

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Глушковой Марии Александровны, выполненную на тему:

«Разработка альтернативных методов получения, изучение физико-химических и фармакокинетических свойств бета-адренергических агонистов и их метаболитов» и представленную в Диссертационный совет РХТУ.1.4.01 ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. Органическая химия

В последние десятилетия на животноводческую отрасль оказывается все большее давление, чтобы удовлетворить растущий спрос на мясо и ценный животный белок. Постоянные достижения в области сельскохозяйственных технологий, включая инновационные рецептуры кормов, способствуют эффективному использованию бета-адренергических агонистов (бета-агонистов). Применение данных препаратов оптимизирует рост поголовья, коэффициент конверсии корма и общую производительность, способствуя росту рынка кормовых добавок бета-агонистов. Под их воздействием разрушается жировая ткань, улучшается работа скелетных мышц, ускоряется рост мышечной массы. Последствия длительного употребления бета-агонистов в малых количествах изучены недостаточно. Однако, уже очевидно, что они вызывают нарушения работы нервной системы, тахикардию и риск гипергликемии.

В Российской Федерации и Евросоюзе применение бета-агонистов в животноводстве в качестве стимуляторов роста запрещено. Для контроля содержания данных соединений в продовольственном сырье, пищевых продуктах и комбикормах необходимы аналитические стандарты. В связи с чем, разработка способов синтеза и наработка ряда бета-агонистов и их метаболитов для определения данных соединений при контроле мясной и молочной продукции, поступающей на российский рынок из зарубежных стран, является **важной и актуальной задачей.**

В ходе диссертационного исследования Глушковой М. А. с опорой на литературные данные отработаны ранее не описанные многостадийные протоколы получения девятнадцати бета-агонистов, в том числе кленпроперола, кленбутерола,

кленпентерола, бромбутерола, тулобутерола, циматерола, цимбутерола, изопротеренола, метапротеренола, тербуталина, рактопамина, добутамина, ритодрина, прокатерола, изоксуприна, хигенамина, а также изомерных аналогов кленпроперола, мабутерола и мапентерола. **Новизна проведенных исследований и полученных результатов** связана, прежде всего, с метаболитами кленбутерола, бромбутерола, вилантерола, для которых были предложены методы синтеза. Глушковой М. А. разработан хромато-масс-спектрометрический метод одновременного определения бета-агонистов и их метаболитов в образцах мочи. Проведены фармакокинетические исследования для бромбутерола и 2-(4-амино-3,5-дихлорфенил)-2-(алкиламино)этанолов по динамике изменения их концентрации в крови лабораторных животных, изучен профиль экскреции с мочой целевых соединений и их метаболитов. Разработана методика одновременного определения бета-адренергических агонистов и их метаболитов в печени крупного рогатого скота с применением метода высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией высокого разрешения. Данная методика апробирована на образцах печени коров и свиней, ввезенных в Россию из ряда зарубежных стран.

Научная и практическая значимость результатов. Синтезированные бета-агонисты и родственные соединения могут быть использованы при анализе продуктов, поступающих на российский рынок, на наличие и количественное определение в них следовых количеств бета-адренергических агонистов и их метаболитов. Разработанная для этих целей аналитическая методика может быть использована компетентными органами, отвечающими за безопасность продуктов питания и кормов. Проведенные фармакокинетические исследования могут быть использованы в медицинских целях для разработки форм лекарственных препаратов на основе бета-агонистов, оптимизации условий использования препаратов в клинической практике.

Обоснованность и достоверность полученных результатов. Диссертационная работа Глушковой М. А. представляет собой исследование, выполненное на современном экспериментальном и теоретическом уровне. В экспериментальной части приведены исчерпывающие данные, подтверждающие

полученные автором результаты. Достоверность полученных результатов сомнений не вызывает. Автором для доказательства структуры и состава полученных соединений использован комплекс физико-химических методов анализа, включая спектроскопию ЯМР ^1H , ^{13}C , и масс-спектрометрию. В рамках фармакологического исследования, а также для разработки аналитической методики определения бета-агонистов был использован комплекс методов, включающий высокоэффективную жидкостную хроматографию с tandemным масс-спектрометрическим детектированием. Диссертационная работа прошла апробацию на научных конференциях, а основные результаты опубликованы в рецензируемых журналах.

