

УТВЕРЖДАЮ

Первый проректор – проректор по научной
деятельности ФГАОУ ВО «Казанский
(Приволжский) федеральный университет»,
профессор

 Д.А. Тагорский

" 18 " *сентября* 2024 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Шакирова Аделя Маратовича на тему
“ Синтез и свойства новых фосфонамидов и аминоксифонатов, содержащих
пространственно-затрудненный фенольный фрагмент”, представленную на соискание
ученой степени кандидата химических наук
по специальности 1.4.3. Органическая химия

Актуальность работы

Дизайн и синтез систем, способных поражать биологические объекты, например, опухолевые клетки, бактерии или вирусы, не затрагивая при этом здоровые клетки, продолжает оставаться одной из актуальных проблем органической химии. Это связано с тем, что число случаев заболевания раком, так же, как и количество смертей, вызванных онкологическими заболеваниями, продолжает расти. «Неутешительная статистика и в отношении инфекционных заболеваний по данным ВОЗ» - отмечает автор. Важной характеристикой органических соединений является их биологическая активность, поскольку ее наличие может стать основой для использования вещества в терапевтических целях, либо, напротив, ограничить возможности его практического применения вследствие проявления побочных и токсических эффектов. Многие известные противоопухолевые, антибактериальные и противовирусные препараты имеют ряд недостатков, таких как низкая селективность, резистентность, токсичность по отношению к здоровым клеткам.

Пространственно-затрудненные фенолы, которые представляют класс известных антиоксидантов, могут использоваться в создании противоопухолевых препаратов направленного действия. При конструировании лекарственных препаратов для эффективного транспорта через клеточные мембраны в структуру биологически активных веществ вводят фосфорсодержащие фрагменты. Аминоксифонатные и фосфонамидные фрагменты являются перспективными с этой точки зрения, в том числе, и для увеличения биологической активности.

Таким образом, дизайн новых биологически активных соединений, содержащих в своей структуре фосфонатный и пространственно-затрудненный фенольный фрагменты, является весьма актуальным и востребованным направлением развития современной органической

химии. Кроме того, изучение биологической активности полученных автором соединений позволит выявить перспективные структуры-лидеры.

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

Диссертация построена традиционно и включает введение, три главы, а именно, литературный обзор (глава 1), обсуждение результатов (глава 2), экспериментальную часть (глава 3), список сокращений и условных обозначений, заключение, список литературы из 181 наименования, а также приложение. Диссертационная работа изложена на 188 страницах печатного текста и содержит 13 таблиц, 40 схем, 51 рисунок.

Первая глава посвящена обзору литературных данных по методам синтеза антимикробных и противоопухолевых агентов на основе аминоксифонатов и фосфонамидов. Особое внимание уделяется предполагаемому механизму их биологического действия. Представлены различные методы синтеза α -аминоксифонатов, которые основаны на реакции Кабачника-Филдса, Пудовика и реакции присоединения аза-Михаэля, и рассмотрены методы получения фосфонамидов, включая конденсацию с нитрилами, нуклеофильное замещение хлорангидридов фосфора, реакцию Штаудингера. Кроме того, описана их биологическая активность: противоопухолевая и антимикробная.

