

На правах рукописи



ШАКИРОВ АДЕЛЬ МАРАТОВИЧ

**СИНТЕЗ И СВОЙСТВА НОВЫХ ФОСФОНАМИДОВ И АМИНОФОСФОНАТОВ,
СОДЕРЖАЩИХ ПРОСТРАНСТВЕННО-ЗАТРУДНЕННЫЙ ФЕНОЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ**

1.4.3. Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Казань – 2024

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет» и Институте органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленном структурном подразделении федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук».

Научный руководитель:

Бурилов Александр Романович
доктор химических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Тришин Юрий Георгиевич
доктор химических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет промышленных технологий и дизайна», кафедра органической химии, заведующий

Иевлев Михаил Юрьевич

кандидат химических наук, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», кафедра органической и фармацевтической химии, доцент

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань

Защита диссертации состоится 6 декабря 2024 года в 12:30 ч. на заседании диссертационного совета 24.2.312.03, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет», по адресу: 420015, г. Казань, ул. К. Маркса, д. 68, зал заседаний Ученого совета, А-330.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет» и на сайте КНИТУ <https://www.kstu.ru/servlet/contentblob?id=520876>

Отзыв на автореферат в 2-х экземплярах просим направлять по адресу: 420015, г. Казань, ул. К. Маркса, д. 68, КНИТУ, ученому секретарю диссертационного совета 24.2.312.03

Автореферат разослан _____ октября 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Нуруллина Наталья Михайловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Современной тенденцией органической химии является создание соединений, которые способны поражать биологические мишени, например, опухолевые клетки, бактериальные или вирусные инфекции, не затрагивая при этом здоровые клетки. По данным GLOBOLCAN, на территории Российской Федерации в 2022 году было зафиксировано примерно 635 тысяч новых случаев злокачественных новообразований. Росстат сообщает, что в 2021 году в России злокачественные опухоли стали причиной каждой шестой смерти и занимают второе место по заболеваемости населения. Неутешительная статистика и в отношении инфекционных заболеваний по данным ВОЗ: 13,7 млн человек умерло от последствий инфекционных заболеваний, вызванных различными бактериями. Одним из методов лечения злокачественных новообразований и инфекций, является использование различных лекарственных препаратов. Большая часть из существующих противоопухолевых препаратов имеют ряд недостатков: низкая селективность, вызывают резистентность, токсичны для здоровых клеток. Аналогичная проблема возникает и при лечении инфекционных заболеваний, известно, что патогенные микроорганизмы приобретают устойчивость к препаратам из-за особенности их строения, которая влияет на эффективность. Поэтому на сегодняшний день синтез соединений, обладающих хорошей биодоступностью, низкой токсичностью и высокой эффективностью, является актуальной задачей.

В последнее время все больше встречается работ по созданию противоопухолевых и антимикробных препаратов, ориентированных на окислительно-восстановительный гомеостаз, в частности, ориентированных на ингибирование повреждения клеток, опосредованных активными формами кислорода (АФК). Пространственно-затрудненные фенолы (ПЗФ), представляющие класс известных фенольных антиоксидантов, замедляющие процессы пероксидного окисления липидов и снижающие окислительный стресс организма, а также способные к образованию высокореакционных хинонметидов, являются перспективными агентами в создании противоопухолевых препаратов направленного действия. Введение фосфорсодержащего фрагмента в молекулы биологически активных веществ – одна из важных тенденций конструирования потенциальных лекарственных препаратов, поскольку это не только позволяет ожидать появление новых типов активностей, но и обеспечивает достаточно эффективный транспорт таких молекул через клеточные мембраны. В этом плане наличие аминфосфонатных или фосфонамидных фрагментов в структуре позволяет получать соединения с улучшенной биологической активностью. Кроме этого, включение фосфонамидных фрагментов является пролекарственной стратегией для анионных фосфат- или фосфонатсодержащих препаратов из-за их лучшего баланса между эффективностью, селективностью и проницаемостью. В настоящей диссертационной работе представлена стратегия дизайна новых биологически активных соединений, проявляющих противоопухолевую и антимикробную активности, базирующаяся на объединении в одной молекуле фосфорильных групп, пространственно-затрудненных фенолов и азотсодержащих органических соединений.

Степень разработанности темы исследования. В лаборатории элементоорганического синтеза (ЭОС) им. А.Н. Пудовика Института органической и физической химии (ИОФХ) им. А.Е. Арбузова проводятся работы по целенаправленному синтезу структур, содержащих в составе 3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксibenзильный, азотсодержащий органический фрагменты, фосфорильную группу, проявляющих высокую противомикробную и противоопухолевую активности. К началу проведения исследований по диссертационной работе в литературе имелись единичные сообщения, посвященные синтезу фосфонамидов, содержащих ПЗФ-фрагмент. Основные исследования по синтезу некоторых аминфосфонатов, фосфонамидов, содержащих ПЗФ-фрагмент, были осуществлены в лаборатории ЭОС им. А.Н. Пудовика и нашли отражение в

диссертационных работах Шаехова Т.Р., Нгуен Т.Т., Стародубцевой Р.Р. Было обнаружено, что большая часть из полученных структур обладают ярко выраженными противомикробной, противоопухолевой активностями, которые коррелируют с природой азотсодержащего органического фрагмента, входящего в состав молекулы. Поэтому дальнейшее целенаправленное развитие исследований в области молекулярного дизайна фосфорилированных ПЗФ является важным, актуальным и позволит получить большую библиотеку веществ, обладающих высокой противомикробной, противоопухолевой активностями и выявить среди них соединения-лидеры.

Целью диссертационной работы является синтез новых аминифосфонатов и фосфонамидов, содержащих в своей структуре пространственно-затрудненный фенольный фрагмент, и изучение их биологической активности.

В соответствии с поставленной целью диссертационной работы необходимо было решить следующие задачи:

1. Синтез новых фосфонамидов по реакции нуклеофильного замещения 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метил-гидроксibenзилхлорфосфонатов с N-нуклеофилами, содержащими ацетальные, алифатические, N-гетероциклические фрагменты.
2. Осуществить модификацию впервые синтезированных фосфонамидов, содержащих ПЗФ и терминальные диметиламинные фрагменты введением галогеноалканов, с получением алкиламмониевых групп.
3. Синтез новых α -аминофосфонатов по реакции нуклеофильного 1,6-присоединения фосфорилированных *n*-хинонметидов (3,5-ди-*трет*-бутил-4-оксоциклогекса-2,5-диен-1-илиденметилфосфонатов) с производными 3,7-диазабицикло [3.3.1] нонана, алифатическими аминами, содержащими ацетальные или гетероциклические фрагменты.
4. Изучение *in vitro* цитотоксичности в отношении опухолевых и нормальных клеточных линий всех синтезированных соединений. Изучение антимикробной активности алкиламмониевых солей фосфонамидов, содержащих ПЗФ.

Научная новизна работы. Впервые изучены реакции *O*-алкил-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксibenзил)хлорфосфонатов с алифатическими аминами, содержащими терминальную диметиламиногруппу, *N*-гетероциклический, α -, γ - ацетальные фрагменты. Показано, что реакция нуклеофильного замещения атома хлора у атома фосфора приводит к образованию фосфонамидов, содержащих ПЗФ и различные функциональные группы. Установлено, что температура проведения реакции оказывает влияние на выход целевых продуктов. Алкилированием терминальной диметиламиногруппы полученных фосфонамидов бромалканами с различной длиной алкильного спейсера впервые синтезированы аммониевые соли.

Впервые показано, что алкил-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-оксоциклогекса-2,5-диен-1-илиден)метилфосфонаты в отсутствие катализаторов вступают в реакцию нуклеофильного 1,6-присоединения аза-Михаэля с первичными аминами, содержащими (этилен/пропилен)-*N*-гетероциклические фрагменты (морфолин, пиперидин, пирролидин) с образованием новых α -аминофосфонатов.

Впервые изучены реакции нуклеофильного 1,6-присоединения аза-Михаэля алкил-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-оксоциклогекса-2,5-диен-1-илиден)метилфосфоната, катализируемые основаниями с производными 3,7-диазабицикло [3.3.1] нонана (биспидины), содержащие один или два нуклеофильных центра. Установлено, что в биспидинах с двумя нуклеофильными центрами, независимо от условий реакции, осуществляется введение одного фрагмента фосфорилированного ПЗФ. Для оценки влияния фосфорильного фрагмента на биологическую активность впервые были синтезированы производные биспидина, содержащие ПЗФ-фрагменты по реакции бензилирования 3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксibenзил ацетата с производными 3,7-диазабицикло [3.3.1] нонана в присутствии триэтиламина.

Показано, что α -, β -, γ -аминоацетали реагируют с *O*-алкил-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксibenзил)хлорфосфонатами, вступают в реакцию 1,6-нуклеофильного присоединения с изопропил-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-оксоциклогекса-2,5-диен-1-илиден) метилфосфонатом, а также взаимодействуют с 3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксibenзил ацетатом с образованием соответствующих фосфонамидов, аминокфосфонатов и бензиламинов, содержащих ПЗФ-фрагмент.

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработан метод синтеза новых α -аминокфосфонатов, содержащих в своей структуре ПЗФ, *N,N*-диметил (этилен/пропилен) диаминовые, гетероциклические, 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонановые и ацетальные фрагменты, основанный на атом-экономной реакции нуклеофильного 1,6-присоединения *N*-нуклеофилов к алкил-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-оксоциклогекса-2,5-диен-1-илиден)метилфосфонатами. Предложен удобный подход к синтезу новых фосфонамидов, содержащих в одной молекуле ПЗФ и *N,N*-диметил (этилен/пропилен) диаминовые, или *N*-гетероциклические, или ацетальные фрагменты основанный на использовании реакции нуклеофильного замещения атома хлора в молекуле *O*-алкил-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксibenзил)хлорфосфоната соответствующими аминами.

