

Утверждаю

Директор Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки
Новосибирский институт
органической химии
им. Н.Н. Ворожцова
Сибирского отделения
Российской академии наук
д.ф.-м.н., профессор



 Е.Г. Багрянская

«22» 06 2022 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (ФГБУН НИОХ СО РАН).

Диссертация Семеновой Марии Дмитриевны «Синтез новых гетероциклических соединений на основе пентациклических тритерпеноидов лупанового и урсанового ряда» выполнена в Лаборатории медицинской химии НИОХ СО РАН.

Соискатель Семенова М.Д. работала в НИОХ СО РАН с 09 февраля 2016 года до 31 августа 2017 г. в должности лаборанта ЛФАВ. В октябре 2017 года принята на должность инженера 1 категории Технологического отдела НИОХ СО РАН, затем с февраля 2018 года переведена на должность инженера 1 категории Лаборатории медицинской химии, а с 01 октября 2018 года занимает должность младшего научного сотрудника в Лаборатории медицинской химии.

В 2017 году Семенова М.Д. окончила Новосибирский Государственный Педагогический Университет, Институт Естественных и социально-экономических наук по специальности 04.05.01 «Фундаментальная и прикладная химия» (кафедра химии), с сентября 2018 г. по настоящее время обучается в очной аспирантуре НИОХ СО РАН (приказ о зачислении № 9 от 11.09.2018 г.).

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано в 2022 г. ФГБУН НИОХ СО РАН.

Тема диссертационной работы утверждена на заседании Ученого Совета НИОХ СО РАН (протокол № 5 от 31 мая 2022 г.).

Научный руководитель: д.х.н., профессор Шульц Эльвира Эдуардовна, занимает должность заведующей лабораторией медицинской химии НИОХ СО РАН.

Отзыв рецензента к.х.н., ведущего научного сотрудника Отдела тонкого органического синтеза Института катализа им. Г.К. Борескова СО РАН Хлебниковой Татьяны Борисовны на диссертационную работу – положительный.

При обсуждении диссертационной работы на заседании семинара Отдела медицинской химии были заданы следующие вопросы:

1. В Вашем докладе не прозвучало обоснование выбора гетероциклов, которые Вы вводите в молекулу тритерпеноида. Почему разрабатывали методы получения производных тритерпеновых кислот, содержащих именно оксадиазольные, или пиримидиновые или бис-гетероциклические фрагменты?

2. Почему использовали разные условия для CuAAC реакции с участием пропаргиловых эфиров урсоловой, бетулиновой и бетулоновой кислот и для аналогичной реакции с участием 3 β -(4-оксо-4-(проп-2-инилокси)бутаноилокси)-урсоловой кислоты?

3. Как Вы можете объяснить протекание реакции Манниха именно по обозначенному атому азота N-3? Как доказано строение полученного соединения? Какие спектральные данные Вы брали во внимание?

4. В докладе, при обсуждении внутримолекулярной циклизации ацилтиосемикарбазидов Вы подчеркиваете, что в каком-то случае “циклизация не возможна”? Чем Вы можете это объяснить? И какова роль стерического фактора в Вашей реакции?

5. В каких условиях проводили циклизацию дитиокарбаматов? Чем обусловлено использование большого избытка триэтиламина?

6. При постановке цели работы Вы отмечаете “разработка методов направленной модификации пентациклических тритерпеноидов”. В чем заключается эта направленность, какие превращения удалось Вам провести направленно?

7. Чем обусловлен выбор основания на стадии гетероциклизации? Какие основания использованы в каждом случае?

8. В докладе Вы отмечали, что Вами подобраны условия окисления тиоэфиров с получением соответствующих сульфоксидов или сульфонов. Образование каких побочных продуктов Вы наблюдали при окислении действием различных реагентов? Почему для селективного получения сульфона необходимо использование такого большого избытка 3-хлорнадбензойной кислоты?

9. Можно ли утверждать, что 3-хлорнадбензойная кислота является селективным реагентом для получения метилсульфонильных производных? Что вкладывается в термин хемоселективное окисление?

10. Чем обусловлен выбор азиды - 3-азидометил-4-метил-1,2,5-оксадиазол-2-оксидом или 2-азидометил-5-арил-1,3,4-оксадиазолом в качестве реагента для CuAAC реакции?

11. Почему одни реакции (например, получение 2-меркапто-1,3,4-оксадиазолов и 3-меркапто-1,2,4-триазолов) проводили только на тритерпеновом остове урсоловой кислоты, а другие реакции – на урсановых и лупановых тритерпеноидах?

13. Задачи исследования предусматривают получение данных о зависимости структура-биологическая активность. Какие биологические свойства усиливаются и какие блокируются при введении пиримидинового кольца в молекулу лупанового тритерпеноида?

14. Слайд по цитотоксичности. Что означает термин индекс селективности?

