

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по образовательной деятельности
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)
федеральный университет»

д.ф.-м.н. доцент

Е.А. Турилова

"22" апреля 2020 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Нгуен Хоанг Бао Чан на тему
«Синтез и свойства новых диарилметилфосфонатов, содержащих
пространственно-затрудненный фенольный фрагмент», представленную на
соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 1.4.3. Органическая химия

Актуальность работы.

Злокачественные новообразования остаются одной из ведущих причин смертности во всем мире, уступая лишь сердечно-сосудистым заболеваниям. Ежегодно миллионы людей сталкиваются с этим диагнозом, и, несмотря на прогресс медицины, проблема далека от решения. В России в рамках государственной стратегии «Фарма-2030» борьба с онкологическими заболеваниями является приоритетной задачей, что подчеркивает острую потребность в отечественных инновационных лекарственных средствах. Несмотря на успехи современной таргетной и иммунотерапии, существующие препараты по-прежнему сталкиваются с тремя главными препятствиями: развитием лекарственной резистентности, системной токсичностью и гетерогенностью клеток внутри одной опухоли. Эти факторы делают поиск новых высокоэффективных и безопасных противоопухолевых препаратов важной и сохраняющей высокую актуальность задачей.

Особый интерес сегодня вызывают соединения, способные избирательно поражать раковые клетки, благодаря уникальным особенностям их метаболизма. Окислительно-восстановительный дисбаланс является ключевым признаком рака и создает в опухолевых клетках среду с высоким уровнем активных форм кислорода, что служит перспективной мишенью для разработки соединений, способных селективно активироваться или проявлять цитотоксичность в условиях окислительного стресса. К числу соединений, способных активироваться в таких условиях, относятся пространственно-затрудненные фенолы. Ранее в научной

лаборатории Э.М. Гибадуллиной (ИОФХ им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН) была разработана синтетическая платформа на основе диарилметилфосфонатов, содержащих такие фенолы и терминальные аминогруппы; полученные соединения показали высокую и селективную противоопухолевую активность. Изучение производных с мочевиными и амидными фрагментами стало первым шагом в исследовании зависимости «структура–активность», а главным направлением дальнейших изысканий является целенаправленная модификация диарилметилфосфонатов с целью усиления противоопухолевого эффекта и выявления влияния заместителей на цитотоксичность. Кроме того, включение в молекулу фрагментов, совместимых с реакциями клик-химии, является важным и актуальным направлением, так как создает основу для конструирования гибридных или таргетных структур и позволяет осуществить переход от соединений-прототипов к оптимизированным структурам с улучшенной активностью и заданными свойствами.

Таким образом, разработка подходов к синтезу новых фосфорсодержащих производных, содержащих в своей структуре фрагмент пространственно-затрудненного фенола, является актуальным и востребованным направлением развития современной органической химии. Более того, анализ результатов исследования цитотоксической активности полученных автором фосфонатов *in vitro* в отношении опухолевых и нормальных клеточных линий позволит определить наиболее перспективные кандидаты для создания новых высокоэффективных противоопухолевых препаратов.

Целью диссертационной работы является направленный синтез новых функционально замещенных диарилметилфосфонатов, содержащих фрагмент пространственно-затрудненного фенола, изучение их цитотоксичности *in vitro* и установление структурных особенностей, определяющих активность.

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 175 наименований, а также приложение, содержащее 5 таблиц. Диссертационная работа изложена на 201 странице печатного текста и содержит 8 таблиц, 24 схемы, 67 рисунков.

Первая глава посвящена обзору литературных данных и отражает современные тенденции в синтезе противоопухолевых соединений. Особое внимание уделяется противоопухолевым препаратам, влияющим на уровень активных форм кислорода (АФК), рассмотрены антиоксидантные и прооксидантные свойства фенольных

соединений в противоопухолевой терапии. Проведена оценка структурных особенностей новых противоопухолевых препаратов, одобренных FDA за последние пять лет, что позволило автору выявить не только современные тренды, но и выбрать вектор для поиска новых перспективных классов соединений. Кроме того, детально рассмотрена роль пространственно-затрудненных фенолов и их производных в разработке противоопухолевых агентов, что подтверждает высокий потенциал данного фрагмента для дальнейших исследований.