Синтезировано 89 новых соединений. Установлено, что фосфонамиды, в структуре которых находятся аммониевые фрагменты, проявляют высокую антибактериальную активность и наилучшую цитотоксичность *in vitro* в отношении опухолевых линий HuTu-80 со значением IC₅₀ 3.1 μ M, сопоставимые с цитотоксичностью препарата сравнения Сорафениб, являясь менее токсичными и более селективными при воздействии на нормальные клетки печени Chang liver и WI38. Аминокфосфонаты, в структуру которых входят ацетальный и ПЗФ-фрагменты, проявляют высокую активность относительно опухолевых клеток HuTu -80 со значением IC₅₀ 11.8 μ M.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертация соответствует паспорту научной специальности 1.4.3. Органическая химия (химические науки) по п. 1. «Выделение и очистка новых соединений»; п. 3. «Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул»; п. 7. «Выявление закономерностей типа «структура-свойство»».

Методология диссертационного исследования. Методологическая часть исследования состояла в разработке и оптимизации методов синтеза новых типов производных аминокфосфонатов и фосфонамидов, содержащих ПЗФ, биспидиновые, *N*-алифатические с гетероциклическими, аминокфетальными и аммониевыми фрагментами. Целевые соединения были получены в результате оригинальных реакций нуклеофильного 1,6-присоединения *N*-нуклеофилов к (3,5-ди-*трет*-бутил-4-оксоциклогекса-2,5-диен-1-илиден)метилфосфонатам, реакции нуклеофильного замещения атома хлора у метил (3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксibenзил)хлорфосфонатов *N*-нуклеофилами, реакции нуклеофильного присоединения-элиминирования 3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксibenзилацетата.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Синтез новых α -аминокфосфонатов, содержащих в своей структуре: пространственно-затрудненный фенольный (ПЗФ), аминокфетальный, биспидиновый, *N*-гетероциклические фрагменты, по реакции 1.6-нуклеофильного присоединения амина к фосфорилированным *n*-хинонметидам.

2. Синтез новых фосфонамидов, содержащих в своей структуре ПЗФ, аминокфетальный, *N*-гетероциклические фрагменты, *N*-, *N*-диметилалкилдиаминный, аммониевый фрагменты, по реакции нуклеофильного замещения NH-нуклеофилом 3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксibenзилхлорфосфоната.

3. Исследование *in vitro* цитотоксичности синтезированных новых производных аминокфосфонатов и фосфонамидов, а также их противомикробной активности.

Апробация работы. Результаты работы докладывались и обсуждались на научных конференциях различного уровня: Всероссийская конференция «Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней» (2021, Сочи); МОБИ – ХимФарма 2021, VII

Междисциплинарная конференция «Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии» (2021, Москва); Всероссийская конференция с международным участием «Идеи и наследие А.Е. Фаворского в органической химии: Вторая всероссийская школа по медицинской химии для молодых ученых» (2023, Санкт-Петербург); I Междисциплинарная всероссийская молодежная научная школа-конференция с международным участием «Молекулярный дизайн биологически активных веществ: биохимические и медицинские аспекты», посвященная 120-летию со дня рождения академика Б.А. Арбузова (2023, Казань); Итоговая конференция Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленное структурное подразделение федерального государственного бюджетного учреждения науки ФИЦ КазНЦ РАН (2024, Казань).

Публикации. Основное содержание диссертационной работы изложено в 2 статьях в российских и международных научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для размещения материалов диссертации и входящих в реферативную базу Web of Sciences, Scopus, и 6 тезисов докладов на конференциях различного уровня.

Методы исследования и степень достоверности результатов. Достоверность результатов проведенных исследований подтверждается использованием целого ряда современных физико-химических методов: масс-спектрометрии, ИК-спектроскопии, спектроскопии ЯМР ^1H , ^{31}P , ^{13}C , элементного анализа и рентгеноструктурного анализа.

Работа выполнена на кафедре технологии основного органического и нефтехимического синтеза имени профессора Г.Х. Камая федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет», в лаборатории элементоорганического синтеза им. А.Н. Пудовика и в лаборатории «Редокс-активных молекулярных систем» 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».

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 188 страницах, содержит 13 таблиц, 40 схем, 51 рисунок и состоит из введения, трех глав, выводов и списка литературы, включающего 181 наименование, и приложения. В первой главе приведен литературный обзор, в котором рассмотрены методы синтеза аминоксифонатов и фосфониамидов, а также данные по их противоопухолевой, антибактериальной и противовирусной активностям. Во второй главе представлены результаты собственных исследований, посвященных синтезу и свойствам новых фосфониамидов, аминоксифонатов, содержащих пространственно-затрудненный фенольный фрагмент. Третья глава содержит экспериментальные данные проведенных исследований и спектральные характеристики полученных соединений. Приложение содержит 7 таблиц со значениями противоопухолевой и антимикробной активностей.

Личный вклад автора состоял в участии в постановке цели и задач исследования, поиске, анализе и систематизации литературных данных по теме диссертации. Экспериментальные данные, приведенные в диссертационной работе, получены автором лично и при его непосредственном участии.

Автор выражает глубокую благодарность и признательность своему научному руководителю д.х.н., профессору А.Р. Бурилову за чуткое руководство и всестороннюю поддержку. Автор также считает своим долгом выразить искреннюю благодарность к.х.н, с.н.с. Э.М. Гибадуллиной за повседневное внимание, полезные рекомендации и помощь в проведении исследований и обсуждении полученных результатов, а также всем сотрудникам лаборатории элементоорганического синтеза им. А.Н. Пудовика, лаборатории редокс-активных молекулярных систем ИОФХ им. А.Е. Арбузова за помощь и поддержку в ходе выполнения работы. Автор благодарит профессора С.В. Бухарова и сотрудников кафедры технологии основного органического

и нефтехимического синтеза имени профессора Г.Х. Камая ФГБОУ ВО «КНИТУ» за помощь при подготовке диссертационной работы. Автор глубоко признателен сотрудникам лаборатории радиоспектроскопии ИОФХ им. А.Е. Арбузова, в особенности А.Г. Стрельник, за проведение ЯМР исследования и помощь при обсуждении полученных результатов. Автор выражает благодарность сотруднику лаборатории дифракционных методов исследования ИОФХ им. А.Е. Арбузова к.х.н. Д.Р. Исламову, сотруднику лаборатории кристаллохимии и рентгеноструктурного анализа ИОНХ им. Н.С. Курнакова РАН к.х.н. Ю.К. Ворониной за проведение рентгеноструктурного анализа, сотрудникам лаборатории физико-химического анализа за проведение исследований методом масс-спектрометрии (MALDI-TOF, ESI-TOF), ИК-спектроскопии и элементного анализа. Автор благодарит сотрудников лаборатории микробиологии ИОФХ им. А.Е. Арбузова зав. лабораторией к.б.н., с.н.с. А.Д. Волошину, А.С. Сапунову, А.П. Любину за проведенные испытания по изучению *in vitro* цитотоксичности и антимикробной активности синтезированных соединений.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Терапия онкологических заболеваний является одной из самых серьезных задач, стоящих перед современной наукой и медициной как в мире, так и в Российской Федерации. Среди противоопухолевых средств нового поколения перспективными являются препараты, способные избирательно вызывать гибель опухолевых клеток с минимальным токсическим действием по отношению к здоровым клеткам организма. В исследовательской группе Гибадуллиной Э.М. лаборатории РАМС и ЭОС им. А.Н. Пудовика ИОФХ им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН была предложена стратегия создания противораковых агентов, основанная на способности фосфорсодержащих пространственно-затрудненных фенолов проявлять двойственный характер, переходить от антиоксидантной защиты здоровых клеток к высокоцитотоксичным видам – хинонметидам, целенаправленно поражающим опухолевые клетки. Экспериментальные данные, полученные при исследовании новых «гибридных» молекул, сочетающих ПЗФ с активирующей фосфонатной группой в бензильном положении и дополнительными мочевино/тиомочевинowymi или бензофуроксановыми фрагментами, продемонстрировали увеличение генерации АФК в присутствии исследуемых соединений. Гибриды ПЗФ/мочевины проявляли избирательную токсичность в отношении опухолевого микроокружения, что объяснялось переключением ПЗФ с антиоксидантных свойств в нормальных условиях на прооксидантный эффект в опухолевых клетках NuTu 80.

В продолжении работ по созданию противоопухолевых агентов в настоящей диссертационной работе были изучены подходы к синтезу новых функционально замещенных производных ПЗФ. Как следует из литературного обзора, аминифосфонаты и фосфонамиды являются перспективными фрагментами для конструирования новых соединений, проявляющих противоопухолевую активность. Стратегия конструирования заключается в синтезе полифункциональных соединений, выполняющих определенную функцию.

Немаловажным при синтезе новых органических соединений с практическими полезными свойствами является вопрос доступности синтетических реагентов. Удобным стартовым реагентом в синтезе соединений, содержащих одновременно фенольный и фосфорильные структурные фрагменты, является 2,6-ди-*трет*-бутил-4-(диметиаминотетил) фенол (Агидол-3), производимый на территории Российской Федерации в Республике Башкортостан, г. Стерлитамак. Так, на его основе в лаборатории ЭОС им. А.Н. Пудовика (стратегия синтеза представлена на **рисунке 1**) были отработаны методы синтеза высокореакционноспособных фосфорсодержащих *п*-хинонметидов и изучены их синтетические возможности, которые показали, что они в оптимальных условиях вступают в реакции нуклеофильного 1,6-присоединения аза-Михаэля с *С*-, *N*-, *O*-нуклеофилами. Кроме этого, на основе (3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксibenзил) фосфонатов были впервые

синтезированы бензилхлорфосфонаты, показавшие в реакциях с диэтиламино перспективность использования и возможность синтеза новых хинонметидов для дальнейшей функционализации.

