

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

заведующего кафедрой фармацевтической технологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора фармацевтических наук, профессора Пулиной Натальи Алексеевны на диссертационную работу Чиряпкина Алексея Сергеевича на тему «Целенаправленный синтез и взаимосвязь структура-активность конденсированных производных пиримидин-4-она и их ациклических предшественников», представленную в диссертационный совет ДСУ 208.002.02 при ФГАОУ ВО первый МГМУ им. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальностям 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

### **Актуальность темы исследования**

Известно, что начальным этапом современной разработки новых фармацевтических субстанций является молекулярное конструирование и исследования *in silico*, которые в большинстве случаев позволяют целенаправленно получать соединения с заданным фармакологическим действием. Это, несомненно, сокращает временные и денежные затраты поиска новых биологически активных соединений (БАС). Именно такой рациональный и актуальный подход исследования лежит в основе данной диссертационной работы. В качестве базисной химической структуры автором представлены малоизученные ранее конденсированные производные пиримидина, позволяющие вводить дополнительные фармакофорные фрагменты различной природы, как на этапе синтеза их предшественников, так и в процессе дальнейшей химической модификации.

Следует отметить, что неуклонный рост дегенеративных заболеваний центральной нервной системы вызывает в настоящее время общемировую тревогу. В частности, одним из лидеров таких патологий является болезнь Альцгеймера. В основе её патогенеза лежит центральная холинергическая недостаточность и образование амилоидных бляшек, которые представляют собой внеклеточные отложения белка бета-амилоида. Именно на воздействие

в сторону этих двух патологических процессов и направлено данное диссертационное исследование, в ходе которого разрабатываются структуры с антихолинэстеразной и антиамилоидной активностью. Также среди производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она осуществлён поиск веществ, снижающих зону некроза головного мозга в условиях ишемии, что расширяет установленные их церебропротекторные свойства. Безусловно, данное направление исследований является актуальной задачей фармацевтической науки.

В последние годы система здравоохранения всех стран мира была подвержена колоссальным нагрузкам, в связи с пандемией новой коронавирусной инфекции COVID-19. Это актуализировало задачу соискателя по поиску новых высокоэффективных и безопасных отечественных фармацевтических субстанций для борьбы с коронавирусом среди конденсированных производных пиримидин-4-она и их ациклических предшественников. Также осуществлен поиск антибактериальных соединений в отношении клинических штаммов *St. aureus MP 1988* и *E. coli 89*.

Нестероидные противовоспалительные лекарственные средства занимают весомую долю среди всех терапевтических препаратов, благодаря известным преимуществам. Однако, не теряет актуальности расширение их ассортимента за счёт введения новых химических структур с менее выраженными побочными действиями и значениями низкой токсичности.

В данной диссертационной работе также проводится поиск новых ингибиторов тирозиназы, которые используются, главным образом, для борьбы с патологическими процессами, способными спровоцировать, в частности, развитие онкологии кожных покровов человека.

Таким образом, тема диссертационного исследования Чиряпкина Алексея Сергеевича, посвященная целенаправленному поиску новых биологически активных конденсированных производных пиримидин-4-она и их синтетических предшественников, является, несомненно, актуальной.

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

Научные положения, выводы и практические результаты, приведённые в диссертационной работе Чиряпкина А.С., аргументированы, обоснованы, достоверны и подтверждены большим объемом экспериментальных данных, полученных с использованием современных методов осуществления виртуального прогноза биологической активности, установления строения синтезированных соединений, проведения фармакологического скрининга и изучения взаимосвязей структура-активность. Все научные методы, примененные в рамках диссертационного исследования, соответствуют поставленным задачам. Результаты экспериментальной работы наглядно представлены в виде таблиц или иллюстраций. Выводы и практические рекомендации логически вытекают из содержания работы и результатов, полученных в ходе исследования.

## **Достоверность и новизна исследования, полученных результатов**

Достоверность представленных результатов обусловлена использованием современного программного обеспечения, поверенного оборудования и статистическим анализом полученных данных. Для характеристики полученных соединений использовался комплекс физико-химических и спектральных методов анализа. Результаты *in silico* исследования хорошо согласуются с данными фармакологического скрининга.

Новизна диссертационного исследования заключается в целенаправленном синтезе новых БАС и изучении фармакологических эффектов полученных структур, что, несомненно, важно для дальнейшей разработки новых отечественных фармацевтических субстанций. При этом первоначально предложен ряд алгоритмов осуществления молекулярного докинга для виртуального прогноза антихолинэстеразной, противовирусной, антимикробной, противовоспалительной, ГАМК-ергической,



антитирозиназной активности среди производных тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она и их ациклических предшественников, а также 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она, содержащих остатки аминокислот и дипептидов. Впервые разработаны математические модели количественной взаимосвязи «структура-активность», которые могут быть использованы для *in silico* поиска новых биологически активных веществ на основе данных дескрипторов.

