

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Бахолдиной Любови Алексеевны «Сложные эфиры феруловой кислоты: выделение, новые подходы к синтезу и оценка биологической активности», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 — органическая химия

К настоящему времени имеется значительное количество данных об антиоксидантной и противораковой активности феруловой кислоты и ее производных. В зависимости от природы заместителя (например, алифатические спирты, глицерин) в молекуле феруловой кислоты изменяются липофильные свойства ее производных, что влияет на их биологическую активность в среде, богатой липидами. Также наблюдается повышение антиоксидантной и противораковой активности функциональных производных в сравнении с исходной феруловой кислотой. Большое значение имеет исследование влияния ее производных с олигосахаридными остатками, выделенных из гидролизной смеси клеточных стенок зерновых культур, на канцерогенез кишечника. Углеводный фрагмент в этом случае одновременно играет роль носителя и защиты для феруловой кислоты, обеспечивая ее транспорт в толстую кишку человека.

Также в настоящее время большой интерес представляют природные производные феруловой кислоты со стеролами (24-метиленициклоартенил, циклоартенил, кампестерил), которые составляют основную часть (около 80 %) природного антиоксиданта — γ -оризанола.

Однако, выделение соединений, обладающих биологической активностью, из природных источников сопровождается определенными трудностями, основными из которых являются невысокое содержание этих веществ в сырье, а также сложность выделения и очистки. Поэтому наиболее эффективным методом получения производных феруловой кислоты и ее аналогов является синтетический.

Ферулоилирование различных субстратов, в том числе полиолов, является одной из практически важных задач. Анализ способов получения ферулоилированных полиолов выявил две основные проблемы, требующие решения: первая — поиск более селективных и мягких ферулоилирующих средств, чем ангидриды и хлорангидриды; вторая — поиск способов селективного удаления ацетильной защиты с фенольного гидроксила феруловой кислоты. Рациональным способом решения этих проблем является сочетание химических и ферментативных методов в синтезе природных соединений.

Целью исследования являлись получение производных феруловой кислоты синтетическими методами и путём выделения из пшеничных отрубей, оценка их цитотоксичности на линии клеток НСТ116 (рак толстой кишки человека).

Для достижения этой цели необходимо было решить следующие **задачи**:

1. Исследование реакции ацилирования оксиметильных соединений на примере бензилового, фенилэтилового, аллилового, тетрагидрофурфурилового спиртов с применением дициклогексилкарбодиимида в качестве конденсирующего агента, оптимизация условий повышающих выход эфиров;
2. Синтез стандарта 5-О-ферулоил-D-ксилофуранозы через 1,2-циклогексиден -D-ксилофуранозу и исследование селективности реакции ацилирования ксилозы без защитных групп в присутствии дициклогексилкарбодиимида;
3. Изучение способов селективного снятия защиты с фенольного гидроксила феруловой кислоты в продуктах ацилирования;
4. Проведение ферментативного гидролиза пшеничных отрубей, выделение производных феруловой кислоты с моно/олигосахаридами путем фракционирования гидролизата и их физико-химический анализ;
5. Определение цитотоксичности производных феруловой кислоты, полученных в ходе химического синтеза и путем выделения из пшеничных отрубей.

Общая оценка содержания диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, трёх глав, выводов и списка используемой литературы из 142 источника и изложена на 114 страницах текста, включая 20 рисунков, 22 схемы и 19 таблиц.

Во введении обоснована актуальность темы исследовательской работы, сформулированы цель и задачи исследования, изложены научная новизна и практическая значимость работы.

В первой главе представлен анализ литературных данных, касающихся методов синтеза и выделения производных феруловой кислоты, а именно сложных эфиров. Приведена классификация сложных эфиров феруловой кислоты по происхождению, заместителям и проявляемой биологической активности. Представлены методы получения сложных эфиров феруловой кислоты. Особое внимание уделено реакциям этерификации феруловой кислоты в присутствии различных катализаторов и активаторов, вариантам этерификации по Стеглиху и Мицунобу, а также в среде ионных жидкостей. Рассмотрены различные варианты выделения сложных эфиров феруловой кислоты из растительного

сырья. Заключительным подразделом в первой главе приведена информация о противораковой активности производных феруловой кислоты.