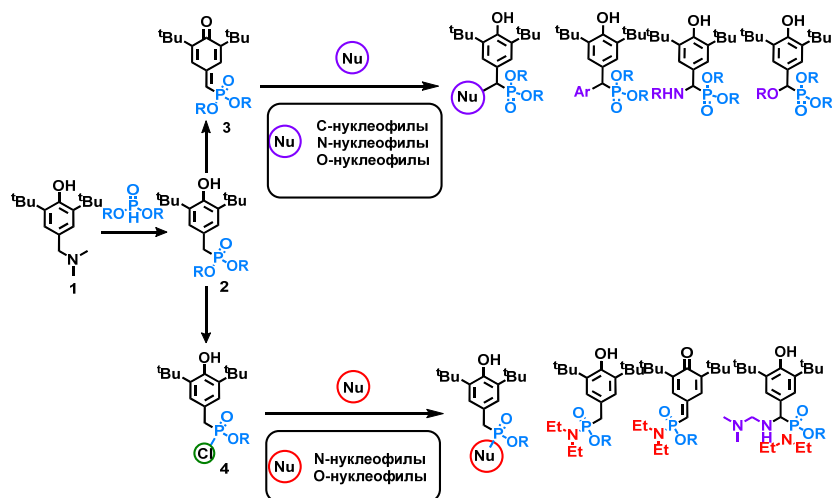


Рисунок 1 – Стратегия синтеза новых аминоксфонатов и фосфонамидов

Таким образом, имеющийся задел в области получения фосфорсодержащих производных ПЗФ позволил нам определить цель диссертационной работы, которая заключается в синтезе новых противоопухолевых и антимикробных агентов на основе фосфонамидов и аминоксфонатов, содержащих в своей структуре пространственно-затрудненный фенольный фрагмент.

В соответствии с поставленной целью в данной диссертационной работе необходимо было решить следующие задачи:

1. Синтез новых фосфонамидов реакцией нуклеофильного замещения 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метил-гидроксибензилхлорфосфонатов с алифатическими N-нуклеофилами, содержащими ацетальные, алифатические, гетероциклические фрагменты.
2. Осуществить модификацию впервые синтезированных фосфонамидов, содержащих ПЗФ и терминальные диметиламинные фрагменты введением аммониевых групп.
3. Синтез новых α -аминоксфонатов по реакции нуклеофильного 1.6-присоединения фосфорилированных хинонметидов с производными 3,7-диазабицикло [3.3.1] нонана, алифатическими аминами, содержащими ацетальные и гетероциклические фрагменты.
4. Установление структуры, изучение *in vitro* цитотоксичности, антибактериальной активности синтезированных соединений.

1. Фосфонамиды, содержащие пространственно-затрудненный фенольный и четвертичные аммониевый фрагменты

Известно, что соли аммония (ЧАС) представляют интерес как физиологически активные соединения, обладающие противоопухолевой и антибактериальной активностями. Системы на основе четвертичных аммониевых солей являются одним из беспроигрышных вариантов в разработке новых антимикробных препаратов.

Ранее в диссертационной работе Стародубцевой Р.Р. был разработан метод синтеза аммониевых солей на основе аминоксфонатов, содержащих в своей структуре ПЗФ-фрагмент. Было показано, что полученные соединения проявляют высокую антимикробную активность, структуры наиболее активных соединений представлены на **рисунке 2**.

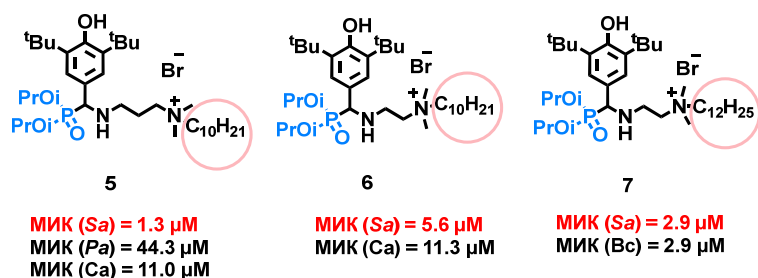
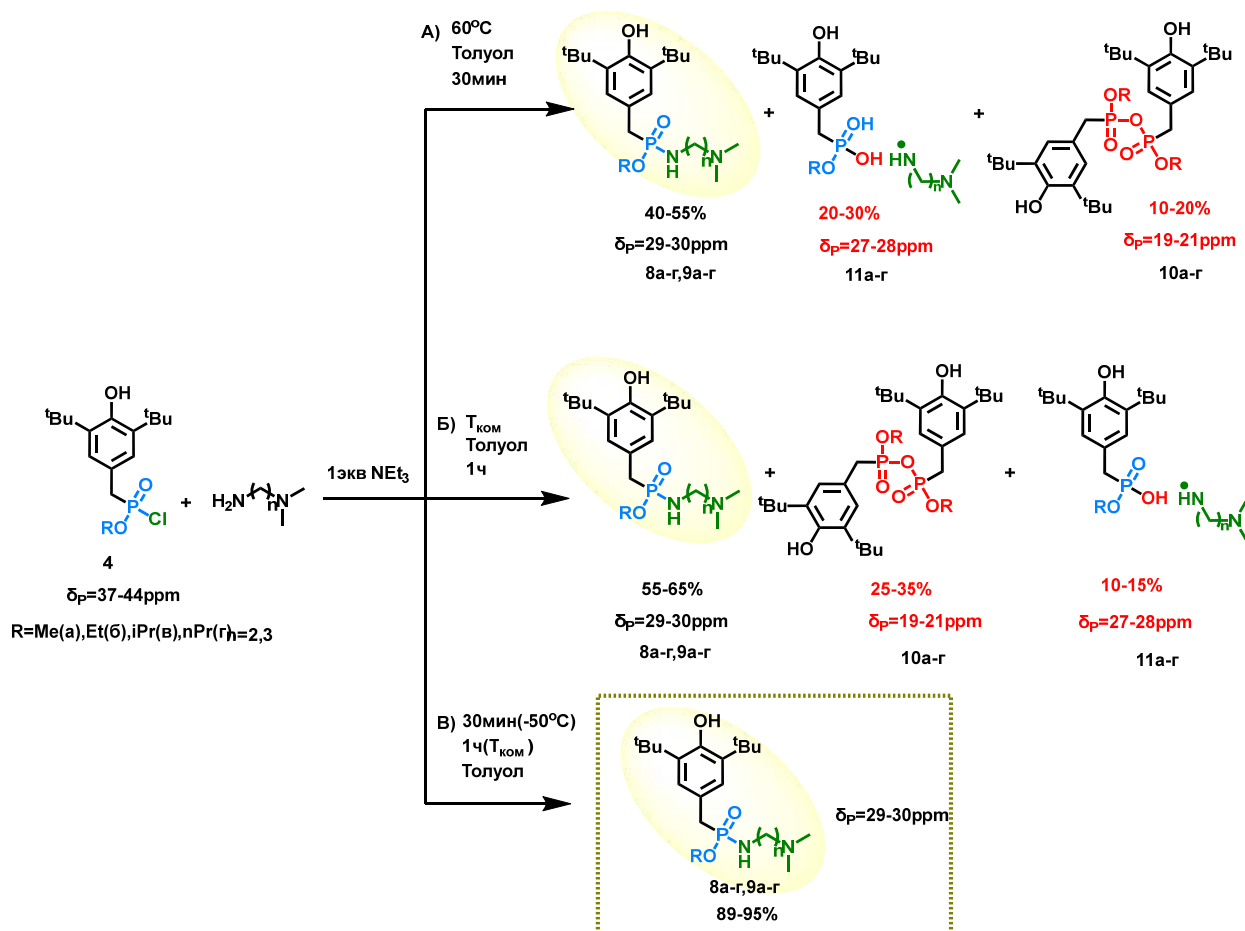


Рисунок 2 – Аминофосфонаты, содержащие ПЗФ и аммониевые фрагменты

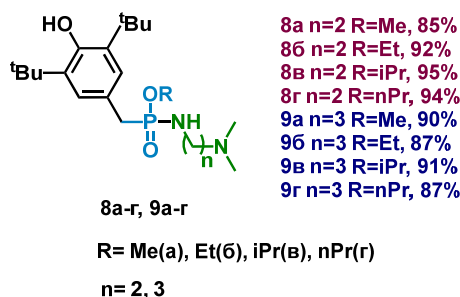
В продолжении этих исследований нами был осуществлен синтез фосфонамидов, содержащих аммониевые фрагменты, основанный на реакции Меншуткина – кватернизация третичных аминов различными бромалканами. Первоначально для синтеза соответствующих фосфонамидов необходимо было осуществить взаимодействие 3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксибензилхлорфосфонатов **4** с аминами, содержащими терминальные диметиламиногруппы, а именно *N,N*-диметилэтилен-1,2-диамином и *N,N*-диметилпропилен-1,3-диамином. Экспериментальные условия этой реакции были аналогичны тем, которые ранее были использованы при получении *O*-Метил-*N,N*-диэтил(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксибензил)фосфонамида и описаны в диссертационной работе Стародубцевой Р.Р. Взаимодействие бензилхлорфосфоната **4a**, содержащего EtO заместитель у атома фосфора, с *N,N*-диметилэтилен-1,2-диамином проводили в среде аргона в толуоле при температуре 60°C, в качестве основания использовали эквивалентное количество триэтиламина (схема 1, реакция А). Контроль за ходом реакции осуществлялся с помощью ЯМР ^{31}P спектроскопии. Нами было обнаружено, что через 30 минут в реакционной смеси, помимо сигнала основного продукта (δ_{p} 29 м.д.) наблюдались дополнительные сигналы δ_{p} = 19 м.д. и δ_{p} = 27 м.д., которые соответствовали образованию пирофосфоната и солевой формы алкилового эфира бензилфосфоновой кислоты. Во избежание дополнительных работ по удалению примесей (Стародубцевой Р.Р. применялся метод колоночной хроматографии) была осуществлена оптимизация условий реакций на примере образования фосфонамида **8a**. Проведение реакции при комнатной температуре в течение 1 часа в тех же условиях незначительно повышает образование целевого продукта **8a** (схема 1, реакция Б). Понижение температуры до -50°C с постепенным повышением температуры реакции до комнатной и выдерживание в течение 1 часа приводит к образованию фосфонамида **8a** с выходом 92 % (схема 1, реакция В).

