

УТВЕРЖДАЮ

ВРИО директора Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», к.и.н.



А.В. Самарин

«29» апреля 2020 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу

ПЕТРОВОЙ ПОЛИНЫ РАДИКОВНЫ

«Хинолизидиновые алкалоиды растений семейства *Fabaceae*

в синтезе новых противогриппозных агентов»,

представленную на соискание учёной степени кандидата химических наук

по специальности 02.00.03 – Органическая химия.

Актуальность темы и цель диссертационной работы.

Разработка новых лекарственных средств для лечения и профилактики вирусных инфекций представляет одну из актуальных проблем современной химии и медицины, что связано с широким распространением ряда социально-опасных вирусных инфекций, таких как грипп, гепатиты В и С, ВИЧ, лихорадки Эбола, Денге, Чикунгунья, Зика, коронавирусные инфекции, в том числе COVID-19.

Скорость возникновения новых штаммов вирусов гриппа с лекарственной резистентностью очень высока, поэтому поиск и разработка новых противогриппозных агентов имеют огромное значение для профилактики и борьбы с этим социально-значимым заболеванием. Одним из современных подходов в области разработки новых противовирусных препаратов является поиск соответствующих агентов среди природных соединений, выделяемых из доступного растительного сырья, и их производных. Наиболее перспективными источниками являются алкалоидоносные лекарственные растения, в том числе из семейства бобовых (*Fabaceae*) – основные продуценты хинолизидиновых алкалоидов. Для отдельных индивидуальных хинолизидиновых алкалоидов обнаружена выраженная противогриппозная активность. В литературе имеется незначительное количество сведений о поиске новых противовирусных агентов среди синтетических производных хинолизидиновых алкалоидов.

Таким образом, поставленная цель диссертационного исследования – синтез новых производных хинолизидиновых алкалоидов (вторичных метаболитов растений семейства бобовых *Fabaceae*) с потенциальной противогриппозной активностью – является актуальным и практически значимым направлением развития современной органической химии.

Оценка содержания диссертации.

Рецензируемая работа представляет собой законченное экспериментальное исследование и состоит из введения, трёх глав, заключения, выводов, списка использованных источников, приложений. Диссертационная работа изложена на 177 страницах (страница 35 отсутствует), содержит 34 рисунка, 8 таблиц и 17 схем. Работа также включает десять приложений, имеющих справочный характер.

Объёмные характеристики основных структурных частей работы: Глава 1 (Литературный обзор) изложена на 15 страницах, Глава 2 (Обсуждение результатов) – 33 страницах, Глава 3 (Экспериментальная часть) – 97 страницах.

Список библиографических источников включает 178 ссылок (из них 144 являются зарубежными); представленный перечень литературы содержит 42 источника за период 2015–2020 г. В диссертации процитировано 20 работ соискателя.

В литературном обзоре (Глава 1) представлена справочная информация о лекарственных препаратах, обладающих противовирусной активностью, а также рассматриваются перспективы разработки новых противогриппозных агентов на основе хинолизидиновых алкалоидов растений семейства *Fabaceae*. Краткий обзор включает цитирование 91 литературного источника, из них 22 ссылки за период 2015–2020 г.

Обзор литературных данных подтверждает актуальность предпринятого исследования.

В Главе 2 обсуждаются собственные результаты автора. В ней рассматривается динамика накопления алкалоидов в надземной части термопсиса Шишкина и дрoка красильного, распределение алкалоидов в ракитнике русском в зависимости от фазы вегетации и места его произрастания. Представлены результаты оценки противогриппозной активности алкалоидсодержащих фракций, выделенных методом колоночной хроматографии из экстрактов растений.

Далее автор представил синтетические исследования, связанные с направленным получением производных хинолизидиновых алкалоидов, обладающих потенциальной противовирусной активностью. При этом в качестве исходных соединений преимущественно использованы (–)-цитизин, метилцитизин и термопсин. Модификация исходных хинолизидиновых алкалоидов была осуществлена путём функционализации их 2-пиридинового ядра с последующей трансформацией введённых функциональных групп,

а также путём варьирования заместителей у вторичного атома азота. Кроме того, были синтезированы конъюгаты хинолизидиновых алкалоидов с урокановой кислотой и производными урацила. Выполнены окислительные превращения биспидиновой части молекулы производных (-)-цитизина, проведена реакция Дильса-Альдера, позволившая получить тетрациклические структуры. В этой части диссертации использован арсенал современного органического синтеза. В результате Петровой Полиной Радиковной синтезировано порядка 130 новых соединений.

В этой же главе работы рассмотрена активность синтезированных соединений в отношении вирусов гриппа А и парагриппа.

