

## СТЕНОГРАММА

Заседания диссертационного совета 24.1.192.02 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН)

г. Новосибирск

21 ноября 2025 г.

## ЗАЩИТА ДИССЕРТАЦИИ

младшим научным сотрудником Лаборатории физиологически активных веществ Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук Цыпышевым Дмитрием Олеговичем на тему: «Монотерпен-кумариновые конъюгаты, соединенные гетероциклическим линкером, перспективные биологически активные соединения», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.3 – органическая химия, и 1.4.16 – медицинская химия.

Научный руководитель: д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Официальные оппоненты:

**Аксенов Николай Александрович**, профессор, доктор химических наук, заведующий кафедрой органической химии, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Кавказский федеральный университет», г. Ставрополь;

**Хлебникова Татьяна Борисовна**, кандидат химических наук, заведующий лабораторией НТК Каталитического жидкофазного синтеза органических соединений. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Институт катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск;

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук, г. Москва.

На заседании присутствовали 21 член диссертационного совета из 25, в том числе:

|                                       |                                          |         |
|---------------------------------------|------------------------------------------|---------|
| 1) Волчо Константин Петрович          | д.х.н., проф. РАН, председатель          | 1.4.16. |
| 2) Тихонов Алексей Яковлевич          | д.х.н., доцент РАН, зам. председателя    | 1.4.3.  |
| 3) Патрушев Сергей Сергеевич          | к.х.н., учёный секретарь                 | 1.4.16. |
| 4) Артемьев Александр Викторович      | д.х.н., проф., член совета               | 1.4.4.  |
| 5) Багрянская Елена Григорьевна       | д.ф.-м.н., проф., член совета            | 1.4.3.  |
| 6) Багрянская Ирина Юрьевна           | д.х.н., член совета                      | 1.4.4.  |
| 7) Басова Тамара Валерьевна           | д.х.н., член совета                      | 1.4.4.  |
| 8) Гатилов Юрий Васильевич            | д.х.н., член совета                      | 1.4.4.  |
| 9) Зибарев Андрей Викторович          | д.х.н., член совета                      | 1.4.3.  |
| 10) Казанцев Максим Сергеевич         | д.х.н., член совета                      | 1.4.4.  |
| 11) Карпов Виктор Михайлович          | д.х.н., член совета                      | 1.4.3.  |
| 12) Колтунов Константин Юрьевич       | д.х.н., доцент, член совета              | 1.4.3.  |
| 13) Лузина Ольга Анатольевна          | д.х.н., член совета                      | 1.4.16. |
| 14) Макаров Александр Юрьевич         | д.х.н., член совета                      | 1.4.3.  |
| 15) Меженкова Татьяна Владимировна    | д.х.н., член совета                      | 1.4.3.  |
| 16) Салахутдинов Нариман Фаридович    | д.х.н., проф., чл.-корр РАН, член совета | 1.4.16. |
| 17) Харитонов Юрий Викторович         | д.х.н., член совета                      | 1.4.3.  |
| 18) Шелковников Владимир Владимирович | д.х.н., член совета                      | 1.4.4.  |
| 19) Шульц Эльвира Эдуардовна          | д.х.н., проф., член совета               | 1.4.16. |
| 20) Шундрин Леонид Анатольевич        | д.х.н., член совета                      | 1.4.4.  |
| 21) Яровая Ольга Ивановна             | д.х.н., член совета                      | 1.4.16. |

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Коллеги, доброе утро. Сегодня у нас в повестке дня две защиты на соискание ученой степени кандидата химических наук, обе по двум специальностям — органическая химия и медицинская химия. У нас в зале присутствует 21 член диссертационного совета, из них 8 по органической химии, 5 по медицинской химии. Соответственно, кворум есть, и мы можем приступить к работе. Так как научным руководителем первого соискателя, Цыпышева Дмитрия Олеговича, являюсь я, то во избежание конфликта интересов, первое заседание будет вести заместитель председателя диссертационного совета Алексей Яковлевич Тихонов. Ему слово.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

Доброе утро. Мы продолжим заседание диссертационного совета и слово предоставляется ученому секретарю диссертационного совета. Пожалуйста, Сергей Сергеевич.

Ученый секретарь диссертационного совета – к.х.н. Патрушев Сергей Сергеевич

Здравствуйте. В диссертационном деле Цыпышева Дмитрия Олеговича имеется заявление, поданное 26 августа 2025 года, копия диплома магистра с отличием, копия справки о сдаче кандидатских экзаменов, список научных трудов. Отзыв научного руководителя, доктора химических наук профессора РАН Волчо Константина Петровича. Заключение организации, в которой выполнялась диссертация - наш институт. Отзыв ведущей организации, это институт элементоорганических соединений имени Несмеянова РАН, город Москва. Два отзыва официальных оппонентов: доктора химических наук профессора Аксенова Николая Александровича, заведующего кафедрой органической химии химического факультета Северокавказского федерального университета города Ставрополь, и кандидата химических наук Хлебниковой Татьяны Борисовны, старшего научного сотрудника отдела тонкого органического синтеза Института катализа имени Борескова, СО РАН, Новосибирск. 10 отзывов на автореферат, и проект заключения диссовета. Дмитрий Олегович, вам слово.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

Дмитрий Олегович, 20 минут, пожалуйста, не более.

Цыпышев Дмитрий Олегович

Доброе утро. Вашему вниманию предоставляется доклад, посвященный работе на тему «синтез монотерпен-кумариновых конъюгатов, перспективных биологически активных соединений».

Монотерпен-кумариновые конъюгаты — это соединения с широким спектром биологической активности. Так, например, варфарин, лекарство, производное кумарина, является антикоагулянтом непрямого действия. Монотерпен-кумариновый конъюгат аураптен обладает антибактериальной, антиоксидантной и антимеланогенной активностью, а пренилированные кумарины, выделенные из *Manilkara zapota*, являются противовирусными препаратами, обладающими эффектом против вируса иммунного дефицита человека.

Ранее в нашей лаборатории были исследованы монотерпен-кумариновые конъюгаты, связанные через группу простого эфира. Как было выяснено, они обладают ингибирующей активностью против респираторно-синцитиального вируса. РСВ — это один из группы вирусов, вызывающих простудные заболевания. Ежегодно им болеют до 3,6 миллионов человек, и он уносит до 100 тысяч жизней детей в возрасте до 5 лет. Единственным препаратом - малой молекулой, который рекомендуется для терапии РСВ является рибавирин, но он не применяется широко ввиду низкой эффективности и массы побочных эффектов. Следовательно, можно сказать, что поиск новых ингибиторов репродукции РСВ является приоритетной задачей.

Также, в нашей лаборатории было выяснено, что монотерпен-кумариновые конъюгаты, связанные через простой эфир, обладают способностью ингибировать фермент тирозил-ДНК-фосфодиэстеразу 1. TDP1 — это фермент, который обладает способностью устранять повреждения ДНК, вызываемые проблемами в работе топоизомеразы 1. Так, например, образование комплексов топотекан-топоизомераза-1-ДНК — это одно из применяемых направлений в терапии рака. Следовательно, поиск препаратов синергии, которые способны ингибировать фермент TDP1 и увеличивать эффективность противоопухолевой терапии, также является приоритетной задачей.

В нашей лаборатории, ранее исследованные монотерпен-кумариновые конъюгаты, связанные через простой эфир, показали достаточно высокую активность по этим направлениям, однако не всегда является желательной активностью по обоим направлениям сразу.

Далее, при исследовании механизма действия соединения **2**, то есть **K142**, было показано, что свою противовирусную активность он проявляет на ранней стадии жизненного цикла вируса. В ходе исследования с применением конфокального микроскопа было показано то, что он хоть и не ингибирует возможность вируса присоединиться к клетке, он ингибирует возможность слияния вируса с клеткой. Т.е. было определено, что его мишень. является белок F.

Далее, данные *in silico*-исследования по белку F респираторно-синцитиального вируса показали то, что внедрение гетероциклического линкера способно увеличить сродство

соединений к данной мишени и, следовательно, повысить противовирусную активность монотерпен-кумариновых конъюгатов.

Следовательно, целью работы был синтез новых потенциальных противовирусных агентов в отношении респираторно синцитиального вируса, ингибиторов репарации ДНК TDP1 на основе кумаринов и функционализированных монотерпенов, сочлененных через гетероциклический линкер.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи. Синтез стартовых 7-гидроксикумариновых блоков и их пропаргильных эфиров; синтез азидов и оксимов терпенового ряда, исходных соединений для диполярного [3+2]-циклоприсоединения азидов и нитрилоксидов к алкинам; синтез конъюгатов пропаргильных эфиров кумаринов с терпенами, связанных посредством 1,2,3-триазольного линкера; синтез конъюгатов пропаргильных эфиров кумаринов с терпенами, связанных посредством изоксазольного линкера; и выявление взаимосвязей «структура синтезированного соединения – противовирусная / ингибирующая в отношении TDP1 активность».

Ретросинтетическая схема для типового монотерпен-кумаринового конъюгата с триазольным линкером показана на слайде. Для получения такого соединения нужно получить соответствующий азид и пропаргильный эфир 7-гидроксикумарина, который затем вовлекается в реакцию [3+2]-азид-алкинового циклоприсоединения.

Для получения соответствующих модифицированных 7-гидроксикумаринов были взяты бета-кетозиферы, которые были вовлечены в конденсацию Пехмана с резорцином, давая 7-гидроксикумарины с хорошими выходами, которые затем алкилировались пропаргилбромидом по седьмому положению, давая соответствующие пропаргильные эфиры с хорошими выходами.

Для синтеза соответствующих азидов, исходные спирты монотерпеноидов бромировались бромидом фосфора (III), давая соответствующие бромиды, которые затем вовлекались в реакцию с азидом натрия, давая соответствующие азиды с хорошими выходами. Если исходным монотерпеноидом являлся альдегид, то он изначально восстанавливался боргидридом натрия, и затем вводился в дальнейшую цепочку превращений, а в случае плюс-альфа-пинена было необходимо его окисление до соответствующего альдегида каталитическим количеством оксида селена (IV) в трет-бутилгидроперекиси, и в дальнейшем полученный альдегид восстанавливался до спирта и вводился в дальнейшую цепочку превращений.

Все соединения полученные были вовлечены в реакцию [3+2]-азид-алкинового циклоприсоединения, давая 20 триазольных конъюгатов с хорошими выходами. Все полученные соединения были проверены в Лаборатории химиотерапии вирусных инфекций



НИИ гриппа имени Смородинцева, и было показано то, что среди них есть 6 соединений с индексом селективности больше 10.

Особенно стоит отметить соединение **35ea**, которое показало субмикромольную ингибирующую концентрацию и индекс селективности, превышающий 600. Эксперимент «Активность от времени прибавления» для соединения **35ea** показал, что оно активно на ранней стадии жизни вирусного цикла, что сравнимо с ранее полученными в нашей лаборатории конъюгатами, соединёнными через простой эфир.