Разработанные условия реакции были использованы для синтеза ряда фосфонамидов **8б-г** и **9а-г** (схема 1, В).

Схема 1



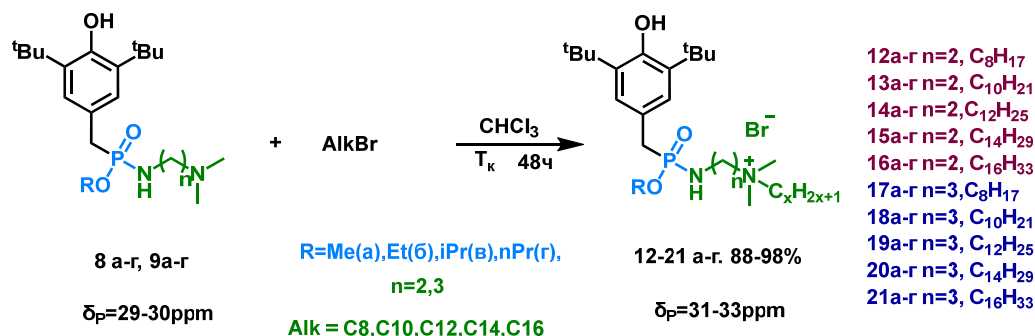
Нами было обнаружено, что выход целевых продуктов **8a-g**, **9a-g** варьируется в зависимости от алкильного заместителя у атома фосфора (рисунок 3). Для соединений, содержащих метильный заместитель, выход оказался наименьшим. При этом длина алкильного спейсера между атомами азота не оказывает существенного влияния на выход продуктов реакции.

Рисунок 3 – Структуры синтезированных фосфоамидов **8a-g**, **9a-g**

Дальнейшая модификация соединений с целью введения аммониевого фрагмента была осуществлена по реакции Меншуткина – кватернизацией фосфоамида бромалканами с различной длиной алкильной цепи (схема 2). Оптимизацию экспериментальных условий проводили на примере взаимодействия соединения **9b** и 1-бромоктана в хлороформе при комнатной температуре, варьируя количество вводимого алкильного реагента и время реакции. Было обнаружено, что для получения аммониевых солей с выходами, близкими к количественным в реакции алкилирования фосфоамида **9b** с 1-бромоктаном в хлороформе при комнатной температуре, необходимо добавлять 4 экв. последнего и увеличить время реакции до 48 часов. Избыток применяемого бромалкана удаляли промыванием гексаном. Для синтеза новых аммониевых солей в аналогичных условиях в реакции Меншуткина был расширен ряд используемых бромалканов (с длиной алкильной цепи C_8 ,

C₁₀, C₁₂, C₁₄, C₁₆). В результате кватернизации фосфонамидов были получены аммониевые соли **12a-г** – **21a-г** с высокими выходами (схема 2).

Схема 2



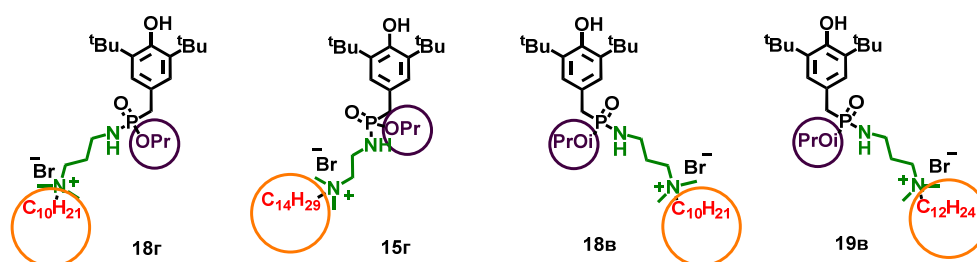
Таким образом, был синтезирован ряд из 8 соединений фосфонамидов и 40 соединений аммониевых солей фосфонамидов, содержащих в своей структуре ПЗФ-фрагмент, были разработаны оптимальные условия получения фосфонамидов, исключающие дополнительные манипуляции с очисткой целевых продуктов с помощью хроматографии.

2. Антимикробная активность фосфонамидов, содержащих в своей структуре аммониевый и ПЗФ-фрагменты

Ранее в лаборатории элементоорганического синтеза им А.Н. Пудовика Гибадуллиной Э.М. были синтезированы ПЗФ, содержащие аминоксидные и аммониевые фрагменты и их бесфосфорные аналоги. Антимикробная активность *in vitro* синтезированных аммониевых солей показала, что максимальная активность наблюдалась для структур в случае децильного радикала у аммониевого атома азота. В продолжении этих работ нами была изучена антимикробная активность впервые синтезированных фосфонамидов **12a-г** – **21a-г**, содержащих аммониевые фрагменты (значения антимикробной активности представлены в Приложении диссертации). Было обнаружено, что в зависимости от заместителей у атома фосфора изменяется антимикробная активность: соединения с Me заместителем у атома фосфора проявили более низкую активность, в сравнении с Et, iPr, nPr. Длина спейсера между атомами азота незначительно влияет на антимикробную активность. На рисунке 4 представлены соединения-лидеры, показавшие наибольшую антибактериальную активность в отношении золотистого стафилококка и его резистентных штаммов, а также соединения, проявившие наименьшую токсичность относительно клеток крови (HC₅₀). Рассчитан индекс селективности воздействия на *Staphylococcus aureus* по отношению к *здоровым* клеткам печени.

Таким образом, исследованные соединения показали высокую антимикробную активность, в особенности относительно золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*).

Для дальнейшего исследования влияния на ингибирующую способность резистентно-устойчивых штаммов *Staphylococcus aureus* (MRSA-1, MRSA-2) были выбраны аммониевые соли амидов с длиной алкильной цепи C₁₀, C₁₂, C₁₄. Метициллин-резистентные штаммы *S. aureus* (MRSA) были выделены из организма больных хроническим тонзиллитом (MRSA-1) и синуситом (MRSA-2) в бактериологической лаборатории Республиканской клинической больницы (г. Казань, Россия).



IC50 (μM)МИК/МБК	18r	15r	Ципрофлоксацин	18b	19b
Sa	0.5/0.9	1.9/1.9	0.5/0.5	0.9/1.9	0.5/0.9
MRSA-1	0.5/0.9	1.9/3.9	125/250	1.9/3.9	1.9/1.9
MRSA-2	1.9/1.9	0.9/1.9	0.9/0.9	1.9/3.9	1.9/1.9
HC ₅₀	43	43		42	45
IC50/МИКСa	87	13		47	90

Рисунок 4 – Анализ зависимости структура-активность аммониевых солей фосфонамидов, содержащих ПЗФ-фенольный фрагмент, относительно золотистого стафилококка и его резистентных штаммов

Обнаружено, что высокий сильнейший ингибирующий и бактерицидный эффект демонстрируют соединения с заместителями iPr, nPr. Наиболее предпочтительная длина алкильной цепи C₁₀ и C₁₄. На рисунке 5 проведено сравнение новых аммониевых фосфонамидов, содержащих ПЗФ, и аналогичных им аминокислот, полученных ранее в лаборатории ЭОС ИОФХ им. А.Е. Арбузова.

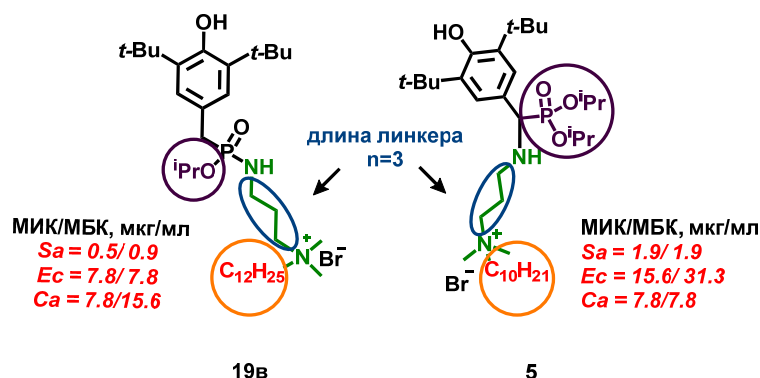


Рисунок 5 – Сравнение структур-активности аммониевых солей фосфонамидов и аминокислот, содержащих ПЗФ-фрагмент.

При сравнении соединений разных структур нами выявлено, что фосфонамиды показывают более высокую активность в отношении *Staphylococcus aureus*, чем аминокислоты.

3. Цитотоксичность фосфонамидов, содержащих в своей структуре аммониевый и ПЗФ-фрагменты

Для всей линейки синтезированных соединений была изучена цитотоксичность по отношению к опухолевым линиям и нормальной клеточной линии легкого эмбриона WI38 (значения представлены в Приложении диссертации). Полученные данные цитотоксичности позволили выявить соединения-лидеры в ряду синтезированных соединений (рисунок 6). Обнаружено, что большая часть соединений проявляют высокую эффективность в ингибировании опухолевых клеток. Лучший результат показали соединения **18r** и **15r**. Эти соединения показали эффективность, в 5 раз превышающую эффективность препарата сравнения Сорафениб относительно опухолевых клеток аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu80. Цитотоксичность относительно здоровых клеток печени ChangLiver оказалась в два раза ниже, чем у Сорафениба.

