ОТЗЫВ

официального оппонента
Глушкова Владимира Александровича
на диссертацию Черемных Кирилла Павловича «Синтез гетероциклических производных природных и синтетических антранилатов на основе алкинонов, полученных в результате металлокомплексного катализа», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности
02.00.03 – органическая химия.

Алкалоид лаппаконитин, выделенный из травы аконита (борца) белоустого *Aconitum leucostomum Worosch.*, семейства лютиковых (*Ranunculaceae*), используется в медицине как оригинальный отечественный антиаритмический препарат; кроме того, он обладает умеренным спазмолитическим, коронарорасширяющим, антихолинергическим и седативным действием. Целью работы Кирилла Павловича Черемных была химическая модификация ароматического заместителя лаппаконитина методами металлокомплексного катализа с получением гибридных структур, включающих гетероциклические ядра пиримидина и изоксазола.

Работа К. П. Черемных выполнена в соответствии с планами работ Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирского института органической химии имени Н.Н. Ворожцова СО РАН в лаборатории медицинской химии профессора Эльвиры Эдуардовны Шульц (тема V.48.1.5 «Разработка научных основ селективного синтеза новых фармакофоров и предшественников лекарственных средств на основе хемоспецифичных каталитических превращений природных алкалоидов, терпеноидов и кумаринов»). Работа частично финансировалась РНФ и РФФИ (гранты РНФ № 14-03-00822, 18-13-00361; гранты РФФИ №№ 18-03-01012 А, 19-53-44003 Монг_т). Данная работа выполнена на стыке химии природных соединений и металлоорганической химии, но по сути соответствует паспорту специальности 02.00.03 – органическая химия, поскольку речь идет о классических каталитических методах образования углерод-углеродной и углерод-азотной связи, примененных к модельным антранилатам и к производным дитерпенового алкалоида лаппаконитина.

Научная новизна. Черемных К.П. выполнена компактная изящная работа по применению Pd-катализируемых реакций: ацилирования ацетиленовых производных лаппаконитина, карбонилирования 5-иодлаппаконитина с последующим образованием алкинонов, а также формированием гетероциклических систем ряда пиримидина и изоксазола из алкинонов *one-pot* методом. Изучены различные источники CO, предложена эффективная каталитическая система $Ad_2PBn \cdot HBr/Mo(CO)_6$).

Кросс-сочетание метил N-ацетил-5-(этинил) антранилата с хлорангидридами ароматических или коричных кислот в условиях реакции Соногаширы проводило к соответствующим α,β-ацетиленовым кетонам, конденсацией которых с амидинами были синтезированы 2,4,6-тризамещенные пиримидины.

Предложены региоселективные пути синтеза лаппаконитиновых изоксазолов и 4-галогензамещенных изоксазолов с фрагментом метилового эфира N-ацетилантраниловой кислоты; разработан подход к однореакторному синтезу производных лаппаконитина, содержащих 3,5-дизамещенный фрагмент изоксазола.

Практическая значимость диссертации заключается в разработке удобных препаративных методов синтеза новых конъюгатов лаппаконитина с гетероциклическими соединениями ряда пиримидина, изоксазола. Выявлена любопытная особенность остатка лаппаконитина «содействовать» синтезу пиримидиновых производных (стр. 73 диссертации), что проявляется в повышении выхода и легкости очистки замещенных пиримидинов.

Осуществлено тестирование новых соединений на противовоспалительную и цитотоксическую активность, выявлены основные закономерности зависимости структура-биоактивность, найдены соединения-лидеры для дальнейших исследований.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, и их достоверность. Строение всех новых органических соединений подтверждено спектральными данными и не вызывает сомнений. Диссертационное исследование К.П. Черемных выполнено с привлечением современных физико-химических методов. Это ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия высокого разрешения, ЯМР ^{1}H и ^{13}C спектроскопия, в том числе с привлечением методик двумерной гомо- и гетероядерной корреляционной спектроскопии (^{1}H – ^{1}H, COSY, ^{1}H – ^{1}H NOESY, ^{1}H – ^{13}C HMBC, ^{1}H – ^{13}C HSQC). Отрадно традиционное для новосибирской научной школы химиков-органиков отнесение сигналов <u>всех</u> углеродных атомов в спектрах ЯМР ^{13}C сложных органических соединений, каковыми являются производные лаппаконитина.

Диссертация Черемных Кирилла Павловича общим объемом 145 страниц построена традиционно и состоит из введения, трех глав, выводов, списка литературы и приложения. Диссертация содержит 66 схем, 11 рисунков, 31 таблицу. Список литературы включает 165 литературных источника российских и зарубежных авторов. В приложении приведены данные по методам биологических испытаний и молекулярного моделирования (докинга).

