

УТВЕРЖДАЮ

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



Самарин
А.В. Самарин
«24» мая 2021 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу

ПЕТРОВОЙ АНАСТАСИИ ВАЛЕРЬЕВНЫ

**«Синтез 1,2,3-триазолил-, 1,2,3,4-тетразолил и пропаргиламиноалкильных
производных тритерпеноидов»»,**

представленную на соискание учёной степени кандидата химических наук
по специальности 02.00.03 – органическая химия.

Актуальность темы и цель диссертационной работы.

Актуальность темы диссертационного исследования обусловлена проблемой поиска новых субстанций перспективных для создания на их основе эффективных лекарственных препаратов, обеспечивающих увеличение продолжительности и повышение качества жизни людей. Вторичные метаболиты растений, к числу которых относятся терпеноиды, зачастую выступают доступными исходными структурами для создания библиотек биологически активных веществ. Введение в молекулу природных соединений фармакофорных азотсодержащих групп является одним из методов селективной химической модификации с целью получения субстанций с новыми свойствами.

Целью диссертационного исследования А.В. Петровой является синтез новых производных тритерпеноидов ряда лупана, олеанана и урсана, содержащих аминоалкильные и *N*-гетероциклические фрагменты в боковых цепях, перспективных в качестве противораковых и антидиабетических агентов.

Оценка содержания диссертации.

Рецензируемая работа представляет собой законченное экспериментальное исследование и состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, списка использованных источников, приложений. Диссертационная работа изложена на 159

страницах, содержит 25 рисунков, 1 таблицу и 47 схем. Работа также включает четыре приложения, имеющих справочный характер.

Объёмные характеристики основных структурных частей работы: Глава 1 (Литературный обзор) изложена на 38 страницах; Глава 2 (Обсуждение результатов) – 34 страницах; Глава 3 (Экспериментальная часть) – 38 страницах.

Представленный автором список библиографических источников включает 143 наименования, однако во внимание можно принять только 137 из них, поскольку часть ссылок повторяется (см. ниже); перечень литературы содержит 51 источник за период 2016–2020 гг. В диссертации процитировано 9 работ соискателя.

В литературном обзоре (Глава 1) автор подтверждает актуальность выбранного направления исследований – синтез новых *N*-содержащих природных пентациклических тритерпеноидов. Проведен анализ структура-активность производных тритерпеноидов с выявлением перспективных направлений химических трансформаций, положительно влияющих на проявление противоопухолевой активности. Литературный обзор включает цитирование 71 литературного источника, из них 19 ссылок за период 2016–2020 гг., при этом три ссылки за 2018 год, одна – за 2019 и нет ссылок 2020 года. Если предположить, что автор выполнила исчерпывающий литературный поиск, то напрашивается вывод, что данное научное направление (химическая модификация тритерпеноидов) не является активно развивающимся.

В обзоре есть противоречивые суждения. Характеризуя пентациклические тритерпеноиды, автор пишет: «Тритерпеноиды, как природные соединения, обладают несколькими преимуществами: широкий спектр биологической активности, низкая токсичность, доступность из растительного сырья, биоразлагаемость. Несмотря на это, их клиническое применение по-прежнему сильно ограничено, что связано с относительно низкими значениями эффективных концентраций, худшими фармакологическими свойствами (биодоступность, растворимость, метаболизм), в сравнении с используемыми в настоящее время препаратами». Эти два предложения не согласованы друг с другом. Непонятно, что автор имеет в виду под «низкими значениями эффективных концентраций»?

Глава 2 включает обсуждение синтетической и аналитической части работы. Петровой Анастасией Валерьевной синтезировано значительное количество новых соединений (77 шт.), выполнено детальное исследование их структуры, выявлены соединения-лидеры по биологической активности. В работе использован классический арсенал современного органического синтеза.

Огромный экспериментальный материал требует хорошего структурирования при его обсуждении, но диссертационной работе Анастасии Валерьевны не хватило общей стратегической схемы химической модификации стартовых тритерпеноидов.

В этой же главе диссертант представил результаты исследования противоопухолевой и антидиабетической активности новых производных тритерпеноидов, а также молекулярное моделирование возможного взаимодействия наиболее активного нового соединения 28-нор-17-(5-метилоксазол-2-ил)-2-циано-3,4-секо-3-нор-луп-4(23),20(29)-диена с белком Keap1 по сравнению с известным ингибитором Cpd16 (раздел 2.4). Этот раздел представляется очень важным, так как обосновывает практическую значимость полученных результатов.