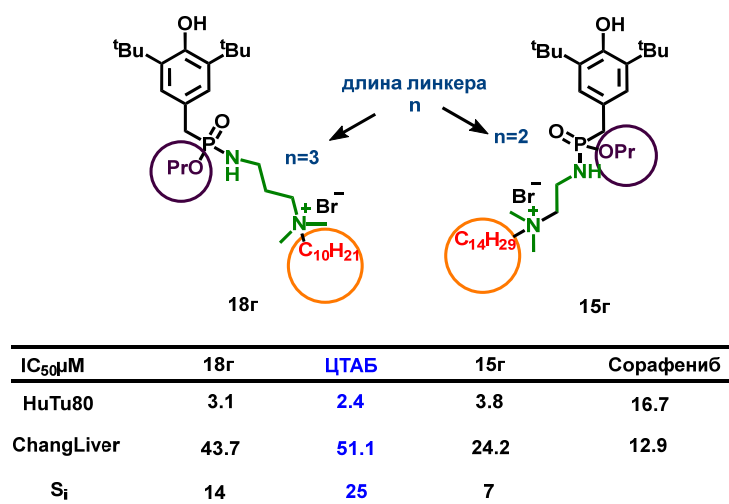


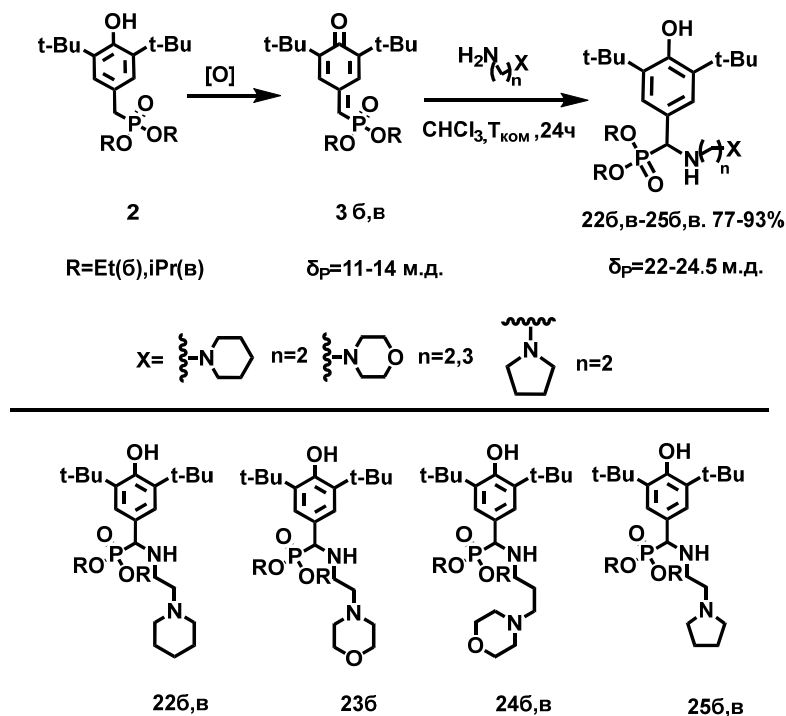
Рисунок 6 – Соединения-лидеры среди ряда полученных фосфоамидов, содержащих аммониевый и ПЗФ-фрагменты

Таким образом, нами установлено, что полученные новые фосфоамиды, содержащие ПЗФ и аммониевые фрагменты, проявили высокую противоопухолевую активность, а соединения-лидеры показали высокую эффективность, в 5 раз превышающую эффективность препарата сравнения Сорафениба относительно опухолевых клеток аденокарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu80, при этом являлись малотоксичными (SI 14 или 7).

1.2 Взаимодействие α-фосфорилированных 2,6-ди-*терт*-бутил-4-метилен-2,5-циклогексадиенонов и О-алкил-3,5-ди-*терт*-бутил-4-гидроксибензилхлорфосфонатов с аминами, содержащими N-гетероциклические фрагменты

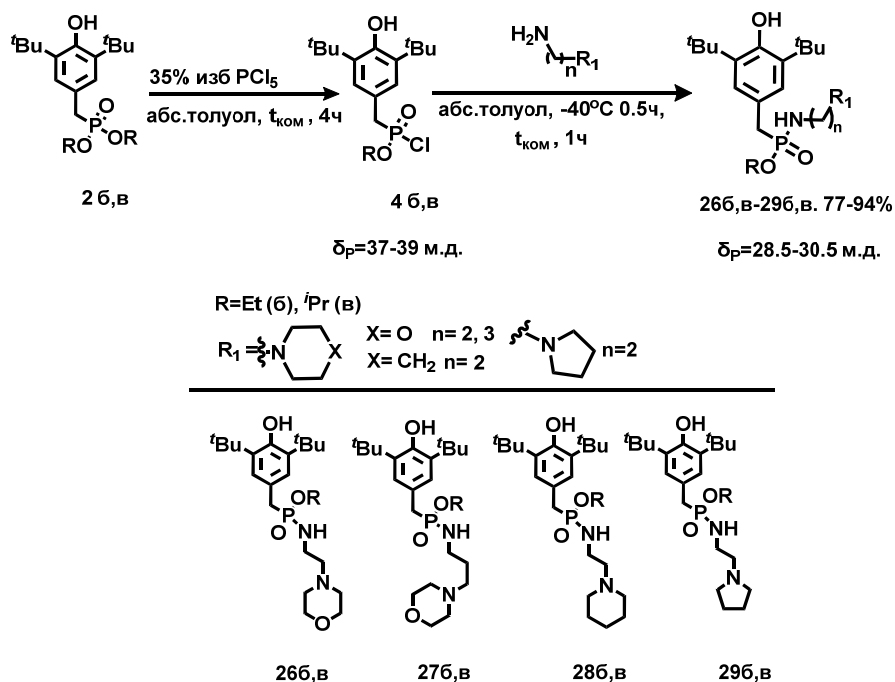
В синтезе новых противоопухолевых агентов для повышения аффинности связывания с ингибиторами для точной настройки всей структуры малых молекул обычно применяются различные линкеры с двумя-тремя длинами метиленовых звеньев, содержащих лизосомально-целевые третичные амины или N-гетероциклические фрагменты (например, морфолиновые, пиримидиновые, пирролидиновые).

Для синтеза целевых «гибридов» **22б,в** – **25б,в** использовали разработанную нашей исследовательской группой синтетическую схему. Производные хинонметида **3б,в** были синтезированы путем окисления исходных диалкил (3,5-ди-*терт*-бутил-4-гидроксибензил)фосфонатов. Далее осуществили синтез аминоксидов по реакции нуклеофильного 1,6-присоединения 2,6-ди-*терт*-бутил-4-метилен-2,5-циклогексадиенонов **3б,в** с NH-нуклеофилами-алифатическими аминами с различной длиной алкильного спейсера (2 и 3), содержащими морфолиновый, пиперидиновый, пирролидиновый фрагменты (схема 3). В ходе оптимизации условий реакции нами было обнаружено, что взаимодействие хинонметида **3б,в** в хлороформе необходимо осуществлять с 2 молями соответствующего амина при комнатной температуре в течение 24 часов. Использование такого соотношения приводит к увеличению выхода продукта реакции. Полученные соединения представляют собой маслообразные вещества, хорошо растворимые в органических растворителях.

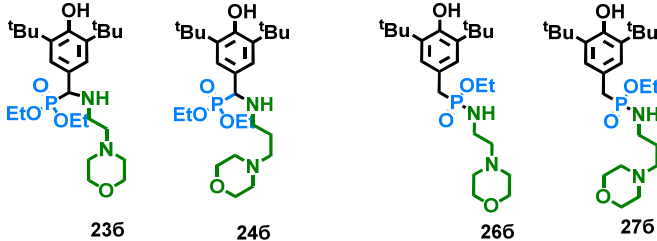


Получен ряд из 7 аминофосфонатов и исследована их цитотоксичность. Введение алифатических аминов, содержащих гетероциклический фрагмент, непосредственно к атому фосфора, вызвало интерес в контексте сравнения эффективности биологического действия амино- и фосфонамидов. Синтез новых фосфонамидов был основан на нуклеофильном замещении атома хлора *O*-алкил-3,5-ди-*tert*-бутил-4-гидроксibenзилхлорфосфонатов с NH-нуклеофилами-алифатическими аминами с различной длиной алкильного спейсера (2 и 3), содержащими морфолиновый, пиперидиновый, пирролидиновый фрагменты (схема 4).

При их получении использовали условия, которые были разработаны для фосфонамидов **8а,г** – **9а,г**. Взаимодействием *O*-алкил-3,5-ди-*tert*-бутил-4-гидроксibenзилхлорфосфонатов с алифатическими аминами в абс. толуоле в присутствии триэтиламина при использовании отрицательных температур до -50°C образуются с высокими выходами фосфонамиды **266,в** – **296,в**.



Был получен ряд из 8 новых фосфонамидов, и проведены исследования их цитотоксичности в отношении опухолевых и нормальных клеточных линий (значения представлены в Приложении диссертации). Нами обнаружено, что все тестируемые соединения проявляют умеренную активность против опухолевых линий, использованных в экспериментах, в сочетании с низкой цитотоксичностью против нормальных линий клеток печени человека (Chang liver) и клеток эмбриона легкого человека (WI38). Новые фосфонамиды, содержащие ПЗФ-фрагменты, проявляют цитотоксичность в отношении клеток глиобластомы человека T98G. Соединение **27a** показало умеренные значения цитотоксичности с $IC_{50} = 41.6 \mu M$ с высоким индексом селективности $SI=4$ в отношении клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF7. На рисунке 7 приведено сравнение цитотоксичности относительно опухолевых и здоровых клеток среди наиболее активных соединений ряда аминокислот, фосфонамидов, содержащих ПЗФ и гетероциклические фрагменты.



$IC_{50} \mu M$	236	246	Сорафениб	266	276
HuTu80	17.4	30.2	16.7	31.25	78.6
T98G	19.8	45.8	12.9	70.45	79.7
Chang liver	31	120 $SI=4$	35.0	31.22	122

Рисунок 7 – Соединения-лидеры по цитотоксичности среди amino- и амидофосфонатов, содержащих в своей структуре ПЗФ и N-гетероциклические фрагменты

Как видно из рисунка 7, наибольшую активность, сравнимую с препаратом Сорафениб, проявляют аминокислоты **236** с O-Et заместителем у атома фосфора.

