

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Невской Алисы Александровны

«Получение биологически активных производных индолизинов, пирролоизохинолинов и конденсированных азепинов», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. – Органическая химия

Актуальность темы исследования

Азотсодержащие гетероциклические соединения, в частности, азациклы пиррольного типа, считаются универсальными и привилегированными каркасами в дизайне новых фармакологически значимых соединений в области органического синтеза и медицинской химии. Аннелированные N-гетероциклы с пиррольным скаффолдом привлекают значительное внимание исследователей своей структурной универсальностью в качестве синтетических промежуточных продуктов, а также потенциальных кандидатов лекарственных агентов и химических зондов. Одним из наиболее важных N-конденсированных гетероциклических *skeletons* считается индолизин, состоящий из пятичленного цикла пиррольного типа и шестичленного кольца пиридина, проявляющий широкий спектр биологической активности. При этом, конденсированные производные индолизинов - пирроло[2,1-а]изохинолины, образуют ряд уникальных пирролалкалоидов (Ламелларины) извлекаемых из морских моллюсков. В тоже время, структура пирроло[1,2-а]азепина является основным скелетом алкалоидов туберостемонина, дидегидротуберостемонина и дидегидропротостемонина. Многочисленные производные алкалоидов этих классов испытаны в качестве противовирусных и противораковых агентов. В связи с этим разработка новых эффективных методов синтеза аннелированных N-гетероциклов содержащих скелетон индолизина, изохинолина и азепина в настоящее время остается важной фундаментальной задачей.

Представленная Невской А.А. научная квалификационная работа посвящена разработке методов синтеза производных индолизинов, пирролоизохинолинов и конденсированных азепинов с последующим изучением биологической активности путем оценки у них цитотоксического действия в отношении линий опухолевых клеток, способности ингибировать ацетил- и бутирилхолинэстеразы, моноаминоксидазы, а также способности ингибировать лекарственную резистентность опухолевых клеток. Представленная диссертационная работа Невской А.А. безусловно является

актуальным научно-практическим исследованием в области современной органической химии. Дополнительным доказательством востребованности проводимых исследований представленной диссертации является финансовая поддержка Российским фондом фундаментальных исследований (гранты №18-33-20040, 19-33-70021 и 21-53-54002) и Министерством науки и высшего образования РФ (проект № 075-03-2020-223 (FSSF-2020-0017)).

Научная ценность и новизна диссертационной работы

Разработан ключевой подход к синтезу индолизинов, 1-ароилизохинолинов, 1-ароил-3,4-дигидроизохинолинов и бензо[с]пирролоазепинов, основанный на домино-реакциях ароильных производных, имеющих имино-кетонный фрагмент, с электронодефицитными алкенами и алкинами. Невской Алисой Александровной впервые была получена библиотека соединений, состоящая из производных индолизинов, пирроло[2,1-а]изохинолинов, 3,4-дигидропирроло[2,1-а]изохинолинов и конденсированных азепинов, включающих различные фармакофорные группы: альдегидные, кетонные, карбоксильные, сложноэфирные, азометиновые, амидные и амино-группы. Для подавляющего количества полученных соединений была изучена зависимость «структура-активность». Ряд пирролоизохинолинов и индолизинов проявили выраженную цитотоксическую активность в микромолекулярном диапазоне на четырех линиях клеток, а среди азометинов показано, что основания Шиффа 3,4-дигидропирроло[2,1-а]изохинолинов, полученные на основании 4-аминофенола, являются эффективными ингибиторами мультилекарственной резистентности опухолевых клеток. Азометины димерного характера обладают выраженными свойствами ингибиторов моноаминоксидазы и ацетилхолинэстеразы.