Обсуждение результатов собственных исследований приведено во второй главе. Автором осуществлен синтез новых фосфонамидов реакцией нуклеофильного замещения 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метил-гидроксibenзилхлорфосфонатов с алифатическими *N*-нуклеофилами, содержащими ацетальные, алифатические, гетероциклические фрагменты. Дальнейшая модификация соединений с целью введения аммониевого фрагмента была осуществлена реакцией кватернизации фосфонамида бромалканами с различной длиной алкильной цепи. В результате были разработаны оптимальные условия получения фосфонамидов. Далее был осуществлен синтез аминоксифонатов по реакции нуклеофильного 1,6-присоединения диалкил(3,5-ди-*трет*-бутил-4-оксоциклогекса-2,5-диен-1-илиден) метилфосфонатов с *N*-нуклеофилами – алифатическими аминами с различной длиной алкильного спейсера, содержащими морфолиновый, пиперидиновый, пирролидиновый фрагменты. Кроме того, автор осуществил введение алифатических аминов, содержащих гетероциклический фрагмент, непосредственно к атому фосфора, получив новые фосфонамиды. Поскольку анализ литературных данных показал, что биспидиновый каркас перспективен в разработке высокоэффективных противоопухолевых агентов, автором на платформе биспидинов были получены новые аминоксифонаты и бензиламины, содержащие пространственно-затрудненные фенольные (ПЗФ) фрагменты. Предложен подход к созданию противоопухолевых аминоксифонатов и фосфонамидов, содержащих ПЗФ и аминоксифонный фрагменты. Полученные соединения детально охарактеризованы комплексом физических методов исследования. Проведен скрининг цитотоксичности полученных соединений в отношении опухолевых и нормальных клеточных линий, и на основании полученных результатов установлена взаимосвязь «структура-активность». Выявлены наиболее перспективные соединения, которые представляют интерес для дальнейших исследований биологической активности.

Экспериментальная часть работы, включающая синтез новых соединений, физико-химические методы исследования и эксперименты по изучению биологической активности и цитотоксичности полученных соединений, а также их спектральные характеристики, изложены в третьей главе диссертации.

Для установления структуры и состава новых соединений использовались методы спектроскопии ЯМР ^1H , ^{13}C , ^{31}P ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии (MALDI-TOF и ESI-TOF), элементного и рентгеноструктурного анализа. Контроль полноты протекания реакций и чистоты синтезированных соединений проводили методом тонкослойной хроматографии. Для выделения некоторых новых соединений автором использовался метод колоночной хроматографии. Применение широкого спектра разнообразного оборудования обеспечило надежность и достоверность полученных результатов.

В качестве наиболее значимых и интересных результатов проведенного автором исследования можно выделить следующие: впервые получены амидофосфонаты, содержащие в своей структуре ПЗФ и диаминовый фрагменты в результате реакции соответствующих хлорфосфонатов с *N,N*-диметилэтан-1,2-диамином, *N,N*-диметилпропан-1,2-диамином. Алкилированием терминального атома азота в этих соединениях алкилгалогенидами с различной длиной алифатической цепи синтезированы новые аммониевые соли. Установлено, что реакция диалкил (3,5-ди-*трет*-бутил-4-оксо-2,5-циклогексадиенилиден) метилфосфоната с рядом алифатических аминов, содержащих в структуре гетероциклический фрагмент, приводит к образованию новых α -аминофосфонатов, содержащих ПЗФ и *N*-гетероциклические фрагменты. Синтезированы первые представители производных биспидина, содержащие один или два ПЗФ фрагмента. 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 метиленхинонам. Взаимодействием хлорфосфонатов с соответствующими α -, β -, γ -аминоацетальными получены новые фосфонамиды, содержащие в структуре ПЗФ и ацетальные фрагменты. Изучена *in vitro* цитотоксичность полученных соединений в отношении опухолевых клеточных линий и нормальных клеток Chang liver. Установлено, что аммониевые соли амидофосфонатов проявляют более высокую активность в сравнении с лекарственным препаратом Сорафенибом. Показано, что соединения, полученные введением гетероциклического амина непосредственно к атому фосфора (фосфонамиды), показывают меньшую эффективность относительно опухолевых клеток. Автором выявлено, что аминокислоты, содержащие в своей структуре ацетальный, хлорамидные, ПЗФ-фенольные фрагменты, проявляют наибольшую активность. Полученные результаты могут быть использованы в будущем для разработки новых эффективных, малотоксичных, лекарственных (противомикробных, противоопухолевых) препаратов, а также органокатализаторов, лигандов металлокомплексов для проведения стереоселективного органического синтеза.

Диссертационная работа обладает высокой степенью новизны и практической значимости.