Таким образом, нами предложен эффективный подход к синтезу α -аминофосфонатов, фосфонамидов, содержащих ПЗФ и алкил-N-гетероциклические фрагменты. Показано, что аминокислоты проявляют лучшую активность по сравнению с фосфонамидами. Наиболее активные соединения **236** и **246** можно рассматривать как перспективные вещества для дальнейшей химической оптимизации с целью создания на их основе перспективных противоопухолевых средств с улучшенными характеристиками.

2.3 Биспидины, как каркасы в создании противоопухолевых агентов, содержащих пространственно-затрудненные фенольные фрагменты

3,7-Диазабицикло [3.3.1] нонаны (биспидины), алкалоиды, бициклические амины часто упоминаются в органической и медицинской химии как «привилегированные структуры». Это объясняется их структурными особенностями. Оба атома азота, входящие в каркасную структуру биспидина, способны модифицироваться избирательно и независимо друг от друга. На основе металлокомплексов биспидина разрабатываются новые радиофармпрепараты для таргетной альфа-терапии опухолевых клеток.

Все используемые в диссертационной работе биспидины (рисунок 8) были представлены д.х.н, профессором РАН, заведующим лабораторией супрамолекулярной химии ИОХ им. Н.Д. Зелинского С.З. Вацадзе.

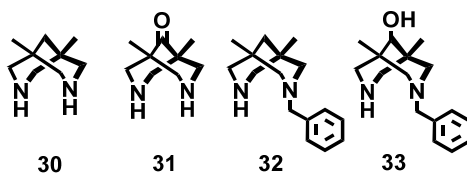
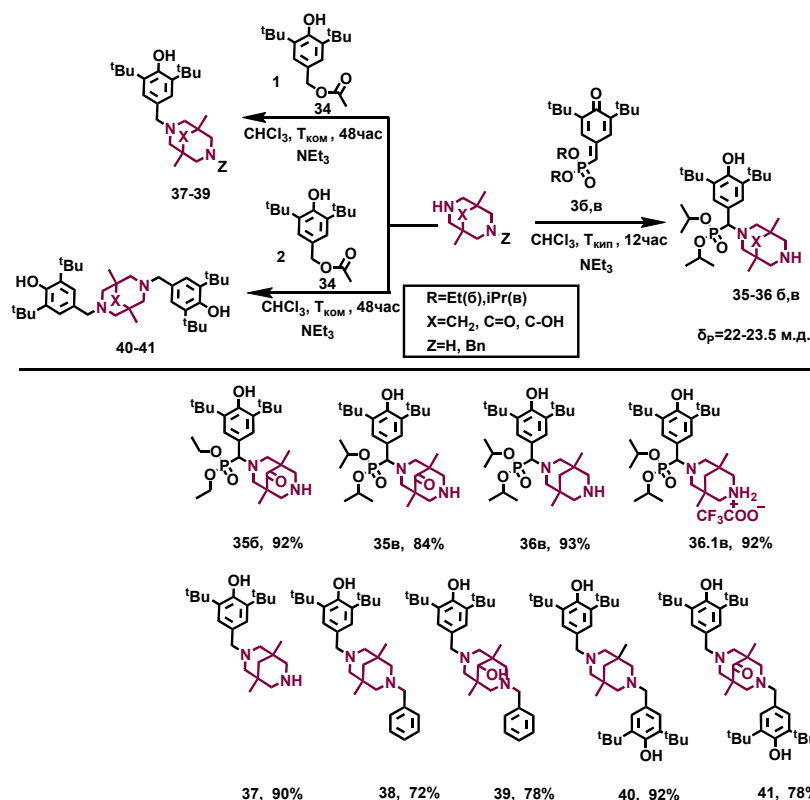


Рисунок 8 – Исходные биспидины, использованные в диссертационной работе

Нами была исследована реакция нуклеофильного 1,6-присоединения диизопропи/диэтил (3,5-ди-*трет*-бутил-4-оксо-2,5-циклогексadiensилиден)метилфосфонатов **36**, **в** с 1,5-диметил-3,7-дизабицикло[3.3.1]нонаном **30** и 1,5-диметил-3,7-дизабицикло[3.3.1]нонан-9-оном **31** в различных соотношениях используемых реагентов (схема 5). Контроль за ходом реакции осуществляли с помощью ЯМР ^{31}P -спектроскопии.

Схема 5



Была проведена оптимизация экспериментальных условий этой реакции: использование 1 экв. триэтиламина при температуре кипения хлороформа обеспечило образование продукта присоединения **36в** по одной аминогруппе с высоким выходом.

Найденные экспериментальные условия позволили нам получить ряд из трех аминоксфонатов, содержащих в своей структуре ПЗФ и 3,7-Дизабицикло [3.3.1] нонановый фрагменты (схема 5). Строение всех полученных соединений было подтверждено методами ЯМР ^1H , ^{13}C , ^{31}P , ИК-спектроскопии, масс-спектроскопии, данными элементного анализа и РСА.

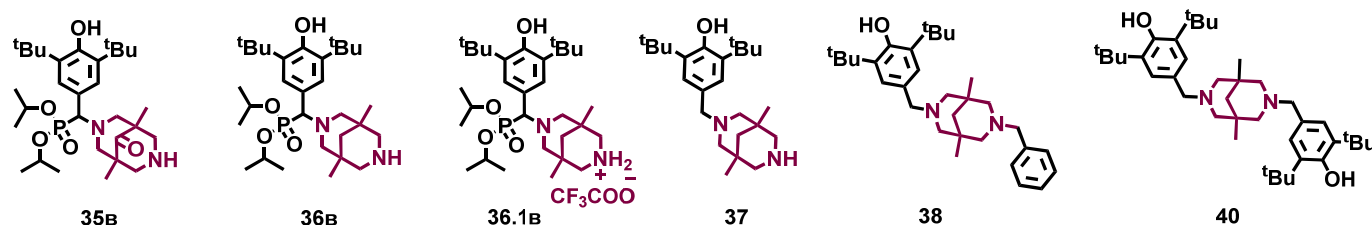
Для оценки влияния свободной аминогруппы биспидина на цитотоксичность была получена солевая форма соединения **36.1в** действием на него двухкратного избытка трифторуксусной кислоты.

Для оценки влияния фосфоэфирной группы на биологическую активность и реакционную способность биспидина было решено ввести в биспидин ПЗФ-фрагменты. В качестве бензилирующего агента нами был использован 3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксибензилацетат. Взаимодействие производных биспидина с 3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксибензилацетатом, в зависимости от соотношения реагентов, приводит к образованию соединений 37-41 (схема 5).

Строение всех полученных соединений было подтверждено методами ЯМР ^1H , ^{13}C , ИК-спектроскопии, масс-спектроскопии, данными элементного анализа и РСА.

2.4 Цитотоксичность аминоксифонатов, содержащих в своей структуре 3,7-диазабицикло [3.3.1] нонаны и ПЗФ-фрагменты

На рисунке 9 представлена цитотоксическая активность некоторых аминоксифонатов и бензиламинов, содержащих в своей структуре ПЗФ и биспидиновый фрагменты. Проведен анализ «структура-активность».



IC_{50} μM	35b	36b	36.1b	37	40	38	Сорафениб
IC_{50} HuTu80	11.2	16.3	-	-	20.3	26.2	5.0
IC_{50} M-Hela	84.4	43.0	48.5	29.7	54.0	43.0	35.6
IC_{50} MCF-7	45.0	25.8	35.6	26.9	68.6	86.8	14.3
IC_{50} ChangLiver	47.3	57.3	39.0	21.9	62.3	57.9	35.0
S_i	4	3.5			3	3.5	7

Рисунок 9 – Значения противоопухолевой активности соединений 35-36b, 37-40

Полученные данные позволяют сделать следующие выводы: эффективность аминоксифонатов в ингибировании опухолевых клеточных линий аденокарциномы двенадцатиперстной кишки HuTu80 в два раза выше, чем у их бесфосфорных аналогов. Цитотоксичность в отношении здоровых клеток печени Chang liver у всех соединений, кроме 36.1b, примерно одного уровня, вероятно, негативную роль сыграл трифторацетатный фрагмент. Противораковая активность в отношении опухолевых клеточных линий шейки матки M-Hela и молочной железы MCF-7 проявилась у всех аминоксифонатов. Отдельно стоит отметить, что у соединения 37 активность в отношении опухолевых клеточных линий выше, чем у его дизамещенного аналога 40 и монозамещенного бензильной группой 38, и даже выше, чем у соединения 35b. Следовательно, вторая аминоксигруппа в структуре соединений, представленных на рисунке 9, оказывает влияние на противоопухолевую активность. Но вместе с этим, у соединения 37 усиливается токсическое воздействие на здоровые клетки организма. Аминоксифонаты – однозначные лидеры в цитотоксичности в отношении опухолевых и здоровых клеток.