15. Сравнивали ли цитотоксичность полученных соединений с данными по цитотоксичности амидов урсоловой кислоты?

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертационная работа Семеновой М.Д. посвящена модификации доступных пентациклических тритерпеноидов – бетулоновой, бетулиновой и урсоловой кислот. Разработаны методы синтеза производных урсоловой и бетулиновой кислот, содержащих гетероциклические (замещенные оксадиазольные, триазольные, пиримидиновые) и бисгетероциклические заместители (1,2,3-триазолилметил-1,2,5-оксадиазол-2-оксидные или 1,2,3-триазолилметил-1,3,4-оксадиазольные), и способы синтеза тритерпеноидных α,β -ацетиленовых кетонов, включающих фрагмент амида бетулоновой кислоты.

Актуальность темы

В ряду природных соединений растительного происхождения, которые рассматриваются как богатейшие источники структур-лидеров для создания новых лекарственных агентов, значительное место занимают пентациклические тритерпеновые кислоты лупанового, урсанового и олеананового ряда. Эти соединения образуются в результате циклизации сквалена и повсеместно присутствуют в различных частях растений – в коре, восковом покрытии листьев или коже плодов. Тритерпеновые кислоты обладают большим разнообразием биологической активности, которая удачно сочетается с низкой системной токсичностью. Наибольший интерес к этим соединениям связан с их противоопухолевыми, противовоспалительными, противовирусными, антибактериальными и антипаразитарными свойствами. Однако, относительно низкий потенциал биологического действия нативных тритерпеновых кислот, их плохая

растворимость в воде и недостаточная биодоступность из желудочно-кишечного тракта создают серьезные проблемы для продвижения этих соединений в клиническую практику. За счет наличия в молекулах легко трансформируемых функциональных групп (3-ОН, 28-СООН) природные пентациклические тритерпеновые кислоты имеют высокий синтетический потенциал. В связи с этим, актуальны исследования, направленные на разработку эффективных подходов и новых синтетических методов для получения полусинтетических производных бетулиновой, бетулоновой и урсоловой кислот, проявляющих высокую избирательность по отношению к биомишеням, обладающих приемлемой водорастворимостью и способностью прохождения через клеточные мембраны.

Научная новизна работы

Предложены эффективные подходы к синтезу гетероциклических производных урсоловой кислоты, содержащих фрагменты 2-тионо-1,3,4-оксадиазола, 3-тионо-1,2,4-триазола и 2-аминоалкил-1,3,4-оксадиазола, основанные на реакциях соответствующих гидразидов урсанового ряда с сероуглеродом или бензилизотиоцианатами. Изучены условия циклизации тиосемикарбазидов урсоловой кислоты, приводящие к образованию терпеноидных 2-бензиламино-1,3,4-оксадиазолов. Показана возможность селективного S-алкилирования 2-меркапто-1,3,4-оксадиазолов и 3-меркапто-1,2,4-триазолов урсоловой кислоты, предложены условия окисления полученных тиоэфиров до соответствующих сульфонов. Реакцией нуклеофильного замещения метилсульфонильной группы в тритерпеноидных 2-метилсульфонил-1,3,4-оксадиазолах синтезированы производные урсоловой кислоты с 2-диалкиламино- или 2-гидрокси-заместителями в гетероциклическом фрагменте. Реакция аминотетилирования урсановых гибридов с 1,3,4-оксадиазол- и 1,2,4-триазолтионами гладко приводила к образованию урсановых тритерпеноидов, содержащих 4-морфолинометил-5-тиоксо-1,3,4-оксадиазольный или 4-морфолинометил-5-тиоксо-1,2,4-триазольный заместители. Для конструирования в тритерпеноидах бис-азольного фрагмента использована методология CuAAC реакции (проп-1-ин)оксизамещенных производных урсановых и лупановых тритерпеноидов с азидометилпроизводными оксадиазолов. На основе последовательности реакций Соногаширы 4-иодфенилкарбоксамиды или 4-иодфенэтилкарбоксамиды бетулоновой кислоты с триметилсилилацетиленом и кросс-сочетания продуктов десилилирования с хлорангидами бензойных кислот разработан метод селективного синтеза α,β -ацетиленовых кетонов с фрагментом амида бетулоновой кислоты. Установлена высокая активность новых α,β -ацетиленовых кетонов лупанового ряда в реакции циклоконденсации с амидиниевыми солями.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученный комплекс новых экспериментальных данных по превращениям гидразидов урсанового ряда открывает новые возможности модификаций урсановых тритерпеноидов с селективным введением функционализированных гетероциклических заместителей в структуру тритерпеноидов. Разработан селективный метод синтеза производных карбоксиамида бетулоновой кислоты с легко функционализируемым ацетиленовым или алкин-оновым фрагментом. Полученные соединения могут быть использованы в лабораторной практике в качестве ключевых полупродуктов, доступных для дальнейших превращений в направленном синтезе новых тритерпеноидов. В результате изучения *in vitro* цитотоксичности тритерпеноидных азолов в ФИЦ ИЦиГ СО РАН в отношении опухолевых клеток человека, выявлены перспективные для дальнейшего исследования цитотоксические агенты. В результате исследований *in vivo*, проведенных сотрудниками лаборатории фармакологических исследований НИОХ СО РАН, получены данные о влиянии структурных особенностей конъюгатов терпеновых соединений с арилпиримидинами на селективность противовоспалительного действия.

