химии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, доктора фармацевтических наук, доцента Зыковой М.В. Отзыв положительный, замечаний и вопросов к диссертанту нет.

3. От заведующего кафедрой фармацевтической, токсикологической и аналитической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, доктора фармацевтических наук, доцента Квачахия Л.Л. Отзыв положительный, замечаний и вопросов к диссертанту нет.

4. От младшего научного сотрудника ООО «ЦКП «Аналитическая спектрометрия», кандидата фармацевтических наук Крысько М.В. Отзыв положительный, но имеются вопросы: 1) В работе указано, что статистическую обработку проводили с применением программы Microsoft Excel и GrandPad Prism 9.0, проводилась ли валидация данных программ? 2) В автореферате представлена информация о динамике массы тела мышей, при этом при диабете 2-го типа особую роль играет динамика содержания глюкозы в крови, имеются ли эти данные? Вопросы не имеют принципиального характера и не снижают ценности проведенных исследований.

5. От заместителя генерального директора по качеству ООО «Компания «ДЕКО», доктора фармацевтических наук, доцента Моисеева Д.В. Отзыв положительный, замечаний и вопросов к диссертанту нет.

6. От доцента кафедры фармации ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Минобороны России, кандидата фармацевтических наук, доцента Саушкиной А.С. Отзыв положительный, но

имеются вопросы: 1) Планируются ли дальнейшие исследования синтезированных комплексов растительных фенольных соединений с катионами металлов для создания на их основе лекарственных препаратов противодиабетического действия? 2) Почему в качестве примеси для разработки спектрофлуориметрической методики определения выбрана примесь алюминия? Какова чувствительность этой методики по сравнению с фармакопейной? Можно ли данную методику использовать для определения примесей катионов других металлов, чтобы сделать ее унифицированной? Вопросы носят уточняющий характер, не снижают достоинства работы и не влияют на ее общую положительную оценку.

7. От заведующей кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии ГОУ ВО Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет», доктора фармацевтических наук, профессора Ханиной М.А. Отзыв положительный, замечаний и вопросов к диссертанту нет.

8. От доцента кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, кандидата фармацевтических наук, доцента Шамилова А.А. Отзыв положительный, замечаний и вопросов к диссертанту нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их соответствием критериям, предъявляемым пунктами 22 и 24 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 20.03.2021 г. № 426, от 11.09.2021 г. № 1539, от 26.09.2022 г. № 1690, от 26.01.2023 г. № 101, от 18.03.2023 г. № 415, от 26.10.2023 г. № 1786), а также их широкой

известностью в области органического синтеза новых молекул, в том числе и на основе фенольных соединений растительного происхождения, значительным числом опубликованных научных и учебно-методических работ, соответствующих тематике диссертационного исследования соискателя, что позволяет им квалифицированно определить научную и практическую ценность диссертации Вишнякова Евгения Владимировича.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

– *разработан* унифицированный алгоритм синтеза комплексов металлов с фенольными соединениями растительного происхождения на основании подходов, представленных в литературных источниках. Апробация алгоритма проводилась на четырёх лигандах (рутин, кверцетин, хлорогеновая кислота, ресвератрол) и трёх ацетатных солях металлов (цинк, марганец, кобальт);

– *предложена* методика спектрофлуориметрического определения примеси алюминия с применением в качестве лиганда рутина, которая базируется на механизме получения металл-флавоноидных комплексов;

– *доказана* на моделях дексаметазон индуцированного сахарного диабета II типа с участием белых инбредных крыс-самцов, а также в экспериментах на мышях типа *C57BL/KsJ-db/db* перспективность разработки металло-фенольных комплексов и применения их в качестве потенциальных лекарственных кандидатов для терапии социально значимых заболеваний;

– *введено* «Дерево принятия решений», которое алгоритмизирует процесс получения комплексов, дает возможность проанализировать основные технологические стадии, вариабельные участки, оценить последствия принятия серии связанных между собой решений.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

– *доказаны* с помощью совокупных данных физико-химических методов анализа (УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия, РФА, потенциометрия) сайты связывания металлов в трёх молекулах фенольных

лигандов, соотношения компонентов в комплексах, а также константы устойчивости;

– применительно к проблематике диссертации результативно использованы существующие методологические подходы по оценке содержания основных групп БАВ-потенциальных лигандов и макро-, микроэлементного состава растительных объектов, а также методы получения, установления структуры металло-фенольных комплексов, определения фармакологической активности *in vivo* и статистической обработки результатов биологического и химического экспериментов;

