

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Новосибирского
института органической химии им.
Н.Н. Ворожцова Сибирского
отделения Российской академии наук



(ННХ СО РАН)
д.ф.-м.н., профессор

Е.Г. Багрянская

«24» _____ 2025

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

Диссертация Цыпышева Дмитрия Олеговича «Монотерпен-кумариновые конъюгаты, соединенные гетероциклическим линкером, перспективные биологически активные соединения» выполнена в Лаборатории физиологически активных веществ ННХ СО РАН.

Соискатель Цыпышев Дмитрий Олегович работает в ННХ СО РАН с 03 сентября 2021 года. С сентября 2021 года по настоящее время занимает должность младшего научного сотрудника Лаборатории физиологически активных веществ.

В 2021 году Цыпышев Дмитрий Олегович окончил федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный университет» (г. Уфа), Химический факультет по специальности 04.04.01 «Химия», кафедра органической химии.

С «01» сентября 2021 года зачислен на обучение в очную аспирантуру ННХ СО РАН по направлению подготовки 04.06.01 «Химические науки», специализация «Органическая химия» » (приказ о зачислении № 26-асп от 20 августа 2021 г.), с 09.12.2022 г. приказом № 46-асп от «09» декабря 2022 г. переведен на обучение по программам подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре, реализуемым в соответствии с федеральными государственными требованиями (ФГТ) по научной специальности 1.4.3 «Органическая химия» (химические науки) и по настоящее время продолжает обучение в очной аспирантуре ННХ СО РАН.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана ННХ СО РАН в 2025 году.

Тема диссертационной работы утверждена на заседании Ученого Совета ННХ СО РАН (протокол № 6 от 05 октября 2021 г.).

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор РАН Волчо Константин Петрович, гл.н.с. лаборатории физиологически активных веществ ННХ СО РАН.

Отзыв рецензента д.х.н., зав. лабораторией медицинской химии НИОХ СО РАН Харитонов Юрия Викторовича на диссертационную работу – положительный.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертационная работа Цыпышева Дмитрия Олеговича связана с разработкой рациональных подходов к синтезу конъюгатов с кумариновой с монотерпеновой частями, связанными между собой гетероциклическим линкером – (1,2,3-триазольным или изоксазольным), и изучению свойств новых соединений на основе анализа результатов *in vitro* и *in silico* исследований их способности ингибировать репродукцию респираторно-синцитиального вируса (РСВ) и активность фермента репарации ДНК – топоизомеразы 1 (TDP1). В процессе выполнения работы предложен эффективный подход к получению новых 1,2,3-триазол-связанных 7-гидроксикумарин-монотерпеноидных конъюгатов реакцией 7-*O*-пропаргиллоксикумаринов с азидами терпеноидов. Разработан вариант получения оригинальных кумарин-монотерпеновых конъюгатов, соединенных изоксазольным фрагментом, на основе [3+2]-циклоприсоединения нитрилоксидов, генерируемых *in situ* из соответствующих оксимов некоторых циклических терпеноидов, к пропаргильным эфирам 7-гидроксикумаринов в присутствии [бис(трифторацетокси)йодо]бензола. Найдены условия альтернативного образования «изоксазол-связанных» конъюгатов реакцией 4-замещенных или 5-аннелированных 7-гидроксикумаринов с 5-хлорметилизоксазольными производными, полученными циклизацией оксима 3,7-диметилгексаналя с 2,3-дихлорпропеном. *In vitro* оценка целевых активностей синтезированных производных с параллельным *in silico* скринингом их способности взаимодействовать с соответствующими молекулярными мишенями (оболочечный F-белок РСВ и каталитический центр белка TDP1) позволили выявить новые важные закономерности взаимосвязи «структура соединения – биологическая активность» в ряду производных природных кумаринов и терпенов.