Глава 3 (Экспериментальная часть) включает описание методик подготовки реагентов и растворителей, сбора и приготовления растительного сырья, выделения алкалоидсодержащих фракций и их исследования методом хромато-масс спектрометрии. В этой же главе представлены методики синтеза соединений, их физико-химические константы и спектральные данные.

В целом, **достоверность** основных результатов, полученных в ходе выполнения представленного исследования и сформулированных на их основе выводов, сомнений не вызывает. Экспериментальные результаты получены с использованием комплекса актуальных физико-химических методов анализа (масс-спектрометрия, в том числе высокого разрешения, ИК-спектроскопия, спектроскопия ЯМР на ядрах ^1H , ^{13}C и ^{15}N , элементный анализ, рентгеноструктурное исследование, поляриметрия).

Выводы о проделанной работе соответствуют изложенному материалу и свидетельствуют о решении задач и достижении цели диссертационного исследования.

Несомненной заслугой автора, и это определяет **научную новизну работы**, является комплексный характер исследования. В результате выполнения диссертационной работы исследованы состав и содержание хинолизидиновых алкалоидов в надземной части растений семейства бобовых (*Fabaceae*), произрастающих на территории РФ и Республики Башкортостан, в зависимости от органа растения, фазы вегетации, условий произрастания и внутривидовых различий. Показана противогриппозная активность «алкалоидсодержащих» экстрактов. Впервые осуществлены модификации хинолизидиновых алкалоидов (-)-цитизина, метилцитизина и термопсина, полученных из доступного возобновляемого растительного сырья. На основе производных (-)-цитизина и метилцитизина синтезирована серия новых тио- и карбоксамидов, 9-енил-, 9-инил-, 9-иминопроизводных, а также конъюгатов с 1,3-диметилурацилом и урокановой кислотой. Получены библиотеки 2-оксо- и 4-оксопроизводных метилцитизина с галоид-, нитро- и аминокгруппами, а также с фенильным заместителем, связанным со стартовым алкалоидом

спейсерами различной природы. Впервые в реакцию [4+2]-циклоприсоединения с *N*-замещенными имидами малеиновой кислоты вовлечены 2-оксо-, 4-оксопроизводное метилцитизина и получены соединения с четырьмя новыми стереоцентрами. Изучены противогриппозные свойства синтезированных новых производных хинолизиндиновых алкалоидов в отношении вирусов парагриппа, гриппа А (H1N1) и высокопатогенного вируса «птичьего гриппа» А (H5N2).

Перечисленные результаты составляют и **теоретическую значимость** работы Петровой П.Р.

Практическая значимость диссертационного исследования заключается в универсальности практического применения разработанных диссертантом оптимальных способов синтеза полифункциональных производных алкалоидов (–)-цитизина, термопсина, метилцитизина, которые обладают способностью ингибировать репродукцию вирусов парагриппа (HPIV3), гриппа А (H1N1) и подтипа вируса высокопатогенного «птичьего» гриппа А (H5N2) и являются перспективными противовирусными агентами. Синтетические результаты, достигнутые Петровой П.Р., расширяют арсенал современного органического синтеза, дополняя его новыми методиками химических трансформаций. Благодаря работе Петровой П.Р., создана обширная библиотека (свыше 130 новых соединений) производных природных алкалоидов, которая является базой для поиска новых противовирусных препаратов самого широкого спектра активности.

При чтении рукописи появились следующие **вопросы**:

1. На каком основании сделаны заключения об эффективности ингибиторов нейраминидазы вирусов гриппа в подразделе 1.1.1? Литературные ссылки в нём представлены лишь для второго абзаца, посвящённого производным адамантана.
2. Проводилась ли статистическая обработка результатов измерений процентного содержания компонентов при исследовании динамики накопления алкалоидов и их распределении в растении, а также для показателя IC₅₀ при оценке противовирусной активности производных?
3. Почему автор исключил для дальнейшей модификации анагирин как высокотоксичное соединение? Исходя из представленных в таблице 2.1 данных, анагирин представляет большой интерес и является мажорным компонентом фракции 2, имеющей самый высокий индекс селективности (наименее токсичный т.о.). Кроме того, хорошо известно, что химическая модификация часто приводит к изменениям и токсичности и противовирусной активности. Выбор исходных стартовых соединений – (–)-цитизина, метилцитизина и термопсина – кажется необоснованным.

