Директору Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки
Институт органической химии им.
Н.Д. Зелинского РАН
академику М.П. Егорову

Я, Аксенов Николай Александрович, д.х.н., доцент, заведующий Кафедрой органической и аналитической химии Химико-фармацевтического факультета ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», согласен быть официальным оппонентом диссертационной работы Егоровой Ксении Сергеевны на тему **«Исследование биологической активности ионных жидкостей с целью дизайна биологически активных ионных конъюгатов и построения биопрофилей химических реакций»**, представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.9 – Биоорганическая химия в диссертационный совет Д 24.1.092.01 при ФГБУН Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук.

Д.х.н., доцент,
заведующий Кафедрой органической
и аналитической химии
Химико-фармацевтического факультета
ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский
федеральный университет» Н.А. Аксенов

ПОДПИСЬ
УДОСТОВЕРЯЮ
Начальник Управления
делами СКФУ
Логачева А. В.

Сведения об официальном оппоненте

1.ФИО оппонента: Аксенов Николай Александрович

2. ученая степень и наименование отрасли науки, по которым им защищена диссертация: д.х.н., 02.00.03 – Органическая химия

3. список публикаций оппонента:

1. Shcherbakov, S.V. Investigation of cationic transformations involving 5-ethynyl-4-arylpyrimidines / S.V. Shcherbakov, A.Y. Magometov, M.V. Vendin, V.Y. Shcherbakova, N.A. Aksenov, A.V. Aksenov, O. Naji, M. Rubin // Tetrahedron – 2022. – V. 115. – Paper 132796.
2. Aksenov, A.V. Synthetic Studies toward 1,2,3,3a,4,8b-Hexahydropyrrolo[3,2-b]indole Core. Unusual Fragmentation with 1,2-Aryl Shift / A.V. Aksenov, E.V. Aleksandrova, D.A. Aksenov, A.A. Aksenova, N.A. Aksenov, M.A. Nobi, M. Rubin // J. Org. Chem. – 2022. – V. 87. – P. 1434-1444.
3. Aksenov, N.A. Oxidative Cyclization of 4-(2-Aminophenyl)-4-oxo-2-phenylbutanenitriles into 2-(3-Oxoindolin-2-ylidene)acetonitriles / N.A. Aksenov, A.V. Aksenov, L.A. Prityko, D.A. Aksenov, D.S. Aksenova, M.A. Nobi, M. Rubin // ACS Omega – 2022. – V. 7. – P. 14345-14356.
4. Aksenov A.V. [3+2]-Annulation of pyridinium ylides with 1-chloro-2-nitrostyrenes unveils a tubulin polymerization inhibitor / A.V. Aksenov, N.A. Arutiunov, N.K. Kirilov, D.A. Aksenov, I.Yu. Grishin, N.A. Aksenov, H. Wang, L. Du, T. Betancourt, S.C. Pelly, A. Kornienko, M. Rubin // Org. Biomol. Chem. – 2021. – V. 19. – P. 7234-7245.
5. Aksenov N.A. Synthesis of 2-(1H-Indol-2-yl)acetamides via Brønsted Acid-Assisted Cyclization Cascade / N.A. Aksenov, D.A. Aksenov, A.A. Skomorokhov,

L.A. Prityko, A.V. Aksenov, G.D. Griaznov, M. Rubin // J. Org. Chem. – 2020. – V. 85. – P. 12128-12146.

6. Aksenov N.A. Electrophilically Activated Nitroalkanes in Reactions With Carbon Based Nucleophiles / N.A. Aksenov, A.V. Aksenov, S.N. Ovcharov, D.A. Aksenov, M. Rubin // Frontiers in Chemistry. – 2020. – V. 8. – P. 77.

7. Aksenov N.A. Nitroalkanes as electrophiles: synthesis of triazole-fused heterocycles with neuroblastoma differentiation activity / N.A. Aksenov, A.V. Aksenov, N.K. Kirilov, N.A. Arutiunov, D.A. Aksenov, V. Maslivetc, Z. Zhao, L. Du, M. Rubin, A. Kornienko // Org. Biomol. Chem. – 2020. – V. 18. – P. 6651-6664.