Актуальность темы. Природные и синтетические кумарины составляют важную группу биологически активных соединений, спектр терапевтического действия которых во многом определяется, как их строением, так и периферийным дизайном (наличием и топологией заместителей в кумариновом остове): они обладают противоопухолевой, противовоспалительной, противомикробной, противовирусной и противопаразитарной активностью, способны регулировать процессы возникновения и развития патологий обмена веществ, работы центральной нервной и сердечно-сосудистой систем. Исследования зависимости специфической биологической активности кумаринов и их синтетических производных от их строения в настоящее время переживают фазу активного развития, и выделены в отдельное научное направление. Поэтому разработка подходов к целенаправленной химической модификации кумаринов с использованием достижений современного органического синтеза, позволяющая получать масштабные библиотеки производных для скрининга их биологической активности, приобретает особое значение. Согласно статистическим данным, смертность от онкологических заболеваний занимает второе место, уступая только заболеваниям сердечно-сосудистой системы, а острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) являются основным жизнеугрожающим фактором для уязвимых пациентов, относящимся к основным группам риска – это пожилые, дети (особенно в возрасте до 1 года), а также онкологические больные с пониженным иммунным статусом. Учитывая высокий потенциал противоопухолевого действия пренилированных кумаринов (снижают метаболическую

активность опухолевых клеток, ассоциированных с раком кожи, раком груди, колоректальным раком и раком желудка, способны увеличивать активность топотекана, ингибитора топоизомеразы 1), их противовирусную активность в отношении ВИЧ-1, РСВ типа А и В, вируса гриппа А H1N1, а также успешный опыт лаборатории физиологически активных веществ НИОХ СО РАН по созданию противовирусных агентов и ингибиторов TDP1 на основе производных кумаринов и терпенов, связанных метиленовыми/полиметиленовыми цепочками, разработка методов синтеза новых монотерпен-кумариновых конъюгатов, соединенных гетероциклическими линкерами (1,2,3-триазольным или изоксазольным), *in vitro* и *in silico* оценка их активности в отношении респираторного синцитиального вируса и способности ингибировать фермент репарации ДНК – TDP1, а также влияния природы гетероциклического линкера и строения монотерпенового и кумаринового фрагментов, на биологическую активность, представляют актуальную и практически важную задачу.

Научная новизна работы. Синтезированы новые «кумарин-терпеновые» конъюгаты с 1,2,3-триазольным и изоксазольным линкерами в условиях [3+2]-циклоприсоединения азидов и нитрилоксидов монотерпенов к пропаргиловым эфирам 4-замещенных или 4,5-аннелированных 7-гидроксикумаринов. Показано, что новые кумарин-монотерпеноидные конъюгаты, соединенные изоксазольным линкером могут быть получены реализацией двух подходов: посредством реакции [3+2]-циклоприсоединения нитрилоксидов, образующихся *in situ* из оксимов циклических терпеноидов, к пропаргиловым эфирам 7-гидроксикумаринов в присутствии [бис(трифторацетокси)иодо]бензола, или реакцией модифицированных 7-гидроксикумаринов с 5-хлорметилизоксазольным производным ациклического насыщенного монотерпеноида. Установлено, что производные с триазольным фрагментом обладают ингибирующей активностью в отношении вирусов РСВ А и В (в том числе, с SI более 1000), проявляя максимальную активность в фазе внедрения вируса в клетку, по-видимому, за счет связывания с F-протеином РСВ, в то время как кумарин-терпеновые конъюгаты с изоксазольным линкером ингибируют активность фермент TDP1 в субмикромольном или нижнем микромольном диапазоне концентраций IC₅₀. Получены новые данные о зависимости «структура – противовирусные свойства» и «структура – анти-TDP1 активность», важные для последующих этапов поиска и создания новых противовирусных и анти-TDP1 агентов на основе представителей таких классов природных соединений, как кумарины и терпеноиды.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученный комплекс экспериментальных данных вносит существенный вклад в теоретические представления о диапазоне реакционной способности кумаринов и монотерпеноидов и открывает новые возможности модификаций кумаринового остова с селективным введением заместителей в положение С-7, что дополняет теоретические представления о реакциях [3+2]-циклоприсоединения с участием 4-замещенных или 4,5-аннелированных 7-пропинилоксикумаринов. Предложены последовательности химических трансформаций 7-гидрокси-4-метил-2H-хромен-2-она, 7-гидрокси-4-фенил-2H-хромен-2-она, 3-гидрокси-7,8,9,10-тетрагидро-6H-бензо[с]хромен-6-она и 7-гидрокси-2,3-дигидроциклопента[с]хромен-4(1H)-она путем их O-пропаргилирования, 1,3-диполярного циклоприсоединения азидов и нитрилоксидов терпенового ряда, приводящих к соответствующим конъюгатам с 1,2,3-триазольным и изоксазольным линкерами. Показана

