

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Акуловой Алеси Сергеевны «Синтез на основе кетонитрилов аналогов 2-(1*H*-индол-3-ил)ацетамидов близких по структуре алкалоидам индольного ряда», представленную на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. Органическая химия.

**Актуальность темы исследования.** Одной из самых серьезных проблем современной медицины является высокая смертность от онкологических заболеваний. Во многом это обусловлено быстрым развитием лекарственной устойчивости опухолевых клеток к существующим химиотерапевтическим препаратам, что обуславливает необходимость поиска новых эффективных и селективных противораковых агентов, способных воздействовать на множественные сигнальные пути и преодолевать резистентность. Среди множества различных классов органических соединений, используемых для терапии раковых заболеваний, значительное место традиционно занимают азотсодержащие гетероциклы. В ряду этих соединений особо следует выделить природные и синтетические производные индола, структурный фрагмент которого входит в состав многих алкалоидов с доказанной противоопухолевой, противовирусной и антибактериальной активностью. Производные индола отличаются большим разнообразием механизмов действия и могут выступать как ингибиторы гистондеацетилаз, Р1М киназ, ДНК-топоизомераз, ингибиторы  $\sigma$ -рецепторов. Примечательно, что ранее в ряду синтетических производных индола – 2-(1*H*-индол-3-ил)ацетамидов – были обнаружены соединения, обладающие высокой цитотоксичностью и селективностью действия в отношении ряда раковых клеток. Отмечу, что высокая токсичность существующих на настоящий момент противоопухолевых химиотерапевтических средств, наряду с уже упоминавшимся развитием резистентности к ним, является одной из основных проблем в терапии раковых заболеваний. Еще одним ограничением многих существующих противоопухолевых препаратов является их низкая эффективность в условиях гипоксии – характерного признака солидных опухолей, который значительно повышает резистентность раковых клеток к терапии. В связи с этим, особую актуальность приобретает разработка новых методов синтеза новых производных индола, в том числе аналогичных природным алкалоидам, способных сохранять активность в гипоксическом микроокружении опухоли.

С учетом вышесказанного, диссертационная работа Акуловой А.С., целью которой является синтез аналогов 2-(1*H*-индол-3-ил)ацетамидов с последующим поиском среди полученных соединений высокоактивных противораковых агентов, несомненно, является **актуальной и практически значимой** как для органической, так и для медицинской химии.

**Общая структура и апробация работы.** Представленная диссертация построена традиционно и состоит из введения, трех глав – литературного обзора (глава 1), обсуждения результатов (глава 2), экспериментальной части (глава 3), заключения и списка цитируемой литературы. Диссертация изложена на 164 страницах, содержит 62 схемы, 5 таблиц, 7 рисунков. Библиографический список цитируемой литературы состоит из 153 наименований. Основное содержание диссертационного исследования изложено в 3 статьях в журналах, входящих в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК РФ и индексируемых международными библиографическими базами данных (Scopus, Web of Science). Полученные результаты были также доложены на 8 конференциях различного уровня.

**Литературный обзор.** Литературный обзор (Глава 1) состоит из трёх частей, в первой из которых систематически проанализированы методы синтеза 3-цианокетонов – от классических

до современных каталитических и энантиоселективных подходов. Вторая часть посвящена общим методам получения биологически активных  $\gamma$ -лактамов. В третьей части рассмотрены новые подходы к синтезу 5-гидрокси-пиррол-2-онов – ключевых фармакофоров, используемых в диссертационной работе. Такое построение обзора представляется вполне логичным: от методов получения исходных кетонитрилов через химию  $\gamma$ -лактамов к конкретному подклассу 5-гидрокси-пиррол-2-онов. Представленные сведения достаточно полно отражают современное состояние исследований в выбранной области и позволяют как сопоставить полученные автором результаты с уже известными данными, так и сделать обоснованный вывод о новизне и актуальности выбранного автором направления.