– изложены идеи о технологии синтеза металло-фенольных комплексов с последующей оценкой структуры и прогнозированием сайтов связывания, а также положения, основанные на результатах биологических экспериментов *in vivo*, касающиеся возможного применения комплексов в качестве лекарственных кандидатов;

– раскрыта необходимость в унификации методик синтеза металло-фенольных комплексов ввиду наличия разрозненных подходов к их получению, представленных в литературе, и продемонстрированы ключевые переменные параметры (растворитель, депротонирующий агент, время и температура нагрева реакционной смеси, методы очистки, фильтрации и сушки), которые необходимо подбирать и контролировать при синтезе конкретных комплексов;

– изучено положительное влияние комплексов цинка с рутином и кверцетином на течение заболевания сахарного диабета II типа за счёт увеличения содержания в крови специфических гормонов-маркеров (адипонектина, лептина);

– проведена модернизация спектрофлуориметрической методики определения примеси алюминия (на примере субстанции калия хлорида), представленной в ГФ РФ XV, которая состоит в исключении стадии экстракции комплекса алюминия в органический слой (хлороформ), содержащий лиганд (8-гидроксихинолин), что приводит к повышению

точности, а также способствует большей экологической безопасности и эргономичности методики.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

– *разработаны и внедрены* методика синтеза и установления структуры комплексов в научную и учебную деятельность кафедр химико-фармацевтических дисциплин Школы фармации Казахского национального медицинского университета им. С.Д. Асфендиярова (акт внедрения от 06 декабря 2023 г.), ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (акты внедрения от 09 января 2024 г.), Воронежского государственного университета (акт внедрения от 08 декабря 2023 г.). В производственную деятельность (лаборатория ОКК) ООО «Центр фармацевтической аналитики» (акт внедрения от 20 июня 2023 г.), СПб ГБУЗ «СЗЦККЛС» (акт внедрения от 29 ноября 2023 г.) и АО «Фирма Медполимер» (акт внедрения от 29 декабря 2023 г.) внедрена модернизированная спектрофлуориметрическая методика определения примеси алюминия с помощью рутин;

– *определены* условия синтеза, выходы продуктов, сайты связывания металлов в фенольных соединениях, а также основные фармакологические показатели (содержание глюкозы, гормонов (лептина, С-пептида, адипонектина)) в крови лабораторных животных в ходе реализации эксперимента *in vivo*, которые характеризуют положительное влияние металло-фенольных комплексов на течение сахарного диабета и определяют их в качестве потенциальных лекарственных кандидатов;

– *создана* унифицированная модель получения комплексов, которая учитывает физико-химические свойства, биологическую активность компонентов, условия синтеза и предполагает возможность её трансфера на разные классы фенольных соединений и металлов;

– *представлены* рекомендации по усовершенствованию имеющихся в литературе методик синтеза комплексов, которые позволили разработать «Дерево принятия решений».

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

– для *экспериментальных работ* степень достоверности результатов исследования обеспечивается адекватным применением классических и современных методов, позволяющих получать металло-фенольные комплексы и оценивать их структуру, достаточным объемом полученных данных в каждой выборке, воспроизводимостью результатов при параллельном повторе и использованием в работе современного аналитического оборудования;

– *теория* основных положений диссертационной работы аргументированно согласуется с имеющимися в научной литературе данными российских и зарубежных авторов и не противоречит опубликованным материалам по теме диссертации в смежных отраслях;

– *идея базируется* на потенциальной возможности взаимодействия металла и фенольного лиганда с образованием металло-фенольных комплексов, обладающих широким спектром биологической активности и присутствующих в растительных объектах в нативном состоянии;

– *использованы* авторские данные, а также опубликованные данные российских и зарубежных исследователей по проблематике диссертационного исследования, нормативные документы, регламентирующие вопросы валидации аналитических методик;

– *установлены* оригинальность и новизна полученных автором данных при сравнении с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике, в том числе по вопросам синтеза комплексов. Показано, что в литературе, для одних и тех же соединений приводятся различные подходы к синтезу, поэтому важной составляющей работы была оптимизация и алгоритмизация имеющихся методик;

– *использованы* современные методики сбора, систематизации и анализа исходной информации, проверенное современное аналитическое оборудование, сертифицированные пакеты обработки и оформления данных,

в том числе статистической обработки результатов химического и биологического экспериментов.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии во всех этапах исследования, в том числе в постановке цели и задач, анализе литературных данных по тематике исследования, планировании и постановке эксперимента, сборе и обработке полученных результатов, оформлении их в виде тезисов и статей, а также подготовке рукописи диссертации и автореферата.

