

"УТВЕРЖДАЮ"

Директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки
"Институт химической физики им. Н.Н. Семёнова" Российской академии наук

академик РАН

А.А. Берлин

2016



ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Трофимова Дмитрия Геннадьевича **"НОВЫЕ СТЕРИЧЕСКИ ЗАТРУДНЁННЫЕ НИТРОКСИЛЬНЫЕ РАДИКАЛЫ ИЗ 4Н-ИМИДАЗОЛ-3-ОКСИДОВ"**, представляемой на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 - органическая химия.

С момента открытия в Институте химической физики им. Н.Н. Семёнова в 1964 г. реакций без затрагивания неспаренного электрона, химия стабильных нитроксильных радикалов и их разнообразные применения остаются одной из наиболее интересных и быстро развивающихся областей науки. Успехи в области синтеза новых нитроксильных радикалов играют важнейшую роль в развитии их применения в биофизике, молекулярной биологии, химии полимеров, медицине и способствуют созданию новых областей применения. Например, нитроксилы имидазолинового ряда, чьи спектры ЭПР зависят от величины рН, стали уникальным методом определения локальных значений рН в гетерогенных системах и широко используются в биофизике для изучения механизмов трансмембранного переноса и в материаловедении для исследования поверхности катализаторов. В последние годы большое внимание привлекают нитроксильные радикалы с объемными заместителями в окружении >N-O группы, называемые стерически (или пространственно) затруднёнными. Меньшая доступность >N-O группы в таких радикалах обеспечивает их повышенную устойчивость к биогенным восстановителям, что открывает новые возможности для исследования живых систем. Поэтому, **актуальность темы** диссертационной работы Д.Г. Трофимова не вызывает сомнений.

Актуальность диссертации подчёркивает и сформулированная **цель работы**, которая ориентирована на решение проблем биофизической химии: разработке методов синтеза новых спиновых меток и зондов, имеющих высокую чувствительность к рН в области рН ~7 и отличающихся высокой устойчивостью к восстановлению в биологических образцах. Для достижения поставленной цели, в качестве базовой структуры выбраны 4-амино-2,5-дигидроимидазол-1-оксилы, и предложена синтетическая схема, основанная на введении заместителей по нитронному атому углерода производных 4Н-имидазол-3-оксида, с последующей модификацией функциональных групп.

Диссертационная работа изложена на 161 странице машинописного текста, содержит 102 схемы, 14 рисунков, 7 таблиц и состоит из введения, обзора литературных данных, обсуждения полученных результатов, экспериментальной части, выводов, списка цитированной литературы и приложения.

В главе 1 проведен обзор литературы, посвящённый способам синтеза нитроксильных радикалов при взаимодействии нитронов с металлоорганическими соединениями. Большое внимание в обзоре уделено методам введения легко модифицируемых функциональных групп с помощью реактивов Гриньяра. Наличие такого обзора в диссертации является вполне обоснованным, т.к. именно такая методология синтеза неоднократно использована автором в последующих главах. Обзор достаточно полно охватывает опубликованные в мировой литературе данные и показывает потенциал методов синтеза функционально-замещённых нитроксильных радикалов, основанных на реакции нитронов с металлоорганическими реагентами.

Глава 2 содержит краткое введение, обобщающее важнейшие недавние достижения в области синтеза рН-чувствительных спиновых меток и зондов, которое дает представление о нерешённых проблемах в этой области, и обосновывает молекулярный дизайн целевых структур, которые предполагает получить автор. Анализ литературы по влиянию различных структурных особенностей на рК 4-амино-2,5-дигидроимидазол-1-оксидов позволил автору выбрать наиболее рациональные пути достижения высокой чувствительности к изменениям кислотности среды в важном для физиологии диапазоне и повышения их устойчивости к восстановлению. Затем автор излагает и обсуждает собственные результаты по изучению возможности использования внутримолекулярной реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения в ряду α -(4-пентенил)нитронов - производных 4Н-имидазол-3-оксида для синтеза большого числа радикалов. Проведённое исследование показало, что предложенная схема синтеза имеет ряд ограничений. Автору удалось получить спироциклический нитроксильный радикал имидазолинового ряда, не обладающий чувствительностью к изменениям рН в желаемом диапазоне. Этот радикал оказался перспективным регулятором радикальной полимеризации метилметакрилата. Однако попытки синтеза рН чувствительных нитроксидов этим методом не удались. Установлено, какие побочные процессы мешают успешному синтезу ключевых α -алкенилнитронов, и показано, что для 4Н-имидазол-3-оксида, содержащего этильные группы в положении 4 гетероцикла достичь приемлемой конверсии во внутримолекулярной реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения не удаётся.