Структура и содержание работы. Представленная к защите диссертационная работа построена по традиционному плану и состоит из таких глав, как введение, литературный обзор, обсуждение результатов, экспериментальная часть, заключение, выводы и список используемой литературы, включающий 187 источников. Работа изложена на 219 страницах, содержит 17 таблиц и 180 рисунков.

Во введении автором обоснована актуальность работы, сформулированы цель и задачи исследования, изложены научная новизна и практическая значимость.

Литературный обзор, главным образом, посвящен рассмотрению способов получения бета-агонистов различных подклассов. В первой части описана общая характеристика бета-агонистов, во второй и третьей частях – методы синтеза бета-агонистов со структурой 2-амино-1-арилэтанолов и 2-амино-2-арилэтанолов. В четвертой части рассмотрены фармакокинетические исследования и пути биотрансформации ряда бета-агонистов, в пятой – методы анализа бета-агонистов и их метаболитов в биологических средах.

Глава **обсуждение результатов** изложена в пяти разделах, имеющих ряд подразделов. В первой части автором описаны разработанные методы синтеза бета-агонистов как со структурой 2-амино-1-арилэтанолов, так и со структурой 2-амино-2-арилэтанолов. Далее в работе представлены предложенные автором способы получения метаболитов кленбутерола, бромбутерола и вилантерола. Результаты

фармакокинетических исследований для бромбутерола и 2-(4-амино-3,5-дихлорфенил)-2-алкиламиноэтанола изложены в четвертом разделе. Также в данном разделе представлены данные по разработке и оптимизации методики определения бета-агонистов и их метаболитов в биологических жидкостях. На заключительном этапе рассмотрены результаты по разработке и апробации методики одновременного определения синтезированных соединений в образцах печени крупного рогатого скота и свиней, ввезенных в Россию из Аргентины, Бразилии и Чили.

Экспериментальная часть диссертационной работы выполнена на хорошем методическом уровне и включает в себя общие сведения об использованных реагентах, растворителях и оборудовании, на котором были получены результаты исследования, содержит методики синтеза, фармакокинетических исследований и условия определения бета-агонистов и их метаболитов в печени сельскохозяйственных животных.

Диссертационная работа завершается обобщающим **заключением** и **выводами** к проделанной работе, которые полностью отражают достижение поставленной цели и задач исследования.

Публикации по теме работы. Результаты исследований по теме диссертационной работы опубликованы в 12 работах, включая 3 публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней, которые индексируются международной базой *Scopus*, а также в 9 тезисах докладов конференций.

Замечания. При чтении диссертации возник ряд вопросов и замечаний, направленных на усиление сделанных выводов, получение более полной информации о полученных веществах и расширению границ использования разработанных и осуществленных автором экспериментальных методик.

1. Из текста диссертации однозначно не ясно, чем предложенные методы синтеза бета-агонистов превосходят литературные. Улучшения указаны лишь для ряда отдельных стадий. Многие из разработанных подходов включают неоднозначно протекающие реакции. Учитывая, что

синтетическая часть работы была преимущественно направлена на отработку методов синтеза известных бета-агонистов, сопоставление общих выходов предложенных подходов с литературными позволило бы более полно оценить вклад автора в развитие данного направления.