В ходе защиты диссертации были высказаны критические замечания, связанные с достоверностью утверждения о том, что предложенный алгоритм синтеза металло-фенольных комплексов можно трансферировать на различные классы фенольных соединений; с очисткой полученных в ходе синтеза продуктов; с возможностью образования комплексов по сахарному остатку в молекуле рутина; с отсутствием в биологическом эксперименте по оценке противодиабетической активности препарата-сравнения «Арфазетин» и группы, принимавшей рутин; с анализом взаимосвязи структуры соединений (флавоноидов, гидроксикоричных кислот) и их хроматографической подвижностью при анализе методом ВЭТСХ.

Соискатель Вишняков Евгений Владимирович согласился с высказанными замечаниями, ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы и привел собственную аргументацию по данной проблематике: апробация алгоритма синтеза осуществлялась не только на рутине, кверцетине и хлорогеновой кислоте, но и на ресвератроле (стильбен), однако экспериментально и теоретически было доказано, что за счёт низких значений констант кислотности фенольных гидроксидов, он не способен формировать устойчивые комплексы с металлами. Другие классы фенольных соединений (кумарины, антрацены) из-за отсутствия у них широкого спектра биологической активности в качестве лигандов в данной работе не рассматривались. Очистка комплексов от исходных реактивов (лиганд и соль комплексообразователя) после вакуумной фильтрации осуществлялась путём

трёхкратной промывки метанолом. Далее продукт высушивали в эксикаторе. По такому же принципу проводят фильтрацию, очистку и сушку в методиках, приведенных в большинстве литературных источниках. Дополнительно перекристаллизацию осадка не осуществляли, потому как в ходе этого процесса возможен гидролиз продукта. При рассмотрении вопроса о возможности протекания комплексообразования по сахарному остатку молекулы рутина, стоит отметить, что константы кислотности спиртовых гидроксидов, входящих в состав сахарного остатка, имеют очень низкие значения. Следовательно, хелатирование катионов металлов по данному сайту маловероятно. Для сахарозы в щелочной среде описана реакция с солями кобальта. За счёт образования сахаратов появляется фиолетовая окраска. Эта реакция подлинности на сахарозу представлена и в ГФ РФ XIV издания. Однако в зарубежной литературе отмечается ее неспецифичность, так как за счёт избытка гидроксида натрия возможно образование гидроксокомплексов кобальта (II), которые также могут иметь фиолетовую окраску. Относительно вопроса, касающегося проведения эксперимента *in vivo*, стоит отметить, что в скрининге биологической активности нативных и синтетических комплексов, действительно, не было группы животных, принимавших «Арфазетин», однако была группа, получавшая экстракт из побегов черники обыкновенной, который также обладает гипогликемическим действием. В эксперименте также не участвовали группы животных, получавших рутин и кверцетин, ввиду их малой растворимости в воде, поэтому было принято решение не использовать их в экспериментах *in vivo*, так как все группы животных получали водные растворы объектов исследования. Хроматографическая подвижность фенольных соединений не оценивалась в данной работе, потому как ВЭТСХ-скрининг был направлен в большей степени на выявление маркерных соединений, на которые осуществлялся пересчёт основных групп БАВ-потенциальных лигандов. Эти данные в дальнейшем легли в основу эксперимента по скринингу биологической активности нативных и синтетических комплексов.

На заседании 16 апреля 2024 г. диссертационный совет принял решение – за успешное решение научной задачи, имеющей научное и практическое значение для развития фармацевтической науки и практики и заключающейся в синтезе комплексов металлов с фенольными соединениями растительного происхождения, обладающих широким спектром биологической активности, присудить Вишнякову Евгению Владимировичу ученую степень кандидата фармацевтических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 6 докторов наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки), участвовавших в заседании, из 20 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 16, против – нет.

Заместитель председателя

диссертационного совета 21.2.063.01,

доктор фарм. наук, профессор

Каухова Ирина Евгеньевна

Ученый секретарь

диссертационного совета 21.2.063.01,

кандидат фарм. наук, доцент

Орлов Александр Сергеевич

16.04.2024 г.



Подпись руки

удостоверяю

16.04.2024

Начальник отдела документации

Павлюк И.Е.

ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России



Подпись руки

удостоверяю

16.04.2024

Начальник отдела документации

Павлюк И.Е.

ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России