В Главе 3 изложены различные способы синтеза 4-амино-2,5-дигидроимидазол-1-оксидов с функциональными группами в положении 2. В основу этих подходов положена описанная в литературе реакция производных 4Н-имидазол-3-оксида с реактивами Гриньяра. Из анализа литературных данных сделано предположение о структурных особенностях, которые нужны для достижения желаемых характеристик. Далее автор осуществил синтез целого ряда новых рН-чувствительных нитроксильных радикалов с рК 6.5-7.5. Среди полученных соединений гидрофильный зонд, пригодный для мониторинга изменений рН *in vivo* и *ex vivo*. В ходе этой работы опробованы различные схемы синтеза целевых соединений, существенно усовершенствованы методы синтеза промежуточных соединений, что позволило поднять выход целевого гидрофильного рН-чувствительного

спин-зонда в 4 раза - т.е., фактически, сделать его доступным соединением. Подобраны удобные методы окисления гидроксиметильной и альдегидной групп в карбоксильную с сохранением >N-O фрагмента. Разработаны методы введения различных функциональных групп в алифатическую цепь в положении 2 4-амино-2,5-дигидроимидазол-1-оксидов. Показано, что ряд полученных нитроксильных радикалов могут ковалентно связываться с другими молекулами, например, по первичной аминогруппе. Полученные радикалы представляют собой уникальные, не имеющие аналогов, молекулярные инструменты и, несомненно, найдут применение в биофизических исследованиях.

Глава 4 посвящена изложению методов функционализации заместителей при экзоциклическом атоме азота 4-диалкиламино-2,5-дигидроимидазол-1-оксидов, для чего автор использовал возможности ранее разработанной схемы синтеза таких радикалов, при которой введение третичной аминогруппы производится посредством нуклеофильного замещения цианогруппы. В качестве нуклеофила использовали вторичный амин, с диоксолановым фрагментом - скрытой формой альдегидной группы. Полученный нитроксильный радикал - аналог широко используемого спинового зонда с расширенным диапазоном чувствительности к pH за счёт наличия двух основных центров в молекуле - амидинового фрагмента в цикле и 4-пиридинильной группы. Модификация альдегидной группы, высвобождающейся после снятия диоксолановой защиты, позволила получить спин-метки, чувствительные к изменению pH при $1 < \text{pH} < 6$, которые можно использовать для исследования поверхности мезопористых материалов, сорбентов и катализаторов.

Глава 5 диссертации (Экспериментальная часть) содержит подробное описание разработанных методик синтеза, спектральные и аналитические характеристики полученных соединений, за исключением спектров ЭПР и кривых титрования, которые вынесены в **Приложение**.

Выводы диссертационной работы Д.Г. Трофимова полностью соответствуют достигнутому результату и следуют из них.

Научная новизна состоит в следующем:

- впервые продемонстрирована применимость последовательности "введение 4-пентенильного фрагмента – внутримолекулярное 1,3-диполярное циклоприсоединение - раскрытие изоксазолидинового цикла – окисление" для синтеза нитроксильных радикалов из 4Н-имидазол-3-оксидов и выявлены ограничения этого метода.
- Показано, что присоединение реактивов Гриньяра к 5-диалкиламино-4Н-имидазол-3-оксидам позволяет получать производные 4-диалкиламино-2,5-дигидроимидазол-1-оксида, содержащие 4-(гидроксиметил)-фенильные группы, 1,3-диоксолановый и терминальный этиленовый фрагмент в боковой цепи. Разработаны удобные способы химической модификации этих групп с сохранением нитроксильного фрагмента и амидиновой группы, позволившие получить разнообразные функциональные производные.
- Показано, что присоединение активной алкилирующей группы к 4-амино-2,5-дигидроимидазол-1-оксидам через жёсткий *para*-фениленовый фрагмент позволяет избежать внутримолекулярного алкилирования амидиновой группировки и обеспечивает устойчивость спиновых меток.

По результатам диссертационной работы опубликованы 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК и индексируемых базами данных Web of Science и Scopus, отдельные части работы были представлены на российских и международных конференциях, опубликованы тезисы 16 докладов. Основные положения и выводы, сформулированные в диссертации, содержатся в вышедших публикациях; на момент выхода из печати все представленные результаты являлись новыми.

