

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора фармацевтических наук, профессора кафедры зоологии позвоночных и экологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет» Министерства образования и науки Российской Федерации Мардановой Людмилы Геннадьевны на диссертационную работу ЧЕРНОВА ИЛЬИ НИКОЛАЕВИЧА «Синтез, свойства и биологическая активность новых производных ароилпировиноградных кислот», представленную в диссертационный совет Д 208.068.01 на базе ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

**Актуальность темы.** Расширение ассортимента отечественных лекарственных средств является наиболее важным направлением развития фармацевтической и медицинской науки.

В органическом синтезе ароилпировиноградные кислоты (АПК) и их производные используются как источники получения различных ациклических и гетероциклических соединений, многие из которых обладают биологической активностью. Среди них обнаружены вещества, проявляющие противомикробную, противовирусную, противовоспалительную, анальгетическую, антикоагулянтную, гипогликемическую, местноанестезирующую, противоопухолевую активность. Из функциональных производных ароилпировиноградных кислот менее исследованы амиды АПК. Разработка методик синтеза новых соединений, изучение физико-химических свойств биологически активных соединений являются предпосылкой к внедрению предлагаемых веществ в медицинскую практику в качестве лекарственных средств, в связи с этим диссертационную работу И.Н.Чернова можно считать, безусловно, актуальной.

**Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук.** Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований Пермской государственной фармацевтической академии (номер государственной регистрации 01.9.50 007426). Тема утверждена на заседании Ученого совета Пермской государственной фармацевтической академии, протокол №3 от 25 ноября 2010г.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.02. – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты проведенных исследований

соответствуют области исследования специальности, а именно пунктам 2 и 3 паспорта специальности «фармацевтическая химия, фармакогнозия».

**Структура и содержание диссертации.** Диссертационная работа Чернова И.Н. изложена на 157 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав, выводов, списка литературы и приложения. Список литературы включает 156 работ отечественных и зарубежных авторов. Диссертация содержит 39 таблиц и 9 схем.

Во введении изложена актуальность темы, определены цель и задачи, показана научная новизна и практическая значимость работы.

В первой главе приводится обзор литературы по методам синтеза, свойствам, биологической активности амидов ароилпировиноградных кислот и продуктов их химических превращений.

Вторая глава посвящена обсуждению результатов собственных исследований.

В третьей главе приведены результаты биологических исследований синтезированных соединений.

В четвертой главе изложена экспериментальная химическая часть исследования.

**Научная новизна работы.** Разработаны и усовершенствованы методики синтеза 131 ранее неизвестных соединений, структура которых установлена на основании ИК-, ЯМР  $^1\text{H}$  и хроматомасс-спектрометрии.

Предложен новый способ синтеза ранее неизвестных N-замещенных амидов 4-арил-2-( $\beta, \beta$ -диметиламиноэтиламино)-4-оксо-2-бутеновых кислот.

Разработана методика получения их четвертичных солей, продуктов гетероциклизации – производных пиперазин-2,3,5-трионов, N-замещенных-5-арил-4-фенилазо-1H-пиразолон-3-карбоксамидов.

Выявлены вещества, обладающие высокой местноанестезирующей, анальгетической, антигельминтной, антикоагулянтной активностью при низкой токсичности. Впервые установлены некоторые закономерности взаимосвязи «структура – местноанестезирующая активность».

Проведен анализ результатов исследования биологической активности синтезированных соединений в сравнении с лекарственными препаратами и выявлены вещества, обладающие высокой местноанестезирующей, анальгетической, антигельминтной, антикоагулянтной активностью и низкой токсичностью. Впервые установлены некоторые закономерности взаимосвязи «структура – местноанестезирующая активность».

**Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключений, сформулированных в диссертационной работе.** Степень обоснованности и достоверности научных результатов подтверждена использованием для решения задач эксперимента классических и усовершенствованных методик синтеза, современных методов исследования с применением компьютерных технологий, физико-химических методов анализа подтверждения структуры полученных соединений. Научные положения и выводы, сформулированные в работе Чернова И.Н., обоснованы, достоверны и логично вытекают из представленных экспериментальных данных.

**Практическая значимость работы.** В процессе работы синтезировано 131 соединение, не описанное ранее в литературе. На основе скрининга проведены экспериментальные исследования 83 соединений на различные виды активности и выявлены вещества, представляющие интерес для дальнейшего изучения:

с местноанестезирующей активностью – хлорид N-{2-[-1-{{(2.6-диметилфенил)амино}карбонил}-3-оксо-3-(4-бромфенил)-1-ен-1-ил]амино} этил}-N,N-диметил-1-оксоэтанаминиума, хлорид N-{2-[(1-{{(2.6-диметилфенил)амино}карбонил}-3-оксо-3-фенилпроп-1-ен-1-ил)амино]этил}-N,N-диметил-1-фурилоксометанаминиума, хлорид N-{2-[(1-{{(2.6-диметилфенил)амино}карбонил}-3-оксо-3-(4-этилфенил)проп-1-ен-1-ил)амино]этил}-N,N-диэтил-1-фурилоксометанаминиума;

с высокой антигельминтной активностью - хлорид N-{2-[(1-{{(2.4.6-триметилфенил)амино}карбонил}-3-оксо-3-фенилпроп-1-ен-1-ил)амино] этил}-N,N-диметил-1-фурилоксометанаминиума;

с антикоагулянтной активностью – 4-(4-бромфенил)-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеноат-4-метил-2-пиридиламмония.

Установлена некоторая зависимость местноанестезирующей активности от структуры соединений для определения направления поиска биологически активных соединений в изучаемых рядах.