Во второй главе охарактеризованы объекты исследования, приведены методики синтеза и выделения эфиров феруловой кислоты, их идентификация различными методами, описано оборудование, используемое в рамках данной работы, а также методы определения цитотоксичности синтезируемых соединений.

Третья глава содержит результаты исследований и их обсуждение: исследование процессов получения сложных эфиров феруловой кислоты путём ацилирования спиртов и ксилозы; анализ полученных соединений физико-химическими методами; варианты снятия ацетильной защиты; выделение сложных эфиров феруловой кислоты из растительного сырья путём гидролиза; фракционирование получаемого гидролизата; а также оценка цитотоксичности получаемых соединений.

В выводах по полученным результатам автором на основании литературных данных и результатов проведенных исследований изучены реакции ацилирования ряда спиртов с применением дициклогексилкарбодиимида, показана эффективность катализатора реакции этерификации — бензолсульфоуксусной кислоты. Впервые исследована реакция этерификации ксилозы и феруловой кислоты, определены её оптимальные условия для селективного получения 1-О-ферулоил-D-ксилофуранозы. Исследована реакция селективного снятия ацетильной защиты с фенольного гидроксид феруловой кислоты, предложен селективный ферментативный метод снятия ацетильной защиты. Исследованы производные феруловой кислоты с моно- и олигосахаридами полученные путем фракционирования гидролизата пшеничных отрубей. Доказано, что использование этанола при элюировании компонентов гидролизата позволяет снизить потери феруловой кислоты в 4 раза по сравнению с метанолом. Впервые определена цитотоксичность производных феруловой кислоты, показано, что синтетические производные феруловой кислоты обладают большей активностью по сравнению с производными растительного происхождения.

Основные научные результаты изложены в 23 работах, из которых 2 работы в изданиях, рекомендованных ВАК; 1 статья в издании, индексируемом в базах данных Web of Science и Scopus.

Научная новизна работы

1. Впервые изучена селективность реакции ацилирования 4-О-ацетилферуловой кислотой незащищённой ксилозы в присутствии дициклогексилкарбодиимида;
2. Впервые синтезированы ранее неизвестные тетрагидрофурфуриловый эфир феруловой кислоты и 5-О-ферулоил-D-ксилофураноза, структура которых доказана физико-химическими методами;

3. Впервые проведено изучение цитотоксичности на линии клеток НСТ116 (рак толстой кишки человека) производных феруловой кислоты, полученных путем синтеза, и производных, выделенных из пшеничных отрубей.

Практическая значимость исследования заключается в том, что

1. Найдены оптимальные условия синтеза сложных эфиров феруловой кислоты с бензиловым, фенилэтиловым, аллиловым, тетрагидрофурфуриловым спиртами и ксилозой в присутствии дициклогексилкарбодиимида, которая может найти применение для синтеза стандартов при изучении производных феруловой кислоты в растительном сырье и в синтезе новых биологически активных соединений;

2. Разработан метод снятия ацетильной защиты с фенольного гидроксила феруловой кислоты, определена продолжительность гидролиза в щелочной среде и описаны условия высокоселективного ферментативного метода;

3. Предложены условия выделения производных феруловой кислоты и олигосахаридов из пшеничных отрубей. Установлен мономерный состав выделенных производных феруловой кислоты из пшеничных отрубей Алтайского края;

4. Определены показатели цитотоксичности полученных производных феруловой кислоты в отношении линии клеток НСТ116 (рак толстой кишки человека), важные для дальнейшего поиска эффективных противораковых агентов.