### **Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

Результаты диссертационной работы Чиряпкина А.С. имеют существенное значение для науки и практики.

Так, результаты данного исследования рекомендуется применять для дальнейшей разработки новых БАС, в частности, с церебропротекторным, противовирусным, противовоспалительным действием. Предложенные модифицированные методики синтеза азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды, 2-замещённых 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3H)-она, а также производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она могут применяться для синтеза родственных структур. Перспективные соединения-лидеры по изучаемым видам фармакологической активности могут послужить основой для создания новых отечественных лекарственных препаратов. Полученные данные вычислительных экспериментов могут быть использованы при изучении механизмов фармакологического действия органических веществ, содержащих в своей основе схожие скаффолды.

Результаты диссертационной работы внедрены в научно-исследовательскую практику кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии, а также кафедры патологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ.



### **Соответствие диссертации паспорту специальности**

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, конкретно пункту 1 паспорта научной специальности и паспорту научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, конкретно пунктам 3 и 4 паспорта научной специальности.

### **Полнота освещения результатов диссертации в печати. Количество публикаций в журналах из Перечня ВАК РФ и индексируемых в международных базах данных**

По результатам исследования автором опубликовано 29 научных работ, в том числе 3 научные статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России; 6 статей в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus, Web of Science, PubMed, Chemical Abstracts; иные публикации по результатам исследования – 18. Получен 1 патент на изобретение и опубликована 1 монография.

### **Структура и содержание диссертации**

Диссертационная работа изложена на 237 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, четырёх глав собственных исследований, заключения, списка литературных источников, списка принятых сокращений и 6 приложений. Список литературы включает 172 источника, из них 112 на иностранных языках. Работа проиллюстрирована 51 таблицей, 59 рисунками и 42 схемами.

**Во введении** диссертантом представлена и обоснована актуальность выбранной темы, сформулированы цель и задачи исследования, определены новизна и практическая значимость, выделены положения, выносимые на защиту, представлены сведения по апробации результатов, внедрении их в практику, указан личный вклад автора.

**В главе 1** представлен литературный обзор, который полностью соответствует проблематике диссертации и включает достаточное количество опубликованных работ за последние годы. На основе анализа литературных данных показано, что в настоящее время ведутся исследования по поиску новых БАС среди производных пиримидин-4-она и их ациклических предшественников. При этом малоизученным классом органических соединений являются азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды. Перспективными соединениями с ценными фармакологическими свойствами могут быть производные тетрагидробензотиенопиримидинов и 6,7-диметоксихиназолин-4-она. Также приводятся методики синтеза данных рядов органических соединений и их виды фармакологической активности.

**В главе 2** диссертант подробно описывает приборы, программное обеспечение, методики прогноза биологической активности, синтеза, анализа и фармакологического скрининга анализируемых химических структур, применяемых в ходе исследования. Приводятся спектральные и физико-химические характеристики синтезированных веществ.

**В главе 3** приводится обоснование перспективности выбора в качестве скаффолда ядра пиримидина, на основе которого в дальнейшем осуществляется моделирование БАС, вводя в структуры различные фармакофоры. Используя логико-структурный анализ, предложен дизайн ингибиторов ацетилхолинэстеразы и тирозиназы. На основе данных сетевой фармакологии отобраны важные биомишени, регулируя активность которых, можно добиться у соединений разнопланового церебропротекторного действия. Приводятся результаты прогноза биологической активности моделируемых соединений веб-ресурсом Way2Drug PASS-online и программой молекулярного докинга AutoDock.

**В главе 4** представлены синтетические исследования и анализ строения полученных структур. Описывается модифицированный синтез производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов с

высокими выходами, который препаративно прост и экологически безопасен, так как в качестве растворителя выбран спирт этиловый. В дальнейшем эти соединения путём гетероциклизации переводятся в 2-замещенные 5,6,7,8-тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-оны, в среде ледяной уксусной кислоты с добавлением катализатора - диметилсульфоксида. Диссертант предполагает роль циклизующего катализатора, что согласуется с теорией гетероциклизации схожих ароматических систем. Осуществлен синтез натриевых солей по гидроксильным группам арильного фрагмента 2-замещенных тетрагидробензо[4,5]тиено[2,3-d]пиримидин-4(3*H*)-онов и азометиновых предшественников, что позволяет улучшить их фармакокинетические свойства. Изучен модифицированный синтез производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3*H*)-она с алкильными заместителями и остатками аминокислот и дипептидов.. Для введения в структуру целевых соединений нейроактивных фармакофоров в реакцию промежуточных бензоксазинонов вводятся глицин, глицилглицин, глициллейцин и глицилтриптофан.