Литературный обзор (глава 1, объемом 40 страниц, страницы 10-49) достаточно большого объема посвящен методам синтеза гетероциклических соединений из алкинонов. Обзор логично построен, написан прекрасным научным языком, автор подробно останавливается на критическом разборе работ по синтезу пиразолов, триазолов, пиридинов, пиримидинов, оксазолов, 1,5-бенздиазепинов, оксазепинов и других гетероциклов конденсацией алкинонов с нуклеофильными (бинуклеофильными) агентами, при этом акцентируется на работах, опубликованных в мировой химической литературе за последние годы. Весьма подробно Кирилл Павлович разбирает работы нескольких научных коллективов, например, группы Мюллера - на стр. 24-26 – синтез пирролов (ссылка [32]), на стр. 30-33 – синтез пиримидинов (ссылки [45,46]), останавливаясь на достоинствах и недостатках того или иного подхода.

Центральная глава 2 (страницы 50-87) содержит описание проведенных экспериментов и обсуждение полученных результатов, а также подробное описание испытаний биологической активности новых производных на цитотоксическую активность, анальгетическую активность, а также результаты молекулярного докинга некоторых соединений *in silico*.

Исходный этиниллаппаконитин **3** был получен из лаппаконитина известными методами с общим выходом 67% (весьма хороший выход для шестистадийного синтеза!). В качестве модельного соединения был использован коммерчески доступный метил N-ацетил-5-иодантранилат **8**. На нем были оптимизированы условия синтеза алкинонов, конденсацией которых с амидинами или солями тиомочевины был получен ряд новых пиримидиновых структур, в том числе с пиридиновыми и пиримидиновыми заместителями. Последние соединения представляют интерес в связи с тем, то они являются аналогами противоопухолевого препарата *иматиниб* и антигипертензивного препарата *бозентан*. Далее, по оптимизированной методике, К.П. Черемных провел реакции с 5'-этиниллаппаконитином и получил пиримидиновые конъюгаты лаппаконитина **56, 57, 67, 68** с выходами 70-75%. Следом был разработан трехкомпонентный синтез алкинилкетонов антранилового ряда, здесь незаменимой оказалась каталитическая система на основе гексакарбонила молибдена и диадамантанил-бензилфосфина гидробромида. Далее был разработан однореакторный метод синтеза пиримидиновых производных лаппаконитина.

К.П. Черемных были исследованы подходы к региоизомерным изоксазолам ряда антраниловой кислоты и их галогенпроизводным. Жаль, что эти методы оказались нереализуемыми для лаппаконитина вследствие осмоления реакционной массы. В конце концов, была изучена трехкомпонентная реакция 5'-этиниллаппаконитина,

хлорангидридов ароматических карбоновых кислот и гидроксиламина. Показано, что в зависимости от заместителей в бензойной кислоте образуются либо 5-арил-3-лаппаконитил-изоксазолы, либо 5-арил-5-гидрокси-4,5-дигидроизоксазолы, которые, впрочем, легко переходят в 5-арилизоксазолы при дегидратации в бензоле в присутствии *пара*-толуолсульфокислоты.

По кооперации с учеными кафедры фундаментальной медицины медицинского факультета Новосибирского государственного университета была изучена цитотоксическая активность новых синтезированных соединений на линиях клеток CEM-13, U-937, MDA-MB-231, BT-474, DU-145 (таблица 2.9, стр. 74-75). В результате исследований было установлено, что соединения **35-39**, содержащие гетероциклический (пиридиновый или пиримидиновый) заместитель в положении 2, обладают значительной цитотоксичностью в отношении опухолевых клеток человека. Соединения **46-48** показали лучшую активность в отношении клеток рака молочной железы MDS-MB-231; их активность на этой линии сравнима с активностью препарата сравнения (доксорубицин). Далее, основываясь на выдвинутой в нескольких иностранных статьях гипотезе о возможном действии противораковых препаратов, содержащих 2-аминопиримидиновый скаффолд, через ингибирование или регуляцию циклинзависимых протеинкиназ (конкретно, CDK6 и CDK9), в сотрудничестве с коллегами из лаборатории фармакологических исследований НИОХ СО РАН был изучен докинг некоторых новых пиримидил-содержащих антранилатов в сравнении с известными ингибиторами CDK9 (стр. 75-79). С целью оценки конформационных изменений был использован протокол Induced Fit пакета Schrodinger Small Molecule Drug Discovery Suite 2017-1. Были изучены также пиримидил-замещенные антранилаты лаппаконитина на предмет цитотоксической активности, но здесь надежды на выявление активных соединений не оправдались. Это обширное исследование завершилось выявлением закономерностей связи структуры с цитотоксической активностью в данном ряду соединений.

Глава 3 (стр. 88-126) – это экспериментальная часть, включает описание методик синтеза новых соединений, их спектров ЯМР ^{1}H и ^{13}C.

