



"УТВЕРЖДАЮ"

Врио директора ИОФХ им. А.Е. Арбузова
Казань РАН, академик РАН

О.Г.Синяшин

2 июня 2016 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации – Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра Российской академии наук на диссертационную работу **Соколовой Анастасии Сергеевны** «Синтез новых биологически активных азотсодержащих производных камфоры и борнеола», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – «Органическая химия»

Актуальность темы выполненной работы и ее связь с государственными научными программами

Проблема синтеза новых биологически активных веществ и создание на их основе новых лекарственных средств с комплексом ценных для медицины свойств для лечения и профилактики различных заболеваний является одной из важнейших задач современной органической, биоорганической и медицинской химии. Одним из перспективных путей при разработке новых терапевтических агентов является химическая модификация известных природных соединений. Действительно, примерно половина современных лекарственных препаратов создана на основе вторичных метаболитов, извлекаемых из высших растений, почвенных микроорганизмов или морских организмов. Поэтому любое фундаментальное исследование, посвященное химическим трансформациям природных соединений с целью усиления их биологической активности или придания ей новой направленности, является актуальным. Выбор в качестве стартовых платформ для такого рода трансформаций камфоры и борнеола был беспроблемным ходом диссертантки. Камфора – это одно из самых первых природных соединений, которое человек стал использовать как лекарство. Первое упоминание о камфоре встречается в арабских рукописях, относящихся к VI веку. И вплоть до середины XX века камфора использовалась в качестве сильнейшего аналептического средства. Борнеол – самое известное синтетическое производное камфоры – входит в состав большого числа лекарственных препаратов, тонизируя сердечную деятельность, стимулируя кровообращение, работу надпочечников; он применяется наружно при ревматизме, растяжениях, ушибах. И камфора, и борнеол содержат реакционноспособные центры, представляя собой таким образом благодатную платформу для разнообразнейших модификаций. Всё перечисленное позволяет заключить, что диссертационная работа А.С.Соколовой, посвященная синтезу новых биологически активных производных камфоры и борнеола, является **актуальным исследованием**.

Диссертационная работа А.С.Соколовой выполнена в рамках приоритетного направления фундаментальных исследований СО РАН «Фундаментальные физико-химические исследования механизмов физиологических процессов и создание на их основе фармакологических веществ и лекарственных форм для лечения и профилактики социально значимых заболеваний», программа V.48.1 «Создание методов синтеза и изучение механизмов действия перспективных лекарственных веществ и биологически активных агентов. Медицинская химия на основе природных соединений».

Структура диссертации и ее содержание

Диссертационная работа изложена на 146 страницах, содержит 69 схем, 8 таблиц, 23 рисунка и состоит из введения, четырех глав, выводов и списка цитируемой литературы из 134 наименований.

Первая глава представляет собой литературный обзор, посвященный описанным в литературе химическим превращениям камфоры и борнеола. Это характеристические реакции оксогруппы камфоры с аминами, семикарбазидом и тиосемикарбазидом. Это характеристические реакции её α -подвижного водорода: окисление камфоры до камфорохинона, получение камфорокарбоновых кислот. Это модификация камфоры по положению C1 и C10. Для борнеола – это алкилирование разнообразных карбоновых кислот. В обзоре также рассмотрены и химические трансформации продуктов перечисленных выше реакций, сообщаются и данные о биологической активности синтезированных производных. Анализ литературных данных, собранных диссертанткой, приводит к выводу, что, да, накоплен некоторый экспериментальный материал по синтезу и биологической активности производных камфоры и борнеола – всего около 70 ссылок за период с начала 1970-х по настоящее время. Причем направления работ носили точечный, если не сказать поверхностный, характер. В литературе отсутствовал системный подход к проблеме.

Этот пробел блестяще восполнила А.С.Соколова. С целью поиска новых биологически активных производных (+)-камфоры она синтезировала большую библиотеку её моно- и дииминопроизводных, содержащих в своей структуре ароматические, гетероароматические фрагменты, амино и гидроксигруппы. Была синтезирована большая серия бисаммониевых производных (+)-камфоры с двумя камфановыми каркасами и регулируемым расстоянием между кватернизованными атомами азота. Взаимодействием эфиров (-)-борнеола и хлоруксусной, а также хлорпропионовой кислот с различными аминами была синтезирована библиотека его гетероциклических производных, содержащих пирролидиновое, пиперидиновое, пиперазиновое, морфолиновое, триазольное, бензимидазольное, бензотиазольное или бензоксазольное кольцо. Получены амиды и эфиры α -груксильной кислоты, содержащие камфановые каркасы. Все эти превращения подробно описаны во **второй главе** диссертации.