зависимость эффективности синтеза изоксазол-содержащих карбонильных производных терпенов от их строения: изоксазол-содержащие производные могут быть получены с приемлемым выходом только из ароматических оксимов или оксимов циклических монотерпеноидов. Предложен и реализован альтернативный маршрут синтеза изоксазол-содержащих монотерпен-кумариновых конъюгатов, заключающийся в присоединении 2,3-дихлорпропена к оксиму ациклического насыщенного монотерпеноида с получением 5-хлорметилизоксазольного производного, ключевого реактанта в реакции *O*-присоединения к модифицированному 7-гидроксикумарину. Получены новые данные о зависимости «структура – противовирусные свойства» и «структура – противоопухолевые свойства», важные для последующих этапов поиска и создания новых противовирусных и анти-TDP1 агентов на основе кумаринов и терпеноидов. Установлено, что выраженными противовирусными свойствами обладают соединения с триазольным линкером, а соединения с изоксазольным линкером проявляют более яркие ингибирующие свойства в отношении TDP1.

Методология и методы исследования. Подходы к синтезу библиотек новых потенциальных противовирусных и противоопухолевых агентов разрабатывались с учетом принципов комбинаторной химии и заключались в «периферийном дизайне» исходных кумаринов и терпенов с последующей их конъюгацией на основе реакций 1,3-диполярного циклоприсоединения нитрилоксидов и азидов к ненасыщенным связям «C-C». Исходные кумарины синтезированы классической реакцией Пехмана. Выделение синтезированных соединений осуществлено методами экстракции, колоночной хроматографии и/или кристаллизации. Моделирование способности синтезированных соединений взаимодействовать с активными сайтами оболочечного белка F респираторного синцитиального вируса и фермента TDP1 выполнено с помощью программы Schrodinger Suite 2025-2. Структуры синтезированных соединений расшифрованы и полностью охарактеризованы с привлечением современных методов физико-химического анализа: поляриметрия, масс-спектрометрия высокого разрешения, ИК-спектроскопия, спектроскопия ЯМР ^1H , ^{13}C .

Достоверность результатов проведенных исследований. Степень достоверности обеспечена тщательностью проведения эксперимента и использованием современных физико-химических методов установления строения. Все впервые полученные соединения охарактеризованы методами ЯМР ^1H , ^{13}C и масс-спектрометрией высокого разрешения. Достоверность результатов подтверждается независимой экспертизой 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: (1) Выделение и очистка новых соединений; (3) Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул; а также паспорту специальности 1.4.16. Медицинская химия в области исследования: (1) Поиск, структурный дизайн и синтез соединений-лидеров - потенциальных физиологически активных (лекарственных) веществ, на основе: а) знания структурных параметров биомишени или особенностей патогенеза; б) анализа и модификации структур известных активных соединений; в) синтеза и биологического тестирования широкого разнообразия химических соединений. Обе специальности включены в утвержденную Министерством

науки и высшего образования Российской Федерации, номенклатуру научных специальностей, по которым присуждаются ученые степени.

Полнота опубликования результатов. По теме диссертационной работы опубликовано 2 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, получен 1 патент РФ. Опубликовано тезисов 7 докладов на российских и международных конференциях.