По существу выполненной работы замечаний нет. Диссертация и автореферат построены логично, изложены хорошим научным стилем, легко читаются, аккуратно оформлены.

Замечания.

1. Редко, но встречаются опечатки (на стр. 12, 18 автореферата и на стр. 50, 58, 69, 88, 91, 115, 124, 136, 137 диссертации).

2. Немного затрудняет сопоставление автореферата и диссертации тот факт, что нумерация соединений в них не совпадает, что обусловлено, видимо, особенностями оформления автореферата как краткой версии диссертации (в настоящем отзыве нумерация соединений дается по диссертации). Так, например, соединения **65** и **66** на стр. 13 автореферата встречаются в диссертации на стр. 62 под номерами **73** и **74**. В связи с этими веществами у оппонента возник **вопрос**. Как указано на стр. 62 диссертации, продукты **73** и **74** образуются при попытке провести домино-реакцию карбонилирования-этинилирования в различных условиях. При этом, как следует из таблицы 2.7 на стр. 63, ни в одном из опытов не было обнаружено одновременного образования и того, и другого вещества, что кажется странным. Дело в том, что соединения **73** и **74** имеют оранжевый цвет, одинаковое значение R_f, и их разделить на колонке, видимо, трудно. Может, были какие-то опыты, не вошедшие в описательную часть диссертации, когда наблюдали одновременное образование этих соединений, и поскольку не могли их разделить, эти опыты просто убрали из описания? (Я понимаю, что алкин **73** образовывался при попытке карбонилирования с помощью смешанного ангидрида муравьиной и уксусной кислот, а соединение **74** было получено в чистом виде с количественным выходом при катализе системой $Ad_2PBn \cdot HBr/Mo(CO)_6$).

3. На стр. 52 вместо «метиловый эфир 5-этинил-», вероятно должно быть: метиловый эфир 5-иод-N-ацетилантраниловой кислоты (соед. **8**).

4. На стр. 69: сочленение антранильного фрагмента в положении C-5' в C-5 атому углерода изоксазола соединения **85** (а не C-2).

5. На стр. 88 вместо 2,3,4-триметоксибензойной кислоты, очевидно, должна быть 3,4,5-триметоксибензойная кислота.

6. При всем уважении к автору хотелось бы, чтобы при описании методик синтеза количество реагентов и катализаторов указывалось не только в миллимолях, но и по возможности их весовое количество в миллиграммах (граммах).

7. На стр. 58 кросс-сочетание алкина 3 с хлорангидридами замещенных бензойных кислот проводили в присутствии каталитической системы $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ с добавлением двойного количества PPh_3. Нельзя ли предположить образование в условиях реакции катализатора Сузуки $Pd^0(PPh_3)_4$? В связи с этим еще один **вопрос**: не пробовали ли вы проводить реакцию Соногаширы с катализатором Сузуки?

8. В качестве замечания хочу высказать мнение, что для порядка следовало хотя бы в одном случае привести предположительный механизм Pd-катализируемой реакции карбонилирования-алкинилирования (образование алкинонов).

Не считая казуса с нумерацией, содержание автореферата по существу соответствует содержанию диссертации. Выводы (стр. 127) соответствуют поставленным задачам и целям проделанной работы.

Основные результаты автора полностью опубликованы (в том числе в двух статьях из списка ВАК), доложены на Всероссийских конференциях в Новосибирске, Уфе, Сыктывкаре, Казани, Шерегеше.

Диссертационная работа **Черемных Кирилла Павловича** на тему «Синтез гетероциклических производных природных и синтетических антранилатов на основе алкинонов, полученных в результате металлокомплексного катализа» представляет собой научно-квалификационную работу, в которой содержится решение научной задачи, имеющей большое значение для органической химии природных и гетероциклических соединений. По поставленным задачам, уровню их решения, актуальности и научной новизне диссертация К.П. Черемных отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и соответствует критериям, изложенным в пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор Черемных Кирилл Павлович, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 –органическая химия.

Официальный оппонент:
старший научный сотрудник
лаборатории биологически активных соединений
«Институт технической химии Уральского отделения Российской академии наук» филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук («ИТХ УрО РАН») 614068, г. Пермь, ул. академика Королева, 3; тел. 8-342-237-82-72, e-mail: info@itcras.ru, официальный сайт www.itcras.ru
e-mail оппонента: glusha55@gmail.com
тел. (342)-237-82-66, 8-(950)-47-77-864, 8-982-252-08-79.
доктор химических наук по специальности 02.00.03 –органическая химия,
доцент по специальности 02.00.03 –органическая химия,

Глушков Владимир Александрович

31 августа 2020 г.

Подпись Глушкова В.А. заверяю:
Ученый секретарь ИТХ УрО РАН, к. т. н. Г. В. Чернова

1 сентября 2020 г.