

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора химических наук, доцента, старшего научного сотрудника лаборатории биологически активных соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт технической химии Уральского отделения Российской академии наук»

Федерального агентства научных организаций

Глушкова Владимира Александровича на диссертацию ВОЛКОВОЙ АННЫ НИКОЛАЕВНЫ «Синтез новых азотсодержащих производных тритерпенов лупанового ряда», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности
02.00.03 – органическая химия.

Лупановый ряд тритерпеноидов представляет собой весьма доступный и возобновляемый массив природных химических матриц, производные которых обладают разнообразной биологической активностью. Химическая модификация известных биологически активных природных соединений современными синтетическими методами, выявление наиболее активных аналогов и внедрение их в практику медицинской химии – это то генеральное направление, заданное еще в конце XX века в Новосибирском Институте Органической химии имени Н.Н. Ворожцова научной школой академика Г.А. Толстикова. Общеизвестна относительно высокая противоопухолевая активность (при низкой острой токсичности) бетулиновой кислоты и некоторых ее эфиров (например, препарата «бевиримат»). Недостатками тритерпеноидов лупанового ряда как потенциальных лекарственных средств являются ограниченная растворимость в воде и связанная с этим низкая биодоступность. Для преодоления этих недостатков используются различные подходы, одним из которых является введение в молекулу природного тритерпеноида гидрофильных функциональных групп. Работа Волковой Анны Николаевны посвящена модификации бетулина, бетулиновой и бетулоновой кислот по положениям С-2, С-3, С-17, С-19, С-28, С-30 путем синтеза новых азотсодержащих производных (амидов, оксимов,

амидоксимов, гидразидов, иминоксильных и цианэтильных производных), введения в молекулу остатков пятичленных гетероциклических соединений (1,2,4-оксадиазолов, 1,3,4-оксадиазолов, 1,2,3-триазолов, тетразолов), а также остатка пиридина. В связи всего вышесказанного работа А.Н. Волковой, несомненно, актуальна.

Научная новизна. В ходе выполнения работы Анной Николаевной синтезировано 84 новых аминопроизводных лупанового ряда. Получен ряд новых амидов бетулоновой кислоты, содержащих остатки различных аминов, D,L-аланина, а также спиновые метки: 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил и 2,2,5,5-тетраметилпирролидин-1-оксил. Всесторонне изучена реакция цианэтилирования в лупановом ряду; на основе цианэтильных производных получены соответствующие амидоксимы, 1,2,4-оксадиазолы и тетразолы. Предложены методы синтеза производных лупана с 1,3,4-оксадиазольным заместителем при C(17). Осуществлен региоселективный синтез 30-[4-арил(алкил)-1*H*-1,2,3-триазол-4-ил]луп-20(29)-енов, основанный на катализируемой солями меди(I) реакции Хьюсгена («клик»-химия). Усовершенствован синтез 19-(2,6-диметилпиридин-4-ил)-20,29,30-тринорлупанов. Показано, что наряду с синтезом пиридинов (выходы 24-29%) происходит ацилирование кольца А метилового эфира бетулоновой кислоты с образованием соединений фенантро[1,2-*g*]хроменовой (выход 22%) и хризено[1,2-*g*]хроменовой (выход 34%) структуры.

Практическая значимость диссертации заключается в разработке удобных методов синтеза большого круга производных лупановых тритерпеноидов, в том числе содержащих гетероциклические заместители (1,2,4-оксадиазолы, тетразолы, 1,3,4-оксадиазолы и пиридины) в положениях C(3), C(28), C(17) и C(30). На базе медицинского факультета НГУ осуществлено первичное тестирование модифицированных лупановых тритерпеноидов и выявлены перспективные для дальнейшего изучения ингибиторы роста опухолевых клеток человека.

Диссертация Анны Николаевны общим объемом 177 страниц построена традиционно и состоит из введения, трех глав, выводов, списка литературы и приложений.

В главе 1 (литературный обзор общим объемом 45 страниц) приводятся данные о последних разработках в области химической модификации тритерпеноидов лупанового ряда. Последовательно рассматривается химическая модификация по атомам C(3), C(28), по изопропенильной группе, по кольцам А и Е. Особое внимание уделено характеристике соединений с цитотоксической и противоопухолевой активностью (к слову, под эту задачу: поиск высокоактивных цитостатиков – «заточена» не только 1 глава, но и глава 2, где обсуждаются собственные результаты А.Н. Волковой). На мой взгляд, литература подобрана достаточно полно, цитируются источники вплоть до 2013 г.; при этом не обделены вниманием как российские, так и иностранные ключевые обзоры по бетулину.

В начале главы 2 (на стр. 53) автор формулирует цель исследования: разработка селективных методов модификации доступных тритерпеноидов: бетулина и бетулоновой кислоты в синтезе азотсодержащих производных, потенциально ценных для медицины. В соответствии с этой целью было сформулировано пять чисто химических задач, последовательное выполнение которых излагается далее в главе 2 (общим объемом 44 страницы).