*In silico* исследования показали, что полученные соединения связываются с активным центром белка F респираторно-синцитиального вируса путем образования  $\pi$ - $\pi$  стекинговых взаимодействий с аминокислотами активного центра. Также *in silico* исследования показали, что введение дополнительных атомов, способных образовывать водородные связи с активным центром белка F РСВ, способно сильнее увеличить сродство конъюгатов к активному центру и повысить активность полученных соединений.

Для синтеза дополнительной библиотеки был взят гидроксицитронеллаль, который восстанавливался до соответствующего спирта, бромировался N-бромсукцинимидом в присутствии трифенилфосфина и затем взаимодействовал с азидом натрия, давая нужное вещество. Для получения 4-пара-метокси-фенил кумаринового остова был сначала получен соответствующий бета-кетозфир, который затем вводился в конденсацию Пехмана с резорцином и алкилировался по седьмому положению, давая целевое вещество с хорошими выходами.

Были получены все соответствующие монотерпен-кумариновые конъюгаты, соединенные триазольным линкером. Был проведён ряд превращений, получены новые эфиры кумаринов с получением соответствующих конюгатов с выходами от умеренных до хороших. А также были получены соответствующие аддукты гидроксицитронеллала с выходами также от умеренных до хороших.

Биологическая активность дополнительной библиотеки полученных соединений, исследование активности полученных соединений, показало, что аддукты гидроксицитронеллала показывают гораздо более высокую активность относительно белка F РСВ с ингибирующей концентрацией, достигающей наномольной. Но, к сожалению, у них увеличилась токсичность.

При исследовании взаимосвязи структуры полученных соединений с ингибирующей концентрацией относительно РСВ А можно заметить то, что действительно, самым активным относительно данной мишени является ряд аддуктов, содержащих гидроксицитронеллаль. Также достаточно активными являются ряды аддуктов, содержащих анеллированное циклогексановое кольцо по кумариновому остову - по третьему и четвертому положению - и

замещенные по четвертому положению ароматическим простым фенильным заместителем производные кумарина.

Для получения типового изоксазол-содержащего конъюгата необходимо получить соответствующий оксим, который будет *in situ* окисляться до нитрилоксида и вводиться в реакцию [3+2]-циклоприсоединения, и нужно применить уже ранее полученный пропаргильный эфир 7-гидроксикумарина.

Для синтеза оксимов терпеноидов исходные альдегиды окислялись до оксимов гидроксиламин гидрохлоридом, давая оксимы с хорошими выходами. В случае, когда исходным веществом являлся спирт, то он окислялся до альдегида хлорхроматом пиридиния, давая альдегид с хорошим выходом, и вводился в дальнейшую цепочку превращений.

Изоксазол-содержащие конъюгаты были получены взаимодействием полученных оксимов и пропаргильных эфиров кумаринов в метаноле с присутствием окислителя PIFA, давая соответствующие изоксазолы с выходами... не самыми хорошими ввиду неполной конверсии исходного кумарина. Также, для ациклических терпеноидов, реакция по этой методике не привела к хорошему выходу продуктов, и целевой продукт, пусть он и наблюдался на ЯМР в следовых количествах, невозможно было выделить.

Было проведено несколько попыток синтеза аддуктов оксима цитраля, включающие изменение окислителя, включающее изменение реакционной среды, и также применялся хлороксим, который оказался неустойчивый, и также была проведена попытка синтеза в растворе глубокой эвтектики. Ни одна из этих попыток не увенчалась успехом. Также была проведена попытка проведения внутримолекулярной циклизации, но, к сожалению, уже полученный продукт **53** оказывался неустойчивым, и реакция получения оксима не приводила к желаемому результату. Поэтому для получения ациклических оксимов терпеноидов был использован следующий реакционный маршрут.

Оксим **48** вовлекался в реакцию с 2,3-дихлорпропеном, получая хлороксим **51** с отличным выходом, который затем вводился в реакцию уже с 7-гидроксикумаринами, давая аддукты **50** с достаточно умеренными выходами.

Полученные изоксазолы, к сожалению, не показали хорошего индекса селективности относительно РСВ А ввиду их высокой токсичности относительно клеточной культуры, которая применялась, это была НЕр-2, но, тем не менее, ингибирующие концентрации у них в субмикромольном диапазоне для некоторых соединений.

При сравнении рядов соединений, соединенных через простой эфир, через триазол и через изоксазол, и исследовании их активности относительно репродукции РСВ А, можно сделать вывод о том, что ведение триазольного фрагмента увеличивает активность относительно этого белка достаточно сильно - как и изоксазольного, но введение

изоксазольного фрагмента плохо влияет на индекс селективности ввиду увеличения токсичности. А влияние триазольного фрагмента на индекс селективности мало того, что больше, чем изоксазольного, так он еще и менее токсичен, чем изоксазольный. Влияние введения триазольного цикла относительно изоксазольного заключается в увеличении активности относительно ряда изоксазол-содержащих и меньшем увеличении токсичности, что способствует увеличению индекса селективности.

Также полученные соединения были проверены на предмет их ингибирующей активности относительно PCV B. Было показано то, что полученные аддукты также обладают активностью относительно PCV B, и также отдельно следует отметить соединение **35db**, обладающее индексом селективности равным 1147.

При измерении ингибирующей активности полученных соединений относительно TDP1, которое было проведено в лаборатории биоорганической химии ферментов Института химической биологии и фундаментальной медицины, было показано, что триазолы сравнительно плохо ингибирует фермент TDP1 при исследовании общей библиотеки соединений. Отдельно следует отметить только аддукты пара-метокси-4-фенилзамещенных кумаринов и просто 4-фенилзамещенных кумаринов, которые показывают сравнительно высокие ингибирующие концентрации относительно прочих соединений.

Однако при этом аддукты, содержащие изоксазол, стабильно показывают низкие ингибирующие концентрации относительно фермента TDP1, за исключением аддуктов 4-метил-7-гидроксикумарина, который показывает абсолютно незначительные, но тем не менее чуть более высокие ингибирующие концентрации.

При сравнении рядов соединений, содержащих монотерпен-кумариновые конъюгаты, соединённые через простой эфир, через триазол или через изоксазол, можно сказать, что введение триазольного линкера незначительно, абсолютно незначительно, но уменьшает сродство соединений к ферменту TDP1, в то время как введение изоксазольного линкера почти что не влияет на их активность относительно фермента TDP1.

Данные *in silico* исследований позволяют предположить, что полученные соединения связываются с каталитическим центром TDP1, образуя водородные связи с ключевыми аминокислотами через гетероциклические линкеры, что особенно ярко проявляется для изоксазол-содержащих конъюгатов. Также особенно важным является то, что при использовании наших соединений в качестве сенситизаторов терапии топотеканом, была проверена и была подтверждена их сенситизирующая активность относительно терапии рака на клетках линии HeLa.



Было показано то, что использование полученных соединений, в частности **50ca**, позволяет увеличить чувствительность клеточной линии к терапии топотеканом чуть ли не в два раза.

При исследовании влияния введения гетероциклического линкера на липофильность полученных соединений показано то, что введение гетероциклического линкера способствует уменьшению липофильности соединений относительно рядов соединений, связанных через простой эфир, что может благоприятно сказываться на их фармакокинетических свойствах.

Таким образом, нами в ходе работы были получены монотерпен-кумариновые конъюгаты, связанные через гетероциклический линкер, было показано то, что они обладают высокой противовирусной активностью относительно вируса РСВ, и было показано то, что они обладают ингибирующей активностью относительно TDP1, и эффективны как сенсibiliзирующий агент противоопухолевой терапии.

Соответственно, можно сделать следующие выводы. Синтезирована библиотека кумарин-монотерпеновых конъюгатов, связанных триазольным линкером. Показано, что для их получения эффективным является подход на основе катализируемой солями меди реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения азидов терпенового ряда к 7-пропагиловым эфирам кумаринов.

Синтезированная библиотека кумарин-монотерпеновых конъюгатов, связанных изоксазольным линкером путем 1,3-диполярного цикла присоединения нитрилоксидов, генерируемых *in situ* из оксимов циклических терпеноидов к 7-пропагиловым эфирам кумаринов. Получение конъюгатов этого ряда, содержащих 2,7-диметилгептановый фрагмент, реализовано на основе альтернативного подхода, взаимодействия с отличным 5-хлорметилизоксазольным производным.

Изучение противовирусной активности полученных соединений в отношении РСВ показало, что монотерпен-кумариновые конъюгаты, связанные триазольным линкером, являются эффективными противовирусными агентами в отношении РСВ, проявляя высокие индексы селективности. На основании биологических экспериментов и молекулярного моделирования предположено, что их мишенью является белок F. Установлено, что введение триазольного линкера приводит к уменьшению ингибирующей активности в отношении TDP1 по сравнению с соединениями, не содержащими такого линкера.

Что касается изоксазол-связанных монотерпен-кумариновых конъюгатов, высокая ингибирующая активность в отношении TDP1 сохраняется. Среди синтезированных монотерпен-кумариновых конъюгатов, связанных гетероциклическим линкером, были соединения, способные увеличивать цитотоксичность противоопухолевого препарата топотекана в отношении клеток рак шейки матки HeLa. Спасибо за внимание.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов

Алексей Яковлевич

Спасибо, Дмитрий Олегович. Вопросы, пожалуйста, Дмитрию Олеговичу. Пожалуйста.

Член диссертационного совета – д.ф.-м.н., проф., член совета Багрянская Елена

Григорьевна

Я хотела спросить. Вот вы в начале сказали про то, что триазольный линкер – было предсказано, что он будет эффективен, да? Это было на основании МД?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Это было на основании... Да, это было на основании *in silico* исследования, молекулярного моделирования.

Член диссертационного совета – д.ф.-м.н., проф., член совета Багрянская Елена

Григорьевна

Это Борисевич делала?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Да, да.

Член диссертационного совета – д.ф.-м.н., проф., член совета Багрянская Елена

Григорьевна

Второе. Вы сказали, что при этом токсичность повышается. Токсичность не может быть связана с триазольным линкером? Сам по себе триазольный цикл – он токсичен?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Сам по себе триазол достаточно устойчивый, сам по себе, так что сам по себе триазол не должен быть достаточно сильным.

Член диссертационного совета – д.ф.-м.н., проф., член совета Багрянская Елена

Григорьевна

А с чем тогда может быть связана токсичность? С вашей точки зрения.

Цыпышев Дмитрий Олегович

Это, на самом деле, интересное направление исследования, это надо будет исследовать, и этим стоит заняться. Спасибо за замечание.

Член диссертационного совета – д.ф.-м.н., проф., член совета Багрянская Елена

Григорьевна

И второе, вы показали TDP1. Это рентгеновская структура, верно?

Цыпышев Дмитрий Олегович

На слайде, да?

Член диссертационного совета – д.ф.-м.н., проф., член совета Багрянская Елена

Григорьевна

А пробовали сделать белок и рентген посмотреть, с вашим соединением? Чтобы кристаллизировать белок вместе с вашим ингибитором...

