

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу **Левшуковой Полины Олеговны** на тему **«Новые подходы к синтезу биологически активных производных 1,3,5-триазина»**, представленную в диссертационный совет 21.2.063.01, созданный на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность исследования

Диссертационная работа Левшуковой Полины Олеговны связана с разработкой способов получения ранее неописанных в литературных источниках производных 1,3,5-триазинов, подтверждением их химической структуры комплексом физико-химических методов и скрининговыми исследованиями спектра их биологической активности и острой токсичности.

Производные 1,3,5-триазина применяются в качестве стимуляторов дыхания, миорелаксантов, противомикробных средств. В последнее время производные этого гетероциклического соединения используются в качестве эффективных противоопухолевых лекарственных средств. Так, например, алтретамин, блокирующий митоз опухолевых клеток принадлежит к группе препаратов второй линии при лечении рака яичников; триазиновые цитостатики – аналоги цитидина и дезоксицитидина – азацитидин и децитабин, применяются для лечения больных с острым и хроническим миелоидным лейкозом.

Описанные в литературе способы получения производных 1,3,5-триазинов основаны, как правило, на реакции нуклеофильного замещения атома хлора в цианурхлориде. Недостатком данного подхода является многостадийность, приводящая к низкому выходу целевого продукта. В связи с этим модификация способов получения производных симметричных 1,3,5-триазинов и синтез новых субстанций с высокой биологической активностью на базе этого гетероцикла является важной и актуальной задачей, особенно в условиях санкционной политики западных стран и программой импортозамещения в фарминдустрии России.

Цель диссертационного исследования – получение новых производных 1,3,5-триазина на основе реакции 2,5-дизамещённых-4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов с алкил- и арилимидами, S-метилизотиомочевинной,

доказательство строения и индивидуальности полученных соединений, изучение их биологической активности. Автором достигнута поставленная цель путем выполнения всех задач исследования.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертационной работы соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно: пункту 1 – Исследование и получение биологически активных веществ на основе направленного изменения структуры синтетического и природного происхождения и выявление связей и закономерностей между строением и свойствами веществ; пункту 2 – Формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств.

Научная новизна исследования

Разработаны эффективные способы получения новых биологически активных производных 1,3,5-триазина, характеризующиеся высоким выходом целевого продукта, защищенные патентами РФ. Доказано их строение и индивидуальность. Установлено, что они обладают умеренной противомикробной, противогрибковой, выраженной диуретической и противоопухолевой активностями, относятся к малотоксичным и практически нетоксичным соединениям.

Теоретическая и практическая значимость

Несомненной теоретической привлекательностью обладают результаты компьютерного скрининга биологической активности, а также полученные данные в исследованиях *in vitro* и *in vivo* ряда синтезированных производных 1,3,5-триазина и выявленные взаимосвязи «структура-активность».

В качестве практического воплощения результатов работы, на основании оптимального соотношения активности и безопасности отобрано соединение-лидер – 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазин, проявляющее выраженную противоопухолевую, умеренную противогрибковую и диуретическую активность. Для 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина разработаны параметры аттестации для первичного стандартного образца.

Результаты работы внедрены в учебный процесс кафедры органической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный

химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (акт внедрения от 29.03.2024). Результаты диссертационного исследования использованы в научно-исследовательской деятельности кафедры органической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (акт внедрения от 07.05.2024).

Автором получено два патента на изобретение: патент 2812149 С1 Российская Федерация, МПК С07D 251/24 (2006.01) А61К 31/53 (2006.01) А61Р 31/10 (2006.01). 2,4-диарил-6-алкил-1,3,5-триазины и способ их получения / П.О. Левшукова, Д.А. Колесник, Е.В. Куваева, И.П. Яковлев, Л.А. Тунгускова, Г.В. Ксенофонтова, Е.Н. Кириллова; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. - № 2023114893; заявл. 06.06.2023; опубл. 23.01.2024; патент 2825131 С1 Российская Федерация, МПК С07D 251/24 (2006.01) А61К 31/53 (2006.01) А61Р 31/10 (2006.01). Производные 1,3,5-триазина и способ их получения / П.О. Левшукова, Д.А. Колесник, Е.В. Куваева, И.П. Яковлев, Л.А. Тунгускова, Т.Л. Семакова, М.В. Сопова, И.И. Тернинко; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. - № 2023114891; заявл. 06.06.2023; опубл. 21.08.2024.

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

Степень обоснованности научных положений и выводов диссертационной работы подтверждается достаточным объёмом экспериментальных данных, применением современных спектральных методов исследования, проведённой статистической обработкой полученных результатов.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 2 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций, а также 1 статья в издании, включенном в международные наукометрические базы данных Scopus и Web of science. Получено 2 патента РФ на способы получения производных 1,3,5-триазина.