2.5 Синтез α -аминоксифонатов и фосфонамидов, в структуру которых входят 2,6-ди-трет-бутил-4-этилфенольный и аминоксигетальные фрагменты

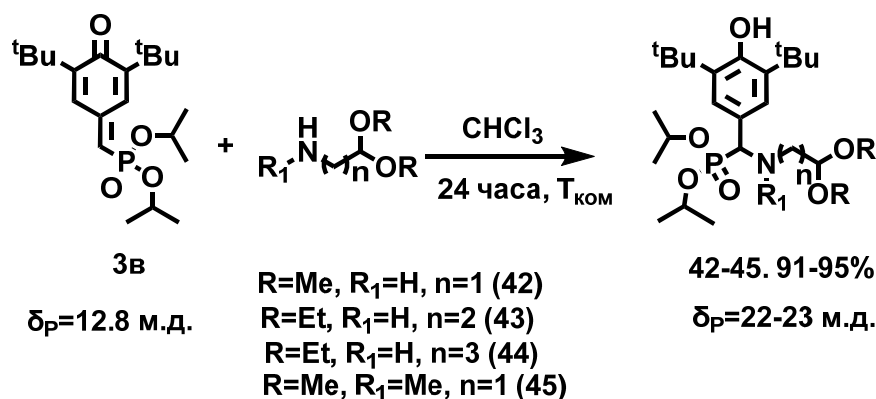
Важной группой в органическом синтезе является ацетальная, она выполняет защитную функцию, защищая карбонильную группу в химических реакциях. Помимо этого ацетали используются для конъюгации соединений с лекарственным средством, ацетальные фрагменты используются также как платформы для дальнейшей функционализации различными фармакофорами. Введение фрагментов, содержащих терминальную ацетальную группу, в изучаемые в диссертационной работе системы основано на способности образовывать альдегид из

ацеталей, и этот факт, несомненно, может быть использован при разработке противоопухолевых соединений.

Первые представители α -аминофосфонатов, содержащие в своей структуре ПЗФ и ацетальные фрагменты, были получены в лаборатории элементоорганического синтеза им. А.Н. Пудовика Вагаповой Л.И. Однако эти исследования носили поисковый характер, и не была изучена их противоопухолевая активность. Следует отметить, что в этой работе были получены только α -аминофосфонаты, содержащие у атома фосфора метоксильные или этоксильные заместители. Ранее нами было показано, что в ряду аминофосфонатов и фосфонамидов наилучший результат по противоопухолевой активности показывают соединения, содержащие у атома фосфора изопропилокси фрагмент. Поэтому все дальнейшие исследования по созданию новых аминофосфонатов и фосфонамидов, содержащих ацетильный фрагмент, осуществлялись с использованием соответствующих базовых структур, содержащих у атома фосфора изопропилокси фрагмент.

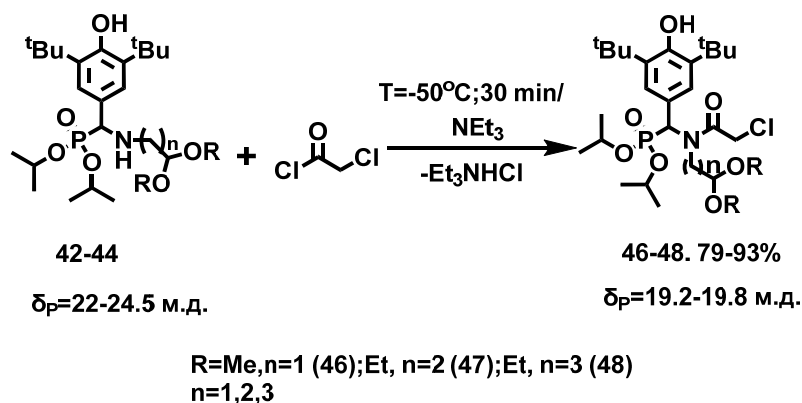
Нами были изучены реакции нуклеофильного присоединения α -, β -, γ -аминоацеталей к диизопропил (3,5-ди-*трет*-бутил-4-оксо-2,5-циклогексadiensилиден) метилфосфонату **3в** в хлороформе при комнатной температуре (схема 6). В результате оптимизации экспериментальных условий были получены целевые продукты **42-45**. Строение этих соединений было подтверждено методами ЯМР ^1H , ^{13}C , ^{31}P , ИК-спектроскопии, масс-спектроскопии и данными элементного анализа.

Схема 6



Увеличение эффективности противоопухолевой активности молекулы возможно при целенаправленной функционализации, например, при введении в молекулы хлорметильной группы. С этой целью соединения **42-44** были ацилированы хлорацетилхлоридом (схема 7).

Схема 7

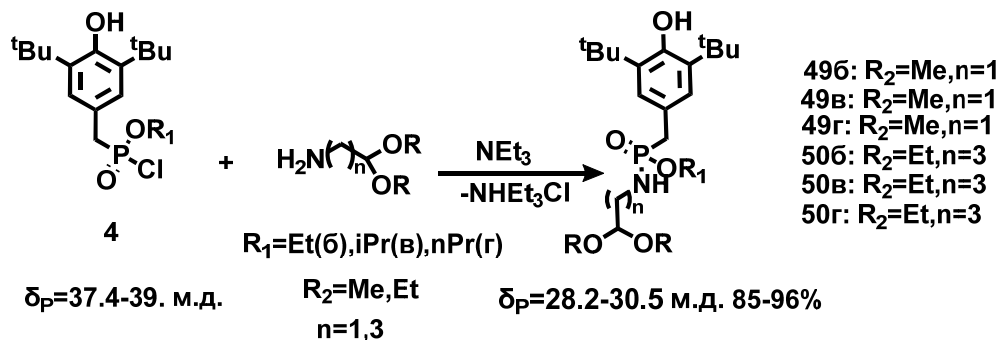


Реакцию проводили в абс. толуоле в присутствии триэтиламина, предварительно охладив реакционную массу до температуры -50°C , с постепенным повышением до комнатной температуры. В результате были синтезированы аминофосфонаты, содержащие ПЗФ, хлорацильный и ацетальные

фрагменты. В ЯМР спектре ^{31}P -соединений **46-48** наблюдается единственный сигнал в области 19.2-19.8 м.д.

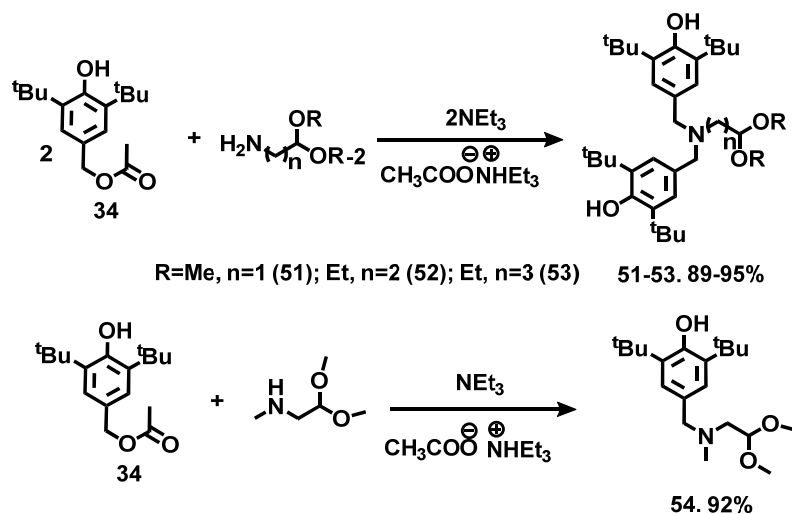
В продолжении наших исследований мы осуществили синтез фосфонамидов, содержащих в молекуле ацетальный фрагмент, по отработанным экспериментальным условиям. Взаимодействием 3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксибензилхлорфосфонатов **4 б, в, г** с первичными α -, γ -аминоацетальными в определенных экспериментальных условиях были получены новые фосфонамиды **49 (б-г), 50 (б-г)** (схема 8).

Схема 8



Для оценки влияния фосфоэфирной группы на биологическую активность взаимодействием с 3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксибензилацетата **34** с α -, β -, γ -аминоацетальными в присутствии триэтиламина нами были получены бесфосфорные аналоги (схема 9).

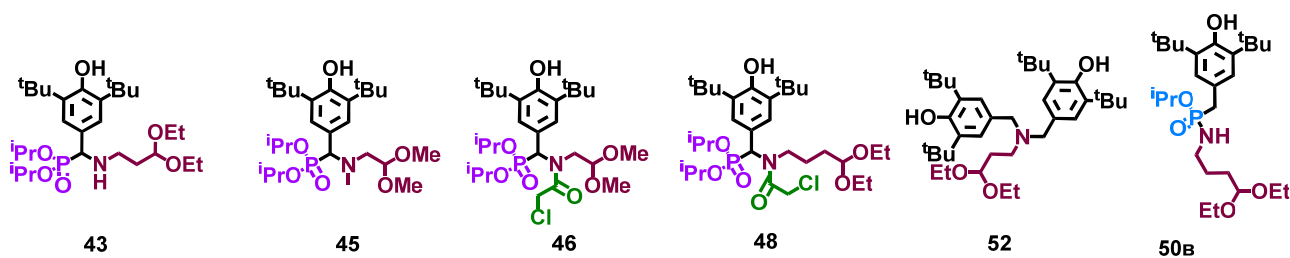
Схема 9



Высокая нуклеофильность аминокеталей не позволила нам получить монозамещенные бензиламины, даже в условиях избытка ацеталей. Реакцию проводили в абс. хлороформе в течение 24 часов при комнатной температуре. С высокими выходами были получены производные аминокеталей, содержащие два бензильных фрагмента у одного атома азота. Структура соединений **51-53** была доказана различными спектральными методами.

Продукт монобензилирования **54** был получен в аналогичных экспериментальных условиях в результате реакции 3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксибензилацетата **34** с α -аминоацеталем, содержащим у атома азота метильную группу (схема 9). Структура соединения **54** установлена на основании данных спектроскопии ЯМР ^1H , ^{13}C , масс-спектрометрии (MALDI).

Таким образом, был получен ряд из 4 новых соединений, содержащих в своей структуре ПЗФ и аминокетальные фрагменты. Все полученные соединения были тестированы на противоопухолевую активность (рисунок 10).



