



УТВЕРЖДАЮ:

Директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе»

д.х.н. профессор РАН Щекотихин Андрей Егорович

«06» марта 2023 г

## ОТЗЫВ

### Ведущей организации на работу

**Кантемирова Алексея Владимировича «Разработка методов синтеза и изучение зависимости «структура-активность» производных алкалоида фаскаплизина по центральному циклу», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 – органическая химия**

**Актуальность работы.** Соединения, выделяемые из природных источников, являются практически неисчерпаемым объектом исследований для синтетической органической химии. Одним из обширных классов природных соединений являются алкалоиды, традиционно получаемые из растений. Особый интерес в последние годы представляют алкалоиды, выделяемые из морских организмов, в частности из губок. Одним из таких соединений является красный пигмент фаскаплизин, выделенный из губки *Fascaplysinopsis* sp. и проявляющий широкий спектр биологической активности. В то же время, это соединение является достаточно токсичным, в связи с чем получение производных фаскаплизина, обладающих улучшенными фармакологическими характеристиками по сравнению с нативным алкалоидом, представляется весьма актуальной темой исследований. Существующие в настоящее время синтетические методы предоставляют доступ к ограниченному ряду производных фаскаплизина, в частности, не дают возможности получать аналоги, содержащие заместители в центральном цикле основной структуры. Разработке таких методов и посвящена работа Кантемирова Алексея Владимировича.

**Научная новизна** заключается в разработке нового метода получения алкалоида фаскаплизина и синтезе некоторых его ранее неизвестных производных, содержащих заместители в центральном цикле базовой структуры. В работе изучена цитотоксичность

полученных соединений в отношении нескольких культур клеток опухоли предстательной железы, а также линий неопухолевых клеток. Впервые было получено производное фаскаплизина, содержащее объемный непланарный заместитель (*трет*-бутил) и изучено его влияние на антипролиферативное действие и способность к интеркаляции в ДНК.

**Достоверность результатов работы** подтверждается современными методами анализа состава смесей соединений и выделения большего числа из них индивидуальных компонентов, а также установления их строения.

**Структура и содержание диссертации.** Представленная к защите диссертация состоит из Введения, Обзора литературы, Обсуждения результатов, Экспериментальной части, Выводов, Списка публикаций и Списка литературы, включающего 85 источников. Работа изложена на 126 страницах. Результаты проиллюстрированы 71 рисунком и 11 таблицами.

Во Введении автором была обоснована актуальность темы исследования, исходя из ее научной новизны и практической и теоретической значимости, сформулирована цель, задачи исследования и основные положения, выносимые на защиту.

Первая часть Литературного обзора посвящена природным соединениям, родственным фаскаплизину, путям их биосинтеза и краткому описанию ареалов обитания организмов-продуцентов. Далее следует раздел, в котором отражены исследования в области биологической активности, проявляемой самим фаскаплизином, природными фаскаплизиновыми алкалоидами и их синтетическими аналогами. В третьем разделе приводятся примеры непланарных синтетических аналогов фаскаплизина и рассматривается перспективность данного подхода к решению проблем, связанных с высокой токсичностью данных алкалоидов. В четвертом и пятом разделах описаны химические свойства фаскаплизина и методы его синтеза соответственно. Следует отметить ценность проведенного анализа данных методов на предмет возможного применения для выполнения поставленной цели работы. В последнем шестом разделе рассмотрены некоторые методы синтеза пиридоиндольного скелета, лежащего в основе фаскаплизина.

Обсуждение результатов построено из трех основных блоков, основной идеей которых является использование производных индола в качестве исходных соединений для построения целевой структуры.

Сначала в работе изучалась принципиальная возможность получения подобной системы путем внутримолекулярной циклизации несимметричного 2,2'-бис-индола,

полученного на основе этилового эфира индолил-3-уксусной кислоты и различных индолов. После чего был выполнен синтез целевого соединения. Несмотря на принципиальную возможность получения целевой гетероциклической системы, это направление было признано малоперспективным для получения широкого набора производных фаскаплизина по центральному циклу.

Второй, значительно более обширный блок посвящен использованию красителя индиго в качестве исходного соединения, так как конденсация индиго с производными диэтилового эфира малоновой кислоты для формирования пиридоиндольного скелета давно известна. Автором работы была предпринята попытка введения в реакцию ацетофенона для постановки фенильного заместителя в 7 положение базовой структуры. К сожалению, данная попытка не увенчалась успехом. Несмотря на это, предположен механизм получения альтернативных продуктов, выделенных из данной реакции, и сделан вывод о необходимости использования производных карбоновых кислот. На основании этого было предложена синтетическая схема, позволяющая добиться желаемых результатов. На предварительном этапе разработки данной схемы автором было проведено изучение условий конденсации индиго с этиловым эфиром фенилуксусной кислоты, после чего уже были отработаны условия получения целевых соединений на примере незамещенного фаскаплизина. По данной схеме было получено еще три производных, содержащих заместители в седьмом положении базовой структуры: 7-метил-, 7-этил- и 7-фенилфаскаплизины. Попытка получения 7-*трет*-бутилфаскаплизина не привела к желаемым результатам. На основании этих данных автором был сделан вывод о границах применимости данного метода, основанного на использовании индиго в качестве исходного соединения.