Практическая значимость диссертационной работы

В результате проведенных фундаментальных исследований разработаны методы направленного синтеза ранее неизвестных производными индолизинов, пирроло[2,1-а]изохинолинов, 5,6-дигидропирроло[2,1-а]изохинолинов, содержащих функциональными группами: альдегидными, кетогруппами, карбоксильными, сложноэфирными, азометиновыми, амидными и аминогруппами была протестирована на различные виды биологической активности. Проведенный первичный скрининг библиотеки синтезированных соединений на цитотоксическую активность в микромолекулярном диапазоне показал, что соединением-лидером в отношении опухолевых линий клеток (A549, HCT116, HeLa, RD) являются диальдегид пирролоизохинолина, чей цитотоксический эффект

соизмерим с активностью препарата сравнения Камтотецина, известного ингибитора топоизомеразы I. Показано, что основания Шиффа на основе 5,6-дигидропирроло[2,1-а]изохинолинов являются эффективными ингибиторами мультилекарственной резистентности опухолевых клеток. Среди других полиазагетероциклов, выраженными свойствами ингибиторов моноаминоксидазы и ацетилхолинэстеразы проявили азометины димерного типа.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций

В диссертационной работе Невской А.А., научные положения и выводы сформулированы в виде семи тезисов, обобщены и представлены корректно, обсуждены в соответствии с современными представлениями органической химии в области синтеза индолизинов, а также изохинолинов и азепинов конденсированных с ядром пиррола и потенциально обладающих биологической активностью. В диссертационной работе соискателем использована научная литература за период с 1975 по 2021 г.г., включая собственные результаты исследования. Обозначенная проблематика в области селективного получения индолизинов, пирроло[2,1-а]изохинолинов, пирролло[2,1-а]бензазепинов с различными фармакофорными заместителями, позволила диссертанту сформулировать цель работы и ее задачи. В диссертационной работе в качестве исходных *building blocks* используется синтезированный диссертантом 2-бензоилпиридин, а также 2-ароил-3,4-дигидроизохинолины и 2-ароилизохинолины полученные по реакции Бишлера-Напиральского из амидов ароилмуравьиных кислот. Дротаверальдин выделен из коммерчески доступного гидрохлорида изохинолина окисленный кислородом воздуха. Биологические испытания проводились согласно апробированным научным методикам.

Обсуждение работы обосновано экспериментальным материалом и результатами современных физико-химических методов анализа. Сделанные соискателем заключения о строении синтезированных соединений базируется на современных методах анализа органических соединений: спектроскопии ЯМР ^1H и ^{13}C ; ^1H - ^1H COSY, NOESY; ^1H - ^{13}C HSQC, HMBC, ^1H - ^{15}N HMBC; масс-спектрометрии LCMS и MALDI TOF.

Общая характеристика работы

Диссертация Невской А.А. в построении и изложении материала является классической работой в области органической химии. Она состоит из введения; обзора литературы; результатов и их обсуждения; экспериментальной части, в которой описаны методики синтеза и физико-химические характеристики полученных новых веществ; выводов; списка

сокращений; списка цитируемой литературы. Диссертационная работа соискателя посвящена синтезу и изучению цитотоксической активности по отношению к опухолевым клеткам человека (A549, HCT116, HeLa, RD), ингибирующей способности эффлюксных насосов, моноаминоксидазы, холинэстеразы и агрегации β -амилоида методом *in vitro* новых пирроло[2,1-а]изохинолинов, 5,6-дигидропирроло[2,1-а]изохинолинов и 6,7-дигидро-5H-пирроло[2,1-а][2]бензазепинов.

Соответствие содержания диссертации указанной специальности

Представленный материал диссертационной работы, в которой предложены эффективные методы синтеза производных индолизинов, пирролоизохинолинов и конденсированных азепинов потенциально обладающих биологической активностью соответствует паспорту специальности ВАК РФ 1.4.3. Органическая химия, а именно пунктам: 1 – «Выделение и очистка новых соединений»; 3 – «Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул»; 7 – «Выявление закономерностей типа «структура – свойство».

Оценка содержания диссертации, степень ее завершенности в целом и качество оформления

Представленная к защите диссертационная работа Невской А.А. изложена на 168 страницах машинописного текста и написана в научном стиле. Структура и объем диссертации соответствует требованиям, предъявляемым к научно-квалификационным работам и состоит из введения (5 стр.), литературного обзора (глава 1, 59 стр.), обсуждения результатов (глава 2, 33 стр.), описания экспериментальных методик (глава 3, 53 стр.), заключения (1 стр.), списка используемых сокращений и аббревиатур (2 стр.) и списка литературы (128 наименований). Текст работы включает 18 таблиц, 26 рисунков и 103 схемы.