**Содержание работы и её научная новизна.** Вторая глава диссертации посвящена обсуждению собственных исследований и содержит полученные автором результаты. Первоначально автором была модифицирована известная методика синтеза исходных 5-гидрокси-1,5-дигидро-2*H*-пиррол-2-онов на основе внутримолекулярной циклизации 2,4-диарил-4-оксобутиронитрила в присутствии основного катализатора и получен ряд этих соединений. На следующем этапе исследований автором было изучено кислотнo-катализируемое взаимодействие синтезированных таким образом циклических гидроксилактамов с 2-арилзамещенными индолами и установлено, что продуктами этой реакции являются ранее неизвестные производные индола, содержащие фрагмент 3,5-диарил-1,5-дигидро-2*H*-пиррол-2-она в третьем положении гетероциклического кольца. Была проведена оптимизация условий реакции, установлено, что наиболее эффективным является её проведение в полярном апротонном растворителе – ДМСО – в присутствии эквимольного количества *n*-толуолсульфокислоты, и получен широкий ряд 5-(индол-3-ил)-3,5-диарил-1,5-дигидропиррол-2-онов. В дальнейшем обнаруженная реакция была расширена на незамещенный индол, а также 2-метилиндол. Интересно, что в этом случае в качестве катализатора была использована не кислота Бренстеда, а кислота Льюиса – хлорид алюминия.

Дальнейшие исследования автора были основаны на предположении, что обнаруженная на первом этапе реакция может быть осуществлена и внутримолекулярно, что позволило бы осуществить синтез полициклических структур. Ключевым этапом в этих исследованиях было введение фрагмента 5-гидрокси-пиррол-2-она в положение С-4 индола, которое автору удалось осуществить путем конденсации Кневенагеля индол-4-карбальдегида с 2,4-диарил-4-оксобутиронитрилами. Примечательно, что на стадии конденсации реакция не останавливалась, и при этом одновременно происходило формирование требуемого гидрокси-пиррольного цикла. Более того, автору удалось осуществить и последующую внутримолекулярную реакцию Фриделя-Крафтса без необходимости выделения промежуточных соединений, осуществив таким образом трехстадийный однореакторный синтез целого ряда производных тетрагидроиндола [7,6,5*cd*]индол-8-онов – аналогов лизергиновой кислоты.

Весьма интересной является обнаруженная автором в ходе изучения свойств полученных соединений новая перегруппировка 5-индолил-3-пирролин-2-онов в 4-индолил-3-пирролин-2-оны под действием кислот, протекающая через образование спиро-циклопропанов. Детальное изучение возможного механизма обнаруженного превращения позволило автору разработать метод синтеза ранее неизвестных 4-индолил-3-пирролин-2-онов. Весьма примечательно, что и в этом случае удалось разработать однореакторный подход к синтезу целевых соединений исходя из индола и 5-гидрокси-3-пирролин-2-онов, не требующий выделения промежуточных 5-индолил-3-пирролин-2-онов. Общий характер обнаруженной перегруппировки был дополнительно продемонстрирован на примере электроноизбыточных ароматических соединений – резорцина и 2-нафтола. Кроме того, автором был разработан метод окисления полученных 4-

индолил-3-пирролин-2-онов в 5-гидрокси-4-индолил-3-пирролин-2-оны с использованием  $\text{SeO}_2$  в ацетонитриле.

В ходе дальнейших исследований автором был разработан трёхстадийный подход к синтезу труднодоступных 7-арилзамещённых пауллонов (дигидробензо[2,3]азепино[4,5-*b*]индол-6-онов). В качестве исходных соединений автором были выбраны *o*-аминофенилцианокетоны, синтезированные из соответствующих халконов присоединением цианид-аниона. Последовательные стадии гидролиза цианогруппы и внутримолекулярного амидирования позволили автору осуществить синтез 3-арил-3,4-дигидробензо[*b*]азепин-2,5-дионов. Заключительная стадия – реакция Фишера полученных кето-лактамов с арилгидразинами – была тщательно оптимизирована и позволила получить обширную библиотеку целевых пауллонов.

Наконец, был проведён скрининг противораковой активности трёх классов синтезированных соединений (4-индолил-3-пирролин-2-оны, 5-индолил-3-пирролин-2-оны, 5-гидрокси-4-индолил-3-пирролин-2-оны) в отношении трижды негативных клеток рака молочной железы MDA-MB-231 в нормоксических и гипоксических условиях. Были выявлены соединения-хиты, продемонстрировавшие высокую цитотоксичность даже в условиях гипоксии, что подчеркивает потенциал этих соединений в создании новых типов противоопухолевых агентов.