При рассмотрении диссертационной работы появились следующие **замечания**:

1. На стр. 20 диссертации представлена схема синтеза п-О-ферулоилхинных кислот. Автору следовало бы пояснить, что в синтезе используются производные хинной кислоты с предустановленной защитой гидроксильных групп, в частности, изопропилиденовой.

2. Несмотря на скрупулёзный обзор данных, представленных в литературе, прежде всего, по синтезу эфиров феруловой кислоты, в конце раздела диссертации явно не хватает небольшого заключения по рассмотренным методам синтеза, поскольку в работе на это делается основной акцент. Из этого вполне логично следовало бы описание выбора спиртов, использующихся для синтеза сложных эфиров феруловой кислоты.

3. На стр. 41 и далее диссертации приводятся методы синтеза феруловой кислоты и других соединений, использованных в работе. Эти соединения пронумерованы, однако структурные формулы их не представлены. Их следовало бы привести для более внятного восприятия работы (например, бензил-(2Е)-3-(4-ацетокси-3-метоксифенил)проп-2-еноат и др.).

4. На стр. 61 представлена схема синтеза 4-О-ацетилферуловой кислоты из ванилина. В качестве продукта 4 указано соединение, не являющееся 4-О-ацетилферуловой кислотой. Следует отметить, что в автореферате формула данного соединения указана корректно.

5. На стр. 65 представлены зависимости выхода бензилового эфира феруловой кислоты от применения различных кислых катализаторов (органические и минеральные кислоты). Указано, что при использовании минеральных кислот в качестве катализаторов этерификации феруловой кислоты выход эфира существенно снижается, однако причина такого снижения не указана.

6. На стр. 69 автор показывает, что при ацилировании ксилозы в присутствии дициклогексилкарбодиимида образуется его производное с 4-О-ацетилферуловой кислотой. Эта реакция протекает при использовании в качестве катализатора п-толуолсульфокислоты. Образуется ли такое производное при использовании других катализаторов, в частности, минеральных кислот?

7. На стр. 82 представлена таблица 14, озаглавленная как «Распределение феруловой кислоты по фракциям». Вероятно, её следовало бы озаглавить «Распределение фенольных веществ гидролизата по фракциям». Там же указаны результаты использования элюентов — метанола и этанола — для десорбции фенольных веществ. Автором показано, что этанол является существенно более эффективным элюентом по сравнению с метанолом. С чем автор связывает данный факт?

Сделанные замечания и вопросы не влияют на положительную оценку выполненной работы и не ставят под сомнение основные выводы диссертации. Замечания и вопросы носят дискуссионный или рекомендательный характер. Автореферат отражает содержание диссертационной работы.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней

На основании анализа представленного диссертационного материала считаю, что в работе представлен, обобщен и проанализирован большой объем литературных данных и экспериментального материала. Тема диссертационной работы актуальна, выводы и рекомендации вполне обоснованы, достоверны и являются новыми. Работа выполнена на очень высоком научном уровне. Автор в полной мере раскрыл изученность поставленных вопросов и задачи. Полученные результаты расширяют фундаментальные познания и имеют важное научное и практическое значение для химической науки, фармацевтики и здравоохранения.

Диссертационная работа Бахолдиной Любови Алексеевны «Сложные эфиры феруловой кислоты: выделение, новые подходы к синтезу и оценка биологической активности» по своей актуальности, научной новизне, значимости результатов и общему объему исследований полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 (в редакции от 28.08.2017), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор — Бахолдина Любовь Алексеевна — как по важности решенных научных задач, так и по уровню проведения исследований достойна присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 — Органическая химия.

Официальный оппонент

доцент кафедры органической химии

федерального государственного автономного
образовательного учреждения высшего образования

«Национальный исследовательский

Томский государственный университет»,

кандидат химических наук

(02.00.04 – Физическая химия)

Мальков Виктор Сергеевич

malkov.vics@gmail.com

03.12.2018

Сведения об организации:

634050, г. Томск, пр. Ленина, 36; Телефон: (3822)52-98-52; e-mail: rector@tsu.ru;
<http://www.tsu.ru>