Новизна работы заключается в синтезе (1) новых фосфонамидов, содержащих ПЗФ и аммониевые фрагменты; (2) α -аминофосфонатов, фосфонамидов, содержащих ПЗФ, *N*-гетероциклический (морфолин, пиперидин, пирролидин), α -, γ -ацетальные фрагменты; (3)

ранее неизвестных их бесфосфорных аналогов на основе 3,7-диазабицикло [3.3.1] нонана (биспидины), содержащих один или два нуклеофильных центра; (4) проведении скрининга цитотоксичности полученных соединений в отношении опухолевых и здоровых клеточных линий; (5) изучении антимикробной активности алкиламмониевых солей фосфонамидов, содержащих ПЗФ фрагмент; и (6) установлении параметров «структура-активность».

Практическая значимость работы заключается в разработке метода синтеза новых α -аминофосфонатов, содержащих в своей структуре ПЗФ, *N,N*-диметил (этилен/пропилен) диамины, гетероциклические, 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонанные и ацетальные фрагменты, основанном на атом-экономной реакции нуклеофильного 1,6-присоединения *N*-нуклеофилов с алкил-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-оксоциклогекса-2,5-диен-1-илиден)метилфосфонатами. Впервые предложен удобный подход к синтезу новых фосфонамидов, содержащих в одной молекуле ПЗФ и *N,N*-диметил (этилен/пропилен) диамины, 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. Установлено, что фосфонамиды, содержащие аммониевые фрагменты, проявляют высокую антибактериальную активность и наилучшую цитотоксичность *in vitro* в отношении опухолевых линий HuTu-80 со значением IC_{50} 3.1 μ M, сопоставимым с цитотоксичностью препарата сравнения Сорафенибом. Из этого следует, что они являются менее токсичными и более селективными при воздействии на нормальные клетки печени Chang liver и WI38. Аминофосфонаты, в структуру которых входит ацетальный и ПЗФ-фрагменты, проявляют высокую активность относительно опухолевых клеток HuTu-80 со значением IC_{50} 11.8 μ M. Таким образом, полученные соединения могут использоваться в качестве кандидатов для разработки на их основе новых эффективных малотоксичных лекарственных (противомикробных, противоопухолевых) препаратов.

Выводы диссертации являются логичными, достоверными и обоснованными. Они базируются на собственных экспериментальных данных. Следует подчеркнуть, что работа написана в хорошем стиле, построение ее логично и последовательно, однако в тексте встречаются опечатки, которые будут перечислены ниже.

Основное содержание диссертации изложено в 8 публикациях, в том числе в 2 статьях, входящих в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий» ВАК РФ. Результаты диссертационного исследования были представлены на нескольких конференциях различного уровня.

По диссертационной работе имеются следующие замечания:

1. В тексте имеется ряд опечаток (стр. 7, 8, 24, 25, 28, 15, 38, 49, 51). Например, в диссертации встречаются места, где «трет-», «N-» написаны не курсивом, особенно в Экспериментальной части в названиях соединений, хотя общепринято писать курсивом.
2. Встречаются ряд стилистических ошибок (стр.7, 144, 145). Например, в Заключение (стр.144), пункт 2 повторение «с различными алифатическими с соответствующими алифатическими аминами».
3. Неоправданное написание условий реакций на английском языке (стр. 17, 23, 30).
4. Из схемы 1.1 не понятна структура соединения 10.