Методология и методы исследования. В ходе выполнения работы применялись современные методы органического синтеза. Разделение реакционных смесей, выделение и очистка соединений осуществлялись методами колоночной хроматографии и кристаллизации. В работе использовались физико-химические методы установления структуры и чистоты химических соединений: ИК-, ЯМР спектроскопия, масс-спектрометрия высокого разрешения, поляриметрия.

Степень достоверности. Высокая достоверность полученных результатов обеспечена тщательностью выполнения экспериментов и использованием современных физико-химических методов исследования структур получаемых соединений. Строение всех впервые синтезированных веществ доказано методами ИК, ^1H и ^{13}C ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения. Достоверность результатов подтверждается независимой экспертизой опубликованных материалов в рецензируемых научных изданиях и апробацией на российских конференциях.

Диссертационная работа соответствует специальности 1.4.3 органическая химия.

Результаты работы могут быть использованы в научно-исследовательской практике ФГБУН НИОХ СО РАН, а также в лабораториях других научных организаций: ФГБУН Институте органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН (г. Москва), Институте технической химии Уральского отделения РАН (г. Пермь), ФГБУН Институте химии Коми научного центра Уральского отделения РАН (г. Сыктывкар), ФГБУН Институте органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КНЦ РАН (г. Казань), Институте

химии Уфимского НЦ РАН (г. Уфа) и ФГБУН Институте нефтехимии и катализа Уфимского НЦ РАН (г. Уфа).

Полнота опубликования результатов. По теме диссертационной работы опубликовано 5 статей в рецензируемых международных изданиях, получено два патента РФ и представлено 6 докладов на российских и международных конференциях.

Статьи в рецензируемых журналах:

1. S. A. Popov, M. D. Semenova, D. S. Baev, T. S. Frolova, E. E. Shults, Ch. Wang, M. Turks. Synthesis of cytotoxic urs-12-ene- and 28-nor-urs-12-ene- type conjugates with amino- and mercapto-1,3,4-oxadiazoles and mercapto-1,2,4-triazoles. *Steroids*. – 2020. – V. 153. – Article N 108524.
2. S. A. Popov, M. D. Semenova, D. S. Baev, T. S. Frolova, M. A. Shestopalov, Ch. Wang, Zh. Qi, E. E. Shults, M. Turks. Synthesis and cytotoxicity of hybrids of 1,3,4- or 1,2,5-oxadiazoles tethered from ursane and lupane core with 1,2,3-triazole. *Steroids*. – 2020. – V. 162. – Article N 108698.
3. M. D. Semenova, S. A. Popov, T. S. Golubeva, D. S. Baev, E. E. Shults, M. Turks. Synthesis and cytotoxicity of sulfanyl, sulfinyl and sulfonyl group containing ursane conjugates with 1,3,4-oxadiazoles and 1,2,4-triazoles. *Chemistry Select*. – 2021. – V. 6. – N 7. – P. 6472-6477.
4. M. D. Semenova, S. A. Popov, E. E. Shul'ts, M. Turks. Synthesis of new ursane-type hybrids with morpholinomethyl-, dialkylamino-, and hydroxyl- substituted azoles. *Chem. Nat. Compd.* – 2021. – V. 58. – N 1. – P. 65-70.
5. M. D. Semenova, S. A. Popov, I. V. Sorokina, Yu. V. Meshkova, D. S. Baev, T. G. Tolstikova, E. E. Shults. Conjugates of lupane triterpenoids with arylpyrimidines: Synthesis and anti-inflammatory activity. – *Steroids*. – 2022. – V. 184. – Article N 109042.