Обсуждение результатов собственных исследований приведено во второй главе. На основе реакции С-арилфосфорилированных производных 2,6-диаминопиридина и 1,3-диаминобензола с арилизоцианатами (с донорными и акцепторными заместителями) и алифатическими изоцианатами автором осуществлен синтез новых диарилметилфосфонатов, содержащих пространственно-затрудненные фенолы (ПЗФ) и диалкил-/диарилмочевинные фрагменты. Поскольку анализ литературных данных показал, что функционализация галогенамидными группами приводит к повышению цитотоксичности, далее был осуществлен синтез новых диарилметилфосфонатов, содержащих ПЗФ, бромметиламидные или полихлоралкиламидачные фрагменты, путем взаимодействия соответствующих производных 2,6-диаминопиридина и 1,3-диаминобензола с бромангидридом бромуксусной кислоты и 3-хлор-2,2-бис(хлорметил)пропаноил хлоридом. Синтезирована серия гибридных молекул, сочетающих редокс-активный ПЗФ-фрагмент, фосфонатную группу и остаток изатина, присоединенный через иминный линкер. Показано, что использование 2,6-диаминопиридина не позволяет выделить индивидуальные продукты, тогда как производные 1,3-диаминобензола обеспечивают образование целевых монозамещенных иминов. Впервые разработан подход к контролируемому введению азидных групп в структуру диарилметилфосфонатов, содержащих ПЗФ-фрагмент и терминальные хлоралкильные заместители, а также получен ряд водорастворимых производных диарилметилфосфонатов, содержащих ПЗФ-фрагмент и остатки пролина или цистеина. На завершающем этапе проведены исследования цитотоксичности синтезированных замещенных диарилметилфосфонатов, содержащих ПЗФ фрагмент, в отношении опухолевых и нормальных клеточных линий человека с помощью МТТ-теста. Выявлены наиболее перспективные соединения.

Экспериментальная часть работы, включающая синтез новых соединений, физико-химические методы их исследования, в том числе спектральные

характеристики, а также изучение их биологической активности изложена в третьей главе диссертации.

В качестве наиболее значимых и интересных результатов проведенного автором исследования можно выделить следующее: впервые осуществлен целенаправленный синтез новых функционально замещенных диарилметилфосфонатов, содержащих ПЗФ-фрагмент, а именно - производных мочевины (с арильными и 2-хлорэтильными заместителями), амидных производных (с бромметильными и полихлоралкильными группами), изатинсодержащих иминов, азидопроизводных, 1,2,3-триазолов, хинонметидов (полученных окислением 2-хлорэтилмочевин), а также водорастворимых аналогов, полученных модификацией хлорацетамидных производных аминокислотами. При изучении реакции С-арилфосфорилированных производных 2,6-диаминопиридина и 1,3-диаминобензола с арилизоцианатами, содержащими донорные (*n*-толил-, *m*-толил-, *n*-метоксифенилизоцианаты) и акцепторные (*n*-хлорфенил-, *n*-нитрофенилизоцианаты) заместители, и 2-хлорэтилизоцианатом установлены закономерности, определяющие селективность образования дизамещенных мочевины. Показано, что взаимодействие С-арилфосфорилированных производных 1,3-диаминобензола и 2,6-диаминопиридина с изатином и его 5-галогензамещенными производными (5-фтор-, 5-хлор-, 5-бромизатин) независимо от соотношения реагентов приводит к образованию смесей моно- и ди-N-замещенных иминов. Впервые продемонстрирована возможность контролируемого введения азидных групп через нуклеофильное замещение в хлоралкильных предшественниках, что позволило синтезировать целевые линейные бис-азиды. Установлено, что взаимодействие хлорацетамидных производных диарилметилфосфонатов с D-пролином и L-пролином приводит к образованию продуктов дизамещения в виде смеси диастереомеров, в то время как с цистеином реализуется селективное S-алкилирование. В результате скрининга цитотоксической активности *in vitro* среди синтезированных соединений идентифицированы соединения-лидеры и выявлены закономерности «структура-активность». Показано, что наиболее активные соединения индуцируют образование АФК в опухолевых клетках, что может быть использовано для разработки новых эффективных лекарственных противоопухолевых препаратов.

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. Применение

широкого спектра разнообразного оборудования обеспечило надежность и достоверность полученных результатов.

Диссертационная работа обладает высокой степенью новизны и практической значимости.

Новизна работы заключается в синтезе (1) новых функционально замещенных диарилметилфосфонатов, содержащих ПЗФ-фрагмент; (2) хинонметидов, полученных из 2-хлорэтилсодержащих мочевины, окислением ПЗФ-фрагмента под действием DDQ; (3) водорастворимых аналогов диарилметилфосфонатов модификацией хлорацетамидных производных аминокислотами; (4) разработке подхода к контролируемому введению азидных групп в структуру диарилметилфосфонатов, содержащих ПЗФ-фрагмент и терминальные хлоралкильные заместители; (5) проведении систематического анализа цитотоксической *in vitro* активности полученных соединений; и (6) выявлении соединений-лидеров, механизм действия которых связан с индукцией окислительного стресса в опухолевых клетках.

