

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Назарова Михаила Андреевича

«Синтез новых *N*-,*O*-содержащих гетероциклов на основе оксопроизводных пентациклических тритерпеноидов»,

представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 – органическая химия

Диссертационное исследование Назарова Михаила Андреевича посвящено разработке синтетических подходов к получению *N*-,*O*-содержащих гетероциклов из пентациклических тритерпеноидов с функциями моно- или дикарбонила и оценке их цитотоксической активности.

В настоящее время по-прежнему актуальной остается проблема поиска малотоксичных фармаконов с высокой терапевтической активностью. Большой интерес представляет получение гибридных молекул, сочетающих фармакологические свойства с адресной доставкой, способностью к структурным взаимодействиям с биосистемой, а также молекул, содержащих несколько реакционных центров. Продуцируемые растениями биоактивные вторичные метаболиты, в число которых входят терпеноиды, представляют интерес в качестве матриц для структурных модификаций, синтеза комбинаторных библиотек соединений и изучения зависимости «структура-активность». Известно, что введение различных функциональных групп в структуры органических молекул значительно расширяет спектр их биологической активности, а также увеличивает возможности в органическом синтезе. Гетероциклические соединения являются ключевыми фрагментами значительной части лекарственных препаратов, что определяет их практическую значимость. Поэтому разработка простых и эффективных методов синтеза *N*-,*O*-содержащих гетероциклов на основе оксопроизводных пентациклических тритерпеноидов является **актуальным направлением исследований** в органической и медицинской химии.

Выполненная диссертантом работа является продолжением фундаментальных исследований Института технической химии УрО РАН по синтезу и исследованию биологических свойств функциональных производных тритерпеноидов.

Научная новизна проведенного Назаровым М.А. исследования заключается в синтезе библиотеки новых производных бетулина (синтезировано 82 ранее не описанных соединения) в результате разработки новых эффективных подходов для введения *N*-,*O*-содержащих гетероциклических заместителей в тритерпеновые молекулы. Для получения новых реакционных карбонильных центров – β -гидроксикетона или α,β -ненасыщенного кетона впервые использовалась реакция альдольной конденсации синтезированных α,β -непредельных тритерпеновых альдегидов с ацетоном или 3,4-секотритерпеновых

метилкетонов с ароматическими альдегидами. Синтетический потенциал полученных тритерпеновых β -гидроксикетонов и α,β -ненасыщенных кетонов был изучен в реакциях гетероциклизации, которые привели к образованию новых тритерпеновых производных с фрагментом 4,5-дигидро-1*H*-пиразола и 4,5-дигидроизоксазола. При этом автор отметил стереоселективность образования урсанового 5(*S*)-изомерного 4,5-дигидро-1*H*-пиразола в отличие от лупановых и олеанановых аналогов. Установлено, что для получения тритерпеновых 1,3-дикарбонильных соединений эффективным методом является окисление β -гидроксикетонов с применением реактива Джонса. Синтезированные 1,3-дикетоны исследовались автором в реакциях гетероциклизации с гидразингидратом, гидрохлоридом гидросиламина и оксалилхлоридом. В результате выделены и охарактеризованы новые тритерпеноиды с 1*H*-пиразольным, 3-метил-1*H*-пиразольным и 3-метилизоксазольным заместителями в А и Е циклах. Диссертантом впервые синтезированы 1,10-секотритерпеновые 3-оксопроизводные, которые в кислых реакционных условиях эффективно циклизуются в фуранотерпеноиды в виде диастереомерных смесей. Следует отметить, что автору удалось разделить и охарактеризовать в виде индивидуальных соединений диастереомеры фуранотерпеноидов олеананового типа. Для получения 1,4-дикетонов на основе 3-гидрокси-10(25)-ен-1,10-секотритерпеноидов применялась разная последовательность окислительных методов. Автором установлено, что первоначальное озонолитическое окисление 3-гидрокси-10(25)-ен-1,10-секотритерпеноидов протекает стереоселективно с формированием 3(*S*)-изомерных фуранотритерпеноидов, в то время как окисление реактивом Джонса до соответствующих 3-кетонов и последующее озонолитическое окисление приводит к образованию тритерпеновых 1,4-дикетонов. Внутримолекулярная циклизация 1,10-секотритерпенового 1,4-дикетонного фрагмента в зависимости от условий кислотного или основного катализа приводит к формированию 2-циано-пиран-3-она, конденсированного с циклом В тритерпеноида, или А-пентациклического 2-циано-2(10)-ен-3-она.