Подчеркну осмысленную целенаправленность всех синтезов А.С.Соколовой: стартовые соединения, (+)-камфора и (-)-борнеол, функционализировались специально подобранными фармакофорными группами, варьировалась природа групп и расстояние между ними, менялись заместители, изменялась природа терпенового каркаса. Такой синтетический подход позволил диссертантке провести первичную оценку взаимосвязи «структура-активность» полученных камфановых производных, у которых была изучена противовирусная, анальгетическая и миорелаксантная активности, а также определена токсичность. Полученные результаты подробно обсуждаются в **третьей главе**.

Самое поразительное в диссертации – это то, что среди большого числа синтезированных производных камфоры и борнеола самым биологически активным соединением оказалось самое простое – имин **142**, продукт реакции камфоры с этаноламином! И ведь этот имин был описан ещё в 2002 году (M.D.Squire et al., *Tetrah. Asymm.*, **2002**, *13*, 1849)! Правда, синтезирован он был не как в диссертационной работе, а весьма заковыристым образом – конденсацией аминоэтанола с N-нитроимином камфоры, и его биологическую активность авторы не тестировали. Так что Анастасия Сергеевна Соколова заслуженно является автором мощнейшего противовирусного агента – ингибитора репродукции вируса гриппа A/California/07/09 (H1N1)pdm09. Его терапевтический индекс в сто раз превышает терапевтические индексы римантадина, амантадина, дейтифорина! Имин **142** был назван камфецином, запатентован и передан на доклинические исследования. Красивым (и весьма полезным!) бантиком на этом подарке медикам была разработанная диссертанткой аналитическая методика количественного определения камфецина в плазме крови. Эта весьма трудоемкая часть работы подробно описана во **второй главе**. Отмечу, что методика была валидирована по нескольким показателям.

В **четвертой главе** диссертации описаны синтетические методики, использованное оборудование и приведены характеристики полученных соединений. Особо отмечу, что приписаны все сигналы в спектрах ЯМР ^1H и ^{13}C и практически для всех соединений есть значения точных масс, полученных масс-спектрометрией высокого разрешения.

Научная новизна и практическая значимость диссертационной работы

Разработаны методики, по которым впервые синтезированы большие серии иминопроводных (+)-камфоры, содержащих ароматические и гетероароматические фрагменты, аммониевые, амино-и гидроксигруппы.

Разработаны методики, по которым впервые синтезированы производные (-)-борнеола, содержащие гетероциклический фрагмент (пирролидиновый, пиперидиновый, пиперазиновый, морфолиновый, триазольный, бензимидазольный, бензотиазольный, бензоксазольный).

Впервые синтезированы амиды и эфиры α -труксиловой кислоты, содержащие камфановые каркасы.

Тестирование противовирусной активности синтезированных соединений выявило высокоэффективный, малотоксичный ингибитор репродукции вируса гриппа A/California/07/09 (H1N1)pdm09 (названный камфецин), чей терапевтический индекс в сто раз превышает терапевтические индексы римантадина, амантадина, дейтифорина. Соединение передано на доклинические исследования.

Разработана аналитическая методика количественного определения камфецина в плазме крови.

Среди симметричных иминопроводных (+)-камфоры, содержащих две аммонийных группы и два камфановых каркаса, обнаружены миорелаксанты умеренной активности.

Выявленные взаимосвязи «структура-активность» будут полезны при планировании синтеза новых биологически активных производных монотерпеноидов.

Полученные в диссертации результаты могут быть использованы в МГУ им. М.В.Ломоносова (Москва), Институте органической химии им. Н.Д.Зелинского РАН (Москва), Институте физиологически активных веществ РАН (Черноголовка), Институте химии Коми УрО РАН (Сыктывкар), Институте нефтехимии и катализа РАН (Уфа), Уфимском институте химии РАН (Уфа), Институте органического синтеза им. И.Я.Постовского УрО РАН (Екатеринбург), Институте технической химии УрО РАН (Пермь), Иркутском институте органической химии СО РАН (Иркутск), ИОФХ им. А.Е.Арбузова КазНЦ РАН (Казань), НИИ Гриппа Минздрава РФ (С.-Петербург), НИИ Биохимии СО РАМН (Новосибирск).

