

## РЕЦЕНЗІЯ

офіційного рецензента на дисертацію  
Тупичака Миколи Анатолійовича  
«1,3-Диполярні реагенти у синтезі азолів»,  
подану на здобуття ступеня доктора філософії  
за спеціальністю 102 «Хімія»

### Актуальність тематики дослідження

Важливим аспектом синтетичної органічної хімії є одержання біологічно активних речовин, які можуть виявляти певні терапевтичні ефекти, або слугувати маркерами для діагностики тих чи інших захворювань. Особливу увагу дослідників привертають азагетероциклічні сполуки, що пов'язано з їхньою високою біологічною активністю, фармацевтичною значимістю, синтетичним використанням. Вони демонструють антибактеріальну, антивірусну активність, є потенційними інгібіторами різноманітних ферментативних процесів.

Дисертація Тупичака М.А. присвячена розробці нового підходу до використання реакцій 1,3-диполярного циклоприєднання для молекулярного дизайну нових модифікованих азолів, практично значимих для фармацевтичної промисловості. Сучасними критеріями пошуку нових ефективних методів синтезу фармацевтично привабливих препаратів є можливість конструювання складних молекулярних систем з доступних реагентів за допомогою малостадійних синтетичних підходів, які повинні відповідати критеріям «зеленої хімії». Йдеться про використання мультикомпонентних, тандемних та доміно-реакцій. Представлена робота відповідає таким критеріям, що робить цю роботу особливо актуальною.

### Ступінь обґрунтованості результатів, їх наукова новизна

Дисертаційна робота Тупичака М. А. є завершеним дослідженням, мета якого полягає у використанні мультикомпонентних та доміно-реакцій, що включають 1,3-диполярне циклоприєднання азидів та нітрилімінів до алкінів чи їхніх синтетичних попередників для синтезу нових біологічно активних сполук.

Експериментальна частина роботи виконана на високому професійному рівні. Автор застосував такі методи дослідження як ЯМР, хромато-мас-спектрометрія, рентгеноструктурний аналіз, методи біологічного скринінгу, LLAMA-аналіз. Біологічну активність синтезованих речовин вивчали за участю Національного інституту раку США. Використання сучасних методів експерименту дало змогу отримати обґрунтовані наукові результати.

Дисертант дослідив *нові та маловивчені* термінальні алкіни, що містять сульфонільні групи, у купрокаталітичній реакції 1,3-диполярного циклоприєднання (CuAAC) з органічними азидами; отримав *неописані раніше* 4-(метилсульфонілметил)-1*H*-1,2,3-триазоли. Показано, що реакція відбувається регіоселективно. Синтезовано *раніше невідомі* 2-((1-метил-1*H*-1,2,3-триазол-4-іл)метокси)-6*H*-бензо[*c*]хромен-6-они. Для реалізації синтезу запланованих сполук розроблено *доступні методи* одержання 2-азидо-3-арилпропанових кислот та досліджено їх в реакціях 1,3-диполярного циклоприєднання, отримано 2-(1*H*-1,2,3-триазол-1-іл)-3-арилпропанові кислоти та їхні похідні, а також 4,5,6,7-тетрагідро-[1,2,3]триазоло[1,5-*a*]піразини.

Запропоновано *новий підхід* з використанням чотирикомпонентної реакції Уті та некаталітичної циклізації Х'юсена для отримання [1,2,3]триазоло[1,5-*a*]піразинів. *Вперше* показано можливість використання нітрилімінів, як альтернативи азидам, в карбонільних клік-реакціях для заміни 1,2,3-триазольного циклу 1*H*-піразольним. Отримано *нові* функціоналізовані 1*H*-піразоли. Розроблено доміно-реакцію 2-амінотіофен-3-карбоксилатів та 2-(2-(1-хлоро-2-етокси-2-оксоетиліден)гідразиніл)тіофен-3-карбоксилатів

метиленактивними нітрилами та отримано *нові* тієно[3,2-*e*][1,2,3]триазоло[1,5-*a*]піримідин-5(4*H*)-они та піразоло[1,5-*a*]тієно[3,2-*e*]піримідин-5(4*H*)-они.