Оценка биологической активности синтезированных в работе новых производных пентациклических тритерпеноидов позволила выявить наиболее перспективные соединения. 2-Формил-19 β ,28-эпокси-18 α *H*-олеанан-1(2)-ен-3-он и 2-(ацетилгидразонометил)-19 β ,28-эпокси-18 α *H*-олеанан-1(2)-ен-3-он показали высокие значения цитотоксичности в отношении всех протестированных клеточных линий, близкие к показателям препарата сравнения доксорубицина, а 3 β ,28-дигидрокси-30-(2-оксопропилиден)-луп-20(29)-ен и метил 2-(3-метил-1*H*-пиразол-5-ил)-3-оксолуп-1(2)-ен-28-оат проявили выраженный селективный цитотоксический эффект в отношении клеточной линии MCF-7 (IC₅₀ 7.37 и 8.33 μ M соответственно).

Перечисленные результаты составляют **теоретическую и практическую значимость** работы М.А. Назарова.

Диссертационная работа Михаила Андреевича Назарова изложена на 181 странице и состоит из введения, литературного обзора, обсуждения полученных результатов, экспериментальной части, заключения и списка цитируемой литературы, включает 75 схем, 42 рисунка и 2 таблицы. Список литературы содержит 165 наименований зарубежных и отечественных авторов.

Во *введении* диссертант обосновывает актуальность темы исследования, научную новизну и практическую значимость, определяет цели работы и перечисляет основные положения, выносимые на защиту.

Литературный обзор (Глава 1) посвящен методам синтеза тритерпеноидов с гетероциклическим фрагментом на основе бетулина и его производных, и соответствует теме проведенного исследования. Информационный обзор включает цитирование 131 литературного источника, из них 37 ссылок за период 2018–2022 гг. Заключение по литературному обзору недостаточно обосновывает дальнейшие исследования автора.

Обсуждение результатов (Глава 2) включает обсуждение собственных результатов автора – синтетической и аналитической части работы. Методология исследования построена в соответствии с классическими принципами органической химии. В эту же главу включены данные по исследованию биологической активности части синтезированных соединений.

В *экспериментальной части* (Глава 3) представлены методики синтеза и данные по идентификации синтезированных соединений. Структуры синтезированных соединений доказаны с использованием комплекса актуальных физико-химических методов анализа (масс-спектрометрия, ИК-спектроскопия, спектроскопия ЯМР на ядрах ^1H , ^{13}C , в том числе с привлечением двумерных гомо- и гетероядерных экспериментов, а также рентгеноструктурный анализ).

Выводы полностью соответствуют поставленным задачам диссертационной работы, которая представляет собой законченное экспериментальное исследование.

По результатам проведенной работы опубликовано значительное для кандидатской диссертации число работ (8 статей) в российских и зарубежных научных изданиях, индексируемых в базах данных Scopus, Web of Science и РИНЦ. Материалы диссертационной работы М.А. Назарова прошли апробацию на конференциях регионального, всероссийского и международного уровня (12 тезисов докладов).

Автореферат и публикации автора отражают содержание представленной к защите диссертационной работы.

При ознакомлении с результатами исследований, изложенными в диссертации М.А. Назарова, возник ряд **вопросов и замечаний**:

1. Определяя актуальность выполненного исследования, автор не уточняет, насколько доступны исходные пентациклические тритерпеноиды (дигидробетулин, аллобетулин и 3,28-дibenзоил-18 α H,19 β H-урс-20(21)-ен), получаемые на основе бетулина. Эти сведения отсутствуют и в экспериментальной части работы, и при обсуждении полученных результатов. Кроме того, стоило уточнить, появление каких новых полезных свойств ожидалось при введении в структуру этих терпеноидов *N*-,*O*-содержащих гетероциклов?

2. В обзоре литературы не хватает анализа полученных ранее результатов. Не указаны выходы целевых продуктов, что затрудняет оценку эффективности методов модификации тритерпеноидов. Констатация факта исследования цитотоксичности тех или иных соединений никоим образом не позволяет сделать вывод о зависимости «структура-активность».

Следует отметить, что введенная в Главе 1 нумерация соединений (римские цифры) очень громоздкая и затрудняет восприятие текста.

3. Автором получен огромный массив экспериментальных данных. Возможно, поэтому в работе не хватает более глубокого анализа собственных результатов, выведения закономерностей.