Последний блок рассматривает возможность получения производных фаскаплизина по шестому положению на основе метода, использующего триптамин в качестве исходного соединения. Главной задачей для автора здесь являлось получение триптаминов, содержащих заместители в нужном положении боковой цепи. В случаях с метильным и фенильным радикалами проблем не возникло. Попытка же постановки *трет*-бутила привела к значительному изменению синтетической схемы и увеличению количества стадий с пяти до восьми. Несмотря на этой целевой 6-*трет*-бутилфаскаплизин был получен, хоть и с небольшим выходом. В качестве альтернативного варианта был синтезирован 7-*трет*-бутилфаскаплизин по аналогичной методике. Данный метод, судя по всему, является самым универсальным среди всех, представленных в диссертации.

Завершается представленное исследование разделом, связанным с биологической активностью впервые полученных соединений. Для всех соединений, включая два аналога природных бромфаскаплизинов, была изучена их цитотоксичность на примере линий клеток рака предстательной железы и линий неопухолевых клеток. Были показаны некоторые корреляции активности от структуры. Кроме того, была изучена способность некоторых из полученных соединений интеркалировать в ДНК в сравнении с фаскаплизином.

Экспериментальная часть включает в себя данные по инструментальным методам анализа полученных соединений, методики их синтеза и проведения испытаний их биологической активности.

Характеризуя достоинства работы, необходимо отметить упорство автора в поиске и подборе альтернативных путей синтеза, а также анализ предполагаемых механизмов реакций для объяснения получаемых результатов.

Несмотря на общее положительное впечатление о работе можно сделать ряд замечаний и вопросов по существу:

- 1) Стр. 46: можно ли считать одно лишь наличие сигнала Н-2 на 6.75 ppm в  $^1\text{H}$  ЯМР спектре строгим доказательством структуры 2,3'-изомера? Это стоило подтвердить ссылкой на литературу или регистрацией спектров 2D ЯМР.
- 2) В ряде случаев не указаны выходы продуктов реакций, например, соединения **128** и **129**, **139**, **140** и т.д. Непонятно, почему соединение **128** не было выделено в индивидуальном виде, и была ли зафиксирована ли смесь методом ТСХ или в ЯМР спектре? Дегидрирование аза-гетероциклов нередко протекает при регистрации масс-спектров, и тем более при ГЖХ.
- 3) Соединения **126**, **127** и некоторые другие были выделены методами колоночной хроматографии, с последующей очисткой ПТСХ – хотелось бы видеть некоторые пояснения такой комбинации, а также понять какое максимальное количество вещества автору удалось выделить таким способом.
- 4) Стр. 59: на Рис. 41 или при его обсуждении по тексту целесообразно указать основание, которое использовалось в реферируемой работе, т.к. невозможно сравнить результаты разных работ.
- 5) Рисунки 41 и 42 – целесообразно привести выходы веществ, поскольку последующий абзац о выборе оптимальных условий для дальнейшего применения не информативен без таких данных.

- 6) Стр. 64 - не совсем понятно предположение об образовании литиевой соли фскаплизина. Возможно, это известно из литературы, но не очевидно читателю по виду ЯМР спектра. Может быть, это родственная примесь, которую не смогли отчистить, а вовсе не комплекс.

Касательно экспериментальной части:

- 1) Методика получения соединения **127** пропущена.
- 2) При описании масс-спектров целесообразно приводить расчетные значения масс-пиков, чего не сделано в ряде случаев.
- 3) Почему для некоторых соединений, которые получены в достаточном количестве, не представлено описание спектров  $^{13}\text{C}$  ЯМР?
- 4) Нет описания внешнего вида ряда продуктов, например, «белые кристаллы». Помимо этого, есть ряд редакторских замечаний:
  - 1) Фраза «метиленовая активность» является жаргонной; о смысле которой приходится догадываться.
  - 2) Стр. 14 – *Candida albicans* не бактерия, а грибок.
  - 3) Рис. 18 и далее - валентный угол при тройной связи изображен не корректно.
  - 4) Рис. 20 – на схеме две буквы а (условия реакции), но нет b
  - 5) Стр. 41 представленное соединение **100** – эфир бензойной кислоты, а не фенилуксусной, как указано в тексте.
  - 6) Стр. 58 – Раздел 2.2.2 скорее представляет изучение направления реакции, чем непосредственно механизма, поэтому название не совсем корректно.
  - 7) Рисунок **71** с синтезом целесообразнее было привести в предыдущем разделе, а не в разделе по биологической активности.
  - 8) Стр. 63 - вряд ли уместно выражение гидролиз, скорее «восстановление, дегидратация, окисление», согласно схеме 40.

Несмотря на перечисленные замечания и вопросы, которые в основном носят редакторский и/или дискуссионный характер, их наличие не снижает в целом положительное впечатление о представленном исследовании.

Таким образом, диссертационная работа Кантемирова Алексея Владимировича характеризуется высокой актуальностью и имеет необходимый уровень научной новизны, а полученные результаты имеют теоретическую и практическую значимость. Объем диссертации, ее содержание, экспериментальный и теоретический уровень, содержащиеся в ней обобщения и выводы соответствуют требованиям, предъявляемым ВАК к

кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года N 842). Ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 - органическая химия.

Отзыв обсуждён на заседании лаборатории химической трансформации антибиотиков, протокол № 2 от 06 марта 2023 г.

Заведующий лабораторией

кандидат химических наук по специальности

1.4.3 органическая химия,

Тихомиров Александр Сергеевич

Подпись Тихомирова А. С. заверяю

Ученый секретарь, к.х.н.



Кисиль Ольга Валерьевна

Наименование организации: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе»

Почтовый адрес: 119021, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д. 11, к. 1

Телефон: 8 (499) 246-99-80

Адрес электронной почты: [insta@mail.ru](mailto:insta@mail.ru)

Сайт организации: <http://gause-inst.ru>