Патенты по теме диссертации

6. С. А. Попов, М. Д. Семенова, Т. С. Фролова, Э.Э. Шульц. (17S)-N-бензил-5-((3β-ацетокси-28-нор-урс-12-ен)-17-ил)-1,3,4-оксадиазол-2-амин, обладающий селективной цитотоксичностью в отношении клеток рака молочной железы MCF-7. Патент РФ 2 708 400. Бюлл. № 34, 2019 опубликовано: 06.12.2019
7. С. А. Попов, М. Д. Семенова, Э. Э. Шульц, Т. С. Фролова. ({[(3β-Ацетоксиурс-12-ен-28-оилоксиацетокси)метил]-1H-1,2,3-триазол-1-ил}метил)-4-метил-1,2,5-оксадиазол-2-оксид, обладающий селективной противоопухолевой активностью в отношении клеток рака молочной железы MCF-7. Патент РФ 2 739 559, Бюлл. № 36, 2020 опубликовано: 25.12.2020

Материалы диссертационной работы представлены на конференциях:

8. М. Д. Семенова, С. А. Попов, Э. Э. Шульц. Синтез новых конъюгатов 1,3,4-оксадиазолов и тритерпеноидов лупанового и урсанового ряда. Молодёжная научная школа-конференция "Актуальные проблемы органической химии". С. 167. Шерегеш, Россия, 09-16 Марта 2018 (стендовый доклад).
9. М. Д. Семенова. Получение биологически активных производных тритерпеноидов лупанового и урсанового ряда с пятичленными азотсодержащими гетероциклами В книге: Материалы 57-й Международной научной студенческой конференции. С. 57. Новосибирск, 2019 (устный доклад).
10. M. Semenova, S. Popov, E. Shults. New nitrogen-containing ursolic acid heterocycles with thiol group: synthesis and biological activity. 4-я Российская конференция по медицинской химии «МедХим-Россия 2019». г. Екатеринбург, Россия, 9-14 июня 2019 г. Abstract book. P. 268 (стендовый доклад).
11. М. Д. Семенова, С. А. Попов, Э. Э. Шульц. Конъюгаты 1,3,4-, 1,2,5-оксадиазолов и 1,2,3-триазолов с тритерпеноидами урсанового и лупанового ряда: Синтез и изучение биологической активности. Тезисы докладов XI Всероссийской научной конференции “Химия и технология растительных веществ”, С. 203 Сыктывкар, Россия. 27-31 мая 2019 (стендовый доклад)
12. М. Д. Семенова, С. А. Попов, Э. Э. Шульц. Синтез и модификация серосодержащих гетероциклов, присоединенных к тритерпеновому остову. Сборник тезисов Научной конференции «Марковниковские чтения. Органическая химия: от Марковникова до наших дней», Школа-конференция молодых ученых «Органическая химия: традиции и современность», С. 94. Пансионат МГУ Красновидово, 17-20 января 2020 г. (устный доклад).
13. М. Д. Семенова, С. А. Попов, Э. Э. Шульц. Получение 2,4,6-пиримидиновых производных бетулоновой кислоты. Тезисы докладов первой всероссийской школы для молодых ученых по медицинской химии, Сборник тезисов докладов Первой всероссийской школы по медицинской химии для молодых ученых MEDCHEMSCHOOL2021, С. 124. Новосибирск, 4-9 июля 2021 г. (устный доклад).

Вклад соискателя в публикациях. В публикациях 1-5, 8-13 вклад, внесенный соискателем в химическую часть исследования (выполнение экспериментальной работы, обсуждение результатов химического эксперимента и подготовку материала химического исследования к публикации), является основным. В работах 6,7 диссертантом осуществлен синтез заявляемых соединений.

Представленные в работе результаты получены Семеновой М.Д. или при её непосредственном участии. Соискателем осуществлены поиск, анализ и обобщение научной литературы по теме диссертации, планирование и проведение всех химических экспериментов, хроматографическое разделение реакционных смесей, выделение новых индивидуальных соединений, а также структурная идентификация веществ с использованием спектральных данных. Автором внесен существенный вклад в формирование общего направления работы. Соискатель осуществлял подготовку химической части публикаций к печати и представлял доклады по теме диссертационной работы на научных конференциях. Опубликованные работы достаточно полно отражают содержание диссертационной работы.

Во время выполнения диссертационной работы Семенова М.Д. проявила себя самостоятельным и квалифицированным исследователем.

Семенова М.Д. является исполнителем гранта РФФИ-Аспиранты (проект № 20-33-90237), являлась соисполнителем международного научного проекта РФФИ № 18-53-76001-ЭРА.

Диссертационная работа «Синтез новых гетероциклических соединений на основе пентациклических тритерпеноидов лупанового и урсанового ряда» Сееновой Марии Дмитриевны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 органическая химия.

Заключение принято на заседании семинара отдела медицинской химии ФГБУН Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН.

Присутствовало на заседании 46 чел., в том числе 27 кандидатов наук и 10 докторов наук. Результаты голосования: «за» - 46, «против» - нет, «воздержалось» - нет, протокол № 6 от 22.06.2022 года.

Председатель семинара,
Зав. отделом медицинской химии
НИОХ СО РАН
д.х.н., профессор, чл.-корр. РАН

Салахутдинов Н.Ф.

Секретарь семинара,
к.х.н.

Волкова А.Н.

22.06.2022 г.