Цыпышев Дмитрий Олегович

А, именно кристаллизировать белок. Это мы, к сожалению, пока что не... Да, мы это, к сожалению, нет, не делали. Это действительно интересное направление исследований, и этим действительно стоило бы заняться. Мне самому было бы интересно посмотреть. Надо понять, вообще, у нас есть ли средства для того, чтобы кристаллизировать белок, но если у нас получится, это будет действительно очень интересно и это будет ещё одно подтверждение.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов

Алексей Яковлевич

Спасибо. Еще возникли вопросы? Пожалуйста, Ольга.

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна

Подскажите, можно первый слайд? У вас название доклада на слайде отличается от названия того, что у нас в авторефератах.

Цыпышев Дмитрий Олегович

Вот написано синтез, да?

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна

Ну, как бы, по крайней мере, оно не такое же, как на автореферате. У меня на самом деле несколько вопросов, можно 21 слайд? Вот здесь вы сказали, что изучение активности вот этих соединений в отношении белка F — это была оговорка — или это было именно изучение в отношении активности белка F?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Нет, это была именно оговорка, исследовалась ингибирующая активность относительно репродукции вируса.

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна

Непосредственно вируса, да? Да. И тогда мне, знаете, слайд, где вы липофильность измеряли, смотрели на колонки. Да, вот этот. Известно, что липофильность соединений можно рассчитать разными методами в разных приложениях. Совпадают ли расчетные с вашими измеренными?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Для того, чтобы измерять экспериментальную липофильность, то есть LogP, для этого необходимо использование внутренних стандартов. Однако, если мы прибегаем именно к расчетным методам, то закономерность сохраняется. Так как мы не можем померить точный

LogP экспериментальным методом исходя из полученных данных, точный вывод делать нельзя. Однако, можно сказать то, что при исследовании ADMET параметров и извлечении LogP оттуда, закономерность расчетная и закономерность, полученная здесь, сохраняется.

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна

Ну вот это я и хотела узнать, да. То есть что она сохраняется, по крайней мере, то есть, что больше - что меньше, это совпало с тем, что вы измеряете, да? И, наверное, вот тот ваш вывод, который вы говорите, что показано - он у вас там, по-моему, третий вывод, да - что вы говорите, на основе биологических экспериментов, молекулярного моделирования, показано, что мишень является белок F.

Ну вот я бы на основании ваших результатов не сказала бы, что является белок F, потому что, на самом деле, у вас эксперимент по времени добавления - он такой, как бы, там нет четкого, что только работают на ранней стадии. То есть, вот есть 6 часов, достоверное снижение титра вируса. И корреляция у вас, в общем, не очень так совпадает. Можете вы как-то прокомментировать, почему вы все-таки настаиваете именно на белке F?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Тут вопрос в точности формулировки. Во-первых, стоит сказать, что наше соединение действительно активно на ранней стадии вирусного цикла, пусть также активность и проявляется дальше. И также было показано то, что относительно белка F РСВ А действительно есть корреляция, хоть и небольшая. То есть можно предположить то, что даже если наше соединение действует по нескольким мишеням, одной из этих мишеней является белок F.

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна

00:26:36 — Хорошо, тогда следующий вопрос, а что может быть другой мишенью?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Другой мишенью?

Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна

Ну вот на той стадии, 6 часов жизненного цикла, что может быть мишенью в репликации вируса?

Цыпышев Дмитрий Олегович

00:26:53 — На самом деле это сложно предположить, потому что не было проведено дополнительных расчетов, дополнительных экспериментов, но и, соответственно, вариантов достаточно много. Можно предположить, что, допустим, это может быть транскриптаза, это может быть полимеразный белок. Но, опять же, это достаточно голословное утверждение, я не буду на нем настаивать с учетом того, что мне не хватает экспериментальных данных на данную секунду.



Член диссертационного совета – д.х.н. Яровая Ольга Ивановна

Хорошо, спасибо.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов

Алексей Яковлевич

Возникли еще вопросы? Так, пожалуйста.

Член диссертационного совета – д.х.н. Шелковников Владимир Владимирович

У меня два вопроса. Вот по  $\pi$ - $\pi$  - стэкингу, когда РСВ, и вы сказали, что у вас  $\pi$ - $\pi$  - стэкинг усиливает это взаимодействие, Я так понимаю, что это с ароматическими аминокислотами, да?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Да.

Член диссертационного совета – д.х.н. Шелковников Владимир Владимирович

И, наверное, можно даже сказать, с какими? Нет?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Это аминокислоты активного сайта, то есть вас интересуют какие-то конкретные аминокислоты?

Член диссертационного совета – д.х.н. Шелковников Владимир Владимирович

Там же, да, вот с какими-то конкретными же, наверное, или без разницы?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Да, они зашифрованы действительно на слайде, но, к сожалению, поскольку эти данные я не выносил отдельно в автореферат это не указано, да.

Член диссертационного совета – д.х.н. Шелковников Владимир Владимирович

Ну, хорошо, давайте возьмем типично там фенилаланин какой-нибудь, вот, и известно, что  $\pi$ - $\pi$  - стэкинг увеличивается, если у нас есть одно кольцо фторированное, другое не фторированное. Вот вы рассматривали возможность ваших кумаринов, тем более это у вас есть заместители фенильного типа, введение атомов фтора.

Цыпышев Дмитрий Олегович

Это мы не рассматривали, это действительно интересное направление исследования, это стоит посчитать и это стоит соответственно синтезировать.

Член диссертационного совета – д.х.н. Шелковников Владимир Владимирович

Ну эффект достаточно известный и распространенный в органической химии, он описан неоднократно, в том числе с биомолекулами, в том числе и с ароматическими аминокислотами. Поэтому, как бы, на это стоит обратить внимание, конечно. Другой вопрос, вот да, у вас есть такая практически значимая картинка, где вы делали конъюгаты, усиливающие цитотоксический эффект топотекана.

То есть это лекарство, как я понимаю, да? И вы, значит, вот добавляя свое соединение, эффект усиливаете, и вот красивый график. Но почему-то этого нет, когда вы рассматриваете для РСВ - это TDP1, а там такой картинки нет, хотя казалось бы, ситуация может быть идентична, то есть взять лекарство, которое действует и ваш конъюгат.

Цыпышев Дмитрий Олегович

Если я правильно понимаю, эта картинка именно про то, что введение ингибиторов TDP1 как компонент химиотерапии рака HeLa способствует усилению эффекта....

Член диссертационного совета – д.х.н. Шелковников Владимир Владимирович

А, TDP1, да, а РСВ? Там не надо, там нет лекарства типа топотекана этого.

Цыпышев Дмитрий Олегович

РСВ?

Член диссертационного совета – д.х.н. Шелковников Владимир Владимирович

Да-да-да.

Цыпышев Дмитрий Олегович

Для РСВ, поскольку наше вещество является индивидуальным актором, то есть оно воздействует на репродукцию РСВ само по себе...

Член диссертационного совета – д.х.н. Шелковников Владимир Владимирович

Оно по себе, т.е. там не нужно.

Цыпышев Дмитрий Олегович

Да.

Член диссертационного совета – д.х.н. Шелковников Владимир Владимирович

Спасибо.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Подскажите, пожалуйста, обладают ли противовирусным эффектом сами мономерные компоненты ваших конъюгатов, конкретно терпеноиды, ну, вообще противовирусным и противовирусным в отношении РСВ?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Да, вообще, противовирусным эффектом действительно обладают некоторые терпен-замещенные кумарины, но относительно конкретно РСВ отдельные фрагменты на моей памяти не обладают таким сильным эффектом, если вообще не проверялись.

То есть, вообще расчетные экспериментальные данные показывают, что для ингибирования нужны молекулы определенной геометрии, и просто введение индивидуальных фрагментов не способствует ингибированию.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Этой мишени. А может быть просто там есть какая-то мультитаргетная активность, что могут ли, допустим, сами терпеноиды куда-то, ну, еще иметь сродство к каким-то другим мишеням?

Цыпышев Дмитрий Олегович

К другим мишеням, к сожалению, пока мы не проверяли, и об этом сказать сложно, но это можно исследовать потом. Спасибо за замечание.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Ну, связанный с этим вопрос, а можно ли заменить, ну, допустим, гидроксоцитронеллаль, ну гидроскоцитронеллалевый фрагмент, на фрагмент какой-нибудь там алкильный с гидроксильной группой терминальной.

Цыпышев Дмитрий Олегович

Именно имеется в виду терпеноидный фрагмент, то есть заменить углеродный скелет?

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Ну да, то есть когда вы делаете противовирусные какие-то агенты, то есть вы посмотрели, что у вас должно быть где-то там на отдалении определенном, должно быть, ну, что-то полярное, правильно понимаете?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Да.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

И активность увеличилась.

Цыпышев Дмитрий Олегович

Да.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Ну, имеет ли смысл перейти от изопреновых вот таких вот фрагментов, просто к более доступным каким-то аминспиртам и так далее.

Цыпышев Дмитрий Олегович

Принципиально этому нет никаких препятствий, то есть действительно можно подбирать углеродный скелет, который будет лучше соответствовать задаче, но это выходит за рамки данной работы.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Но вы не сравнивали?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Мы не сравнивали.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Соответственно, выбор терпеновых заместителей на чем основывался?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Выбор терпеновых заместителей основывался на полученных ранее данных в нашей лаборатории о том, что монотерпен-кумариновые конъюгаты обладают противовирусной активностью против РСВ и обладают активностью против TDP1. Также там, сейчас расскажу, как это было, если я правильно помню...

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Я просто на самом деле хочу уточнить, потому что я неправильно сформулировала вопрос.

Цыпышев Дмитрий Олегович

Изначально, это исследование началось с того, что проверена большая библиотека соединений, и там был модифицированный кумарин по седьмому положению. Затем, замена этого заместителя по седьмому положению на терпеноидный фрагмент увеличила активность против вируса РСВ, и таким образом было начато данное исследование. Были исследованы разные терпеноиды, были исследованы разные модификации.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Ну вот смотрите, у вас пиненовый заместитель, а нельзя его заменить на адамантан или, допустим, на норборнанный?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Я не вижу в этом никакой проблемы. Почему нет?

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

На самом деле весь вопрос ввелся к тому, что почему у вас в линейке соединений, допустим, нет соединений с борнильным остовом.

Цыпышев Дмитрий Олегович

То есть не все монотерпеноиды проверены?

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Ну не то, чтобы не все, не все типы.

Цыпышев Дмитрий Олегович

На самом деле это действительно хорошее замечание, и если мы будем дальше искать соединения-лидеры и работать в этом направлении, мы, скорее всего, синтезируем этого ряда конъюгаты.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Еще один вопрос по строению этих соединений. Цикл, который либо аннелирован к кумариновому остову, либо присоединен по определенному положению. Как он меняет вообще свойства самого кумарина? Как-то он способствует стабильности или чему-то еще? Кумарины — это вообще очень мобильные соединения, насколько я знаю, и зачастую их



активность связана с тем, что они открываются, закрываются в организме. Как-то вот эти заместители влияют?