Список статей в рецензируемых журналах:

1. **Tsypyshev D. O.**, Klabukov A. M., Razgulaeva D. N., Galochkina A. V., Shtro A. A., Borisevich S. S., Khomenko T. M., Volcho K. P., Komarova N. I., Salakhutdinov N. F. Design, synthesis and antiviral evaluation of triazole-linked 7-hydroxycoumarin–monoterpene conjugates as inhibitors of RSV replication // RSC Med. Chem. – 2025. – Vol. 16(3). – P. 1151-1171. <https://doi.org/10.1039/d4md00728j>
2. **Tsypyshev D. O.**, Zakharenko A. L., Podurina M. V., Khomenko T. M., Kondrashov E. V., Lavrik O. I., Volcho K. P., Salakhutdinov N. F. Isoxazole-linked 7-hydroxycoumarin--2,6-dimethylheptane conjugates as inhibitors of TDP1 enzyme // Mendeleev Communications. – 2025. – Vol. 35(4). – 444-446. <https://doi.org/10.71267/mencom.7704>.

Патенты:

1. **Цыпышев Д.О.**, Хоменко Т.М., Волчо К.П., Салахутдинов Н.Ф., Штро А.А., Галочкина А.В., Клабуков А.М., Разгуляева Д.Н. «Производные 7-гидроксикумарина, соединенные с остатками монотерпенов через триазольный линкер, как ингибиторы репродукции респираторно-синцитиального вируса (РСВ)», Патент RU 2 826 560, Бюл. № 26, опубликовано: 12.09.2024.

Конференции, на которых представлены материалы диссертационной работы:

1. **Д.О. Цыпышев**, Т.Е. Корниенко, Т.М. Хоменко, А.Л. Захаренко, К.П. Волчо, Н.Ф. Салахутдинов, О.И. Лаврик. Монотерпен-кумариновые конъюгаты, соединенные через гетероциклический линкер, как ингибиторы фермента репарации ДНК TDP1 // «Химия и химическая технология в XXI веке»: сб. тез. XXIV Международной конференции (Томск 15-19 мая 2023 г.). – Устный доклад.
2. **Д.О. Цыпышев**, Т.Е. Корниенко, Т.М. Хоменко, А.Л. Захаренко, К.П. Волчо, Н.Ф. Салахутдинов, О.И. Лаврик. Ингибирующее действие монотерпен-кумариновых конъюгатов, соединенных гетероциклическим линкером, в отношении фермента репарации ДНК тирозил-ДНК фосфодиэстеразы 1 (TDP1) // «Современные проблемы органической химии»: сб. тез. Всероссийской научной конференции с международным участием (Новосибирск, 26-30 июня 2023 г.). – Устный доклад.
3. Т.М. Хоменко, К.П. Волчо, Н.Ф. Салахутдинов, А.А. Штро, С.С. Борисевич, **Д.О. Цыпышев**. Ингибиторы репродукции респираторно-синцитиального вируса человека на базе монотерпен-кумариновых конъюгатов, соединенных через гетероциклический линкер // «Современные проблемы органической химии»: сб. тез. Всероссийской научной конференции с международным участием (Новосибирск, 12-14 сентября 2022 г.). – Устный доклад.
4. Т.М. Хоменко, А.Л. Захаренко, К.П. Волчо, Н.Ф. Салахутдинов, О.И. Лаврик, Т.Е. Корниенко, **Д.О. Цыпышев**. Ингибиторы фермента репарации ДНК TDP1 на базе монотерпен-кумариновых конъюгатов, соединенных через гетероциклический линкер // Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней: сб. тез. Всерос. конф. (Сочи, 16-21 сент. 2022 г.). – Устный доклад.