Совокупность этих впервые проведённых превращений и выявленных закономерностей обеспечивает **научную новизну** работы. В частности, необходимо особо отметить обнаруженную автором новую необычную трансформацию, представляющую собой перегруппировку 5-индолил-3-пирролин-2-онов в 4-индолил-3-пирролин-2-оны в присутствии кислотного катализатора, протекающую путем внутримолекулярной реакции Михаэля с образованием спироциклопропана и последующего раскрытия трёхчленного цикла, приводящего к конечным продуктам.

**Достоверность полученных результатов.** Полученные результаты и выводы работы убедительны. Они основаны на данных, полученных с помощью современных методов исследования: ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения, рентгеноструктурного анализа. Экспериментальные данные грамотно и квалифицированно интерпретированы с использованием последних литературных данных. Достоверность представленных в работе результатов не вызывает никаких сомнений.

**Практическая значимость** работы заключается в разработке эффективных методов синтеза новых гетероциклических соединений: 5- и 4-индолил-3-пирролин-2-онов, структурных аналогов лизергиновой кислоты – тетрагидроиндоло[7,6,5*cd*]индол-8-онов и 7-арилзамещённых пауллонов (дигидробензо[2,3]азепино[4,5-*b*]индол-6-онов). В результате первичного биологического скрининга выявлены соединения, обладающие высокой цитотоксической активностью в отношении трижды негативных клеток рака молочной железы MDA-MB-231 и клеток рака яичников как в нормоксических, так и в гипоксических условиях. Полученные соединения-хиты представляют интерес для дальнейшего дизайна на их основе новых типов противоопухолевых агентов.

Каких-либо существенных возражений, касающихся сути работы, по прочтении диссертации Акуловой А.С. не возникает. Тем не менее, имеются некоторые **замечания**:

1. В тексте работы сообщается (стр. 40), что оптимизация условий реакции 5-гидрокси-1,5-дигидро-2*H*-пиррол-2-онов **5** с 2-ариллиндолами проводилась в присутствии кислот Бренстеда и Льюиса со ссылкой на таблицу 1 (стр. 39), однако в самой таблице эксперименты с использованием кислот Льюиса отсутствуют. Проводились ли все-таки эти эксперименты, и если да, то каков был выход модельного соединения? Отдельно отмечу, что в качестве оптимального катализатора для этой реакции автором выбрана *n*-

толуолсульфо кислота, при этом выход замещенных 2-ариллиндолов, приведенных на схеме 44, довольно умеренный (40-50% в большинстве случаев). В то же время, в случае весьма похожей реакции, приведенной на схеме 51 (стр. 52), в качестве оптимального катализатора использована уже кислота Льюиса (хлорид алюминия).

2. Аналогичный вопрос возникает при ознакомлении со схемой 45, и относящемся к ней обсуждением реакций того же пиррол-2-она **5a** с незамещенным и 2-метилзамещенным индолом. Автором отмечается, что в этом случае кислота Льюиса (хлорид алюминия) оказалась более эффективной по сравнению с *n*-толуолсульфокислотой. Это же утверждение повторяется на стр. 44. Тем не менее, данные, подтверждающие этот вывод, в работе не приводятся; сведения об оптимизации условий этого процесса отсутствуют. Проводилась ли оптимизация условий реакции незамещенных индолов с соединениями **5**? С учетом предыдущего вопроса, хотелось бы увидеть сравнение реакции 2-ариллиндолов и незамещенного индола (либо 2-метилиндола) с модельным соединением **5a** как в присутствии хлорида алюминия, так и в присутствии *n*-толуолсульфокислоты.
3. Судя по строению соединения **29aa** (схема 52, стр. 54), оно обладает аксиальной хиральностью (по аналогии с производными 1,1'-бинафтила). Учитывая, что в его структуре имеется еще и асимметрический атом углерода, соединение **29aa** должно существовать в виде двух диастереомеров. Наблюдалось ли образование этих диастереомеров в ходе синтеза? Если нет, чем обусловлен невысокий выход (31%) этого соединения? Это же замечание относится к соединениям **9**, представленным на схеме 44 (стр. 41), в особенности к тем, которые содержат достаточно объемные нафтильные и тетралиновые заместители (напр. **9ks**, **9hj**, **9ft**).
4. Автором была изучена биологическая активность 4-индолил-3-пирролин-2-онов **28**, 5-индолил-3-пирролин-2-онов **9** и 5-гидрокси-4-индолил-3-пирролин-2-онов **36**. Чем был обусловлен выбор именно этих соединений? Почему, к примеру, не тестировались пауллоны **58**, о потенциальной активности которых сам автор упоминает во введении к подглаве 2.5 (стр. 60)? Дополнительный вопрос к этому же разделу – что использовалось в качестве препарата сравнения в биологических экспериментах? Здесь же отмечу, что в экспериментальной части отсутствуют методики биологических экспериментов.
5. На стр. 38 автор сообщает, что «*Лактамы 6 действовали как «мягкие» нуклеофильные реагенты...*». Здесь надо отметить, что упомянутые лактамы **6**, вообще говоря, являются электрофильными, а не нуклеофильными реагентами.
6. В работе имеется ряд неудачных фраз, стилистических погрешностей и оформительских недочетов. В частности, при обсуждении механизма перегруппировки соединений **9** в соединения **28** (стр. 56, схема 55) стоило бы указать, каким образом, согласно этому механизму, происходит образование соединений **30-32**. В таблице 3 (стр. 58) в столбце «катализатор» указаны перекись водорода и диоксид селена, которые в изучаемом процессе являются не катализаторами, а окислителями; в той же таблице (и на схеме 56, стр. 59) стоило бы указать количество эквивалентов используемого окислителя. Неясно, что имеется в виду под неэффективностью «... *из-за крайне неблагоприятного воздействия*» при обсуждении противоопухолевой активности гидроксамовых кислот (стр. 62). На стр. 66 имеется фраза «... *корень проблемы кроется в образовании ... гидразона, который по некоторым причинам является проблематичным в ПФК*», смысл которой также неясен – непонятно в чем заключаются эти «некоторые» причины, и что следует понимать под «проблематичностью» гидразона.