Глава 3 (Экспериментальная часть) включает методики синтеза, физико-химические константы и спектральные характеристики новых соединений.

Необходимо отметить, что исследования выполнены на высоком экспериментальном уровне. Физико-химические характеристики впервые синтезированных соединений получены с использованием комплекса актуальных методов анализа (масс-спектрометрия, спектроскопия ЯМР на ядрах ^1H и ^{13}C , элементный анализ, поляриметрия). Таким образом, достоверность основных результатов, полученных в ходе выполнения представленного исследования и сформулированных на их основе выводов, сомнений не вызывает.

Выводы о полученных результатах в целом соответствуют изложенному материалу.

Детальное ознакомление с материалами, приведенными в главах диссертации, с текстом автореферата, а также с публикациями Петровой Анастасии Валерьевны, позволяет сделать вывод, что сформулированная цель работы успешно достигнута. Задачи, поставленные в рамках диссертации, решены. При этом получены новые интересные результаты, которые имеют фундаментальную значимость и представляют практический интерес.

К таким результатам необходимо отнести синтез новых метил 2-циано-3,4-секо-5-алкинил-олеан-9(11),12(13)-диен-28-оата, C19- и C5-(1,2,3-триазолил)-производные терпеноидов ряда лупана и олеанана. Впервые показана возможность введения тройной связи через NH-группу индольного цикла и C28-альдегидную группу с получением оригинальных алкинилпроизводных – ключевых полупродуктов в синтезе потенциально биологически активных оснований Манниха. Осуществлен синтез гибридных молекул с фрагментами 1,2,3-триазолила или вторичного амина, конъюгированных через аминокислотный линкер. В реакции Cu(I)-катализируемого 1,3-диполярного циклоприсоединения были использованы модифицированные лупановые А-секо моно- и диазидотритерпеноиды. В результате введен фрагмент триазола в структуру пентациклических

тритерпеноидов. Автором впервые выделены и охарактеризованы С17-метилоксазоллил-производные, образующиеся *in situ* в качестве продуктов внутренней циклоизомеризации. Предложен метод получения новых С28- и С24-непредельных нитрилов. Установлено, что 28-нор-17-(5-метилоксазол-2-ил)-2-циано-3,4-секо-луп-4(23),20(29)-диен и метил 3,4-секо-2-(1*H*-тетразол-5-ил)-луп-4(23),20(29)-диен-28-оат обладают противоопухолевой активностью *in vitro* в отношении клеток лейкемии, меланомы, немелкоклеточного рака легких, рака толстой кишки, ЦНС, яичников, почек, предстательной и молочной железы. 3-*O*-[2-(1*H*-тетразол-5-ил)этил]-24-этилхолан-5-ен был выявлен как наиболее активный ингибитор α -глюкозидазы.

При чтении рукописи появились следующие **вопросы и замечания**:

1. **ВВЕДЕНИЕ.** Актуальность темы исследования сформулирована нечётко. Автору следовало бы увязать высказанные тезисы общего характера с конкретными объектами исследования. Диссертационная работа посвящена, прежде всего, синтезу новых соединений, методам химической модификации природных пентациклических триперпеноидов, поэтому синтетический аспект весьма важен при формулировке актуальности. Тем более литературный обзор посвящен именно этим вопросам. Следует отметить, что во введении к обсуждению результатов (диссертация) достаточно логично и информативно обсуждается актуальность исследования и представлены структуры стартовых соединений.

2. **ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.** Начиная каждый пункт этого раздела, автор излишне повторяет сведения, приведенные в литературном обзоре. При обсуждении химических превращений следовало, прежде всего, кратко дать теоретическую информацию о типе реакции, механизме, возможных проблемах селективности. Все классификационные термины должны быть максимально химически информативны. Например, реакцию Манниха рекомендуется комментировать как аминометилирование, реакцию Кневенагеля как конденсацию альдегидов с активными С–Н кислотами, перегруппировка Бекмана – что подвергается перегруппировке и что образуется и т.д.