5. **Цыпышев Д.О.,** Хоменко Т.М., Штро А.А., Борисевич С.С., Волчо К.П., Салахутдинов Н.Ф. Производные 7-гидроксикумарина, соединенные с остатками монотерпенов через триазольный линкер, как ингибиторы репродукции респираторно-синцитиального вируса (РСВ) // «МедХим-Россия 2024»: сб. тез. 6-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием (Нижний Новгород, 01-04 июля 2024 г.). – Устный доклад.
6. К.П. Волчо, И.В. Ильина, Н.С. Ли-Жуланов, А.В. Подтуркина, О.В. Ардашов, **Цыпышев Д.О.,** Хоменко Т.М., Н.Ф. Салахутдинов. Монотерпены как исходные соединения в поиске новых лекарственных средств // «Химия и химическая технология в XXI веке»: сб. тез. XXV Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых (Томск, 20-24 мая 2024 г.). – Устный доклад.
7. К.П. Волчо, **Д.О. Цыпышев,** Т.М. Хоменко, А.А. Штро, С.С. Борисевич, Н.Ф. Салахутдинов. Новые противовирусные агенты на основе кумарин-монотерпеновых конъюгатов // «VI Всероссийская конференция по органической химии»: сб. тез. (Москва, 23-27 сент. 2024 г.). – Устный доклад.

Личный вклад соискателя. Во всех публикациях вклад, внесенный соискателем в химическую часть исследования (выполнение экспериментальной работы, обсуждение результатов химического эксперимента, выявление связи структура-активность синтезированных соединений и подготовку материала к публикации), является основным.

Представленные в работе результаты получены автором или при его непосредственном участии. Соискателем осуществлены поиск, анализ и обобщение научной литературы по теме диссертации, планирование и проведение всех химических экспериментов, хроматографическое разделение реакционных смесей, выделение новых индивидуальных соединений, а также структурная идентификация веществ с использованием спектральных данных. Автором внесен существенный вклад в формирование общего направления работы и подготовку научных публикаций по теме исследования. 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 Д.О. являлся исполнителем бюджетного проекта по приоритетному направлению фундаментальных и поисковых научных исследований 1.4.5.3. «Разработка методов создания библиотек химических соединений для нахождения соединений-лидеров в наиболее социально значимых терапевтических областях путем направленной трансформации природных и синтетических стартовых молекул. Организация биологических испытаний полученных соединений» (№ АААА-А21-121011490014-4, руководитель НИР чл.-корр. РАН, д.х.н., проф. Салахутдинов Н.Ф.) и проектов РНФ (проект «Дизайн новых агентов для борьбы с респираторно-синцитиальным вирусом у детей на основе трансформаций природных соединений», руководитель чл.-корр. РАН, д.х.н., проф. Салахутдинов Н.Ф., № 21-13-00026, и проект «Новое поколение противовирусных агентов для терапии инфекции, вызванной респираторно-синцитиальным вирусом: направленный мишень-ориентированный синтез и изучение фармакологических свойств *in vitro* и *in vivo*», руководитель чл.-корр. РАН, д.х.н., проф. Салахутдинов Н.Ф. № 24-13-00134.)

Во время выполнения диссертационной работы Цыпышев Д.О. проявил себя самостоятельным и квалифицированным исследователем. В период обучения в аспирантуре Цыпышев Д.О. занимался педагогической деятельностью, вел лабораторный практикум по органической химии у студентов ИМПЗ НГУ.

Факт соответствия/несоответствия диссертации Критериям, установленным в соответствии с Федеральным законом от 23.08.1996 № 127-ФЗ «О науке и государственной научно-технической политике»: соответствует.

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 заседании семинара Отдела медицинской химии ФГБУН Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН.

Присутствовало на заседании 30 чел., в том числе 16 кандидатов наук и 8 докторов наук. Результаты голосования: «за» - 30, «против» - 0, «воздержалось» - 0, протокол заседания № 4 от «02» июля 2025 г.

Председатель семинара,
Главный научный сотрудник
лаборатории медицинской химии
ННХ СО РАН
д.х.н., профессор

 Шульц Э.Э.

Секретарь семинара, к.х.н.,
научный сотрудник
лаборатории медицинской химии
ННХ СО РАН

 Финке А.О.

«02» июля 2025 г.