

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Трофимова Дмитрия Геннадьевича «Новые стерически затруднённые нитроксильные радикалы из 4*H*-имидазол-3-оксидов», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – Органическая химия.

Стабильные нитроксильные радикалы обладают большим потенциалом для применения в различных областях науки и техники. Они активно используются при изучении процессов контролируемой полимеризации, перспективны в качестве контрастных агентов для МР-томографии. На их основе построены органические перезаряжаемые батареи. Нитроксилы привлекают внимание как парамагнитные органические блоки, которые могут быть использованы для синтеза гетероспиновых молекулярных магнетиков. Высокая чувствительность магнитных характеристик нитроксильного фрагмента к локальному окружению и внутримолекулярным эффектам обуславливает их активное использование в биохимии, биофизике и исследовании полимеров. Вызывают повышенный интерес спиновые метки, которые используются в качестве молекулярных зондов для изучения структуры и молекулярной подвижности различных физико-химических и биологических систем. Среди них особое место занимают нитроксильные радикалы, спектральные характеристики которых чувствительны к pH. Такие соединения стали эффективным инструментом для определения локальных значений pH на поверхности биологических мембран биомолекул и на поверхности катализаторов. В биофизических исследованиях чаще всего используются pH-чувствительные спиновые зонды на основе 4-амино-2,5-дигидроимидазол-1-оксила, обладающие высокой чувствительностью спектра ЭПР к изменениям кислотности в физиологически важном диапазоне (pH 6 ÷ 8). Однако, нитроксильные радикалы этого типа малоустойчивы к воздействию биогенных восстановителей и для решения данной проблемы вводят объемные заместители в ближайшее окружение радикального центра. При этом, большинство из них содержит неполярные заместители и, вследствие этого, малорастворимы в воде и не могут быть ковалентно связаны с биомолекулами. В связи с этим, представленная работа, целью которой служит разработка методов синтеза новых производных 4-амино-2,5-дигидроимидазол-1-оксилов, содержащих функциональные группы, способные обеспечивать ковалентное связывание с биологическими молекулами, либо с поверхностями различных материалов, проявляющих высокую чувствительность к pH в заданном диапазоне (в особенности, в области около 7) и отличающихся высокой

устойчивостью к восстановлению в биологических образцах – является крайне актуальной.

Общий объем диссертации составляет 161 страницу, которые включают 14 рисунков, 102 схемы и 7 таблиц. Она имеет традиционную структуру: за введением следует литературный обзор (глава 1), затем обсуждение полученных результатов (главы 2-4), экспериментальная часть (глава 5), выводы, список цитируемой литературы (109 ссылок на первоисточники) и приложение.

Во введении приведены основополагающие работы российских и иностранных коллег, которые послужили отправными точками при постановке целей диссертационной работы. Обоснована актуальность выбранной темы исследования, сформулирована ее цель, раскрыта научная новизна и практическая значимость работы.

Глава 1 (Литературный обзор) посвящена химическим свойствам нитронов. В ней детально изложены сведения о взаимодействии нитронов с металлоорганическими соединениями – одного из основных и эффективных подходов к получению целевых нитроксильных радикалов с необходимыми функциональными группами, который автор использовал в своей работе. Рассмотрены возможные пути протекания данных процессов, а именно нуклеофильное замещение и присоединение, переметаллирование, дезоксигенирование. Изучены механизмы превращений и реакционная способность нитронов в реакциях нуклеофильного присоединения. Стоит отметить, что данный раздел хорошо структурирован и насыщен информацией, он включает около 70 российских и зарубежных литературных источников, содержит 60 химических схем и занимает практически треть (53 стр.) объема диссертации.

Обсуждение полученных результатов состоит из трех глав.

В начале **главы 2** приведен краткий обзор основных достижений в области синтеза рН-чувствительных спиновых зондов и меток, рассмотрены существующие проблемы. Приведен анализ факторов, влияющих на рК 4-амино-2,5-дигидроимидазол-1-оксидов, что позволило автору определить перспективные пути функционализации данных объектов. Для достижения поставленной цели, диссертантом изучена возможность использования синтетической последовательности "введение пент-4-енильного фрагмента – внутримолекулярное 1,3-диполярное циклоприсоединение – раскрытие изоксазолидинового цикла – окисление" для получения соединений с пространственно-затрудненным нитроксильным фрагментом из 4*H*-имидазол-3-оксидов. В ходе проведенного исследования, было установлено, что процесс внутримолекулярного 1,3-

диполярного циклоприсоединения 2-(пент-4-енил)-4*H*-имидазол-3-оксидов чувствителен к размеру заместителей в 4-ом положении имидазольного цикла, а выбранная синтетическая стратегия не позволяет получать пространственно-затрудненные 4-амино-2,5-дигидроимидазол-1-оксиды. Однако, с использованием этого подхода был получен нитроксил **296** со спиро-(2-гидроксиметил)-циклопентановым фрагментом в положении 2 и алкоксиамин **304** на его основе, обладающий потенциалом в качестве регулятора живой радикальной полимеризации.