Вивчено протипухлинну активність 2-((1-метил-1*H*-1,2,3-триазол-4-іл)метокси)-6*H*-бензо[*c*]хромен-6-онів, встановлено, що вони виявляють токсичну дію на три лінії ракових клітин (HL-60, НСТ116, НСТ116 р53-/-). Серед них виявлено *сполуку-лідер* щодо клітин лейкемії лінії HL-60 із значенням IC50 = 79,5 мкМ.

Запропоновані методи добре узгоджуються з концепціями клік-хімії та «зеленої хімії».

### Структура і зміст дисертаційної роботи

Дисертація складається із анотації (українською та англійською мовами), переліку умовних скорочень, вступу, де зазначено актуальність, новизну, мету і завдання дослідження, трьох розділів, висновків, списку використаних літературних джерел та трьох додатків, у яких наведені ЯМР <sup>1</sup>H та <sup>13</sup>C спектри (Додаток А), результати рентгеноструктурного аналізу синтезованих сполук (Додаток Б), списку опублікованих дисертантом праць за темою дисертації (Додаток В).

У *вступі* обґрунтовано вибір теми дослідження та її актуальність, визначено мету дослідження (С. 23), яка полягає у розробці нових прикладів реакцій 1,3-дипольного циклоприєднання, а також поєднанні реакції 1,3-дипольного циклоприєднання у тандемі з іншими хімічними перетвореннями для молекулярного дизайну нових азолів та їх конденсованих похідних з корисними властивостями. Автор окреслив основні напрямки можливого використання синтезованих сполук, які можуть бути використані для створення нових лікарських препаратів з протипухлинною активністю. Особливий акцент зроблено на екологічній проблемі дотримання у дослідженні концепції «зеленої» хімії.

У *першому розділі* дисертації проведено ґрунтовний аналіз сучасного стану досліджуваної тематики, який охоплює літературу останніх років. Послідовність і логічність викладеного в огляді літератури матеріалу свідчить про високу ерудицію дисертанта та здатність до критичного аналізу і узагальнення. Окреслено загальну характеристику реакцій 1,3-дипольного циклоприєднання, особливий акцент зроблено на використанні купрокаталітичного циклоприєднання азидів до алкінів з огляду на можливе використання продуктів реакції CuAAC для синтезу протипухлинних препаратів. Серед великої різноманітності реакцій такого типу дисертант концентрує свою увагу на тандемних мультикомпонентних перетвореннях, які дозволяють отримувати бажані сполуки реакціями в один клік.

*Другий розділ* дисертації відображає основні результати роботи Тупичака М.А.

Основна увага у роботі зосереджена на розробці нових варіантів реакцій 1,3-дипольного циклоприєднання, зокрема використанні органічних азидів та альтернативних азидам 1,3-диполів у реакціях [3+2]-циклоприєднання, синтезі 1,2,3-триазолів та їхніх конденсованих похідних, а також поєднанні реакції 1,3-дипольного циклоприєднання з іншими хімічними перетвореннями для отримання нових азолів та їх конденсованих похідних, які можуть бути перспективними для створення нових фармацевтичних препаратів. Ґрунтуючись на аналізі літературних даних автор досліджує нові алкіни в CuAAC реакціях. Об'єктами дослідження є сульфонільмісні алкіни, оскільки введення сульфонільної групи є важливою стратегією отримання нових ефективних фармакологічних препаратів.

Позитивним моментом цього дослідження можна відзначити використання репрезентативної комбінаторної бібліотеки азидів, що дало змогу дисертанту обрати найбільш перспективні алкіни для подальших синтетичних розробок. Отримано нові *біс*-триазоли, які могли б використовуватися як комплексонони Cu(II), Co(II), Zn(II) та Ni(II), а також могли б виявляти фармакологічну активність.