8. Aksenov N.A. Unexpected cyclization of ortho-nitrochalcones into 2-alkylideneindolin-3-ones / N.A. Aksenov, D.A. Aksenov, N.A. Arutiunov, D.S. Aksenova, A.V. Aksenov, M. Rubin // RSC Adv. – 2020. – V. 10. – P. 18440-18450.

9. Segat G.C., A new series of acetohydroxamates shows in vitro and in vivo anticancer activity against melanoma / G.C. Segat, G.G. Moreira, E.C.Santos, M. Heller, R.C. Schwanke, A.V. Aksenov, N.A. Aksenov, D. A. Aksenov, A. Kornienko, R. Marcon, J.B. Calixto // Invest. New Drugs. – 2020. – V. 38. – P. 977-989.

10. Aksenov A.V. Synthesis of Spiro[indole-3,5′-isoxazoles] with Anticancer Activity via a Formal [4+1]-Spirocyclization of Nitroalkenes to Indoles / A.V.Aksenov, D.A. Aksenov, N.A. Arutiunov, N.A. Aksenov, E.V. Aleksandrova, Z. Zhao, L. Du, A. Kornienko, M. Rubin // J. Org. Chem. – 2019. – V. 84. – P. 7123-7127.

11. Aksenov A.V. Preparation of Stereodefined 2-(3-Oxoindolin-2-yl)-2-Arylacetonitriles via One-Pot Reaction of Indoles with Nitroalkenes / A.V. Aksenov, D.A. Aksenov, N.A. Aksenov, E.V. Aleksandrova, M. Rubin // J. Org. Chem. – 2019. – V. 84.(19) – P. 12420-12429.

12. Aksenov A.V. Unexpected cyclization of 2-(2-aminophenyl)indoles with nitroalkenes to furnish indolo[3,2-c] quinolines / A.V. Aksenov, D.A. Aksenov,

G.D. Griaznov, N.A Aksenov, L.G. Voskressensky, M. Rubin // Org. Biomol. Chem. – 2018. – V. 16. – P. 4325-4332.

13. Aksenov A.V. Nitrostyrenes as 1,4-CCNO-dipoles: diastereoselective formal [4+1] cycloaddition of indoles / A.V. Aksenov, N.A. Aksenov, D.A. Aksenov, V.F. Khamraev, M. Rubin // Chem. Comm. – 2018. – V. 54. – P. 13260-13263.

14. Maslivetc, V.A. Desymmetrization of Cyclopropenes via the Potassium-Templated Diastereoselective 7- exo- trig Cycloaddition of Tethered Amino Alcohols toward Enantiopure Cyclopropane-Fused Oxazepanones with Antimycobacterial Activity / V.A. Maslivetc, D.N. Turner, K.N. McNair, L. Frolova, S. Rogelj, A.A. Maslivetc, N.A. Aksenov, M. Rubina, M. Rubin // J. Org. Chem. – 2018. – V. 83. – P. 5650-5664.

4. полное наименование организации, являющееся основным местом работы на момент написания отзыва: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Кавказский федеральный университет»

5. занимаемая должность: заведующий кафедрой

Д.х.н., доцент,
заведующий Кафедрой органической
и аналитической химии
Химико-фармацевтического факультета
ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский
федеральный университет» Н.А. Аксенов

ПОДПИСЬ УДОСТОВЕРЯЮ
начальник Управления делами СКФУ
Погачева А. В.

Отзыв официального оппонента

доктора химических наук, доцента Аксенова Николая Александровича
на диссертационную работу Егоровой Ксении Сергеевны
»Исследование биологической активности ионных
жидкостей с целью дизайна биологически активных ионных
конъюгатов и построения биопрофилей химических реакций»,
представленную на соискание ученой степени доктора
химических наук по специальности 1.4.9 – Биоорганическая химия