В главе 3 описаны синтезы радикалов ряда 4-амино-2,5-дигидроимидазол-1-оксида. С использованием подхода, основанном на присоединении реактивов Гриньяра, были введены во 2-ое положение имидазольного цикла функциональные группы, содержащие гидроксигруппу, 1,3-диоксолановый фрагмент или терминальным этиленовый фрагмент, дальнейшие трансформации которых, позволило получить серию гидрофильных спиновых зондов, обладающих рН-зависимым спектром ЭПР, в том числе, чувствительных к изменениям кислотности в физиологически значимом диапазоне (рН 6 ÷ 8). В ходе работы были усовершенствованы синтетические схемы, что позволило повысить их эффективность при получении целевых нитроксидов. Было показано, что путем варьирования спейсера между радикальным центром и функциональной группой в положении 2 гетероцикла можно воздействовать на рК спиновой метки: введение ароматического дает рК<7, а алифатического – рК>7. Необходимо отметить, что гидрохлорид нитроксила **367** в университет США, на базе которого был синтезирован спиновый зонд **368**, продемонстрировавший высокую эффективность при исследовании ацидоза в опухолях или в сердечной мышце при ишемии.

Глава 4 посвящена синтезу рН-чувствительных спиновых меток путем функционализации 4-го положения 2,5-дигидроимидазол-1-оксида. Посредством нуклеофильного замещения цианогруппы в 4-ом положении имидазола бензилметиламином с защищенной альдегидной группой и дальнейших модификаций образующегося нитрона, были получены спиновые метки, обладающие функционалом для ковалентного присоединения и чувствительные к изменению кислотности в широком интервале рН от 1 до 6, которые перспективны для исследования поверхностей мезопористых материалов, катализаторов, сорбентов.

Глава 5 (Экспериментальная часть) диссертации выполнена весьма тщательно. Строение полученных соединений подтверждено с привлечением элементного анализа,

ИК-, УФ- и масс-спектропии, данных спектров ^1H и ^{13}C ЯМР. Спектры ЭПР и кривые титрования приведены в приложении.

Основные результаты диссертации опубликованы в виде 4 научных статей в высокорейтинговых журналах и 16 тезисов докладов на конференциях российского и международного уровня. Автореферат и приведенные публикации адекватно отражают содержание диссертации. Выводы диссертации вполне соответствуют полученным данным. Диссертационная работа написана в классическом стиле, материал изложен ясно и что важно насыщен анализом механизмов протекания всевозможных реакций. Работа выполнена и оформлена хорошо, содержит незначительное количество опечаток.

По содержанию рецензируемой работы можно выделить следующие вопросы и замечания:

1. В выводах диссертации допущена опечатка - «5,5-диалкиламино-4*H*-имидазол-3-оксидов» вместо «5-диалкиламино-4*H*-имидазол-3-оксидов». Подобная опечатка встречается и в тексте автореферата на стр. 4.
2. В тексте автореферата на стр. 10 в предложении «Следует отметить, что наиболее высокие *pK* имеют 2,5-дигидроимидазол-1-оксилы, содержащие пирролидиновый фрагмент в положении 5» ошибочно указано положение 5 вместо правильного – 4.
3. В настоящее время РСА стал рутинным методом. Почему этот метод не был применен для установления строения кристаллических соединений?
4. Насколько масштабируемы разработанные методики для синтеза практически значимых нитроксильных радикалов?
5. Какова устойчивость к стерилизации ценных для изучения биологических объектов спиновых меток?

Замечания по диссертационной работе носят частный характер и не снижают ее общую высокую оценку. Работа представляет собой выполненное на хорошем уровне научное исследование и убедительно демонстрирует высокую теоретическую подготовку и высокий уровень диссертанта как химика – синтетика. Основная цель, поставленная в диссертационном исследовании, полностью достигнута. В результате проведенного исследования были разработаны эффективные методы синтеза новых стабильных стерически-затрудненных нитроксильных радикалов ряда 4-амино-2,5-дигидроимидазола. Осуществленный функционально-ориентированный синтез позволил получить ценные

водорастворимые нитроксильные радикалы, спектры ЭПР которых отличаются высокой чувствительностью к изменениям кислотности в диапазоне pH $6 \div 8$, а также гидрофильные спиновые зонды и спиновые метки, способные ковалентно связываться с биомолекулами. Получен первый гидрофильный спиновый зонд, пригодный для мониторинга изменений pH в тканях живых организмов *in vivo* и *ex vivo*, в частности, в сердечной мышце в условиях ишемии-реперфузии и в раковых опухолях. Впервые синтезированы спиновые метки, отличающиеся высокой чувствительностью в широком диапазоне pH $1 \div 6$. Полученные нитроксилы успешно используются в исследованиях, проводимых в Университетах США и УРФУ. Разработанные синтетические подходы открывают доступ к новым нитроксильным радикалам, перспективным для использования в биохимии, биофизике и материаловедении.

На основании вышеизложенного считаю, что по своей актуальности, научной новизне и практической значимости диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям в пункте 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденном постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г., а ее автор, Трофимов Дмитрий Геннадьевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – органическая химия.

Официальный оппонент, с.н.с. Лаборатории многоспиновых координационных соединений МТЦ СО РАН

к.х.н.

С. Е. Толстиков



Подпись

заверяю.

Ученый секретарь МТЦ СО РАН

д.х.н. Г. В. Романенко

8.06.16



Толстиков Святослав Евгеньевич, к.х.н., с.н.с.

Тел. (383) 330-81-14, E-mail: tse@tomo.nsc.ru.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт «Международный томографический центр» Сибирского отделения Российской академии наук (МТЦ СО РАН), 630090, г. Новосибирск, ул. Институтская 3а.