Для одержання високоактивних протипухлинних агентів, що містять фрагмент бензохроменону, дисертант розробив метод синтезу кон'югатів 2-гідрокси-6*H*-

бензо[с]хромен-6-ону та 1,2,3-триазолу **19**. На основі створеної віртуальної комбінаторної бібліотеки сполук з 20 різними замінами у 1,2,3-триазольному циклі дисертант провів оцінку лікоподібності отриманих сполук за допомогою LLAMA (<https://llama.leeds.ac.uk>), обчислювального інструменту з відкритим доступом, для оцінки лікоподібності та новизни молекулярних скафолдів. Було обрано і синтезовано п'ять перспективних молекулярних структур, які перевірені у співпраці з Інститутом біології клітини НАН України на цитотоксичну дію щодо пухлинних клітин людини. Отримані 2-((1-*R*-1*H*-1,2,3-триазол-4-іл)метокси)-6*H*-бензо[с]хромен-6-они **19a-e** виявляли токсичний ефект щодо трьох перевірених ракових клітинних ліній (HL-60, HCT116, HCT116 p53-/-), серед них виявлено сполуку-лідера з найбільш вираженою цитотоксичністю щодо клітин лейкемії лінії HL-60.

Для створення аналогів амінокислот з 1,2,3-триазоловмісними каркасами, що можуть бути легко введені у поліпептидний ланцюг з метою його модифікації, в реакціях 1,3-диполярного циклоприєднання до алкінів дисертант запропонував 2-азидо-3-арилпропанові кислоти. Для цього розроблено доступний метод синтезу  $\alpha$ -азидо-2-арилпропанових кислот **25** із застосуванням реакції Меєрвейна. Їх взаємодія з діетиловим естером ацетилендикарбонової кислоти або пропаргіламідом в умовах некаталітичної циклізації Х'юзгена привела до утворення 3-арил-2-триазолілпропанових кислот **27a,b**, які після модифікації карбоксильної групи давали біциклічні [1,2,3]триазоло[1,5-*a*]піразини.

Цікавим аспектом використання синтезованих 2-азидо-3-арилпропанових кислот є використання їх у некаталітичній чотирьохкомпонентній реакції Угі для конструювання дипептидів. Для реалізації поставленої цілі дисертант розробив методи синтезу вихідних ізонітрилів.

Для забезпечення можливості внутрішньомолекулярних циклізацій з утворенням [1,2,3]триазоло[1,5-*a*]піразинової циклічної системи в реакцію Угі було введено пропаргіламін та отримано обширну бібліотеку 2-азидо-3-арил-*N*-(2-(*R*<sup>3</sup>-аміно)-2-оксо-1-*R*<sup>2</sup>-етил)-*N*-(пропаргіл)пропанамідів. Уведення додаткової алкінової структури робить одержані сполуки перспективними для подальшої кон'югації. Проведено оптимізацію синтезу циклічних [1,2,3]триазоло[1,5-*a*]піразин-6(7*H*)-онових адуктів **44**, що дозволило уникнути додаткової стадії перетворення. Автор встановив, що умови кристалізації продуктів можуть бути зручним і ефективним прийомом для розділення діастереомерної суміші продуктів **44** на окремі оптичні ізомери, будова яких однозначно доведена методом рентгеноструктурного аналізу.

Хорошим прийомом виявилось використання замість ацетиленових компонентів їхніх синтетичних попередників – галогеналкенів – для синтезу [1,2,3]триазоло[1,5-*a*]піразин-6(7*H*)-ону **45**.

З метою отримання нових 1,2,3-триазольних пептидоміметиків та вивчення можливості модифікації пептидних чи білкових молекул шляхом ацилювання  $\omega$ -аміногрупи амінокислот дисертант розробив регіоселективну реакцію ацилювання хлорангідридами 1*H*-1,2,3-триазолкарбонових кислот *L*-лізину. Це цікавий приклад селективного захисту  $\omega$ -аміногрупи лізину.