Во введении раскрыта актуальность темы исследования, определены цель и задачи, научная новизна, сформулированы основные положения, показаны теоретическая и практическая значимости работы.

Литературный обзор содержит анализ мировой научной литературы за последние 15 лет по методам получения азотсодержащих гетероциклических систем на основе индолизинов, пирролоизохинолинов и пирролобензазепинов. Данная глава включает четыре раздела: первые три части посвящены описанию актуальных методов синтеза индолизинов (раздел 1.1), пирроло[2,1-а]изохинолинов (раздел 1.2) и пирроло[2,1-а][2]бензазепинов (раздел 1.3), и заключительный четвертый раздел включает в себя краткую характеристику биологической активности ранее рассмотренных гетероциклических соединений с различными

формакофорными группами. Проведенная систематизация литературных данных, позволяет обосновать необходимость проведения исследований, связанных с разработкой методологии синтеза новых производных индолизинов, пирроло[2,1-а]изохинолинов и пирроло[2,1-а][2]бензазепинов, потенциально обладающих широким спектром биологической активности.

Третья часть диссертационной работы посвящена обсуждению собственных результатов исследования соискателя и является продолжением литературного обзора. В работе представлен большой материал по синтезу и изучению строения производных 2-арилиндолизинов, 1-арилпирроло[2,1-а]изохинолинов, 1-арил-5,6-дигидропирроло[2,1-а]изохинолинов и 6,7-дигидро-5Н-пирроло[2,1-а][2]бензазепинов полученных на основе домино-реакций 2-ароилпиридинов, 1-ароилизохинолинов, 1-ароил-3,4-дигидроизохинолинов и 1-ароил-4,5-дигидро-3Н-бензо[с]азепинов с моно- и би-функциональными реагентами. Немаловажное значение имеет проведенный для значительной части полученной библиотеки соединений первичный биоскрининг с выявлением закономерностей связи «структура-активность» (SAR). В этой же главе приводятся научное обоснование синтеза целевых молекул, отражен ход проделанной работы, имеются обобщения и микро-выводы сделанные на основе экспериментов, включая схемы и протекание вероятного химизма реакции трансформации исходных реагентов в конечные аннелированные азаетероциклы.

В экспериментальной части обсуждаются методы, использованные для выполнения поставленных задач. Приведены описания физико-химических и спектральных характеристик полученных веществ. Для удобства визуального восприятия строения молекул, полученных соискателем, по всей главе представлены структурные формулы (более 100) новых синтезированных веществ. Стратегия синтеза целевых конденсированных гетероциклических систем опирается на базовые методы органической химии. Надежная идентификация полученных соединений, с привлечением современных физико-химических методов анализов, свидетельствует о достоверности полученных химически чистых веществ и высокой квалификации диссертанта.

Основные результаты выполненных исследований обобщены в семи выводах, которые соответствуют поставленным целям и задачам, и в достаточной мере отражают завершенность диссертационного исследования. Материал изложен в четкой логической последовательности и позволяет однозначно интерпретировать новизну и практическую ценность работы, ее достоверность.

Диссертационная работа Невской А.А. является законченным исследованием, выполненным на достаточно высоком научном уровне. Работа грамотно оформлена и соответствует требованиям ВАК РФ.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертационной работы в научных изданиях

По результатам диссертационной работы опубликовано 13 научных трудов, из которых три статьи в рецензируемых научных журналах (две статьи в журналах 2-го квартиля по наукометрической базе данных Web of Science), включенных в перечень ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ, а также имеются 10 тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях

Соответствие автореферата содержанию диссертации

Автореферат диссертации отражает основное содержание диссертационной работы, выполнен по форме и объему (всего 24 стр.) в соответствии с требованиями ВАК РФ. Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям и выводам диссертации.