Рекомендации по использованию результатов для науки и практики

Разработанные способы синтеза биологически активных новых производных 1,3,5-триамина могут быть внедрены в научно-практическую деятельность организаций, в сферу научных интересов которых входит получение биологически активных субстанций.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертация изложена на 134 страницах машинописного текста, в ней содержится 27 таблиц, 71 рисунок и она состоит из введения, обзора литературы и 4 глав собственных исследований, экспериментальной части, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложения. Список литературы включает 80 источников, в том числе 62 на иностранных языках.

Введение полностью отражает все необходимые блоки: актуальность работы, степень разработанности темы исследования, его цель и задачи, научную новизну, теоретическую и практическую значимость, методологию и методы исследования, личный вклад автора. В нем четко сформулированы положения, выносимые на защиту, отмечено соответствие диссертации паспорту научной специальности, показана связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук, приведено подробное перечисление конференций, на которых была апробирована работа, указана информация о публикациях и охарактеризованы структура диссертации и ее объем.

Глава 1 является тематическим литературным обзором, связанным с известными способами синтеза производных 1,3,5-триамина и биологической активностью описанных соединений. В частности, рассмотрены способы получения данных соединений двумя основными путями: за счет реакции нуклеофильного замещения атома хлора в цианурхлориде, а также рециклизацией различных пяти- и шестичленных гетероциклических систем, отмечены достоинства и недостатки этих способов получения. При описании биологической активности рассматриваемого класса соединений диссертант анализирует литературные источники, описывающие взаимосвязь «структура-активность» и отмечает, что более выраженными антибактериальными свойствами характеризуются соединения с электроноакцепторными группами. В последней части обзора приводятся структурные формулы таких производных 1,3,5-триамина, которые уже зарегистрированы в качестве лекарственных средств. Заключительным аккордом первой главы является вывод автора, что производные

симметричного 1,3,5-триамина принадлежат к группе соединений с высоким потенциалом биологической активности.

Глава 2 связана с модификацией способов синтеза и получением новых производных 1,3,5-триамина, приводящих к увеличению выхода конечных продуктов, а также доказательством их структуры и индивидуальности с помощью современных физико-химических методов: ЯМР-, ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии, элементного анализа.

Глава 3 посвящена оценке острой токсичности и скрининговым исследованиям для выявления биологической активности синтезированных веществ с помощью современного программного обеспечения. Представляются достоверные результаты оценки биологической активности, делается заключение о проявлении данными субстанциями умеренной и высокой биологической активности (противомикробной, противогрибковой, диуретической и противоопухолевой), сравнимой с современными эталонными лекарственными препаратами. Автор отбирает из ряда полученных им молекул наиболее перспективную, то есть обладающую оптимальным соотношением эффективности и безопасности, для которой разрабатывает основные показатели аттестации. Таким соединением является 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазин.

Глава 4 описывает методику очистки соединения-лидера – 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триамина для дальнейшего его использования в качестве стандартного образца и характеризует его по следующим показателям: описание, растворимость, температура плавления, остаточные органические растворители, содержание хлоридов, тяжелых металлов, сульфатной золы, воды, родственных примесей и количественное определение. Нормирует подлинность путем подтверждения структуры комплексом инструментальных физико-химических методов (ЯМР ^1H -, ЯМР ^{13}C -, ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия). Все нормируемые показатели соответствуют требованиям ОФС 1.1.0007 ГФ РФ XV издания и ОФС 2.3.11.0 Фармакопеи Евразийского экономического союза на стандартные образцы химической природы.

Глава 5 представляет собой экспериментальную часть, содержит методики получения соединений и методики определения показателей качества 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триамина.

Диссертация завершается заключением и списком литературы. В приложении представлены акты внедрения и патенты.

Заключение и выводы соответствуют основным результатам исследований, проведенных автором, и подтверждают выполнение поставленных задач достижение цели.

Содержание автореферата отражает основное содержание диссертации.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Основная часть работы выполнена лично автором (не менее 95% общего объема), а именно: сбор, анализ, систематизация литературных данных, постановка цели и задач исследования, химический синтез целевых соединений, обработка и интерпретация спектральных данных, изучение острой токсичности, биологической активности, статистическая обработка полученных результатов, их обобщение и формулирование выводов, а также написание статей, диссертации и автореферата.

Достоинства и недостатки по содержанию, оформлению, общая оценка диссертации

1. Диссертантом выполнен большой объем экспериментальной работы: разработаны способы синтеза производных 1,3,5-триазола, на основе которых получено 45 новых соединений.

2. Излагая достоинства синтетической части работы необходимо отметить два основных момента. Во-первых, способы синтеза, предложенные диссертантом, характеризуются несомненной простотой и элегантностью исполнения. Удачно подобранные растворители – диметилсульфоксид и, особенно пропанол, позволили автору достичь выхода конечных продуктов свыше 80%, при этом сама синтетическая процедура, фактически осуществляется в формате клик-химии. Во-вторых, автором не только описаны методики синтеза, но и предложен предполагаемый механизм реакции субстратов 4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов с 1,3-бинуклеофилами, что имеет важное значение в качестве теоретической составляющей диссертационной работы. Предложенный механизм реакции очень логичен и с ним трудно не согласиться.