IC ₅₀ μM	43	45	46	48	52	50b
HuTu-80	16.2	19.8	26.1	11.2	18.2	45.3
WI38	23.7	7.3	38.0	23.3	61.4	49.2
Chang liver	45.3	20.0	50.0	45.0	66.9	57.7

Рисунок 10 – Цитотоксичность по отношению к опухолевым и здоровым клеткам amino-, фосфонамидов, бензиламинов, структура которых содержит ПЗФ и ацетальный фрагменты

На рисунке 10 представлены соединения, показавшие лучшие результаты в ряду аминоксфонатов, фосфонамидов и бензиламинов, большая часть соединений проявила активность в отношении опухолевых линий аденокарциномы двенадцатиперстной кишки HuTu80. Наибольшую активность проявили аминоксфонаты **45**, **46** и **48**, однако они также показали высокую токсичность в отношении клеток печени Chang liver и эмбриона легкого WI38. Чуть менее эффективными оказались аминоксфонаты **43**. На основании этих данных можно сделать предположение, что наличие хлорметильной группы увеличивает цитотоксичность соединения, однако вместе с этим увеличивается его токсичность в отношении здоровых клеток, то есть снижается селективность. Наибольшей активностью в ряду полученных бензилированных аминоксфталей обладает соединение **52**, проявляя при этом низкую токсичность в отношении здоровых клеток.

Таким образом, нами был получен ряд из семи аминоксфонатов и шести фосфонамидов, четырех бензиламинов, содержащих ацетальные и ПЗФ-фрагменты, обладающих высокой противоопухолевой активностью. Причем наибольшую активность проявляют аминоксфонаты и их хлорамидные модификации, а низкое токсическое воздействие на здоровые клетки демонстрируют бензилированные аминоксфталы с двумя фрагментами ПЗФ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Впервые получены амидоксфонаты, содержащие в своей структуре ПЗФ и диаминовый фрагменты в результате реакции соответствующих хлорфосфонатов с N,N-димитилэтан-1,2-диамином, N,N-димитилпропан-1,2-диамином. Алкилированием терминального атома азота в этих соединениях алкилгалогенидами, с различной длиной алифатической цепи, синтезированы новые аммониевые соли.

2. Установлено, что реакция диалкил (3,5-ди-трет-бутил-4-оксо-2,5-циклогексидиенилиден) метилфосфоната с рядом алифатических аминов, содержащих в структуре гетероциклический фрагмент, приводит к образованию новых α-аминоксфонатов, содержащих ПЗФ и N-гетероциклические фрагменты. Взаимодействием гидроксibenзилхлорфосфонатов с различными алифатическими с соответствующими алифатическими аминами, содержащими N-гетероциклические фрагменты, получены новые фосфонамиды, содержащие в своей структуре ПЗФ и N-гетероциклические фрагменты.

3. Синтезированы первые представители производных биспидина, содержащие один или два ПЗФ-фрагмента. Обнаружено, что при взаимодействии производных биспидина с диалкил (3,5-ди-трет-бутил-4-оксо-2,5-циклогексадиенилиден) метилфосфонатом образуются исключительно продукты монозамещения. Реакция 3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксibenзилацетата с биспидином, в зависимости от его природы, приводит к образованию моно- или дизамещенных продуктов.

4. Получена серия новых α -аминофосфонатов, содержащих в своей структуре ПЗФ и ацетальные фрагменты в результате реакции 1, 6 нуклеофильного присоединения α -, β -, γ -аминоацеталей к фосфорилированным метиленихинонам. Ацилированием α -аминофосфонатов хлорацетил хлоридом получены новые α -амидофосфонаты, содержащие терминальную хлорметильную группу.

5. Взаимодействием хлорфосфонатов с соответствующими α -, β -, γ -аминоацетальными получены новые фосфонамиды, содержащие в структуре ПЗФ и ацетальные фрагменты. Чтобы оценить влияние фосфорильной группы на биологическую активность, в ряду синтезированных соединений в результате реакции 3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксibenзилацетата с α -, β -, γ -аминоацетальными получены новые соединения, содержащие в структуре только один или два ПЗФ-фрагмента.

6. Изучена *in vitro* цитотоксичность полученных соединений в отношении опухолевых клеточных линий и в нормальной клетке Chang liver. Обнаружено, что аммониевые соли амидофосфонатов проявляют более высокую активность в сравнении с лекарственным препаратом сравнения Сорафенибом. Соединение, проявившее наибольшую активность – аммониевая соль с длиной спейсера между атомами азота $n=3$ и с алкильным фрагментом у катиона азота C14, содержащее пропильный заместитель у атома фосфора. Наибольшая активность проявилась относительно клеточной линии HuTu80- IC50 3.8 μM с высоким индексом селективности SI=22. Установлено, что аминофосфонаты, содержащие ПЗФ и N-гетероциклические фрагменты, демонстрируют хорошую противоопухолевую активность. Показано, что соединения, полученные введением гетероциклического амина непосредственно к атому фосфора (фосфонамиды), показывают меньшую эффективность относительно опухолевых клеток. Исследована цитотоксичность α -аминофосфонатов, содержащих в своей структуре производные 3,7-диазабицикло [3.3.1] нонан, соединения показали высокую противоопухолевую активность, с наилучшим значением относительно опухолевых клеток HuTu80- IC50 11.2 μM . Исследована цитотоксичность амино- и амидофосфонатов, содержащих ацетальные и ПЗФ-фрагменты. Соединениями, проявившими наибольшую активность, являются аминофосфонаты, в структуру которых введен ацетальный и хлорамидные, ПЗФ-фенольные фрагменты.

Дальнейшее развитие научного направления, представленного в настоящей диссертационной работе, позволит создать большую библиотеку новых α -аминофосфонатов, фосфонамидов, содержащих в структуре ПЗФ, различные функциональные группы, обладающие высокой противоопухолевой и антимикробной активностями. Можно отметить наиболее перспективные направления: на основе полученных соединений-лидеров в ряду фосфонамидов, содержащих аммониевый и ПЗФ-фрагменты, могут быть в будущем получены новые эффективные, малотоксичные лекарственные противомикробные, противоопухолевые препараты; аминофосфонаты, в структуре которых присутствует биспидиновый фрагмент, могут быть использованы в качестве органокатализаторов, лигандов металлокомплексов для проведения стереоселективного органического синтеза.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для размещения материалов диссертаций:

1. **Shakirov, A.M.** α -Aminophosphonates Containing Sterically Hindered Phenolic and N-Heterocyclic Fragments as Potential Antitumor Agents /A.M. Shakirov, E.M. Gibadullina, D.R. Islamov, A.P. Lyubina, A.D. Voloshina, A.R. Burilov // Russian Journal of General Chem. – 2024. – Vol. 94, N 2. – P. 488–496.

2. **Shakirov, A.M.** O-Alkyl-3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzylchlorophosphonates in the Synthesis of New Phosphoramidates Containing Sterically Hindered Phenolic and N-Heterocyclic Fragments /A.M. Shakirov, E.M. Gibadullina, E.A. Chugunova, A.R. Burilov // Russian Journal of General Chem. – 2023. – Vol. 93, N 2. – P. 577–582.

Тезисы докладов:

1. Гибадуллина, Э.М. Биологически-активные соединения на основе фосфорсодержащих пространственно-затрудненных фенолов / Э.М. Гибадуллина, Т.Т. Нгуен, А.М. Шакиров, Х.Б.Ч. Нгуен, А.Д. Волошина, А.Б. Вышталюк, А.Р. Бурилов // Всероссийская конференция «Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней». Сборник тезисов докладов (Сочи, 8-11 октября, 2021) – Сочи, 2021. – С. 29.

2. **Шакиров, А.М.** Пространственно-затрудненные фенолы, содержащие аммониевые, аминоксидные и фосфамидные фрагменты / А.М. Шакиров, Э.М. Гибадуллина, Д.М. Хлупин, Е.А. Бурилова, А.Д. Волошина, А.Р. Бурилов // Всероссийская конференция «Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней». Сборник тезисов докладов (Сочи, 8-11 октября, 2021) – Сочи, 2021. – С. 148.

3. **Шакиров, А.М.** Фосфамиды и аминоксиды, содержащие аммониевые и пространственно-затрудненный фенольный фрагменты / А.М. Шакиров, Э.М. Гибадуллина, А.А. Рагулин, Е.А. Бурилова, А.Д. Волошина, А.Р. Бурилов // МОБИ — ХимФарма2021. VII Междисциплинарная конференция «Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии». Сборник тезисов докладов (Москва, 12-14 октября, 2021) – Москва, 2021. – С. 12.

4. Бурилова, Е.А. Агрегационные сольбилизационные свойства алкилированных аммониевых солей с пространственным фенольным и фосфатным фрагментом /Е.А. Бурилова, Е.П. Жильцова, **А.М. Шакиров**, Э.М. Гибадуллина // III Школа конференция для молодых ученых «Супрамолекулярные стратегии в химии, биологии и медицине: фундаментальные проблемы и перспективы» (с международным участием) Сборник тезисов докладов (Казань, 25-28 октября, 2021) – Казань, 2021. – С. 68.

5. **Шакиров, А.М.** Аминоксиды, содержащие ацетальный и пространственно-затрудненный фенольный фрагменты в качестве новых противоопухолевых соединений / А.М. Шакиров, Э.М. Гибадуллина, А.Д. Волошина, А.Р. Бурилов // Всероссийская конференция с международным участием «Идеи и наследие А.Е. Фаворского в органической химии: Вторая всероссийская школа по медицинской химии для молодых ученых». Сборник тезисов докладов (Санкт-Петербург, 3-6 июля, 2023) – Санкт-Петербург, 2023. – С. 154.

6. **Шакиров, А.М.** Функционализированные бензиламины в качестве новых потенциальных противоопухолевых соединений / А.М. Шакиров, Э.М. Гибадуллина, А.Д. Волошина, А.Р. Бурилов // I Междисциплинарная всероссийская молодежная научная школа-конференция с международным участием «Молекулярный дизайн биологически активных веществ: биохимические и медицинские аспекты», посвященная 120-летию со дня рождения академика Б.А. Арбузова. Сборник тезисов докладов (Казань, 18-22 сентября, 2023) – Казань, 2023. – С. 119.