По содержанию и оформлению диссертации и автореферата имеются следующие **замечания:**

1. В разделе «Научная новизна» автор сообщает, что «Проведена оценка противогриппозных свойств всех синтезированных производных в отношении вирусов парагриппа, гриппа А (H1N1) и высокопатогенного вируса «птичьего» гриппа А (H5N2)». Однако в приложениях приведены акты экспертизы только для 20 соединений.
2. В разделе 1.1 (Обзор литературы) недостаточно информации о взаимосвязи «мишень–ингибитор». Это самый сложный и интересный материал, на который можно было бы опираться при планировании функционализации исследуемых субстратов. Также практически нет анализа закономерности «структура–активность» в разделе 1.2, в котором представлены сведения о противовирусной активности хинолизидиновых алкалоидов растений семейства *Fabaceae*. Отсутствует вывод о наиболее перспективных структурах.
3. В подразделах 1.1.2 и 1.1.3 (страницы 15–17 диссертации) видится не совсем корректным приписывание структур соединений **8–12, 14, 15, 18** к рядам гидроксипиридазина, гидроксихинолина, гуанозина; там же – правильное название для соединения **13** – «Балоксавир марбоксил» (Baloxavir marboxil, CAS 1985606-14-1).
4. В разделе 2.2 практически нет теоретических обоснований выбранной функционализации с точки зрения взаимосвязей «мишень–ингибитор» или «структура–активность».
5. На схемах 2.1 и 2.2 для структур **22–26** (страницы 39, 40 диссертации) и на схемах 1 и 2 для структур **11–14** (страницы 10, 11 автореферата) отсутствуют сведения о заместителях. Следует отметить, что на схеме 2.1 диссертации указано неверное количество исходных соединений (должно быть пять, а не шесть).
6. Ошибочной является формулировка про «восстановительное алкилирование» (страницы 41, 51 диссертации и страницы 11, 16 автореферата).
7. На иллюстрациях, демонстрирующих молекулу по результатам РСА (рисунок 2.8, страница 55 диссертации и рисунок 5, страница 18 автореферата) указан неверный номер соединения, поскольку на представленном изображении атом N(2) содержит *n*-пропильный заместитель, а не аллильный фрагмент. Кроме того, в работе отсутствуют сведения о рентгеноструктурном исследовании, такие как, условия выращивания кристаллов, тип дифрактометра, монохроматор, излучение, температура эксперимента, тип сканирования, учёт поглощения, метод расшифровки структуры, уточнение позиций и температурных параметров неводородных атомов, особенности уточнения атомов водорода, использованный комплекс программ, либо номер депонента в Кембриджском банке структурных данных (CCDC).

8. В подразделах 2.2.11 диссертации и 2.6 автореферата, посвящённых строению отдельных диастереомеров, отсутствует наглядность. Даже рисунки 2.9 (страница 56 диссертации) и 6 (страница 19 автореферата) не вносят ясности, т. к. на структуре рассматриваемого производного представлена лишь часть молекулы.

9. В разделе 2.3 «Активность синтезированных соединений в отношении вирусов гриппа А и парагриппа» представленная информация не оправдывает надежд, которые сформулированы в цели работы. Синтезированные соединения не разделены по структурным типам для корреляции «структура–активность». Закономерности не обсуждаются; и приведены лишь выборочные примеры (причем только лучшие).

Вывод 6 работы выглядит неопределённым и наводит на вопросы «Куда двигаться дальше? Следует ли сужать направление поиска?»

10. Экспериментальная часть непомерно большая по объёму по причине наличия подробных данных спектроскопии ЯМР, которые логичней было бы сгруппировать для близких по структурам соединений и свести имеющиеся константы в таблицы. Следует отметить, что отсутствие в диссертационной работе рисунков, демонстрирующих нумерацию С- и N-атомов в отдельных структурах, существенно затрудняет анализ спектральных данных, которых, повторимся, в тексте Главы 3 очень и очень много.

11. В работе присутствует ряд логических и смысловых неточностей и несоответствий, таких как:

– в подразделах 2.2.3 и 2.2.7 (страницы 39 и 44 диссертации) соединения **22–26** называются в первом случае «нитро- и галопроизводными», а во втором – «галопроизводными»;

– вывод по подразделу 2.2.3 (страница 39 диссертации) видится не совсем корректным, т. к. из представленного предложения следует, что функционализация проводилась в положения 9 и 11, в то время как эти положения изначально были заняты;

– в последнем абзаце подраздела 2.2.8 (страница 45 диссертации) и 2.4 (страница 13 автореферата) сообщается, что в качестве элюента применяли хлороформ и метанол, тогда как в экспериментальной части (страница 110 диссертации) указано, что элюентом выступал первый из указанных растворителей;

– в подразделе 2.2.9 (страница 47 и схема 2.10 диссертации), 2.4 (страница 14 и схема 11 автореферата) повествуется, что синтез соединений **113** и **120** (**101** и **108**) проводился «в условиях микроволнового облучения», однако в экспериментальной части (страницы 111 и 116 диссертации) сведения об использовании СВЧ-излучения отсутствуют;