Практическая значимость диссертационной работы Д.Г. Трофимова весьма высока. Синтезирован большой набор новых нитроксильных радикалов ряда 4-амино-2,5-дигидроимидазола, в том числе, водорастворимые производные, спектры ЭПР которых отличаются высокой чувствительностью к изменениям кислотности в диапазоне pH 6 ÷ 8. На основе этих радикалов синтезированы гидрофильные спин-зонды и спин-метки, способные ковалентно связываться с биомолекулами. Впервые синтезирован 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 спин-метки, отличающиеся высокой чувствительностью в широком диапазоне pH 1 ÷ 6. Эти новые соединения успешно используются в исследованиях, проводимых в Университетах штатов Огайо, Северная Каролина, США, в Уральском Федеральном университете.

Автореферат диссертации написан хорошим современным научным языком, и, как оригинальные статьи опубликованные по теме диссертации, содержит всю необходимую информацию. Замечания по автореферату диссертации:

- 1) на стр. 4 5-диалкиламино-4Н-имидазол-3-оксиды ошибочно названы 5,5-диалкиламино-4Н-имидазол-3-оксидами;
- 2) было бы нагляднее, если бы в автореферате автор привел в виде рисунков некоторые (основные) pH-зависимости для новых спин-зондов, представленных в Приложении к диссертационной работе.

К диссертации также имеется ряд замечаний:

1. На схеме 75 (стр. 77) реакция взаимодействия оксима 332 с п-толуолсульфо-хлоридом в присутствии основания показана обратимой, хотя протекание обратного процесса представляется невозможным.
2. Автор нигде не приводит описание методов определения рК, хотя, судя по приведённым в Приложении материалам, для разных нитроксильных радикалов эти величины определены разными методами. Автор не дает объяснений, почему и в чем различие получаемых разными методами результатов.
3. Соединения 308а и 339а охарактеризованы только данными ЯМР спектроскопии, таким образом, их строение нельзя считать полностью доказанным.

Сделанные замечания не влияют на общую высокую оценку рецензируемой работы. Работа выполнена на хорошем современном уровне и производит благоприятное общее впечатление и написана хорошим научным языком. Структуры нитроксильных радикалов и промежуточных соединений подтверждены спектральными методами и данными элементного анализа. Разработанные методы и подходы могут быть использованы в синтезе новых перспективных соединений, а некоторые из полученных нитроксильных радикалов найдут применение в биофизике и материаловедении. Личный вклад Д.Г. Трофимова в диссертационную работу является решающим, а полученные им результаты вносят весомый вклад в развитие химии нитроксильных радикалов.

Результаты работы можно рекомендовать для использования в НИОХ СО РАН, в лабораториях таких научных организаций, как ИХФ РАН, ИОХ РАН, Москва, ИХКиГ СО РАН, Новосибирск, ИПХФ РАН, Черноголовка).

Согласно паспорту специальности 02.00.03 - органическая химия, представленная работа соответствует пунктам:

3. Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул;

7. Выявление закономерностей типа "структура-свойство".

Таким образом, диссертационная работа Трофимова Дмитрия Геннадьевича "Новые стерически затруднённые нитроксильные радикалы из 4Н-имидазол-3-оксидов" является научно-квалификационной работой высокого уровня, имеет обоснованную актуальность, научную и практическую значимость, обладает достаточной новизной, а полученные результаты вносят заметный вклад в развитие органической химии в целом и химии нитроксильных радикалов в частности. Полученные результаты по синтезу новых спиновых зондов и меток имеют существенное значение для биофизических и других исследований. Рецензируемая работа соответствует требованиям п.9 "Положения о присуждении учёных степеней", предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор Дмитрий Геннадьевич Трофимов заслуживает присуждения ему учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 - органическая химия.

Отзыв на диссертационную работу Трофимова Дмитрия Геннадьевича "Новые стерически затруднённые нитроксильные радикалы из 4Н-имидазол-3-оксидов" обсуждён на научном семинаре Лаборатории кинетики механохимических и свободнорадикальных процессов им. В.В. Воеводского Института химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН (Протокол № 7 от 26 мая 2016 г.). На заседании присутствовало 3 доктора и 4 кандидата химических наук.

Кокорин Александр Ильич,
доктор химических наук,
главный научный сотрудник
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки "Институт химической
физики им. Н.Н. Семёнова"
Российской академии наук

119991 Москва, ул. Косыгина 4.
телефон: (495)939-7494
факс: (495)651-2191.
E-mail: kokorin@chph.ras.ru



Подписи Кокорина А.И.

заверяю

Ученый секретарь ИХФ РАН, к.х.н.

Л.Н. Стрекова