2. Почему некоторые целевые β -агонисты синтезированы в виде солей, а некоторые в виде свободных оснований?
3. Каким образом доказывали образование моно гидрохлоридов соединений **5а-в**, **66а,б**, **68**, **78а,б**? Кроме того, как подтверждали свободную форму аминов **80а,б** и **85а,б**, выделяемых обработкой кислотами?
4. С чем связаны низкие выходы соединений **5а-в**? Какова хемоселективность получения продуктов **79** и **81**?
5. В экспериментальной части для ряда соединений, в том числе и целевых бета-агонистов, отсутствуют температуры плавления и их сопоставление с литературными данными (см. например **2-4**, **7**, **8**, **11** и тд.). Кроме того необходимо пересмотреть описание мультиплетности сигналов и констант спин-спинового взаимодействия спектров ЯМР ^1H ряда соединений, см. например **10**, **16** и **18**.
6. В работе имеется ряд незначительных опечаток и неудачных выражений, в том числе: 1) соединение **66б** отнесено к β -агонистам, однако в литературе отсутствуют данные о его биологической активности; 2) в обсуждении результатов на стр. 87 автор указывает, что «Структуры целевых соединений **66а,б** подтверждены данными ГХ-МС...». Корректнее было бы указать, что структуры целевых соединений подтверждены с использованием комплекса физико-химических методов анализа, в том числе ГХ-МС; 3) в методике синтеза соединения **6** указано «поддерживая температуру реакционной массы не выше 60°C и перемешивали в течение 30 мин». Корректнее было бы указать точную температуру каждого этапа.

Несмотря на перечисленные замечания и вопросы, которые носят в основном дискуссионный и/или редакторский характер, их наличие не снижает положительное впечатление о представленной диссертации и ее научной ценности.

Рекомендации по использованию результатов и выводов. Результаты диссертационной работы Глушковой М.А. имеют прикладное и фундаментальное значение для органической химии и могут быть использованы в учреждениях высшего образования, научно-исследовательских центрах химико-биологического направления, занимающихся исследованиями соответствующего профиля, таких как МГУ им. М.В. Ломоносова, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, ИОХ РАН им. Н.Д. Зелинского, МВА им. К.И. Скрябина и других.

Заключение по диссертационной работе. Диссертационная работа Глушковой Марии Александровны характеризуется актуальностью и имеет необходимый уровень научной новизны, а полученные результаты имеют теоретическую и практическую значимость. Объем диссертации, ее содержание, экспериментальный и теоретический уровень, содержащиеся в ней обобщения и выводы соответствуют пунктам 1 «Выделение и очистка новых соединений», 3. «Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул», 7 «Выявление закономерностей типа «структура – свойство»» паспорта специальности 1.4.3. Органическая химия.

Таким образом, диссертационная работа «Разработка альтернативных методов получения, изучение физико-химических и фармакокинетических свойств бета-адренергических агонистов и их метаболитов» по поставленным задачам, уровню их решения и научной новизне полученных результатов полностью соответствует всем требованиям п.2 «Положения о порядке присуждения ученых степеней в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева», утвержденного приказом и.о. ректора РХТУ им. Д.И. Менделеева № 103ОД от 14.09.2023 г. (с последующими редакциями), а ее автор, Глушкова Мария Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. Органическая химия.

Я согласна на включение в аттестационное дело и дальнейшую обработку моих персональных данных, необходимых для процедуры защиты диссертации Глушковой Марии Александровны, исходя из нормативных документов Правительства, Минобрнауки и ВАК, в том числе на размещение их в сети Интернет на сайте РХТУ им. Д.И. Менделеева, на сайте ВАК, в единой информационной системе.

Официальный оппонент:

Старший научный сотрудник лаборатории химии стероидных соединений «Института органической химии имени Н.Д. Зелинского»
Российской академии наук
кандидат химических наук
(02.00.03 – Органическая химия)

Волкова Юлия Алексеевна

119991, г. Москва, Ленинский пр., д. 47
Тел./факс: (495)135-53-06,
E-mail: yavolkova@gmail.com

Личную подпись кандидата химических наук Волковой Юлии Алексеевны заверяю.

Ученый секретарь Института органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук (ИОХ РАН), к.х.н.

Коршевец Ирина Константиновна

24 октября 2024 г.