Большинство производимой человечеством продукции и технологий неизбежно включает в себя один или несколько химических процессов. Сложно представить, какой была бы наша жизнь без продукции химической промышленности. Однако, в среднем, лишь небольшая часть ресурсов, которые мы затрачиваем, превращается в желаемые продукты; в химических процессах, используемых в настоящий момент, образуется большое количество отходов, токсичность которых нередко недооценивается. В то время как большинство возникающих экологических проблем, вызванных химическими веществами, в 1970-х и 1980-х годах решались на местном уровне, некоторые из них трансформировались в глобальные явления (загрязнение ДДТ и диоксином, выбросы парниковых газов, истощение озонового слоя, закисление океана, изменение климата и микро- и нанопластиковое загрязнение). Все это еще более усугубляется быстрым, а, зачастую и безудержным расширением сфер человеческой деятельности, обнажая множество проблем, связанных с ответственным использованием природных ресурсов и воздействием на экологические системы. Впервые решить данную проблему была призвана концепция зеленой химии, предусматривающая отказ от токсичных исходных реагентов и растворителей, атомную экономию, контроль над безопасностью проведения химических процессов, исключающих потенциальные техногенные

катастрофы. По мере развития в рамках данного направления, на первый план стала выходить концепция устойчивого развития, в свою очередь, предполагающая использование ресурсов со скоростью, при которой они могут быть возобновлены естественным путем, а производство отходов не может быть быстрее, чем скорость их разложения. Следует отметить, что в данном случае есть немало противоречий, поскольку в то время как многие подходы, используемые в зеленой химии, не применимы в терминах устойчивого развития, так и процессы, вполне удовлетворяющие концепции устойчивого развития, сложно назвать «зелеными». Это неизбежно приводит к поиску новых, более прогрессивных методов оценки безопасности синтетических методов, используемых в производстве, соответствия их современным вызовам, которые неизбежно появляются при рассмотрении планеты в целом как замкнутой системы, как множество объектов и событий. Предложенные в представленной диссертационной работе концепции токспрофилей и биопрофилей реакций во многом могут дать толчок к пересмотру устоявшихся в научной литературе и химическом производстве практик, позволяя количественно оценить преимущества того или иного метода с точки зрения экологической безопасности. Дадут импульс к более ответственному ведению промышленного хозяйства, и, безусловно, станут предметом обсуждения для множества публикаций в ближайшие годы. Таким образом, данная тематика, безусловно, является **актуальной и практически значимой.**

Диссертация Егоровой К.С. построена по классической схеме и состоит из введения, трёх глав, выводов, списка использованной литературы (591 ссылка), оформленной по ГОСТу, и списка сокращений. Работа изложена на 295 страницах, содержит 61 рисунок и 37 таблиц. Особенно хотелось бы отметить наглядность представленных графических материалов, что значительно облегчает ознакомление с большим массивом данных, представленных в работе. Текст составлен идеально как с грамматической,

так и со стилистической точек зрения, видна кропотливая работа по вычитке текста.

Как это и должно быть, литературный обзор подтверждает актуальность тематики. Широко применяемые в данный момент ионные жидкости считаются безопасной и экологически чистой альтернативой классическим летучим растворителям в силу их низкого давления пара и возможностей переработки с дальнейшим введением в химические процессы. Литературный обзор закладывает фундамент для переосмысления данной устойчивой парадигмы. В первую очередь, он знакомит с объектом исследования, представляя бесконечное структурное разнообразие и необычные способности к микроструктурированию, которым объясняется ряд необычных свойств подобных реакционных сред. Далее, ставится важный вопрос о действительной безопасности ионных жидкостей путем детального рассмотрения их биологической активности по отношению к различным биологическим объектам от различных клеточных культур до многоклеточных организмов, в том числе, животных и растений. Проводится четкая линия, что биологическая активность присуща всем ионным жидкостям, ввиду их высокой биодоступности и способности повреждать клеточные мембраны как наиболее распространенного типа цитотоксической активности, которое не имеет четкой мишени, по причине чего они могут оказывать действие на различные типы живых организмов независимо от их организации. Помимо негативной стороны рассмотрены и некоторые аспекты применения лекарственных средств в форме ионных жидкостей. Показано, что подобные системы имеют ряд преимуществ, таких как возможность подстройки для физико-химических свойств и, как следствие, биодоступности. Таким образом, может быть решена проблема полиморфизма, которая помимо очевидных недостатков, связанных с непредсказуемостью биологической доступности и фармакокинетики, привносит некоторые вопросы с точки зрения права, позволяя фактически обходить некоторые патенты. Более того, на основе ионных жидкостей

возможно создавать комбинированные препараты, несущие в катионе и анионе независимые фрагменты лекарств. Последняя часть обзора подводит основу для заключительной, кульминационной части диссертационной работы, напоминая, что биологическая активность в той или иной степени присуща всем химическим соединениям.