Результаты научных исследований используются для выполнения научной и учебной работы, внедрены в практический курс обучения студентов химического и биологического факультетов кафедры природных и биологически активных соединений ФГБОУ ВПО ПГНИУ (Пермского государственного национального исследовательского университета). Методы получения, химические структуры и физико-химические свойства новых производных амидов ароилпировиноградных кислот внедрены в учебный процесс на кафедре общей и органической химии ГБОУ ВПО ПГФА при проведении лабораторных занятий и при чтении лекции «Аминокислоты, пептиды. Понятие о белках».

Основные положения диссертационной работы Чернова И.Н. доложены и обобщены на международных, Всероссийских и региональных конференциях.

По материалам диссертации опубликовано 20 печатных работ, из них 4 - в изданиях, рекомендованных ВАК.

Содержание автореферата отражает содержание диссертационной работы; выводы, сформулированные в диссертации и автореферате, совпадают.

**Замечания по оформлению и содержанию работы.** В целом, работа выполнена на высоком научном уровне, представленные материалы изложены последовательно и логично, согласуются с выводами. Данные, полученные в ходе экспериментальных исследований, подтверждены статистически, достоверны и не вызывают сомнения.

Однако, оценивая диссертационную работу положительно, возникает ряд вопросов и замечаний к содержанию и оформлению работы:

1. Чем обусловлен выбор 2-амино-4-метилпиридина? Проводились ли исследования биологической активности этого амина? Если ранее были использованы в реакции другие амины, то проводились ли сравнения их биологической активности? Какова активность самих АПК?

2. Почему с ацилхлоридом взаимодействует третичный амин, для которого эта реакция не характерна. С оксалилхлоридом реагируют вторичные амины. Уверены ли в строении соединений 6 и 7 (стр.52 дис. и стр.8 а /р). Почему не проведен рентгеноструктурный анализ?

3. Противомикробная активность. Указано разное количество соединений исследованных на противомикробную активность в диссертации (стр.87) и в автореферате (стр.12) -49 и 45 соединений. У одного препарата сравнения дано торговое название (флуконазол) а у другого – химическое (гидроксиметилхиноксалиндиоксид) вместо торгового названия «диоксидин». Не указана температура культивирования опытных пробирок при изучении антимикробных свойств на *Candida*, не указано место образования пленки (стр.88), видовое название микроорганизмов следует писать с маленькой буквы (стр.92).

4. Антигельминтная активность. Не описана методика антигельминтной активности. В автореферате дается ссылка на изучение этой активности по методике Николаева М.П., но в списке литературы этот источник отсутствует. В диссертации ссылаются на Martin R.J. (№142), но в этой статье описаны механизмы антигельминтного действия препаратов, но нет методики. Изучали эту активность на земляных червях (нет указания на вид – стр.93) «с учетом их физиолого-анатомического сходства с кишечными

паразитами». Нет физиолого-анатомического сходства с кишечными паразитами. Это разные типы червей – плоские, круглые и кольчатые, которые сильно отличаются друг от друга.

5. Анальгетическая активность. На этот вид активности изучено 5 рядов соединений, четыре из которых по методике «горячая пластинка», а пятый – по методике «уксусные корчи» Почему? По методике «уксусные корчи» хорошо бы исследовать активные соединения из всех рядов и тогда можно было говорить об их анальгетической активности, поскольку вызывает возражение интерпретация активности как анальгетическая по методике «горячая пластинка» при отсутствии влияния на ЦНС. Увеличение времени пребывания на «горячей пластинке» вызывают также общие анестетики, центральные миорелаксанты, транквилизаторы, нейролептики. Здесь можно было проследить связь строения с действием, чего не было сделано. Имеются опечатки: в тексте (стр.100) активность исследована у соединений 10а-к, а в таблице (стр.101) указаны соединения 11а-к; в тексте значатся вещества 11 а,е,з, а в таблице 31 (стр.101) соединений 11е и 11з нет.

6. Антикоагулянтная активность. Не понятно по отношению к какому веществу усиливается антикоагулянтное действие у соединения 2г. Для углубленных фармакологических исследований предлагается соединение 2з, а токсичность его не исследована.

7. Активность соединений при поверхностной анестезии. На чем основывается утверждение, что соединение ба «достоверно уступает бупивакаину» (стр.107). Статистической обработки нет? Продолжительность анестезии соединений бй, бк и бн - 60, 65 и 66 мин. соответственно, но первые два не уступают, а третье соединение уступает (стр.109) таковой бупивакаину (94 мин). Как это объяснить? В тексте на стр.118 говорится о соединениях 7п, 7р и бн, но в табл. 39 на этой же стр. этих соединений нет. В автореферате соединения 7п и 7р исправлены на 7с и 7т, а бн и здесь не исправлено.

**Заключение.** Несмотря на вышесказанные замечания и вопросы, считаю, что по совокупности полученных результатов диссертационная работа Чернова Ильи Николаевича на тему «Синтез, свойства и биологическая активность производных ароилпировиноградных кислот», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи поиска новых биологически активных производных ароилпировиноградных кислот с различными видами активностей.

По актуальности, новизне, научной и практической значимости, достоверности полученных результатов, уровню внедрения диссертационная работа Чернова Ильи Николаевича соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

доктор фармацевтических наук, профессор кафедры зоологии позвоночных и экологии биологического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет» Министерства образования и науки Российской Федерации

Марданова Людмила Геннадьевна

«02» февраля 2015 г.

«Пермский государственный национальный исследовательский университет» Министерства образования и науки Российской Федерации

614098, г. Пермь, ул. Букирева, 15  
Телефон: 8(342)-239-64-40  
Электронная почта: zoovert@psu.ru