Амиды бетулоновой кислоты были синтезированы традиционным методом взаимодействием хлорангидрида кислоты с аминами. Среди амидов бетулоновой кислоты наибольшую цитотоксическую активность на линиях клеток СЕМ-13, U-937 и МТ-4 (таблица 1) проявили морфолид **5д**, имидазольное производное **5и**, производное (2,2,6,6-тетраметилпиперидин-4-ил)-амина **5с**, производное D,L-аланина **7**, производное (2,2,6,6-тетраметилпиперидин-4-ил)-оксила **11** (здесь следует отметить, что соединение **5и** впервые было синтезировано испанскими химиками (ссылка [38] из списка литературы). Активнее референсного соединения –

бетулиновой кислоты – оказался амидоксим **40**. Среди гидразидов бетулоновой кислоты наибольший интерес в плане цитотоксической активности вызывает соединение **46д** с 2-хлор-3-фтор-6-трифторметилбензоильной группой. На линии клеток МТ-4 хорошую активность проявили триазолы по С(30) – соединения **58б,в**.

Всесторонне изучена реакция цианэтилирования 3-ацетилбетулина, 3-оксо-28-гидрокси-луп-20(29)-ена, его оксима, альдегида и метилового эфира бетулоновой кислоты, бетулонового альдегида и его оксима. Соединение **23** было получено двумя путями: цианэтилированием оксима 3-оксо-28-гидрокси-луп-20(29)-ена и встречным синтезом. Показано, что наибольшие выходы целевых продуктов полагаются при проведении реакции в смеси 30%-ный КОН-диоксан при катализе хлоридом триэтилбензиламмония.

Из цианэтильных производных были получены соответствующие тетразолы, амидоксимы и 1,2,4-оксадиазолы. Циклизация гидразидов 3-ацетоксибетулиновой кислоты **46-48** под действием POCl_3 привела к 1,3,4-оксадиазолам **49-51**.

Далее реакцией циклоприсоединения азидов **56,57** с терминальными ацетиленами при катализе Cu(I) были получены соответствующие 1,2,3-триазолы **58а-е** и **59а-е**. Строение азида **56** подтверждено данными рентгеноструктурного анализа. Региоселективность реакции [3+2] циклоприсоединения (образование исключительно 1,4-дизамещенного триазола) подтверждено данными двумерного ЯМР $^{13}\text{C} - ^1\text{H}$ спектра (стр. 79).

Весьма любопытные результаты были получены в реакции Принса диацетата бетулина с ацетилхлоридом в присутствии хлорида цинка. Уфимские химики в 2008 году впервые описали это превращение, но они использовали формальдегид. Введение в реакцию ацетилхлорида с последующей обработкой пирилевой соли аммиаком проводило к 2,6-диметилпиридину с остатком лупана в четвертом положении. К сожалению, выходы замещенных пиридинов невелики из-за побочной реакции – образования 3 β -О-ацетилаллобетулина.

Строение всех новых органических соединений подтверждено спектральными данными и не вызывает сомнений. Диссертационное исследование А.Н. Волковой выполнено с привлечением современных физико-химических методов (ИК-спектроскопия, поляриметрия, масс-спектрометрия высокого разрешения, ЯМР ^1H и ^{13}C спектроскопия, в том числе с привлечением методик двумерной протон-протонной и углерод-протонной корреляционной спектроскопии (COZY, COXH, COLOC). Огромную методологическую и практическую ценность представляют собой приведенные в приложении таблицы химических сдвигов спектров ЯМР ^{13}C для всех новых соединений с отнесением по атомам лупанового скелета.

Замечания по работе.

1. Удельное вращение (см. стр. 99 и далее экспериментальной части) измеряется в условных единицах, имеет размерность $\text{град} \cdot \text{см}^2 \cdot \text{г}^{-1} \cdot 10^{-1}$ (см. книгу Эрнеста Людвиг Иллиела, «Основы органической стереохимии, изд-во «БИНОМ», Лаборатория знаний Москва, 2007, стр 14: «...значения [альфа] в отличие от фактического угла вращения никогда не обозначаются градусами»).

2. При синтезе соединений 6 и 7 можно было взять оптически чистый аланин в обеих формах (D и L) и его метиловый эфир. Эти вещества вполне доступны; любопытно было бы сравнить, меняется ли цитотоксическая активность в зависимости от того, какой взят энантиомер.

Работа Анны Николаевны Волковой очень аккуратно оформлена, написана хорошим научным стилем, легко читается, практически не содержит опечаток (кроме страниц 58, 104 (название соединения **5p**), 109 (в методике синтеза соединения **19** опечатка в количестве акрилонитрила), 137 (не указан выход соединения **61**), 146, 154) и оставляет весьма приятное впечатление у рецензента.

Выводы (стр. 142) соответствуют поставленным задачам и существу проделанной работы.

Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации. Основные результаты автора полностью опубликованы (в том числе в семи статьях из списка ВАК), доложены на Всероссийских конференциях в Новосибирске, Минске, Уфе, Екатеринбурге. По результатам исследования получен патент РФ № 2425680.

Диссертационная работа Волковой Анны Николаевны по поставленным задачам, уровню их решения, актуальности и научной новизне удовлетворяет требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Волкова Анна Николаевна, безусловно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – органическая химия.

Официальный оппонент:
старший научный сотрудник
лаборатории биологически активных соединений
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
«Институт технической химии Уральского отделения Российской академии наук» Федерального агентства научных организаций,
614013, г. Пермь, ул. академика Королева, 3
тел. (342)-237-82-66, 8-(950)-47-77-864,
e-mail: glusha55@gmail.com
доктор химических наук,
доцент

 Глушков Владимир Александрович

2 февраля 2015 г.

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

 Г. В. Чернова

3 февраля 2015 г.