Ще одним напрямком дослідження було використання азидів в реакціях [3+2]-циклоприєднання з метиленактивними сполуками. Серед метиленактивних сполук, що можуть бути застосовані в реакціях 1,3-диполярного циклоприєднання азидів особливої уваги заслуговують метиленактивні нітрили. Автор синтезував бібліотеку нових азолів з 1,2,4-оксадіазольним кільцем за «зеленим протоколом» 1,3-диполярного циклоприєднання. Реакцією [3+2]-циклоприєднання 2-(3-арил-1,2,4-оксадіазол-5-іл)ацетонітрилів **54** з арилазидами одержано цільові 5-аміно-1,2,3-триазоли **55a-e**, які можуть бути перспективними як протисудомні, протитуберкульозні та протипухлинні препарати.

Цікавим експериментом з точки зору вивчення впливу будови на реакційну здатність є дослідження у реакції 1,3-диполярного циклоприєднання, крім азидів, ще й нітрилімінів. Це дослідження дозволило отримати сполуки з піразольним циклом замість триазольного. Як

попередники нітриламінів були синтезовані арилгідразонілхлориди, які з високими виходами утворювали з заміщеними ацетонітрилами функціоналізовані піразоли. За аналогічною схемою відбувається і реакція з біфункціональними 3-(1-метил-1*H*-пірол-2-іл)-3-оксопропанонітрилами та 3-(1*H*-індол-3-іл)-3-оксопропанонітрилами.

Для синтезу складних молекулярних конструкцій, що містять декілька гетероциклічних фрагментів, дисертант отримав 2-(3-арил-1,2,4-оксадіазол-5-іл)ацетонітрили, які були апробовані у доміно-реакції з 2-азидотіофен-3-карбоксилатами **67**. Для останніх був розроблений метод одержання з 2-амінотіофенів. Вперше отримано 3-(3-арил-1,2,4-оксадіазол-5-іл)тієно[3,2-*e*][1,2,3]триазоло[1,5-*a*]піримідин-5(4*H*)-они **68a-h**.

Важливо зазначити практичну спрямованість проведених дисертантом синтетичних розробок. Для отриманих тієно[3,2-*e*][1,2,3]триазоло[1,5-*a*]піримідинонів **68a-h** вивчено протипухлинну активність *in vitro* на 60 лініях ракових клітин, що охоплюють практично весь спектр ракових захворювань людини (лінії раку легень, молочної залози, яєчників, лейкемії, раку товстої кишки, нирок, меланому, раку простати та ЦНС). Дослідження були проведені у рамках міжнародної наукової програми Національного інституту здоров'я США DTP (Developmental Therapeutic Program) Національного інституту раку (NCI, Бетезда, Меріленд, США). Окремі сполуки виявили протипухлинну активність щодо клітин лінії LOX IMVI меланому, клітин раку центральної нервової системи SNB-75 та клітин раку нирок UO-31.

У *третьому розділі* дисертації – експериментальній частині – наведено опис конкретних методик синтезу усіх наведених сполук та їхні характеристики. Перелік обладнання та програм, які були використані у дисертаційній роботі не викликають сумнівів у вірогідності представлених результатів та правильності їх інтерпретації. У Додатку А наведені копії характерних спектрів ЯМР <sup>1</sup>H та <sup>13</sup>C різних типів синтезованих сполук. Додаток Б містить дані рентгеноструктурного аналізу.

#### **Повнота наукових положень дослідження у дисертації та публікаціях**

Результати дисертації відображені у 16 публікаціях: шести статтях, у т.ч. чотири – у Scopus та Web of Science (три – у журналах третього квартилю (Q3) та одна – другого, Q2), дві – у фаховому виданні України) та десяти матеріалах і тезах міжнародних та всеукраїнських конференцій. Перелік публікацій наведено у Додатку В.

#### **Практичне значення наукових результатів**

У *теоретичному* плані дисертант запропонував і розробив ефективні методи одержання 1,2,3-триазолів та 1*H*-піразолів, анельованих [1,2,3]триазоло[1,5-*a*]піразинів та тієно[3,2-*e*][1,2,3]триазоло[1,5-*a*]піримідинів, вивчив регіоселективність перетворень, що розширює арсенал синтетичної органічної хімії. У *екологічному* плані: розроблено методи синтезу, які відповідають концепціям клік-хімії та «зеленої хімії», що робить їх придатними для створення комбінаторних бібліотек для оцінки біологічної активності. *Прикладна* значимість роботи визначається синтезом речовин, серед яких знайдено нові сполуки, зокрема, сполука-лідер, що виявили протипухлинну активність.