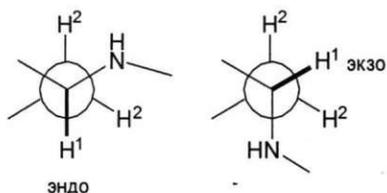
Соответствие диссертационной работы заявляемой специальности

Диссертационная работа А.С.Соколовой соответствует заявляемой специальности 02.00.03-Органическая химия. А.С.Соколова синтезировала и охарактеризовала неизвестные ранее соединения, являющиеся производными природных метаболитов камфоры и борнеола, что соответствует пункту 1 «Выделение и очистка новых соединений» и пункту 7 «Выявление закономерностей типа «структура-свойство» Паспорта специальности 02.00.03 Органическая химия ВАК Министерства образования и науки РФ.

Замечания по диссертационной работе

Атомы на структурных формулах соединений в главе 2 (обсуждение результатов) и главе 4 (экспериментальная часть) пронумерованы не так, как это требует номенклатура природных соединений, а так, как захотелось, по-видимому, сотруднику лаборатории ЯМР, сотрудничавшему с диссертанткой (атому С2 камфанового каркаса присвоен номер 1). Это совершенно сбивает с толку. Причем в главе 1 (литературный обзор) атомы пронумерованы правильно. Фокусы начинаются со стр. 35.

На стр. 35 при доказательстве образования (1*R*,2*R*,4*R*)-диастереомеров аминов 145-147 (это правильная нумерация атомов) написано, что величина вицинальной КССВ протонов Н-1 и Н-2 (это неправильная нумерация рисунка 8) при *экзо*-расположении протона Н-1 должна составлять 12-13 Гц, что соответствует их *транс*-ориентации. Из рассмотрения



ньюменовской проекции структуры, изображенной на рис. 8, видно, что это не так. При *экзо*-расположении протона Н-1 он находится в *гош*-ориентации с обоими протонами при атоме С2, что соответствует двум примерно **равным** вицинальным

константам в диапазоне 3-7 Гц. Наоборот, при *эндо*-расположении протона Н-1 его ориентация относительно *эндо*- и *экзо*-протонов Н-2 будет разная и величины КССВ будут различаться. Что и наблюдает диссертантка (для соединений **145**, **146** одна константа равна 8-7.8 Гц, другая равна 5.2-5.4 Гц). Отмечу, что *транс* вицинальная константа не обязана всегда составлять 12-13 Гц (как пишет диссертантка). При значении диэдральных углов 150-160° она уменьшается до 7-10 Гц, что и фиксируется в спектрах соединений **145** и **146**.

При восстановлении иминов **142-144** борогидридом натрия наряду с (1*R*,2*R*,4*R*)-диастереомерами (правильная нумерация) соединений **145-147** могли образоваться и их (1*R*,2*S*,4*R*)-эпимеры. В диссертации это не обсуждается.

На стр. 53 написано, что слабопольный сдвиг протонов в спектрах ЯМР соединений **225** и **226** обусловлен эффектом экранирования. Это не так. Экранирование протонов системой π -электронов соседней связи (связей) всегда приводит к сильнопольному сдвигу.

На стр. 53 и 126 в левой части структуры соединения **228** вместо (-)-борнеола нарисован (1*S*,2*S*,4*S*)-(+)-изоборнеол.

На стр. 55 написано, что использовался (+)-камфен **233**, однако на схеме 65 под этим номером нарисован (1*S*,4*R*)-(-)-камфен. На этой же схеме под номерами **234** и **107** нарисованы не рацемические N-борнилацетамид и амин, как написано на стр. 55, а конкретные (1*R*,2*R*,4*R*)-(-)-N-изоборнилацетамид и соответствующий амин.

На стр. 36 написано, что имин **150** содержит сложнэфирную группу. Это не так. Он её не содержит.

В ходе изучения взаимосвязи структуры и противовирусной активности иминопроизводных (+)-камфоры были синтезированы димерные производные **187** соединения-лидера **142**, однако об их активности в диссертации не сообщается.