3. Автором осуществлена систематизация данных по доказательству структуры всех синтезированных соединений, результаты которой полностью отражены в таблицах: 3 (значения R_f и температур плавления), 4 (данные элементного анализа), 5, 6 и 7 (спектральные данные ЯМР ^1H , ЯМР ^{13}C и ИК-спектроскопии, соответственно) и визуализированы на примере отдельных соединений в виде реальных спектров.

4. Безусловным положительным моментом данной работы является этап компьютерного прогнозирования спектра биологической активности и острой токсичности, который позволил свести к минимуму число животных на этапе оценки острой токсичности в экспериментах *in vivo*. Кроме того, по

результатам исследований *in silico* получены важные теоретические данные о связи структуры соединений производных 1,3,5-триамина и острой токсичности, в частности, показано, что заместитель R² не оказывает существенного влияния на значение LD₅₀, соединения, имеющие фенильный фрагмент в качестве R³ обладают наибольшим значением LD₅₀, а наибольшее влияние на острую токсичность выявлено для заместителей R¹ (акцепторные заместители в этом положении уменьшают, а донорные – увеличивают токсичность).

5. Диссертационная работа характеризуется научным стилем изложения, а диссертация полностью соответствует требованиям ГОСТ Р 7.0.11-2011.

В целом диссертационная работа **«Новые подходы к синтезу биологически активных производных 1,3,5-триамина»** выполнена на высоком научном уровне, написана грамотным и понятным языком. Положительно оценивая диссертационную работу Левшуковой Полины Олеговны, следует отметить некоторые **замечания и задать вопросы**:

1. В чем Вы видите перспективу дальнейших Ваших исследований?
2. Учитывая результаты вашей работы, планируете ли Вы разработку противоопухолевого препарата?
3. Какое программное обеспечение было использовано для статистической обработки результатов?
4. Поясните, пожалуйста, данные таблицы 14 на странице 83. Почему все соединения в этой таблице, характеризующиеся таким большим разбросом в значениях минимальной пороговой концентрации отнесены к группе соединений, обладающих умеренной противогрибковой активностью?
5. Результаты компьютерного прогнозирования вероятности определенного вида биологической активности, приведенные в таблице 8, отражают только число синтезированных производных 1,3,5-триамина, без указания принадлежности к структурам конкретных соединений. Думаю, что следует в дальнейшем провести более углубленный анализ этого ценного материала для установления взаимосвязи «структура-активность».
6. В таблице 9 допущена досадная опечатка, касающаяся нумерации синтезированных соединений, а на с. 81 опечатки в тексте, касающиеся номера таблицы (10, вместо 12) и номера соединения (Vг, вместо VIг), что несколько затруднило сопоставительный

анализ данных по противомикробной активности и прогнозу острой токсичности, соответственно.

7. Отдельные замечания по стилю изложения: температуру в схемах реакции принято обозначать просто латинской буквой *t*, без значка «градус», который относится к единице измерения °С (рисунок 46); обозначенный водород в названиях соединений принято изображать курсивом; думаю, что названия соединений под формулами в диссертационной работе целесообразно было написать не латиницей, кириллицей, как это сделано в автореферате.
8. Полагаю, что в главе 5, при описании экспериментальной части, следовало отдельно охарактеризовать используемые реактивы и растворители, поскольку от чистоты реагентов во многом зависит конечный результат работы.

Указанные замечания и вопросы не носят принципиального характера и не снижают общей высокой положительной оценки диссертационной работы Левшуковой Полины Олеговны.

Заключение

Учитывая все вышеизложенное, можно сделать заключение, что диссертационная работа Левшуковой Полины Олеговны «Новые подходы к синтезу биологически активных производных 1,3,5-триамина», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершенным квалификационным научным исследованием, выполненным на актуальную тему на высоком научном уровне, содержит решение важной научной задачи в области фармации по оптимизации подходов к синтезу производных 1,3,5-триамина, получению новых соединений этой группы, а также оценке их биологической активности и острой токсичности и установлению кандидатов для разработки потенциальных лекарственных средств на их основе.

По актуальности и важности темы, объему и глубине исследования, теоретической и практической значимости, обоснованности и достоверности результатов и выводов диссертационная работа Левшуковой Полины Олеговны соответствует требованиям п. 9 «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, от 25.01.2024 г. № 62), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Левшукова Полина Олеговна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

ОФИЦИАЛЬНЫЙ ОППОНЕНТ

Селиванова Ирина Анатольевна

профессор кафедры химии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), доктор фармацевтических наук (3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия), профессор



« 20 » ноября 2024 г.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Почтовый адрес: 119048, Российская Федерация, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

Телефон: +79175047755

e-mail: selivanova_i_a@staff.sechenov.ru