#### **Відомості про дотримання академічної доброчесності**

Ознайомившись із науковими публікаціями та дисертацією Тупичака Миколи Анатолійовича «1,3-Дипольні реагенти у синтезі азолів», відзначаю відсутність порушень академічної доброчесності.

#### **Зауваження до дисертації**

Хоча дисертаційне дослідження загалом виконане на достатньо високому рівні, можна вказати декілька зауважень:

1. Хочеться отримати додаткове обґрунтування щодо вибіркового синтезу п'яти із двадцяти замісників у триазоловому фрагменті 1,2,3-триазолів, що містять бензохроменоновий фрагмент, на основі розрахунку лікоподібності та молекулярного аналізу LLAMA.

2. Цікавим аспектом роботи було б встановлення конфігурації синтезованих дисертантом 2-азидо-3-арилпропанових кислот **25** як можливих попередників  $\alpha$ -амінокислот.
3. Чому реакція одержання [1,2,3]триазоло[1,5-*a*]піразин-6(7*H*)-ону **45** відбувається із синтетичним попередником – (*Z*)-2-бромо-3-фенілакролеїном, але не з 3-фенілпропіоловим альдегідом?
4. Чому арилгідразоніл хлориди **56a-f** (с. 92) представлені на схемах як *E*-ізomers? Та чому тінілгідразоніл хлориди **69a,b** (с. 95) зображені у *Z*-конфігурації? Чи означає це, що реакції їх утворення відбуваються стереоспецифічно? Чи має значення конфігурація цих сполук для проходження циклізації з 2-(3-арил-1,2,4-оксадіазол-5-іл)ацетонітрилами **54a-e** та для проходження циклізації з утворенням пірольного циклу?
5. Чи може карбаніон атакувати нуклеофільний атом вуглецю нітриліміну? (с. 91)
6. Чим можна пояснити відсутність сигналу NH-протона у спектрі  $^1\text{H}$  ЯМР для сполук 3-(3-арил-1,2,4-оксадіазол-5-іл)тієно[3,2-*e*][1,2,3]триазоло[1,5-*a*]піримідин-5(4*H*)-онів **68a-h** та 5-оксо-3-(3-арил-1,2,4-оксадіазол-5-іл)-4,5-дигідропіразоло[1,5-*a*]тієно[3,2-*e*]піримідинів **70a-b** та відсутність сигналу протона карбоксильної групи для 3-(1,2,4-оксазол-5-іл)-5-оксо-4,5-дигідропіроло[1,5-*a*]тієно[3,2-*e*]піримідин-2-карбонових кислот **70c-e** та відсутність сигналу NH-протона у спектрі  $^1\text{H}$  ЯМР для сполуки **70e** (Додаток А).
7. Чи планується дослідження синтезованих 5-аміно-1,2,3-триазолів **55a-e** та амінопіразолів **57a-e** з оксадіазольним фрагментом на біологічну активність? Загалом наведені зауваження не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

#### Висновок щодо відповідності дисертації нормам

Дисертація *Тупичака Миколи Анатолійовича «1,3-Дипольні реагенти у синтезі азолів»*, подана на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 «Хімія», є завершеним дослідженням, яке стосується розробки ефективних і хемоселективних мультикомпонентних методів синтезу складних молекулярних гетероциклічних систем з доступних реагентів, яке відповідає критеріям «зеленої хімії».

Вважаю, що за новизною, актуальністю, обсягом та практичним значенням дисертація відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» (з наступними змінами) та «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 р., а її автор, *Тупичак Микола Анатолійович*, заслуговує присудження йому ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 «Хімія».

Офіційний рецензент –  
кандидат хімічних наук,  
доцент, доцент кафедри органічної хімії  
Львівського національного університету  
імені Івана Франка

Євгенія БІЛА-ЛЯЛЬКА