**Спикер 6:**

Из того, что мне известно, модификация кумаринов здесь проводится с точки зрения rational design, то есть, опять же, подгоняется структура под целевую мишень.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

То есть, это сначала рассчитано? Это не был выбор какой-то определенный из положения кумаринового моста, в который вводить заместитель?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Если правильно помню, да.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Хорошо, спасибо.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

Вопросы пока не возникли. У меня, значит, вопрос. Пожалуйста, по-моему, тринадцатый слайд. Тринадцатый слайд, когда вы окисляете диоксидом селена, его используя каталитическое (количество) и третбутилгидропероксид. В автореферате у вас приведена просто  $\text{SeO}_2$ , не указано, что он, так сказать, в каталитических количествах. И вот чисто химически, как вы объясняете, почему именно в каталитических количествах вы взяли оксид селена?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Потому что пусть и оксид селена (IV) является активным окисляющим веществом в этой реакции, но после проведения реакционного шага он регенерируется находящимся в реакционной смеси третбутилгидропероксидом. Использование его в эквимольных количествах необязательно. И, просто имеющийся в реакционной смеси реагент регенерируется.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов

Алексей Яковлевич

А третбутилгидропероксид у вас в каких количествах взят?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Он использовался, по сути дела, чуть ли не как растворитель. Брался экстракт хлористым метилом третбутилгидроперекиси. Использовался как растворитель. То есть в большом избытке брался.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов

Алексей Яковлевич

Понятно. Вопросы? Пожалуйста.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Я про свою любимую тему, совершенно что-то про нее выпустила. Она немножко теряется на фоне РСВ. Тема про ингибирование тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы. Вот смотрите, вы постоянно оперируете по активности в отношении вируса таким показателем, как индекс селективности, а по отношению к TDP1 как-то вот это потерялось.

То есть я не очень понимаю, есть ли здесь такое понимание, как индекс селективности, и имеет ли оно какое-то ограниченное значение.

Цыпышев Дмитрий Олегович

То есть, вообще, изначально, с учетом того, что для ряда данных соединений было показано то, что они обладают низкой цитотоксичностью относительно клеток ряда HeLa, то именно цитотоксичная концентрация, которая обладает высокими значениями, она не была приведена для некоторых случаев, и поэтому приводится  $IC_{50}$  как именно более четкий, более точный...

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Для всех этих 12 соединений цитотоксическая концентрация выше 100, да?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Если я правильно помню, то, скорее всего, да, но это надо будет уточнить, потому что данные конкретные находятся у биологов, и они не приводятся в слайде, пусть они у меня и хранятся на диске. Это можно будет посчитать, но в целом можно сказать, что да, приоритетным и более точным показателем, который отвечает за активность, здесь является  $IC_{50}$ , а не индекс селективности.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Вот у вас же цитотоксичность в отношении экспериментов с вирусами была другая у этих соединений. С чем это может быть связано?

Цыпышев Дмитрий Олегович

А с чем это может быть связано? Кроме самой природы эксперимента, на самом деле, это действительно хороший вопрос, и это надо будет в дальнейшем исследовать. И просто, на самом деле, по времени выдерживания тоже может быть связано.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

То есть, есть какие-то отличия в экспериментах, могут быть?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Могут быть, да.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Вы не знаете, сколько? 24 часа? 48?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Эксперимент по измерению активности TDP1 позволяет исследовать активность чуть ли не в режиме реального времени за счет использования соответственно смоделированного олигонуклеотида, и способности фермента TDP1 отщеплять фрагмент по третьему положению, объемный, и включать флуоресценцию фрагмента.

То есть, эксперимент по прибавлению TDP1 именно к белку, он измеряется в реальном времени и проводится достаточно быстро.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Еще вот вопрос по тематике TDP1. Вроде как я слышала, что какие-то кумарины доходили до животных, на экспериментах на животных, и что-то там это самое. Может, это не ваше соединение, я не знаю, но просто хотела знать ваше соединение, уже проводились эксперименты на мышах?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Именно на мышах относительно TDP1. Нет, не проводилось. То есть это дальнейшее будет...

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Ну, в принципе, соединения такого типа, насколько я понимаю, проводились и они подтверждают...

Цыпышев Дмитрий Олегович

Если я правильно помню, да.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Но тут смысл в чем. Что далеко не всё, что проходит *in vitro*, далеко не всё подтверждает свое действие *in vivo*. То есть есть у ваших соединений перспективы, судя по всему, да?

Цыпышев Дмитрий Олегович

Судя по всему, есть, да. То есть, их надо будет проверять.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Хорошо. Спасибо.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

Еще не возникли ли вопросы? У меня еще опять химический вопрос, но он в докладе не прозвучал, но вот в автореферате на странице 12, есть страница 12, и там вы говорили, что генерировали диполи из пропаргиловых эфиров, используя окислитель PIFA. И здесь у вас, постепенно добавляя, и образуются, есть какие-то побочные продукты.

Есть ли понимание, какие побочные продукты у вас образуются в этой реакции?



Цыпышев Дмитрий Олегович

Нитрилоксиды, получаемые *in situ* при окислении, они склонны к димеризации и олигомеризации. К сожалению, при попытке выделить и проанализировать побочные продукты, там образовалась действительно сложная смесь, которая крайне трудно подавалась разделению, но можно предположить, что это действительно продукты димеризации и олигомеризации нитрилоксидов, просто исходя из химической логики.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

Понятно, спасибо. Так, нет вопросов больше? Ну, по-видимому, уже все достаточно так, спасибо, Дмитрий Олегович, присаживайтесь, и слово предоставляется научному руководителю. Константину Петровичу Волчо.

Председатель диссертационного совета – д.х.н., проф. РАН Волчо Константин Петрович

Дмитрий Олегович пришел к нам, закончив химический факультет Башкирского госуниверситета. Соответственно, сразу поступил в аспирантуру, и в отличие от многих выпускников нашего университета у него не было задела, часто формирующегося на стадии реализации дипломных работ и так далее.

Дополнительную сложность составлял тот факт, что работы идут в области медицинской химии, а это значит, что и скорость получения результатов, и направление исследования - оно определяется во многом данными, получаемые от биологов. И очень сильно нежелательно публиковать химические результаты до того, как будут получены биологические данные, поскольку это может ослабить патент. Это проблема общей работы в медицинской химии.

Но Дмитрий Олегович успешно погрузился в новую работу, проделал большой объем экспериментальных исследований. Результаты, полученные сегодня, были показаны, обсуждены. Единственное, что я к этому добавлю, что они действительно имеют и практическое применение, практическое направление. В случае РСВ это подтверждается не только получением соответствующего патента, но и интересом некоторых фармацевтических компаний, проявленным к исследованиям в этом направлении этой конкретной работы.

Помимо того, что Дмитрий Олегович является синтетиком, он является специалистом в молекулярном докинге. Конкретно в диссертационной работе это проявилось меньше, поскольку работы по РСВ ведутся в рамках соответствующих грантов Российского научного фонда, и там за эту часть исследования отвечает Борисевич София Станиславовна, и именно она вела там *in silico*-исследование.



В случае TDP1 уже вся *in silico* работа проведена Дмитрием Олеговичем. Кроме того, помимо вот этих вот работ, которые вошли в диссертацию, он много помогал сотрудникам нашей лаборатории, не только нашей лаборатории, в молекулярном моделировании в отношении различных мишеней. И помимо работ, которые вошли в диссертационную работу, у него опубликовано еще 7 статей в качественных международных журналах.

И что еще стоит добавить, то, что он был стипендиатом областного правительства и, что гораздо более важно, в прошлом году он получил стипендию президента. Напомню, что в прошлом году был резко увеличенный размер стипендии, и одновременно сниженное их количество, что привело к очень высокой конкуренции. И это такая очень весомая и престижная награда.

Ну и, суммируя все вышесказанное, лично у меня нет никаких сомнений, что Дмитрий Олегович соответствует квалификации кандидата химических наук и достоин присуждения по обоим заявленным специальностям. Спасибо.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

Спасибо, Константин Петрович. И для ознакомления с заключением организации слово Сергею Сергеевичу, пожалуйста.

Ученый секретарь диссертационного совета – к.х.н. Патрушев Сергей Сергеевич

Так, заключение. Заключение организации НИОХ СО РАН. Диссертация Цыпышева Дмитрия Олеговича «Монотерпен-кумариновые конъюгаты, соединенные гетероциклическими линкерами, перспективные биологически активные соединения», выполненные в Лаборатории физиологически активных веществ НИОХ СО РАН. Соискатель Цыпышев Дмитрий Олегович работает в НИОХ СО РАН с 3 сентября 2021 года. С сентября 2021 года по настоящее время занимает должность младшего научного сотрудника Лаборатории физиологически активных веществ НИОХ СО РАН.

В 2021 году Цыпышев Дмитрий Олегович окончил Башкирский Государственный университет. С 1 сентября 2021 года зачислен на обучение в очную аспирантуру НИОХ СО РАН по направлению подготовки 04.06.01 «Химические науки», специализация «Органическая химия».

С 9 декабря 2022 года приказом № 46 переведен на обучение по программам подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуру, реализуемые в соответствии с Федеральным государственным требованием по научной специальности «Органическая химия», ну и по настоящее время продолжает обучение в очной аспирантуре НИОХ СО РАН. Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2025 году, тема

диссертационной работы утверждена на заседании ученого совета НИОХ СО РАН, протокол номер 6 от 5 октября 2021 года.

Научный руководитель - доктор химических наук, профессор РАН Волчо Константин Петрович, с отзывом рецензента, доктора химических наук, заведующего лабораторией медицинской химии НИОХ СО РАН Харитонов Юрия Викторовича... ознакомился Харитонов Юрий Викторович, отзыв положительный.

По итогам обсуждения принято следующее заключение, что актуальность темы, ее научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методология и методы исследования сомнений не вызывают. Степень достоверности обеспечена тщательностью проведения экспериментов и использования современных физико-химических методов установления строения. Все впервые полученные соединения характеризованы спектральными методами и масс-спектрометрией высокого разрешения.

Достоверность результатов подтверждена независимостью экспертизы опубликованных материалов в рецензируемых научных изданиях и апробацией на российских и международных конференциях. Представленная диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.4.3 «Органическая химия» в областях исследования. Это первый пункт — выделение и очистка новых соединений, пункт три — развитие рациональных путей синтеза сложных молекул, а также паспорту специальности 1.4.16 «Медицинская химия» в области исследования, один — поиск, структурный структурный дизайн и синтез соединений-лидеров, потенциально-физиологически активных лекарственных веществ на основе А. Знания структурных параметров биомолекул или особенностей патогенеза; Б. Анализа и модификации структур известных активных соединений; и В. Синтез и биологическое тестирование широкого разнообразия химических соединений. Обе специальности включены в утвержденную Министерством науки и высшего образования РФ номенклатуру научных специальностей, по которым присуждаются ученые степени.