4. Реакция альдольной конденсации, проводилась при комнатной температуре в смеси ацетон/бензол или в ацетоне в течение 4 ч (табл. 2.1, схема 2.9). При замене КОН на NaOH удалось увеличить выход целевых альдоля **36** и кротона **42** до 40%. Почему повышение температуры реакционной смеси и добавление этилового спирта приводили к снижению выхода продуктов конденсации **36** и **42** до 10%? Возникает вопрос о конверсии исходных реагентов данных превращений? Тем более что далее автор указывает «В растворе ацетона или хлороформа альдоли **36–41** в течение 24 ч полностью переходят в кротоны **42–45**» (стр. 54). Возможно, для количественного выхода целевых продуктов не хватило времени реакции?

5. Для синтеза пиразолина **72** использовали три способа (схемы 2.14 и 2.18). За счет чего удалось повысить выход от 15 до 76%? В работе автор не обсуждает время реакций и конверсию реагентов.

6. В экспериментальной части отсутствуют синтез и характеристики (или указание на соответствие литературным данным) исходных пентациклических тритерпеноидов и ранее синтезированных на их основе производных. Синтез и описание свойств соединений начинается с продукта **8**.

7. Соискателю следовало бы более тщательно подойти к доказательству строения впервые синтезированных соединений. Характеристики ЯМР ^1H соединений приведены далеко не все. Например, не указаны химические сдвиги для некоторых метиленовых и гидроксильных групп, нет отнесения метильных групп и пр. (соединения **31** на стр. 109; **35**, стр. 110; **45**, стр. 117 и т.д.). Действительно, обменные протоны не всегда определяются в сильно сольватирующих растворителях, однако в этом случае растворитель можно заменить на другой, например, ДМСО или ацетон.

8. Для всех приведенных в экспериментальной части диссертации соединений в спектрах ЯМР ^{13}C отсутствует отнесение сигналов к атомам углерода. Используемый для выполнения ЯМР спектральных анализов ЯМР-спектрометр Bruker AVANCE II (400 МГц и 100 МГц соответственно) и двумерные методики вполне позволяют это сделать.

9. Есть неясности в представлении спектров. Например, что означает «3.83 (0.6H, д, $J = 11.0$, H_2^{28}); 3.85 (0.4H, д, $J = 11.0$, H_2^{28})», стр. 113? Возможно, автор таким образом обозначил соотношение диастереомеров. Но это неверно, поскольку интегральная интенсивность протона должна быть равна единице, независимо от того, в каком количестве в смеси присутствует соединение, которому соответствует сигнал этого протона. Перед описанием ЯМР спектра смеси диастереомеров можно указать их соотношение, установленное по соотношению интегральной интенсивности характерных сигналов. Сигналы диастереомеров приводятся либо для каждого изомера отдельно, либо указываются через слеш (/).

10. К сожалению, получив результаты о цитотоксичности синтезированных соединений, Михаил Андреевич выявил только соединения-лидеры. А каким образом повлияли на биологическую активность введенные в структуру пентациклических тритерпеноидов новые гетероциклы? В каком направлении следует расширить или углубить начатое диссертантом исследование для получения эффективных фармацевтических субстанций?

Отмеченные недостатки не уменьшают значимости и объёма выполненных М.А. Назаровым экспериментальных исследований, а возникшие вопросы подтвердили интерес к представленным разработкам.

Заключение. Диссертационная работа Назарова Михаила Андреевича на тему «Синтез новых *N*-,*O*-содержащих гетероциклов на основе оксопроизводных пентациклических тритерпеноидов» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой содержится поиск новых методов синтеза ранее неизвестных тритерпеноидов с гетероциклическим фрагментом, и имеет большое значение для органической химии и химии природных соединений.

Представленная работа по научной новизне, практической и теоретической значимости, содержанию и методам исследования является научно-квалификационной, соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям и изложенным в п. 9 Положения о присуждении ученых степеней в УрФУ, а ее автор – Назаров Михаил Андреевич, безусловно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 – органическая химия.

Официальный оппонент:

доктор химических наук, доцент (специальность 1.4.3 – органическая химия),
профессор РАН,

главный научный сотрудник лаборатории органического
синтеза и химии природных соединений

Института химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН

Чукичева Ирина Юрьевна

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук» (ФИЦ Коми НЦ УрО РАН), обособленное подразделение Институт химии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук (Институт химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН)

Адрес: 167000, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 48.

Тел./факс: (8212) 21-84-77; e-mail: chukichevaiy@mail.ru

Подпись Чукичевой Ирины Юрьевны удостоверяю,

Ученый секретарь Института химии
ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, к.х.н.

Ключкова Ирина Владимировна

19 мая 2023 года