Автором получено 70 целевых соединений, из которых 55 являются неописанными ранее структурами. Строение веществ подтверждено данными <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопией, ИК-спектроскопией и масс-спектрометрией, а степень чистоты соединений подтверждена высокоэффективной жидкостной хроматографией.

**В главе 5** приводятся результаты фармакологического изучения у синтезированных соединений антихолинэстеразной, антиамилоидной, церебропротекторной, противокоронавирусной, противовоспалительной, противомикробной и антитирозиновой активности. Выявлены соединения-лидеры, которые превосходят по выраженности фармакологического эффекта или на уровне препаратов сравнения. Установлены качественные и количественные закономерности «структура-активность» в рядах синтезированных соединений.



В диссертации сформулированы общие выводы по исследованиям, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, приведён список сокращений и условных обозначений, список литературы.

В приложениях к диссертации представлены копии патента РФ на изобретение, актов внедрения результатов диссертационного исследования, а также  $^1\text{H}$ -ЯМР спектры некоторых синтезированных соединений.

### **Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации**

Сформулированные автором выводы являются логическим результатом аналитической обработки информации и экспериментальных данных, полученных в процессе диссертационного исследования. Автореферат полностью отражает содержание диссертационного исследования.

### **Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации**

Диссертационная работа Чиряпкина Алексея Сергеевича выполнена на высоком научном уровне, имеет научно обоснованную логику изложения, содержит существенный объём экспериментального материала, обладает научной новизной, теоретической и практической значимостью для фармацевтической отрасли и науки в целом. Положительно оценивая данную работу, следует отметить некоторые замечания и задать вопросы:

1. С учётом требования воспроизводимости методик химического синтеза новых органических соединений, уточните, пожалуйста, термин «слабое кипячение» в синтезе ряда целевых продуктов, например, соединений 1a-19a, 1c-13c. Есть ли его отличие от термина «кипячение», также используемого вами в синтезе новых веществ?
2. Как влияет характер заместителей во фрагменте R, представленном арилом или фурилом, у исходных соединений 1a-19a на выход продуктов гетероциклизации 1b-19b? Требуется ли варьирование количества

добавленного катализатора (ДМСО) в реакционную смесь для оптимизации их выхода?

3. Обоснуйте заявленную в общих выводах (вывод №5) экологическую безопасность способа получения производных 6,7-диметоксихиназолин-4(3H)-она с алкильными заместителями и остатками нейрорактивных аминокислот и дипептидов.

4. Как доказывали присутствие натрия в структуре солей 1d-19d?

5. В схеме 4.7 синтеза целевых натриевых солей 1d-12d (стр. 157) наблюдается повторная расшифровка радикалов исходных соединений, представленная ранее в схеме синтеза 4.1 (стр. 132). На мой взгляд, рациональнее указать нумерацию введённых в реакцию азометиновых производных в схеме под их структурой. Аналогичное замечание – по схеме 4.8 синтеза солей 13d-19d.

6. В результате фармакологического скрининга вами определены соединения-лидеры по каждому виду изучаемого действия (порядка 23 химических структур). В связи с этим возникает вопрос, какие из данных веществ наиболее перспективны и могут быть рекомендованы для дальнейшего углублённого исследования?

В диссертации встречаются некоторые опечатки и стилистические погрешности.

Обозначенные замечания и вопросы не носят принципиального характера и не снижают общей положительной оценки проведенного диссертационного исследования.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

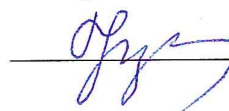
Таким образом, диссертационная работа Чирыпкина Алексея Сергеевича на тему «Целенаправленный синтез и взаимосвязь структура-активность конденсированных производных пиримидин-4-она и их ациклических предшественников» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальностям 3.4.2. Фармацевтическая химия,

фармакогнозия и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задач по поиску фармакологически активных производных пиримидин-4-она и их ациклических предшественников, что соответствует требованиям п.16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора от 06.06.2022 г. № 0692/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Чиряпкин Алексей Сергеевич заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальностям 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

**Официальный оппонент:**

доктор фармацевтических наук (3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия), профессор, заведующий кафедрой фармацевтической технологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

«25» января 2024 г.

 Пулина Наталья Алексеевна

Адрес: 614990, Российская Федерация, Пермский край, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

Телефон: +7 (342) 282-58-42

Адрес электронной почты: pulina-nata@mail.ru

Подпись официального оппонента Пулиной Натальи Алексеевны заверяю:

Секретарь Ученого совета ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, кандидат фармацевтических наук, доцент

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 г.

 Левина Вера Фёдоровна