Полнота опубликованных результатов по теме диссертационной работы опубликована в две статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК. Получен один патент. Опубликовано семь тезисов докладов на российских и международных конференциях. Список прилагается.

Во всех публикациях вклад, внесенный соискателем в химическую часть исследования, является основным. Представленные в работе результаты получены автором или при его непосредственном участии. Соискателям 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 и использование спектральных данных.

Автором внесен существенный вклад в формирование общего направления работы и подготовку научных публикаций по теме исследований. Соискатель осуществлял подготовку всех публикаций к печати и представлял доклады по теме диссертационной работы на научных конференциях. Опубликованные работы достаточно полно отражают содержание диссертационной работы.

Цыпышев Дмитрий Олегович является исполнителем бюджетного проекта и двух проектов Российского научного фонда. Во время выполнения диссертационной работы Дмитрий Олегович проявил себя самостоятельным и квалифицированным исследователем. В период обучения в аспирантуре занимался педагогической деятельностью, вел лабораторные практики по органической химии у студентов Института медицины и психологии им. Зельмана НГУ. Таким образом, диссертационная работа «Монотерпен-кумариновые конъюгаты, соединенные гетероциклическим линкером, перспективные биологически активные соединения» Цыпышева Дмитрия Олеговича рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.3 «Органическая химия» и 1.4.16 «Медицинская химия», химические науки. Заключение принято на заседание отдела медицинской химии НИОХ СО РАН. На заседании присутствовало 30 человек, в том числе 16 кандидатов наук и 8 докторов. Результаты голосования: за - 30, против - 0, воздержались - 0. Протокол заседания №4 от 2 июля 2025 года подписан председателем семинара, главным научным сотрудником Лаборатории медицинской химии НИОХ СО РАН, доктором химических наук, профессором Шульц Эльвирой Эдуардовной, и секретарем семинара, кандидатом химических наук, научным сотрудником МХА НИОХ СО РАН Финке Анастасией Олеговной 2 июля 2025 года. Заключение утверждено директором института Багрянской Еленой Григорьевной, 24 июля 2025 года.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

И, видимо, сразу к ведущей организации?

Ученый секретарь диссертационного совета – к.х.н. Патрушев Сергей Сергеевич

Да, сразу продолжим. Отзыв ведущей организации составлен доктором химических наук Ларионовым Владимиром Анатольевичем, заведующим лабораторией стереонаправленного синтеза биоактивных соединений Института Элементоорганических Соединений им. Несмеянова Российской Академии Наук.

В отзыве ведущей организации отмечается высокая актуальность проделанной работы. Далее приводится детальный анализ диссертационной работы. Я кратко его прочту.

Диссертация написана в классическом стиле, состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части и заключения.

Текст работы изложен на 146 страницах и включает 153 литературных источника. Литературный обзор посвящен анализу современных данных о методах синтеза, природных источников и биологической активности пренилированных кумаринов, включая их противоопухолевые и противовирусные свойства. Обзор написан грамотно, логично, и отражает состояние области исследования.

Основное содержание диссертации изложено в главе «Обсуждение результатов». В этой главе представлены разработка методов синтеза двух библиотек новых соединений: кумарин-монотерпеновых конъюгатов, связанных 1,2,3-триазольным линкером, и аналогичных конъюгатов, связанных изоксазольным кольцом.

Автором были успешно реализованы многостадийные синтезы исходных строительных блоков пропаргильных эфиров кумаринов, а также азидов и оксимов терпенового ряда, в том числе проработан альтернативный маршрут для получения изоксазол - связанных конъюгатов с ациклическими терпеновыми фрагментами. Важной частью работы является исследование биологической активности синтезированных соединений, и выявление закономерности структура-активность. Показано, что природа гетероциклического линкера играет решающую роль. Конъюгаты с триазольным линкером проявили высокую противовирусную активность в отношении РСВ, в то время как изоксазольные аналоги оказались селективными ингибиторами TDP1.

Были выявлены соединения -лидеры, значительно превосходящие по своей активности и селективности препараты сравнения. Важным практическим результатом является то, что некоторые из синтезированных ингибиторов TDP1 способны усиливать цитотоксический эффект противоопухолевого препарата топотекана.

Также, проведенное молекулярное моделирование предположило наличие ключевых взаимодействий синтезированных конъюгатов с аминокислотными остатками в активных сайтах их предполагаемых мишеней — белка F РСВ и фермента TDP1 — путем водородных связей, а также  $\pi$ - $\pi$  - стекинг-взаимодействий и  $\pi$ -катионных взаимодействий. Представленная работа является завершенным научным исследованием, сочетающим высокий теоретический и экспериментальный уровень.

Содержание автореферата в полной мере соответствует содержанию диссертационной работы. Научная новизна, практическая значимость и достоверность результатов исследований подтверждены публикациями двух научных статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ, и одним патентом РФ на изобретение. Результаты исследований были представлены на семи конференциях в виде устных докладов.



Так, поводов для принципиальной критики работы не вызывает. Тем не менее, в ходе ознакомления с текстом диссертационной работы возникли следующие вопросы и замечания, которые не носят принципиального характера, а некоторые в большей степени имеют дискуссионную и редакционную направленность. Первое. Схема 9, страница 41. Каким образом происходит изомеризация соединения **89**? Под действием, может быть, под действием света?

Второй вопрос. Схема 10, страница 42. Пробовали ли использовать другие условия для получения соединений **108–112** с более высокими выходами? Потому как известно, что клик-реакции довольно часто протекают с высокими выходами. Реакция 18. Схема 18, страница 47. Выходы в случае соединений **136–138** невысокие. Была ли конверсия полная этих соединений? Если да, то какие побочные продукты образовывались? Рисунок 32, страница 91. Не совсем понятно, какие цвета хроматограмм соответствуют каким соединениям.

В экспериментальной части не указано, такой прибор, использовался для ВЭЖХ анализа. И последний, шестой, вопрос. В работе имеется небольшой ряд опечаток, вернее замечание, небольшой ряд опечаток и неудачных выражений. Примеры приводятся, я их зачитывать не буду. Указанные замечания носят дискуссионный характер и не влияют на общую высокую положительную оценку диссертационной работы.

Научные результаты, полученные диссертантом, имеют существенное значение для органической и медицинской химии, создания научных основ для направленного синтеза новых биологически активных соединений на основе конъюгатов природных фармакофоров, перспективных для разработки революционных противовирусных и противоопухолевых препаратов.

Таким образом, в заключение. По своей актуальности, научной новизне и практической значимости, работа отвечает требованиям, предъявляемым кандидатским диссертациям и соответствует критериям, изложенных в пункте 9.14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением правительства РФ, номер 842, 24.09.2013, действующая редакция, а ее автор, Цыпышев Дмитрий Олегович, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.3 «Органическая химия» и 1.4.16 «Медицинская химия».

Диссертационная работа и отзыв обсуждены и утверждены на расширенном совместном семинаре лаборатории стереонаправленного синтеза биоактивных соединений и асимметрического катализа. ИНЭОС РАН. Протокол номер 23 от 29 октября 2025 года. Присутствовало 15 человек, из них 2 доктора химических наук и 8 кандидатов.

Отзыв составил Ларионов Владимир Анатольевич. Его подпись заверено ученым секретарем ИНЭОС РАН 5 ноября 2025 года и отзыв утвержден директором Института

элементоорганических соединений, член-корреспондентом РАН, доктором химических наук Трифоновым Александром Анатольевичем.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

Спасибо. Ну по-видимому надо ответить на замечания ведущей организации, а потом уже выслушаем отзывы.

Цыпышев Дмитрий Олегович

Отвечая на замечания предыдущей организации, следует сказать то, что изомеризация соединения **89**, которым является азид гераниола, азид цитраля, происходит в результате перегруппировки Винштейна. В наших условиях это соединение изомеризовалось при хранении, оно изомеризовалось при хранении в морозильной камере в темном холодном месте. И несмотря на условия хранения, всё же подверглась изомеризации.

При получении соединений **108–112**, которые получаются в результате азид-алкинового циклоприсоединения, действительно выходы умеренные. Однако, в рамках данной работы подбор условий реакции осуществлялся в начале, и быстро привел к высокому выходу целевого соединения, на котором проводился подбор. И в дальнейших условиях применялась эта методика. Выходы, несмотря на свою сравнительную умеренность, были достаточны для того, чтобы получить целевые соединения в хорошем количестве и достаточной чистоты, и провести соответствующие биологические испытания.

В случае соединений **136** и **138**, которые изоксазолы, они получаются с низкими выходами ввиду неполной конверсии исходного кумарина. В качестве побочных образовывалась сложная смесь подгруппы изомеризации нитрилоксида, получаемых *in situ*. Цвета хроматограмм, отмеченные на рисунке 32 на странице 91, соответствуют не отдельным соединениям, а длине волны детектора, установленного на приборе Millichrom A-02. Чёрная линия — 260 нм, красная линия — 280 нм, синяя линия — 320 нм. В экспериментальной части не указано, какой прибор использовали для ВЭЖХ анализов. Применялся прибор Millichrom A-02. Это справедливые замечания, за это я ведущей организации благодарен, и также имелся небольшой ряд опечаток. За обнаружение этих недочётов ведущей организации спасибо. И действительно, эти опечатки имели место быть.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

Спасибо. Ну, вопросов и замечаний нет по вопросам. Если нет, то тогда, пожалуйста, отзывы на автореферат. Порядка десяти, я так понял, да? Десять, да.

Ученый секретарь диссертационного совета – к.х.н. Патрушев Сергей Сергеевич

В Совет пришло 10 отзывов на автореферат, все отзывы с высокой оценкой работы. Давайте, пожалуй, начнем. Я все отзывы зачитывать не буду, буду отражать только замечания. Первый отзыв, подписанный старшим научным сотрудником Лаборатории органического синтеза и химии природных соединений Института химии Коми, кандидатом химических наук Буровлевым Евгением Владимировичем. Отзыв положительный. Один вопрос.

При чтении автореферата возникли вопросы. Какая конкурирующая параллельная реакция протекала в ходе образования соединений 78–89, страницы 12–13 и схема 9, и какие побочные продукты из реакционных смесей выделяли?

Следующий отзыв на автореферат подготовил ведущий научный сотрудник, директор научно-образовательного Центра фармацевтики Казанский Приволжский федеральный университет, доктор химических наук Штырлин Юрий Григорьевич. В отзыве есть следующее замечание.

На странице 21 вывод о снижении липофильности исследуемых соединений сделан на основе данных ВЭЖХ. Было ли целесообразно представить определенные по времени удержания величины  $\log P$  и сопоставить их с расчетными данными? Второе. Вывод на странице 21 об усилении цитотоксического эффекта топотекана в композиции с соединениями 43, 67 и 85 основан на статистически значимых отличиях в данных, приведенных на рисунке 4.