Комментируя двухстадийный процесс трансформации ацетильной группы в алкинильную (стр. 50, дисс.), автор пишет: «Для введения фрагмента алкина в положение С19, 3,28-диацетокси-20-оксо- бетулин **1** вовлекали во взаимодействие с PCl_5 в среде сухого пиридина в присутствии каталитического количества ДМАП с получением соединения **2** с выходом 85%». Следовало пояснить, что на первой стадии идет галогенирование кето-группы с образованием гем-дигалогенида, который далее в условиях реакции (в присутствии основания) подвергается дегалогенированию. Причем возможно образование как тройной связи, так и сопряженного диена. Что и наблюдается в

другом случае (стр. 54), где автор описывает первую стадию как «присоединения двух молекул галогена к карбонильным атомам углерода».

3. В работе очень много примеров некорректных формулировок или терминов. В частности:

➤ термин «click»-химия следовало пояснить при первом упоминании и далее им не злоупотреблять, так как проведены вполне конкретные химические превращения. В частности, к «click»-реакциям автор относит и 1,3-диполярное циклоприсоединение азидов к алкинам (стр. 50), и аминометилирование по Манниху (стр. 45);

➤ «гетероциклические функциональные группы» или «гетероциклические производные» (точнее будет: гетероциклические структурные единицы или фрагменты);

➤ при описании спектральных данных автор часто использует формулировки типа «сигналы тройной связи» или «сигналы амидной связи» в спектре ЯМР ^{13}C » (правильно будет: сигналы атомов углерода ...);

➤ «синтез *N*-алкилированных индолотритерпеноидов с фрагментами пропаргила» стоило записать как «синтез *N*-пропаргильных производных индолотритерпеноидов»;

➤ в случае получения амидов – не *N*-пропаргилирование (как для индолов), а *N*-пропаргиламидирование исходных кислот;

➤ «синтез спейсированных аминокислотами алкинилтритерпеноидов» (если говорить о спейсере как соединительном фрагменте, то следует обязательно упоминать те части молекулы, которые соединяются);

➤ непонятна фраза «глубоко модифицированные лупановые аналоги» (см. введение и выводы диссертации);

➤ в Оглавлении п. 1.3 записан «Модификация алкинилтритерпеноидов методом реакции Манних» (точнее будет «...методом аминометилирования»);

➤ «вовлечение в Cu-катализируемые «click»-реакцию и реакцию Манниха» (в положениях, выносимых на защиту) следует четко конкретизировать!;

➤ «...1,3-диполярное циклоприсоединение является методом формирования триазольного кольца, который является не только пассивным линкером, играя значительную роль как часть фармакофора, но и увеличивает общую гидрофильность молекулы». Что подразумевается под термином «пассивный линкер»?

4. Автором создана богатая библиотека полифункциональных производных циклических тритерпеноидов. Этот набор позволяет выявить определенные зависимости «структура-свойство», оценить роль различных структурных фрагментов (терпеновая часть, гетероциклический фрагмент, углеводный фрагмент, аминокислотный блок и т.д.). Однако такие структурные корреляции в диссертации отсутствуют. Более того, даже не

рассматривается строение соединений-лидеров. Автор ограничивается выводами типа «соединение **42** оказалось наиболее активным в отношении...» или «соединение **48** проявило высокую противоопухолевую активность...»

5. При описании результатов метода молекулярного моделирования (разд. 2.4.1) фигурируют два соединения **48** и **42**. По тексту непонятно, о каком соединении идет речь или исследованы оба соединения? Нет никаких выводов по этой интересной части работы.

6. При анализе полученных результатов не приводятся данные относительно биологической активности стартовых тритерпеноидов, обладающих, как известно, собственной биологической активностью, позволяющие корректно сравнивать полученные результаты.

7. К сожалению, диссертант не обсуждает проблему энантиоселективности при получении производных хиральных природных тритерпеноидов. Для новых соединений приведены лишь данные углов удельного вращения $[\alpha]_D^{20}$ (эксперимент. часть). Однако для исследуемых автором производных этот вопрос является принципиальным.

8. Каким образом был решен вопрос о стереохимии при атоме углерода С-2 для следующих производных: **81–84, 88** (дисс., схемы 2.14–2.16, стр. 72, 73, 77), **73–75, 77, 81** (автореферат, схемы 12–14, стр. 18–20)? При указанном атоме углерода во всех случаях находятся два цианоэтильных фрагмента.

9. В экспериментальной части не указано, по каким методикам получены исходные вещества – **50, 52, 59, 87, 92, 93, 94, и 98**. Для соединений **99–104** также не описаны методики их получения, приведены только их характеристики.

10. Странной выглядит фраза из Заключения: «Скрининг противоопухолевой и антидиабетической активности показал перспективность создания тритерпеновых аналогов в качестве основы для направленной разработки биологически активных препаратов».