Научные положения и выводы, сформулированные в диссертационной работе, теоретически обоснованы, подтверждены экспериментальным материалом, современными физико-химическими методами анализа и не вызывают сомнений.

Замечания по диссертационной работе и автореферату диссертации

Диссертационная работа, несомненно, представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, однако имеется ряд вопросов и замечаний:

1. Испытывался ли трифлат скандия(III) в качестве катализатора в условиях синтеза исходных моноальдегидов (реакция 2-ароилпиридинов **1a,b** с акролеином в кипящем ацетонитриле при соотношении 1:1.2)?
2. Для соединения **10b** (рис. 20 диссертационной работы, рис. 1 автореферата) наблюдались ли кросс-пики атома N(8) пиррольного ядра в спектре $^1\text{H}-^{15}\text{N}$ НМВС? Полученные значения химических сдвигов δ_{N} (м.д.) ЯМР ^{15}N следовало привести в экспериментальной части при описании спектральных характеристик соединения. При описании приборной базы не указан внутренний стандарт для ядер ^{15}N .
3. В главе 3, «Экспериментальная часть» для известных соединений **2a** и **3a** можно было привести описание ЯМР ^1H или масс-спектра с указанием ссылки на первоисточник. Для соединений **1b**, **3b** и **3e** ссылки спектральных характеристик соединений, соответствующие литературным данным, следовало привести в квадратных скобках с указанием номера источника из списка литературы.

4. На рис. 26 (стр. 96) диссертационной работы (рис. 2 автореферата) для достаточной наглядности следовало пронумеровать атомы молекулярной структуры соединения **35a** в кристалле, а также привести номер депонента (CCDC) из Кембриджского банка структурных данных, условия и растворитель перекристаллизации.
5. В разделе «Список использованной литературы» диссертационной работе в ссылке 23 неправильно указаны год, том и страницы источника; в ссылках 67, 87 и 96 не указаны названия цитируемых журналов.
6. Для соединений **5**, **6a**, **6b**, **8a**, **8b**, проявивших цитотоксичность по отношению к опухолевым линиям клеток, в таблице 12, необходимо было привести колонку с тестами на цитотоксичность по отношению к условно-нормальным линиям клеток (например, НЕК 293, клеткам эмбриональной почки человека), с последующим определением индекса селективности (SI). В экспериментальной части (стр. 152) перечислены линии опухолевых клеток K562 и SH-SY5Y по отношению к которым не проводилось исследование цитотоксичности. Отсутствуют данные по биологическому скринингу 5,6-дигидропирроло[2.1-a]изохинолин-2-карбоновых кислот **13** и 5,6-дигидропирроло[2.1-a]изохинолин-2-карбонитрилов **19**.
7. В диссертационной работе в схемах реакций имеются опечатки в структурах соединений: на схеме 41 дважды изображены соединения **61a-g**, **61h**, **61i**, **61j**; схема 43 соединение **63**; схема 64 соединения **101a-e** и **102**; на схемах 4 и 21 продукт реакции *коницеин* пронумерован дважды (**4** и **22**). В литературном обзоре на стр. 19, 40, 45 и 56 при обсуждении в тексте неправильно указаны первые авторы ссылок [23], [67], [68], [73] и [89]. Название рис. 6 (стр. 56) не соответствует приведенным структурам. На схеме 20 автореферата дублирующие схемы можно было объединить, указав заместители « $R^4 = \text{Vn}, n\text{-PrN}(\text{CH}_3)_2$ ».

Указанные замечания носят редакционно-технический или дискуссионный характер, не затрагивают сути работы и не ставят под сомнение обоснованность основных выводов диссертации.

Заключение

Считаю, что диссертационная работа Невской Алисы Александровны является актуальной, самостоятельной и завершенной научно-квалифицированной работой, выполненной на высоком профессиональном уровне, и полностью соответствует специальности 1.4.3. Органическая химия. По своей научной новизне, практической и теоретической значимости, достоверности результатов полностью удовлетворяет требованиям, предъявляемым к диссертационным работам, и соответствует