Следующий отзыв, который подготовила старший научный сотрудник лаборатории биорганической химии и катализа Уфимского института химии УФИЦ РАН, кандидат химических наук Ковальская Алена Витальевна. Отзыв положительный, без замечаний.

Следующий отзыв подготовила доктор химических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биорганической химии и катализа Уфимского института химии УФИЦ РАН Балтина Лидия Ашарфовна. Отзыв без замечаний.

Следующий отзыв, подготовленный заведующим кафедрой органической химии Самарского государственного университета, доктором химических наук, профессором Климочкиным Юрием Николаевичем и доцентом кафедры органической химии Самарского государственного технического университета, кандидатом химических наук, Семеновой Ириной Александровны. В отзыве есть два вопроса и замечания.

Схема 3, страница 10.  $\text{CuSO}_4$  использовали в виде индивидуальной соли или в виде кристаллогидрата. Если использовали всё же медный купорос, корректнее было бы отразить это на схеме. 2. Второй вопрос. Схема 9, страница 13. Целевые соединения были выделены с выходом до 45%. Был ли проведен анализ реакционных масс и побочных продуктов, образующихся в ходе реакции? С чем связаны невысокие выходы?



Следующий отзыв, подготовленный старшим научным сотрудником лаборатории физико-химических методов анализа Уфимского института химии УФИЦ РАН, кандидатом химических наук Лобовым Александром Николаевичем. Отзыв без замечания.

Отзыв, подготовленный старшим научным сотрудником лаборатории органического синтеза института нефтехимии и катализа УФИЦ РАН, кандидатом химических наук Спивак Анной Юльевной. Есть три замечания.

В тексте раздела 3 или в пояснениях к таблицам 1 и 2 активность конъюгатов в отношении РСВ А и Б было бы целесообразно указать на каких клеточных линиях проводились эксперименты, и был получен индекс селективности, который может существенно меняться в зависимости от типа клеток.

Второе замечание. Было бы целесообразно добавить столбец в таблицу 6 раздела 4 со значениями полужитотоксических концентраций следуемых соединений. В тексте просто лаконично упоминается о собственной цитотоксичности конъюгатов в отношении клеток линии HeLa в концентрации до 10 микромоль.

И третье, исходные нативные соединения и их пропаргильные эфиры или азиды не проявляли активность в условиях экспериментов? Было бы целесообразно это указать в тексте.

Следующий отзыв подготовлен доктором химических наук, профессором, заведующей кафедрой общей органической химии Казанского Государственного медицинского университета Никитиной Валерией Евгеньевной. Есть одно замечание: в схеме 8 авторефератов имеются опечатки -  $\text{CH}_2$ -хлор, и двойная связь в соединениях 73, 75, 77.

Отзыв подготовлен доктором химических наук, доцентом профессором РАН, главным научным сотрудником лаборатории органического синтеза и химии природных соединений Института химии ФИЦ КОМИ Чукичевой Ириной Юрьевной. Отзыв положительный. В качестве замечания следует отметить отсутствие в тексте обсуждения зависимости биологической активности от стереохимии синтезированных производных.

И последний отзыв, подготовленный Академиком Национальной Академии Наук Республики Казахстан, доктором химических наук, профессором Адикеновым Сергазы Манжасаровичем. Отзыв положительный, без замечаний. На этом у меня все.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

Спасибо. Дмитрий Олегович, пожалуйста, ответьте на замечания.

Цыпышев Дмитрий Олегович

Действительно, в тексте раздела 3 в пояснениях к таблице номер 2 не было указано, на каких клеточных линиях проводился эксперимент, был получен индекс селективности. Исследование проводилось на клеточной линии HEp-2. Это действительно стоило бы указать.



Столбец таблицы 6 в разделе 4 со значением полужитотоксических концентраций исследуемых соединений... Касательно, собственно, цитотоксичности конъюгатов, которая действительно достаточно низкая, можно сказать, что соединения, взятые на исследование цитотоксических эффектов топотекана, показали низкую цитотоксическую концентрацию.

Для остальных соединений точное измерение не проводилось или если проводилась, то показатели для них, показатели цитотоксических концентраций для них высокие. Исходные нативные соединения, пропаргильные эфиры или азиды, не проявляли активности в условиях эксперимента.

На конкретно данных аддуктах это исследование не проводилось. Фрагменты, действительно, судя по результатам молекулярного докинга и рационального дизайна, который вначале проводился, индивидуальные фрагменты показывали более низкую активность. На схеме 3, на странице 10, сульфат меди использовался в виде кристаллогидрата, действительно, это стоило бы отразить на данной схеме. На схеме 9, на странице 13, целевые соединения были выделены с выходами до 45%.

Синтез изоксазолов проводился с выходом сложной смеси побочных продуктов, олигомеризации и димеризации нитрилоксидов. Анализ этой смеси является достаточно сложным. Конкурирующая параллельная реакция при получении соединений 78–79 является димеризация и олигомеризация нитрилоксидов, дающие сложную смесь продуктов в условиях реакции.

В схеме 8 автореферата действительно имеется опечатки:  $\text{CH}_2$ -хлор, и двойная связь там указана перекрестной для того, чтобы обозначить наличие как цис-, так и транс- изомеров оксимов в продукте, что не влияет на дальнейшее течение реакции, так как оба изомера конвертируются в линейные нитрилоксиды. На странице 21 вывод о снижении липофильности исследованных соединений сделан на основе данных ВЭЖХ. Было бы целесообразно представить по времени удержания величины  $\log P$ ? Да, было бы, но по данному эксперименту это сделать было бы крайне сложно, так как для определения  $\log P$  необходимо использование внутреннего стандарта.

При этом именно общая закономерность при исследовании - при получении ADMET расчетов и данных  $\log P$  оттуда и экспериментальных  $\log P$  именно об отношении липофильности соединений - закономерность сохраняется. Вывод на странице 21 об усилении цитотоксичных эффектов топотекана в композиции с соединениями 43, 67, 85 действительно основан на статистически значимых отличиях в данных, приведенных на рисунке 4.

И было замечание об исследовании хиральности соединений. Были созданы тепловые карты. Были созданы тепловые карты. Было показано то, что закономерность, хоть и

наблюдаются в некоторых случаях, закономерность слабая и не всегда воспроизводится для всех рядов кумаринов, в зависимости от их заместителя.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

Спасибо. Замечания есть? У меня только замечание, что надо было бы указать, на чьи вы замечания отвечаете. Просто Вы перечислили и ответили, а кто их, так сказать, составил? Спасибо. Присаживайтесь, ну и приступаем сейчас к отзывам официальных оппонентов.

Ну и первое слово предоставляется доктору химических наук, профессору Аксенову Николаю Александровичу, заведующему кафедры органической химии, химический факультет федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Северо-Кавказский федеральный университет. Пожалуйста.

Официальный оппонент – д.х.н., проф. Аксенов Николай Александрович

Здравствуйте, уважаемый председатель. Заместитель председателя, члены Совета присутствующие. Ну, конечно, я хотел бы выразить свое удовольствие присутствовать на данной интересной защите с таким бурным обсуждением и иметь возможность выразить свое мнение в качестве официального оппонента. Ну, начать я, конечно, хотел бы немного издалека. Ну, в принципе, с того, что наука и, в частности, фундаментальная наука, она всю историю человечества решала какие-то актуальные проблемы, которые стояли перед цивилизацией.

Вот такое постепенное накопление информации, вызванное и практическими соображениями желанием решить актуальные проблемы, связанные с любопытством, оно, конечно, рано или поздно приводило к появлению новых революционных теорий, новых технологий и даже целых направлений науки.

Ну и, конечно, одним из таких направлений стала химия, которая сменила алхимию, имела намного более сильную предсказательную силу. И с тех пор химия становится началом начал. Это дисциплина, которая дает нам новые материалы, которые определяют свойства всех материальных объектов, которые нас окружают.

Приходя ближе к диссертации, конечно, медицинская химия -не исключение. Действующее начало лекарственного препарата полностью определяет предельные характеристики лекарственной формы, которую мы можем из нее сделать.

Да, мы можем некоторыми добавками, используя другие кристаллические формы, полиморфные формы, возможно, используя средства доставки, мы можем в каком-то диапазоне улучшать, изменять фармакокинетику, селективно доставлять лекарства, но всё-таки действующее начало будет определять все свойства. Ну и к сути моего вступления, собственно, постепенное накопление информации в области медицинской химии очень важно.

Даже если исследования будут тупиковыми и их закроют на какой-то из стадий внедрения - может быть, на поздней доклинике, может быть, на клинике - все равно таким образом мы закрываем вот эти тупики и направляемся в нужную область. Исследования в области медицинской химии, они в случае имеют свою актуальность. Тем более сейчас, в конце XX века, в начале XXI века, мы получили ряд очень опасных заболеваний.

Не будем трогать нашу хворь 2019 года. У нас есть помимо нее ВИЧ, у нас есть гепатит, который не лечится, вирус Эбола, который подступает. Есть ряд паразитарных инфекций в Африке, в Иране, которые на данный момент не имеют должного лечения. И, конечно же, я считаю, что вирусные инфекции сейчас являются наиболее актуальными, лечением, поскольку, не имея выраженной биохимии, вирусы, конечно, очень и очень сложно лечить на данный момент.

В основном мы занимаемся, конечно, подавлением репликации, мы занимаемся купированием симптомов, но, конечно, эффективное лечение, оно ждет нас впереди, и, конечно, решению данных задач данная диссертация, безусловно, она посвящена, способствует и является актуальной и практически значимой.

Диссертация имеет классическую структуру, состоит из введения, трех глав, списка сокращений, список литературы, оформленной по ГОСТу. Весь текст кропотливо вычитан, там содержится минимальное количество отпечаток или каких-то стилистических ошибок. Литературный обзор, в силу направленности работы, выполняет свои основные задачи.

Прежде всего, в нем дан обзор кумаринов, их пренилированных аналогов, соединений, встречающихся в природе, в медицинской, в клинической практике. Безусловно, это важно для цели данной работы. И также, поскольку она содержит синтетическую часть, показаны основные методы синтеза близких к ключевым структур.

Таким образом, литературный обзор выполняет свои основные задачи, подтверждает актуальность тематики, показывает развитие направлений, белые пятна, перспективы, а также некоторые методы, которые легли в основу данной работы. Обсуждение результатов представляет собой такое цельное полотно повествования, все элементы которого вытекают друг из друга.

Здесь у нас видна такая кропотливая работа по полному синтезу структур, которые были заранее отмечены как наиболее перспективные. Конечно, есть и вторая линейка, то есть соединения, которые были синтезированы уже исходя из полученных практических результатов, что, конечно, является вторым способом работы как химика-синтетика.

Обычно, конечно, органики пытаются найти ограничения своих методов, сделать максимальное количество превращений из имеющихся субстратов, но здесь мы, конечно,



имеем полный синтез, что, безусловно, важно, интересно и имеет научную новизну в том числе.