11. В качестве замечания необходимо отметить небрежное оформление диссертационной работы и автореферата. Присутствует большое число несогласованных предложений, опечаток и технических ошибок, например:

– выходы продуктов реакций, представленные в тексте работы, не всегда соответствуют представленным на схемах (дисс., соединения **56–58** и **61**, схемы 2.9, 2.10, стр. 62–63; автореферат, соединения **48–50** и **53**, схема 7, стр. 13–14);

– суммарные выходы продуктов для следующих химических превращений: **29→32+36, 30→34+38** (дисс., схема 2.7, стр. 59), **26→30+34, 28→32+36** (автореферат, схема 5, стр. 12) превышают 100%;

- на схеме 7 автореферата (стр. 13) неверно представлен заместитель для производных **26/43** и **42/44**;
- 2β-цианоэтил-холлонгдиону (**9β**) (экспериментальная часть, стр. 113) соответствует номер **85β**;
- в списке литературы присутствует шесть повторяющихся ссылок – это источники [23] и [46], [26] и [68], [27] и [31], [29] и [89], [34] и [65], [98] и [135]; в тексте диссертации отсутствует отсылка на работу [88];
- имеются замечания по оформлению выходных данных отдельных источников, например, присутствуют ошибки, неточности и/или опечатки в названиях работ [1, 88, 100, 107, 120, 132, 134], в сведениях о томах работ [18, 74, 75, 101, 132, 133, 139] и номерах страниц [79, 109].

Приведенные выше замечания отразились на качестве текста диссертационной работы, однако не уменьшают значимости и объёма выполненных А.В. Петровой экспериментальных исследований.

Применение полученных результатов.

Полученные в работе результаты вносят существенный вклад в развитие органического синтеза и могут найти применение в лабораториях научных, научно-исследовательских учреждений и вузов, занимающихся химией природных соединений, органической и медицинской химией. Предложенные методики могут быть использованы в практике Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Тюменского государственного университета, Институт живых систем Балтийского федерального университета им. И. Канта, Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Института органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Института химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова АН Республики Узбекистан и в других организациях.

Публикации, автореферат.

Основные результаты диссертации изложены в 9 статьях в рецензируемых российских и зарубежных химических журналах, в том числе рекомендованных ВАК РФ и индексируемых в международных системах цитирования Web of Science и Scopus. Результаты, полученные в рамках диссертационного исследования, апробированы на трех научных конференциях.

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 Анастасии Валерьевны «Синтез 1,2,3-триазолил-, 1,2,3,4-тетразолил и пропаргиламиноалкильных производных тритерпеноидов» представляет собой научно-квалификационную работу, в которой содержатся разработки по синтезу новых конкурентноспособных субстанций, обладающих противоопухолевой и антидиабетической активностью и, тем самым, вносит свой вклад в решение проблемы импортозамещения лекарственных препаратов в России. Представленная работа отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, 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 Анастасия Валерьевна заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – Органическая химия.

Настоящий отзыв рассмотрен и утверждён на заседании объединенного семинара по органической химии Института химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН 24 мая 2021 г. (протокол № 6 от 24 мая 2021 г.), присутствовали 24 чел. (категории научный персонал).

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

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

Я, Чукичева Ирина Юрьевна, согласна на включение моих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета Д 002.198.02, и их дальнейшую обработку.

24 мая 2021 г.



Залевская Ольга Александровна, кандидат химических наук (специальность 02.00.03 – Органическая химия), ведущий научный сотрудник лаборатории органического синтеза и химии природных соединений Института химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН.

Email: zalevskaya.aoa@rambler.ru; тел.: 8 (8212) 219916.

Я, Залевская Ольга Александровна, согласна на включение моих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета Д 002.198.02, и их дальнейшую обработку.

24 мая 2021 г.



Буравлёв Евгений Владимирович, кандидат химических наук (специальность 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.

Я, Буравлёв Евгений Владимирович, согласен на включение моих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета Д 002.198.02, и их дальнейшую обработку.

24 мая 2021 г

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук».

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

Тел.: 8 (8212) 245378

E-mail: info@frc.komisc.ru

http://www.komisc.ru

Подписи

И.Ю. Чукичевой, О.А. Залевской и Е.В. Буравлёва
заверяю:

Учёный секретарь

Института химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН

кандидат химических наук

24 мая 2021 г.



Клочкова Ирина Владимировна