Высказанные замечания не затрагивают сущности работы, достоверности полученных результатов, сделанных на их основе выводов и не умаляют научной и практической значимости диссертационной работы А.С.Соколовой.

Достоверность полученных результатов

Достоверность полученных результатов и обоснованность сделанных на их основе выводов не вызывает сомнений. Строение и структура синтезированных соединений установлены методами спектроскопии ЯМР ^1H и ^{13}C , а также масс-спектрометрии высокого разрешения. В ряде случаев структура соединений установлена методом РСА. Полученные результаты находятся в соответствии с современными теориями и литературными данными по родственным соединениям.

Апробация полученных результатов, публикации и автореферат диссертации

Материалы диссертационной работы докладывались и обсуждались на следующих международных и российских конференциях: «Current Topics in Organic Chemistry» (Novosibirsk, June 6-10, 2011), 6-я Всероссийская конференция молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием Менделеев-2012 (г. Санкт-Петербург, 3-6 апреля 2012 г.), 50-я Международная научная студенческая конференция «Студент и научно-технический прогресс» МНСК-2012 (г. Новосибирск, 13-19 апреля 2012 г.), Международный молодежный научный форум «Ломоносов-2013» (г. Москва, 8-12 апреля 2013 г.), 3rd International Conference on Pharmaceutical Sciences (Tbilisi, Georgia, 29-31 May 2015), Междисциплинарный Симпозиум по Медицинской, Органической и Биологической химии (Крым, пгт Новый свет, 25-28 мая 2014), 2-nd Russian Conference on Medicinal Chemistry MedChem-2015 (Novosibirsk, 5-10 July 2015), Youth Conference "Current Topics in Organic Chemistry" (Russia, Sheregesh, 21-27 March, 2015).

По материалам диссертации опубликовано 5 статей в изданиях, рекомендованных ВАК, 3 патента РФ и 10 тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях.

Автореферат работы как по структуре, так и по сути изложения полученных результатов полностью и верно отражает содержание диссертации.

Заключение

Оценивая диссертационную работу А.С.Соколовой в целом, отмечу, что она соответствует специальности 02.00.03 – Органическая химия и является актуальной, цельной и законченной научно-квалификационной работой, основные результаты которой опубликованы в изданиях, рекомендованных ВАК, а также в трех патентах. Поставленные диссертанткой цели, а именно разработка методов синтеза новых производных (+)-камфоры и (-)-борнеола, изучение их биологической активности и установление взаимосвязи «структура-активность», полностью достигнуты. Синтезировано более ста производных, тестирование биологической активности которых выявило соединения, обладающие противовирусной, миорелаксантами, анальгетической активностями. Соединение-лидер, проявившее высокую ингибирующую активность в отношении вируса гриппа H1N1, передано на доклинические исследования. Это великолепный результат для диссертационной работы фундаментальной направленности!

Отмечу, что диссертационная работа выполнена на высоком экспериментальном уровне. Проведенные эксперименты ярко демонстрируют мастерство А.С.Соколовой как синтетика, её отличные знания органической химии и методов органического синтеза. Диссертация написана хорошим научным языком, оформлена аккуратно и красиво. Весьма тщательно оформлена экспериментальная часть: синтетические методики написаны подробно, при охарактеризовании веществ приписаны все сигналы в спектрах ЯМР ^1H и ^{13}C .

По своей научной новизне, практической значимости и объему полученных данных диссертационная работа А.С.Соколовой соответствует пункту 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2014 г. № 842. Диссертация А.С.Соколовой **содержит решение задачи, имеющей существенное значение для органической химии – синтез новых биологически активных соединений.**

Считаю, что автор диссертационной работы, Анастасия Сергеевна Соколова, является высококвалифицированным химиком и достойна присуждения ей ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – Органическая химия.

Диссертационная работа обсуждена на расширенном научном семинаре ИОФХ им. А.Е.Арбузова КазНЦ РАН по направлению «Органическая химия и химия биологически активных соединений» (протокол № 1 от 31 мая 2016 г.). Данный отзыв заслушан и одобрен.

Ведущий научный сотрудник
лаборатории фосфорсодержащих аналогов
природных соединений
ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН,
д.х.н., профессор

Владимир Евгеньевич Катаев

телефон: (843) 273-93-65

факс: (843) 273-22-53

<http://www.iopc.ru/>

e-mail: kataev@iopc.ru

Катаев