5. Помимо технических погрешностей, возникают вопросы и по сути работы. Так, после прочтения диссертации остается неясным, почему соединения с алкильной цепью C_{12} проявляют умеренную активность, в то время как соединения с длиной цепи C_{10} и C_{14} обладают наибольшей активностью (стр.63)? С чем это связано?
6. При обсуждении результатов не указано, учитывалась ли концепция ADME при синтезе соединений, которые исследовались на антимикробную и противоопухолевую активности? Если учитывалась, то хотелось бы знать растворимость соединений в физиологическом растворе в присутствии белков плазмы крови.
7. Вызывает вопрос: какие варианты структур рассматривались в качестве биомиметов для синтезированных соединений? Например, клеточные мембраны или киназы?
8. Каким образом введение протяженных алкильных заместителей влияет на активность синтезированных веществ? Каков предполагаемый механизм проникновения внутрь клетки? Гидрофильно-липофильный баланс полученных веществ оптимален для их проникновения через клеточные мембраны? Или же длина алкильного заместителя влияет на встраивание в клеточную мембрану, как в случае тетраалкиламмонийных солей? Или речь идет об их ассоциации и мицеллообразовании?

Перечисленные вопросы и замечания не являются принципиальными и не влияют на положительную оценку работы, потребовавшей от автора значительного экспериментального мастерства и хорошей теоретической подготовки. В целом, диссертационная работа производит очень хорошее впечатление как по объему проведенной синтетической работы, так и по методам, выбранным для доказательства структуры полученных соединений, а также по стилю изложения результатов.

Заключение

В диссертационной работе Шакирова Аделя Маратовича на основе экспериментального материала получены достоверные и значимые результаты, обладающие несомненной новизной, научной и практической ценностью для органической химии в целом.

Опубликованные работы и автореферат отражают основное содержание диссертационной работы.

По своему содержанию диссертационное исследование Шакирова Аделя Маратовича соответствует паспорту специальности ВАК 1.4.3. Органическая химия (химические науки) в пунктах: п.1. «Выделение и очистка новых соединений», п.3 «Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул», п.7. «Выявление закономерностей типа «структура - свойство».

Считаем, что диссертационная работа Шакирова Аделя Маратовича «Синтез и свойства новых фосфонамидов и аминоксифонатов, содержащих пространственно-затрудненный фенольный фрагмент» по актуальности, объему выполненной работы, научной новизне, теоретической и практической значимости, уровню обсуждения, достоверности полученных результатов, обоснованности научных положений и выводов полностью соответствует критериям, установленным п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г., № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям. В диссертации содержится решение задачи синтеза новых фосфонамидов и аминоксифонатов,

содержащих пространственно-затрудненный фенольный фрагмент, имеющей существенное значение для развития органической химии, а ее автор, Шакиров Адель Маратович, заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. Органическая химия.

Отзыв подготовлен кандидатом химических наук, доцентом кафедры органической и медицинской химии Химического института им. А.М. Бутлерова федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» Вавиловой Алёной Артёмовной (специальность 02.00.03 - Органическая химия) и доктором химических наук, профессором, заведующим кафедрой органической и медицинской химии Химического института им. А.М. Бутлерова федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» Стойковым Иваном Ивановичем (специальность 02.00.03 - Органическая химия).

Отзыв на диссертацию Шакирова Аделя Маратовича заслушан, обсужден и утвержден на заседании кафедры органической и медицинской химии Химического института им. А.М. Бутлерова федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет», протокол №6 от «31» октября 2024 года.

31.10.2024

Вавилова Алёна Артёмовна,
доцент кафедры органической и медицинской химии
Химического института им. А.М. Бутлерова федерального государственного
автономного образовательного учреждения высшего образования
«Казанский (Приволжский) федеральный университет»,
кандидат химических наук
Адрес электронной почты: Alena_Vavilova_KFU@mail.ru
Телефон: +7(843)233-72-41

А. Вавилова

Стойков Иван Иванович,
заведующий кафедрой органической и медицинской химии
Химического института им. А.М. Бутлерова федерального государственного
автономного образовательного учреждения высшего образования
«Казанский (Приволжский) федеральный университет»,
доктор химических наук, профессор
Адрес электронной почты: ivan.stoikov@mail.ru
Телефон: +7(843)233-72-41

Стойков

Наименование организации: ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Химический институт им. А.М. Бутлерова
Адрес: 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18

Подпись Вавиловой А.А. заверяю

Подпись Стойкова И.И. заверяю