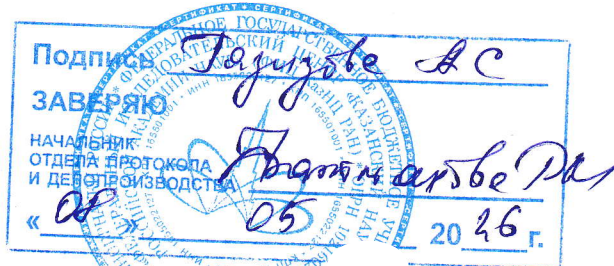
Указанные замечания не влияют на общую положительную оценку работы, не ставят под сомнения ценность полученных автором результатов и не умаляют научную значимость диссертации.

**Заключение.** Диссертационная работа Акуловой Алеси Сергеевны «Синтез на основе кетонитрилов аналогов 2-(1Н-индол-3-ил)ацетамидов близких по структуре алкалоидам индольного ряда», представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой содержится решение научной задачи, имеющей большое значение для органической химии, а именно: создание новых подходов к ранее неизвестным производным индола – 5- и 4-индолил-3-пирролин-2-онов, структурных аналогов лизергиновой кислоты – тетрагидроиндоло[7,6,5cd]индол-8-онов, 7-арилзамещённых пауллонов на основе внутри- и межмолекулярных трансформаций 2,4-диарил-4-оксобутиронитрилов. Автором проведено актуальное исследование, выполненное на высоком экспериментальном и теоретическом уровне. Автореферат и публикации соответствуют основному содержанию диссертации. Полученные автором результаты и сделанные на их основе выводы достоверны и не вызывают сомнений. Автором корректно цитируются как литературные данные, так и собственные публикации, вероятность плагиата полностью исключена. Диссертация соответствует специальности 1.4.3. Органическая химия.

Учитывая актуальность, научную и практическую значимость представленной работы, достоверность полученных результатов и обоснованность выводов, считаю, что диссертационная работа «Синтез на основе кетонитрилов аналогов 2-(1Н-индол-3-ил)ацетамидов близких по структуре алкалоидам индольного ряда» полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней» (в последней ред.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор – Акулова Алеся Сергеевна – заслуживает присуждения степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. Органическая химия.

Ведущий научный сотрудник лаборатории элементоорганического синтеза им А.Н. Пудовика Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», доктор химических наук (1.4.3. Органическая химия), проф. АН РТ., проф. РАН

Газизов Альмир Сабинович



Газизов Альмир Сабинович, доктор химических наук, профессор АН РТ, профессор РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории Элементоорганического синтеза им. А.Н. Пудовика Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», 420088, г. Казань, ул. Академика Арбузова, 8, e-mail: agazizov@iopc.ru, тел.: (843)272-73-24