– в подразделе 2.10 (страница 51 и схема 2.13 диссертации) указан неверный номер исходного соединения в верхней строке, а учитывая наличие заместителя R, номер под структурой должен быть не один; следует отметить, что в схеме 14 (страница 15) автореферата этот недочет отсутствует;

– в списке использованных источников две ссылки имеют один номер [149], отсутствуют названия публикаций для ссылок [7, 115, 116, 134, 137], а при цитировании источника [122] неверно указаны год и город проведения научного мероприятия;

– по ходу изложения материала наблюдается нарушение порядка упоминания источников: [21] (страница 13) цитируется до [20] (страница 15), а [90] (страница 20) – до [79] (страница 21); вместо ссылки [176] должна быть [177] (страница 63);

– небрежно оформлены литературные источники: для ссылки [108] (публикация [3] автореферата) пропущен один из авторов, в [155] (публикация [6] автореферата) имеется неточность в названии работы и ее выходных данных (год, том, номера страниц), в [173] (публикация [9] автореферата) присутствует опечатка в названии работы, а в публикации [17] автореферата перепутан порядок авторов.

Приведённые выше замечания не уменьшают значимости и объёма выполненных экспериментальных исследований, однако отразились на восприятии диссертационной работы.

Применение полученных результатов.

Полученные в работе результаты могут найти применение в лабораториях научных, научно-исследовательских учреждений и вузов, занимающихся химией природных соединений и медицинской химией. Предложенные методики могут быть использованы в исследованиях Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Тюменского государственного университета, Института живых систем Балтийского федерального университета имени И. Канта, Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Института элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Кокшетауского государственного университета им. Ш. Уалиханова, Института химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова АН Республики Узбекистан и в других организациях.

Публикации, автореферат.

Основные результаты диссертации изложены в 17 статьях в рецензируемых российских и зарубежных химических журналах, в том числе рекомендованных ВАК РФ, апробированы на пяти научных конференциях и одном съезде.

Автореферат, как по своей структуре, так и по сути изложения материала соответствует обсуждению основных результатов, описанных в диссертации.

Заключение.

Результаты представленной диссертации соответствуют паспорту специальности 02.00.03 – Органическая химия (химические науки), область исследования п. 8 «Моделирование структур и свойств биологически активных веществ».

На основании вышеизложенного можно заключить, что диссертация Петровой Полины Радиковны «Хинолизидиновые алкалоиды растений семейства *Fabaceae* в синтезе новых противогриппозных агентов» представляет собой научно-квалификационную работу, в которой решена задача синтеза и оценки противогриппозной активности производных хинолизидиновых алкалоидов. Диссертационная работа Петровой П.Р. находится в рамках реализации одного из приоритетов научно-технологического развития Российской Федерации: переход к персонализированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровьесбережения, в том числе за счет рационального применения лекарственных препаратов (прежде всего антибактериальных). Результаты, впервые полученные Петровой П.Р., носят актуальный характер и отражены в ряде публикаций по тематике диссертации. Представленная работа отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и соответствует критериям, изложенным в пп. 9–14 Положения о присуждении учёных степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, а её автор Петрова Полина Радиковна заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – Органическая химия.

Настоящий отзыв рассмотрен и утверждён на дистанционном онлайн-заседании объединённого семинара по органической химии Института химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН 27 апреля 2020 г. (протокол № 5 от 27 апреля 2020 г.), присутствовало 26 человек (категории научный персонал).

Чукичева Ирина Юрьевна, доктор химических наук (02.00.03 – Органическая химия), доцент (02.00.03 – Органическая химия), главный научный сотрудник лаборатории органического синтеза и химии природных соединений Института химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН.

Email: chukichevaiy@mail.ru; тел.: 8 (8212) 219916.

Буравлёв Евгений Владимирович, кандидат химических наук (02.00.03 – Органическая химия), старший научный сотрудник лаборатории органического синтеза и химии

природных соединений Института химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН.
Email: eugeneburavlev@gmail.com; тел.: 8 (8212) 219916.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук» (ФИЦ Коми НЦ УрО РАН).

167982, Республика Коми, ГСП-2, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 24.

Тел.: 8 (8212) 24-53-78

E-mail: info@frc.komisc.ru

<http://www.komisc.ru>

Мы, Чукичева Ирина Юрьевна, Буравлёв Евгений Владимирович, согласны на включение наших персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета Д 002.198.02, и их дальнейшую обработку.

Чукичева Ирина Юрьевна

27 апреля 2020 г.

Буравлёв Евгений Владимирович

27 апреля 2020 г.

Подписи И.Ю. Чукичевой и Е.В. Буравлёва заверяю:

Учёный секретарь Института химии ФИЦ Коми НЦ

УрО РАН, кандидат химических наук

Ключкова Ирина Владимировна

27 апреля 2020 г.