В работе, я думаю, не стоит это сильно разводить, то есть у нас был сделан синтез широкого ряда исходных соединений. Далее были созданы химерные молекулы, конъюгаты, с помощью триазольных или изоксазольных мостиков.

Безусловно, наиболее захватывающей частью является синтез изоксазольных производных. Здесь исследователь столкнулся с множеством проблем, которые были, я считаю, успешно решены с помощью тщательной оптимизации с помощью предложенных альтернативных методов синтеза, включающих дихлорпропен, включающих конденсацию оксимов с бензилированными ацетиленами.

В любом случае синтетические задачи были выполнены. Следующий этап — это, конечно, заглавная тема данной работы, Я считаю, что это главная часть работы, в ходе неё были выполнены все обозначенные в работе задачи, были, безусловно, получены очень эффективные ингибиторы, которые действовали как на вирусы, так и на раковые опухоли.

Также была показана противовоспалительная и антибактериальная активность, коагулянтная активность, и, безусловно, в данном случае все задачи были выполнены.

Методологически, был использован и препарат сравнения, и показан индекс селективности, что очень важно, но часто в таких работах обсуждается. Поэтому тут у меня, конечно, никаких сомнений нет. Ну, конечно, хотелось бы добавить, что каждый раз, когда я вижу заявленные конъюгаты каких-то двух фармакофорных фрагментов, безусловно, я пытаюсь найти возможность, что лишь одна из частей данного конъюгата является фармакофорной, в то время как вторая часть является спейсером. Тут я не смог этого выявить. Безусловно, молекулы действуют как вот такая единая фармакофорная группировка. И, как бы заканчивая, основные положения изложены в двух публикациях, индексируемых в Web of Science, Scopus, рекомендуемых в ВАК Минобрнауки, показаны на большом количестве ведущих отечественных конференций.

Экспериментальная часть содержит весь набор необходимых инструментов, что, конечно, не вызывает сомнений в выводах, сделанных в работе, а все вышесказанное, конечно, не оставляет сомнений в высокой научной новизне и практической значимости.

Вместе с тем у меня есть некоторые замечания, которые я должен озвучить. В тексте присутствуют некоторые недочеты по оформлению, который я прошу разрешить не зачитывать. И следующий вопрос.

Исследовали ли вы пути разложения оксимов **154** в условиях реакции? Возможно ли в данном случае внутримолекулярное циклоприсоединение? Также, почему автор выбрал путь *in situ* генерации хлороксимов вместо двухстадийного синтеза, что, на мой взгляд, было бы

более эффективно в ряде случаев. Рассматривали ли вы алкилирование бета-кетокислот по положению 2? Это было бы хорошей альтернативой соединению **102**, показывающему высокую активность.

Также я могу предложить замену арильных фрагментов в производных **103** и **106**, арилированных, на производные кубана, что, также было показано, значительно может снизить токсичность соединений.

И в заключение я должен зачитать, что указанные замечания никоим образом не умаляют достоинства, а скорее отражают интерес к работе Цыпышева Д.О. «Монотерпеновые кумариновые конъюгаты, соединённые гетероциклическим линкером, перспективные биологически активные соединения», которая по актуальности, новизне, научной и практической значимости полностью соответствует требованиям пункта 9.14 Положения о присуждении учёных степеней, утвержденного постановлением правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 года в редакции постановления правительства РФ от 11.09.2021 года, номер 1539, является законченной научно- квалификационной работой, в которой содержится решение задач, имеющей существенное значение для развития органической и медицинской химии, а именно направленного синтеза конъюгированных кумарино-терпеновых соединений и исследования биологической активности. Автор работы Цыпышев Дмитрий Олегович заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.3 «Органическая химия», химические науки и 1.4.16 «Медицинская химия», химические науки.

Благодарю за внимание.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

Спасибо Николай Александрович за обстоятельный отзыв. Дмитрий Олегович, пожалуйста, ответьте на вопросы.

Цыпышев Дмитрий Олегович

В первую очередь хочу поблагодарить вас за отзыв и за замечания. Касательно недочетов по оформлению, да, действительно, они присутствовали. Большое спасибо за проявленную внимательность. Отвечая на дополнительно поставленные вопросы, стоит отметить то, что соединения - азида цитраля, азида гераниаля хранились в морозильной камере в тени. В этих условиях азида претерпевали внутримолекулярную изомеризацию.

И да, касательно микроволнового реактора, реактора Monowave 50, он действительно был микроволновый. Условием работы была постоянная температура. Датчиком работы, датчиком температуры является инфракрасный датчик. При исследовании путей разложения

оксима **154** в условиях реакции можно сказать только то, что они приводят к сложной, трудно анализируемой смеси продуктов, и глубокое исследование представляется затруднительным.

Однако внутримолекулярное циклоприсоединение, согласно литературным данным, является, скорее всего, первичной побочной реакцией, протекающей в этих условиях. Почему был выбран *in situ* путь генерации хлороксимов вместо двухстадийного синтеза? Это вопрос по хлороксимам, делаю акцент. Действительно, попытки синтезировать и выделить хлороксимы были предприняты, но продукты были крайне неустойчивы, они не могли выжить даже больше 10 минут.

Касательно алкилирования бета-кислот по второму положению и получения соответствующих модифицированных кумаринов. Алкилирование бета-кислот по второму положению — это действительно перспективное направление работы, которым в нашей лаборатории занимается прямо сейчас, буквально в данное время. Касательно замены арильных фрагментов в производных **103** и **106** на производные кубана — это действительно кажется интересным, перспективным. Это хорошая идея для будущих исследований, и ее было бы очень интересно рассмотреть. Большое спасибо.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

Николай Александрович, полностью удовлетворены ответом на ваш вопрос? Спасибо. Ну и теперь предоставляется слово Хлебниковой Татьяне Борисовне, кандидату химических наук, официальному оппоненту. Старший научный сотрудник отдела тонкого органического синтеза Генерального государственного бюджетного учреждения науки федерального исследовательского центра Института катализа имени Борескова Сибирского отделения Российской академии наук. Пожалуйста.

Официальный оппонент – к.х.н. Хлебникова Татьяна Борисовна

Представленная нам работа сегодня представляет собой междисциплинарное исследование, которое вносит значительный вклад как в развитие методов химии природных соединений. Так, в результате этой работы получены новые знания в области фармакологических свойств, новых производных природных соединений, а также предложены модели их механизмов фармакологического действия на молекулярном уровне.

Природные соединения давно используются в качестве действующих веществ фармацевтики, благодаря разнообразию их структурного строения и наличию различных, особенно гетероатомных функциональных групп, и выявлении структурных единиц, определяющих на молекулярном уровне эффективность того или иного фрагмента в терапии определенного заболевания, являются основой для поиска новых соединений и кандидатов для создания селективных лекарственных препаратов.

В связи с этим особую значимость приобретает разработка синтетических, удобных и воспроизводимых синтетических методов, позволяющих набирать библиотеки соединений для исследования биологической активности производных природных соединений. И это все является основой актуальности и практической значимости, представленной нашему вниманию диссертации Дмитрия Олеговича.

Диссертационная работа Дмитрия Олеговича соответствует всем основным требованиям, предъявляемым диссертациям, состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, заключения, списка литературы.

В литературном обзоре представлены современные сведения о строении, источниках и фармакологических свойствах пренилированных кумаринов, проведен анализ характера и положения функциональных групп и структурных единиц на выраженность различных типов биологической активности.

Рассмотрены различные синтетические подходы к получению пренилированных кумаринов. И анализ литературных данных, и выводы из литературного обзора подтверждает актуальность выбранного направления исследования - именно противоопухолевой и противовирусной активности конъюгатов кумарина с монотерпенами, а также является основой для выбора рациональных путей синтеза в библиотеках и в соединениях.

Вторая часть представляет собой описание и обсуждение результатов синтетической части работы. Тут приведена разработка синтезов библиотек соединений, в которых сначала описаны синтетические пути получения структурных блоков, а именно пропаргиловых эфиров, замещенных кумаринов.

Они получены с довольно высокими выходами синтетическим путем из бета-кетозэфиров, а также приведены описания синтезов азидов и оксимов из циклических и алифатических терпенов.

Из используемых полученных строительных блоков разработаны способы синтеза новых конъюгатов в различных их сочетаниях.

И таким образом, синтезированы библиотеки, в которых кумарины, пренилированные кумарины и терпены связаны триазольными и изоксазольными линкерами, которые образованы в результате реакции 1,3-диполярных циклоприсоединений. Также для алифатических терпенов разработан дополнительный путь синтеза изоксазольных конъюгатов, в которых молекулу терпена будет введена изоксазольная группа, а образование целевых соединений происходит в результате алкилирования 7-гидроксикумаринов.

Таким образом, в результате выполнения всей синтетической работы синтезирована библиотека новых кумарин-терпеновых конъюгатов. И, третья глава диссертации посвящена



как раз результатам биологических исследований этих соединений в отношении респираторно-синцитиального вируса и фермента TDP1.

В результате этих исследований *in vitro* выявлены структурные элементы и функциональные группы, которые оказывают влияние на активность соединений в этих условиях, и обнаружено, что наличие триазольного линкера вносит основной вклад в увеличение противовирусной активности, а дополнительное повышение противовирусных свойств происходит при наличии гидроксигруппы в молекуле фрагмента алифатического терпена, а также найдено, что ингибирование фермента TDP1 происходит в основном соединениями с изоксазольными линкерами, тогда как триазол-связанные конъюгаты малоактивны.

Также автором проведено молекулярное моделирование взаимодействия исследованных соединений и предложены механизмы, гипотезы о механизме воздействия полученных соединений с активными сайтами протеинов, и возможные механизмы молекулярного воздействия, молекулярные основы лечения патологии данными соединениями.

В экспериментальной части полно описаны методы синтеза и приведены их характеристики, полученные комплексом современных методов физико-химических исследований.

Результаты исследований соответствуют поставленной цели работы. Научная новизна и практическая значимость заключается в разработке способов получения новых кумарин-терпеновых конъюгатов, создании библиотек ранее неизвестных производных кумаринов и терпенов и выявлении среди синтезированных соединений взаимосвязи структура-активность, и обнаружению соединений-лидеров с низкой токсичностью, высокой ингибирующей активностью, репродукции респираторно-синцитиального вируса и тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1.

Работа представляет собой завершенное научное исследование. Результаты опубликованы в двух статьях, рекомендуемых ВАК и индексируемых в Web of Science. Также по полученным результатам оформлен один патент. Докладывались работы на семи Всероссийских международных конференциях, и таким образом работа является законченным исследованием.

В ней отсутствуют принципиальные ошибки и недостатки, но можно отметить некоторые мелкие замечания. На страницах 19, 21, 22, 26, 27, 30, 31 размерность для молярной концентрации указана со строчной буквы вместо прописной.

На странице 41 главы 2 указано, что *Z*- и *E*- изомеры азида гераниола **89** можно получить методом колоночной хроматографии их смеси, однако в экспериментальной части описаны только условия очистки смеси *Z*- и *E*- изомеров, и не указаны условия их разделения.