Обсуждение результатов состоит из четырех частей. Первый раздел развивает обозначенную в цели работы и литературном обзоре идею биологической активности ионных жидкостей, в силу чего такие среды нельзя назвать как биоортогональными, так и безопасными для окружающей среды. С этой целью в ИЖ были введены различные фрагменты известных биологически активных соединений: аминокислот, салициловой и коричной кислот. Полученные результаты показывают, что, несмотря на все ожидания, даже соединения, содержащие полностью биосовместимые и безопасные аминокислоты проявляют достаточно высокую цитотоксичность. В противоположность этому, салициловая кислота в составе ионных жидкостей проявляла сходную с исходным соединением активность. Интересной демонстрацией возможностей данной методологии, представляется введение катионных фрагментов в митоксантрон, что позволило не только улучшить проникновение полученного конъюгата в живые клетки, но и открыло ряд возможностей для анализа накопления препарата методом ESI-TOF масс-спектрометрии.

Чтобы более детально разобраться в особенностях воздействия ионных жидкостей на живые системы, была изучена их активность в виде смесей. Показано, что подобные двухкомпонентные системы не отвечают критерию аддитивности биологической активности, таким образом, должны присутствовать какие-либо иные эффекты, которые проявляются при взаимодействии компонентов. В качестве объяснения приводится микроструктурирование, которое наглядно можно видеть с помощью сканирующей электронной микроскопии именно в тех смесях, в которых

наблюдалось наиболее выраженное расхождение с расчетными данными. В развитие представленных идей были изучены бинарные смеси ионных жидкостей с доксорубицином и митоксантроном, что позволило выявить синергетический эффект с точки зрения биологической активности. Взаимодействие компонентов смеси зафиксировано методами ЯМР и СЭМ. Результаты данной части работы предоставляют большое пространство для размышлений и, безусловно, интересны с точки зрения дизайна новых, бинарных форм лекарственных препаратов.

Далее представлено детальное изучение цитотоксичности ионных жидкостей различного строения с целью установления основных закономерностей. Детально изучен механизм действия подобных соединений на клеточную культуру лейкемии Jurkat, показано, что во многих случаях они действуют через повреждение митохондрий. Полученные результаты позволят моделировать биологическую активность ранее неизвестных соединений, что может быть использовано не только для направленного дизайна новых препаратов, но и позволит предсказать безопасность вновь получаемых ионных жидкостей для окружающей среды.

Кульминационная часть, которая объединяет весь представленный материал, предлагает переосмыслить устоявшиеся в научной литературе подходы к оценке безопасности применяемых в лабораторной практике и промышленности синтетических методов путем введения новых понятий, таких как токс-фактор, токс-профиль, био-фактор и био-профиль реакции. Подобный подход представляется весьма прогрессивным, поскольку не только учитывает номинальное участие каких-либо опасных реагентов, но и их содержание в реакционной смеси. Действительно, опасность катализаторов, применяемых в следовых количествах и используемых в течение многих десятков циклов, на деле оказывается значительно переоценена, в то время как растворители, составляющие большую часть реакционной массы, на деле явно недооцениваются. Вклад растворителя

становится еще большим в случае, если в качестве растворителя используются ионные жидкости, которые в течение многих лет, как было показано в данной работе, считались безвредными, «зелеными» средами для проведения химических реакций. Концепция наглядно продемонстрирована на многих десятках химических реакций, безусловно, показан новый подход к оценке безопасности химических процессов для окружающей среды, предпочтительности одних реакций в сравнении с другими. Я считаю представленную концепцию логичным развитием, эволюцией широко применяемых на практике концепций устойчивого развития и зеленой химии, которая, безусловно, окажет влияние на дальнейшую трансформацию данных подходов в будущем.

Основные положения диссертационной работы изложены в 19 рецензируемых научных изданиях WOS (15 из которых входят в издания Q1) и одной монографии, а также представлены на большом числе Международных и Всероссийских конференций. Всё вышеперечисленное не оставляет сомнений в **высокой новизне и практической значимости** работы.