На странице 44 написано, что для повышения выходов продуктов синтеза триазолов **121–126** реакцию осуществили в среде метиленхлорид-третбутанол-вода, тогда как в экспериментальной части описана только общая методика синтеза триазола в среде третбутанол-вода без модификации метода для соединений **121–126**.

В тексте диссертации допущен ряд ошибок в нумерациях названий веществ, вместо заместителя «терпен» указан «пропил», вместо «карбонат калия» - «карбонат натрия», вместо азидов на схеме 13 указаны спирты, вместо ссылки на рисунки 23 и 24 должна быть ссылка на рисунок 25, на странице 84 написано «препарат сравнения фуросимид» вместо «фураимидин», на странице 98 - «дихлорпропан» вместо «дихлорпропен», Также на странице 99 «гексан-этиловый эфир» вместо «гексан-этилацетат». А также указан номер соединения **66** вместо **67**. В тексте. используются аббревиатуры, не указанные в списке сокращений. На странице 60 АК - аминокислот, на странице 96, 97, 98 ОФ - органическая фаза, RM – реакционная масса. Но эти ошибки носят частный характер и не снижают ценности исследований.

В целом, диссертация является цельной научной квалификационной работой, в которой решена важная научная задача разработки методов синтеза потенциальных ингибиторов репродукции респираторно-синцитиального вируса и фермента репарации ДНК TDP1 путем химического построения сложных соединений, в которых фармакофорные, кумариновые и терпеновые строительные блоки соединены гетероциклическими линкерами, что имеет существенное значение для развития органической и медицинской химии.

Таким образом, работа «Монотерпен-кумариновые конъюгаты, соединенные гетероциклическими линкерами, перспективные биологически активные соединения» по актуальности и научной и практической значимости полученных результатов соответствует требованиям 9.14 Положения о порядке присуждения ученых степеней, принятого постановлением правительства 842 от 24 сентября 2013 года, и ее автор, Цыпышев Дмитрий Олегович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 «Органическая химия» 1.4.16 «Медицинская химия».

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

Спасибо, Татьяна Борисовна. Да, Дмитрий Олегович, ответьте на вопросы и замечания.

Цыпышев Дмитрий Олегович

В первую очередь хотелось бы сказать большое спасибо Татьяне Борисовне за проделанную работу, за проделанную вычитку. На страницах 19, 21, 22 и т.д. действительно в

литературном обзоре размерность для молярных концентраций указана со строчной вместо прописной. Да, к сожалению, так было, я так писал. На странице 41 главы 2 указано, что *Z*- и *E*-изомеры азида гераниола можно получить методом колоночной хроматографии их смеси, однако в экспериментальной части описаны только условия очистки смеси *Z*- и *E*-изомеров, не указаны условия их разделения.

Изомеры азида гераниола изомеризуются при хранении, и именно разделение азидов гераниола не имеет практического смысла ввиду этого факта. В тексте диссертации использована неудачная формулировка, цитата, что с одной стороны может затруднить выделение целевых соединений, с другой - позволяет получить каждый из *E* и *Z*-изомеров методов колоночной хроматографии. Правильнее сказать: выделить *E* и *Z*-изомеров целевых соединений, то есть триазолов, методом колоночной хроматографии. Выделяются они, соответственно, колоночной хроматографией с применением градиента гексан-этилацетат, этилацетат от нуля до 1 к 1.

На странице 44 написано, что для повышения выхода продуктов синтез триазолов **121-126** осуществляли в среде метиленхлорид-трет-бутанол-вода. Да, действительно, в экспериментальной части указана только общая методика синтеза, и следовало привести методику синтеза для соединения **128**. Это, на мою память, единственное соединение, для которого эта методика, оптимизированная, применялась. То есть, мы действительно добавляли метиленхлорид в реакционную смесь для увеличения растворимости реагентов. Это было необходимо для одного конкретного случая.

В тексте диссертации действительно был допущен ряд ошибок в нумерации и названии веществ. На схеме 2, вместо заместителя, где указан «Rг» и так далее. Да, такие недочеты были допущены, и большое спасибо за детальную вычитку. И да, в тексте используется аббревиатуры, не указанные в списке сокращений, то есть АК — аминокислота, ОФ — органическая фаза, и РМ — реакционная масса. Да, их следовало бы указать в списке сокращений.

Большое вам спасибо еще раз.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

Татьяна Борисовна, Вы согласны с ответами на Ваши вопросы и замечания? Спасибо. Теперь мы переходим к общей дискуссии по представленной работе. В общей дискуссии могут выступать все присутствующие на этом заседании. Да, пожалуйста, Нариман Фаридович.

Член диссертационного совета – д.х.н., проф., чл.-корр. РАН, Салахутдинов Нариман Фаридович

Уважаемые коллеги, я хотел бы обратить ваше внимание на актуальность вот этой вирусной тематики, противовирусной тематики. Значит, конечно, и Дмитрий Олегович говорил, и руководитель говорил, но надо еще более акцентировать на это внимание.

Дело в том, что когда Дмитрий начинал эту работу, она уже тогда была актуальна. Дело в том, что низкомолекулярных ингибиторов РСВ нет ни в стране, ни в мире. Но в течение вот этого времени актуальность не только не уменьшилась - она увеличилась, потому что тогда, кроме низкомолекулярных препаратов, были антитела, которые очень дорогие, их мало и так далее, но тем не менее принципиально они были, и можно было, значит, бороться с вирусом с помощью антител. В данный конкретный момент антител нет в России.

Завод прекратил выпуск, значит, из-за рубежа невозможно привезти, и так далее. Поэтому актуальность вот этой работы, она резко-резко возрастает, потому что, на самом деле, кроме нашей команды, и, в частности, Дмитрия Олеговича, разработкой противовирусных соединений низкомолекулярных против РСВ никто не занимается.

Так получилось, что мы работаем с многими классами природных соединений, и именно производные конъюгаты, терпен-кумариновые конъюгаты, они одни из лидеров в этом направлении, и вполне возможно, что когда-нибудь мы их продвинем дальше. И тот опыт, который Дмитрий Олегович наработал сейчас - а вы знаете, что химия производных соединений не всегда однозначна, не всегда проходит так же, как, допустим, с ароматическими соединениями - тот опыт, он позволяет нам достаточно уверенно смотреть вперед, уверенно в том, что мы можем и отмасштабировать наш синтез соединения-лидера и изучить его достаточно хорошо, его свойства. Поэтому я считаю, что то, что Дмитрий Олегович внес вот в это направление, оно весьма так достойно, весьма весомо, и эта диссертация, значит, в диссертации это достаточно выпукло выделено. Поэтому, я считаю, что и Дмитрий Олегович достоин искомой степени, и работа вполне весома, и я буду голосовать «за», и вас всех призываю к этому же. Спасибо.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

Спасибо, Нариман Фаридович. Есть ли ещё желающие выступить? Да, пожалуйста, Ольга Анатольевна.

Член диссертационного совета – д.х.н. Лузина Ольга Анатольевна

Я бы хотела отметить, что мне эта работа понравилась своим сочетанием химической части работы, анализа структура-активность, но и при этом очень удачным местом в этой работе компьютерного моделирования.

Я вообще обычно очень отрицательно отношусь к этой модной тематике, и, как правило, она очень часто не так и нужна совершенно в этих работах, но в данном случае это



тот пример, когда эти исследования, проведенные лично соискателям, помогли, то есть они реально как-то направили и объяснили какие-то вещи, то есть мне кажется, что вот очень круглая и очень аккуратная работа, я буду голосовать «За», и мне понравилась диссертация, спасибо.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

Спасибо, Ольга Анатольевна. Ну, есть ли ещё желающие... По-видимому, уже достаточно, и теперь нам нужно предоставить заключительное слово соискателю.

Цыпышев Дмитрий Олегович

Когда я поступал в аспирантуру, когда я переезжал сюда на работу, переезжал из другого города, я переезжал сюда по сути дела заниматься наукой, заниматься исследованием. Я переезжал сюда воспользоваться той ценнейшей возможностью, которую здесь дают. И за то, что у меня получилась полноценная, так сказать, круглая работа, за то, что мне действительно получилось внести какой-то вклад, свою лепту, я хочу выразить большое спасибо всем тем, кто так или иначе, прямо или косвенно в этом принимал участие. Отдельно хочется выразить свою благодарность Константину Петровичу Волчо, Нариману Фаридовичу Салахутдинову. Хочется выразить благодарность тем, кто принимал участие в работе именно с диссертацией, над диссертацией, оппонентам, Татьяне Борисовне Хлебниковой, Николаю Александровичу Аксенову, и Юрию Викторовичу Харитонову, рецензенту.

И просто хочется выразить большое спасибо в целом коллективу НИОХ СО РАН. Это замечательное место, это место полное профессионалов, титанов мысли и труда, и я, честно говоря, поражен именно тем, как оно бывает, как это здорово, и мне просто здесь, именно как человеку, очень понравилось, и хочется еще раз всем сказать свое большое спасибо.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

Спасибо, Дмитрий Олегович. Ну, а теперь нам предстоит выбор счетной комиссии. Сергей Сергеевич.

Ученый секретарь диссертационного совета – к.х.н. Патрушев Сергей Сергеевич

Традиционно выбор счетной комиссии у нас основан на «кто последний пришел, тот становится кандидатом». Сегодня предлагаем Артемьева Александра Викторовича, Казанцева Максима Сергеевича и Шелковникова Владимира Владимировича. У нас такая физико-химическая комиссия. Кто за? Кто против? Воздержались? Единогласно. Счетная комиссия может приступить к работе. Все готово.

Член диссертационного совета – д.х.н. Шелковников Владимир Владимирович

Уважаемые коллеги, разрешите огласить результаты работы комиссии в составе председателя Шелковникова, Казанцева и Артемьева. Результаты работы счетной комиссии. Присутствовали на заседании 21 член ученого совета, в том числе докторов наук по профилю диссертации по органической химии - 8 и по медицинской химии - 5.

21 бюллетень был роздан, в урне -21, и результаты голосования: за – 21, количественно, против - ноль, недействительных - ноль.

Заместитель председателя диссертационного совета – д.х.н., доцент РАН, Тихонов Алексей Яковлевич

Необходимо утвердить протокол. Кто за? Кто против? Кто воздержался? Принято единогласно. Поздравляем Дмитрия Олеговича с присуждением учёной степени кандидата химических наук. И теперь нам нужно принять заключение по диссертации. Есть ли замечания? Проект заключения был разослан, там, правда, уже исправления были внесены. Есть ли еще новые изменения, дополнения? Если нет, то кто за то, чтобы принять заключение по этой кандидатской диссертации? Спасибо. Заключение принято.

Зам. председателя диссертационного совета

д.х.н., доц.

Тихонов А.Я.

Ученый секретарь диссертационного совета

к.х.н.

Патрушев С.С.