Экспериментальная часть содержит современные методы, примененные для оценки биологической активности исследуемых соединений, а также физико-химические характеристики ионных жидкостей, полученных в рамках представленной работы впервые. Для работы был использован набор самых современных инструментов, актуальных для данного исследования, таких как ^{1}H, ^{13}C ЯМР, масс-спектрометрия высокого разрешения, сканирующая электронная микроскопия. Качество данных в равной степени с набором использованного инструментария не оставляет сомнений в выводах сделанных в работе.

Вместе с тем, несмотря на общую положительную оценку, к диссертационной работе Егоровой К. С. имеются некоторые замечания и вопросы:

1) Мне кажется не совсем удачным использование в качестве разделителя дробной части запятой в экспериментальной части, что особенно критично в спектрах ЯМР ^{13}C.

2) Страница 70. Выражение «ионный кор» мне кажется неудачным, безусловно, в данном контексте подразумевалось ионное ядро.

3) В рамках данной работы было предложено использовать ионные жидкости качестве меток для исследования действия лекарственных препаратов на уровне отдельных клеток. Насколько известно из литературы [Angew. Chem. Int. Ed., 2013, 52(33), 8551-8556], вводимая метка должна быть достаточно небольшого размера, не претерпевать биодеградации, незначительно влиять на липофильность и не затрагивать фармакофорный фрагмент. Насколько, на ваш взгляд, вводимые Вами линкеры могут влиять на механизм связывания митоксантрона с мишенью?

4) Насколько Вам кажется предпочтительней именно жидкая форма лекарственных препаратов? Находясь фактически в растворе, подобные соединения могут претерпевать различные превращения, как чисто термические, так с участием абсорбируемых кислорода или воды.

5) Насколько применимо микроструктурирование, когда мы говорим о многоклеточных организмах или промышленных выбросах? В обоих случаях мы имеем дело с высокой степенью разведения, которая будет мешать данному эффекту.

6) Возможно ли, что в случае многоклеточных организмов будут протекать реакции ионного обмена и мы будем иметь дело с активностью отдельных компонентов, тем самым нивелируя разницу между различными ионными жидкостями, имеющими общий катион или анион?

7) Многие реагенты, например, катализаторы на основе переходных металлов, могут использоваться многократно. Как Вы считаете, стоит ли учитывать этот факт в Токс-профилях реакции?

Указанные замечания никоим образом не умаляют достоинства, а, скорей, отражают интерес к работе. Диссертационное исследование соответствует паспорту специальности 1.4.9 – Биоорганическая химия по п. 6 «Экологические проблемы, вопросы анализа природных токсикантов, ксенобиотиков и охраны окружающей среды». Диссертационная работа Егоровой К.С. «Исследование биологической активности ионных жидкостей с целью дизайна биологически активных ионных конъюгатов и построения биопрофилей химических реакций» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, имеющей существенное значение для развития биоорганической химии, значительный практический задел для устойчивого развития человечества путем развития новых подходов к оценке экологической безопасности химических реакций. Разработанные на основании выполненных автором исследований положения можно квалифицировать как научное достижение в области биоорганической химии. Диссертационная работа полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г., и «Изменений, которые вносятся в Положение о присуждении ученых степеней», утвержденных постановлениями Правительства Российской Федерации №335 от 21 апреля 2016 г., №748 от 2 августа 2016 г., №650 от 29 мая 2017 г., №1024 от 28 августа 2017 г., №1168 от 1 октября 2018 г., №426 от 20 марта 2021 г. и №1539 от 11 сентября 2021 г., а ее автор Егорова Ксения Сергеевна заслуживает присуждения ей ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.9 – Биоорганическая химия.

Официальный оппонент,

Доктор химических наук по специальности 1.4.3 (02.00.03) – Органическая химия, доцент, заведующий кафедрой органической и аналитической химии

химико-фармацевтического факультета ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

Аксенов Николай Александрович 29.08.2022

Контактные данные:

Тел.: 8(8652)33-08-56

E-mail: naksenov@ncfu.ru

Адрес официального места работы:

355017, г. Ставрополь, ул. Пушкина, 1

ПОДПИСЬ Аксенова Н.А.
УДОСТОВЕРЯЮ
и.о. начальник Управления делами СКФУ
31 АВГ 2022 Первякова С. В.