Практическая значимость работы заключается в разработке препаративных методов синтеза новых функционально замещенных диарилметилфосфонатов, содержащих ПЗФ-фрагмент. Условия проведения реакций (доступные растворители, отсутствие дорогостоящих катализаторов) позволяют получать целевые соединения с хорошими выходами (42–93%) и осуществлять их выделение без использования сложных методов очистки. В ряду полученных соединений бромацетамидное производное на основе диарилметилфосфоната с диметоксильными заместителями у атома фосфора проявило субмикромольную активность в отношении клеточной линии M-HeLa ($IC_{50} = 0.9$ мкМ), что в 2.3 раза превосходит активность доксорубина и в 27.8 раз – активность сорафениба, при высоком индексе селективности ($SI=5.8$). Хинонметидное производное на основе пиридина с этильным заместителем у атома фосфора показало высокую цитотоксичность в отношении клеточной линии M-HeLa ($IC_{50} = 5.1$ мкМ), в 5 раз превышающую активность сорафениба, а производное мочевины, содержащее нитрогруппу в арильном фрагменте, продемонстрировало селективность в отношении линии NuTu80 ($IC_{50} = 13.2$ мкМ). Показано, что наиболее активные соединения индуцируют образование АФК в опухолевых клетках.

Таким образом, разработанные автором методы расширяют границы синтеза новых диарилметилфосфонатов, содержащих ПЗФ-фрагмент, за счет использования доступных реагентов и упрощенного выделения целевых продуктов с высокими выходами. Кроме того, полученные соединения могут использоваться как кандидаты

для создания новых эффективных малотоксичных противоопухолевых препаратов, поскольку ряд производных проявил высокую цитотоксичность и селективность *in vitro* по отношению к раковым клеткам, что превосходит соответствующие показатели доксорубицина и сорафениба.

Выводы диссертации являются логичными, достоверными и обоснованными, поскольку базируются на собственных экспериментальных данных. Следует отметить, что работа написана в хорошем стиле, отличается логичностью и последовательностью изложения, однако в тексте встречаются опечатки и замечания, которые будут перечислены ниже.

Основное содержание диссертации изложено в 11 публикациях, в том числе в 3 статьях, входящих в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий» ВАК Минобрнауки России и приравненных к ним, одна из которых – в международном журнале первого квартиля, Q1. Получен 1 патент. Результаты диссертационного исследования были представлены на нескольких конференциях различного уровня.

По диссертационной работе имеются следующие замечания и вопросы, которые не носят принципиального характера, а, скорее, могут стать основой для плодотворной дискуссии:

1. В тексте встречается ряд опечаток и стилистических ошибок (стр.16, 35, 43, 79, 175). Например, на стр.79 в предложении «Взаимодействие с производными 2,6-диаминопиридина **7a** приводило к образованию...» производное **7a** употребляется во множественном числе. На стр.175 фрагмент предложения «...а также водорастворимые аналоги модификации хлорацетамидных производных аминокислотами» построено стилистически неверно. Встречаются слова-повторения.

2. Всем разработчикам кандидатов активных фармацевтических ингредиентов хорошо известно предложенное Эрлихом понятие «магическая пуля». Сегодня мы говорим об эффективных системах адресной доставки терапевтических агентов. В связи с этим хотелось бы узнать, почему термин реакционноспособные фрагменты превратился в понятие «боеголовки»? Из-за отсутствия избирательности и токсичности?

3. В тексте литобзора автор на стр. 36 упоминает «биоизостерическую замену» атома водорода на фтор. Это, действительно, один из множества примеров биоизостеризма, применяемого в медицинской химии для разработки лекарственных препаратов. Вопрос вызывает анализ структур, изображенных на рисунке 1.18 (стр.41). Какой вывод делает автор из сравнения алкилирующего агента на основе

фрагмента бис(2-хлорэтил)амина с протоноакцепторными аминными или протонодонорными (амидными) фрагментами?

4. В части 2.1 обсуждения результатов описывается синтез фосфонамида 4. Чем автор объясняет низкий выход (30%) целевого продукта 4?

5. Взаимодействие соединений, содержащих мочевиный фрагмент, с карбоновыми и аминокислотами достаточно подробно изучено. В связи с этим возникает вопрос: рассматривал ли автор диссертации возможность связывания мочевиных фрагментов с карбоксилатными и фосфатными группами (рис. 2.5)? И будет ли усиливать водородное связывание пиридиновый фрагмент?

6. Хотелось бы услышать пояснение, как автор сравнивает эффективность и селективность бис(2-хлорэтил)амина с его мочевиным аналогом, учитывая изменение механизма алкилирования ДНК.

7. В разделе «2.4 Функционализация С-арилфосфорилированных производных 2,6-диаминопиридина и 1,3-диаминобензола изатином и его производными» автор для описания полученных продуктов вводит понятие «серия гибридных молекул» (стр. 83). Хотелось бы услышать ответ - почему только эти полифункциональные соединения отнесены к гибридным, а остальные нет?

8. Как автор оценивает обнаруженные закономерности «структура-активность»: проведенный дизайн новых полифункциональных «политаргетных» соединений привел к целевым результатам? Из раздела 2.7 не совсем ясно: обнаруженная активность и селективность серии синтезированных соединений соответствуют ожиданиям автора? Есть ли неожиданные результаты?

Перечисленные вопросы и замечания не являются принципиальными и не влияют на положительную оценку работы, демонстрирующей высокое экспериментальное мастерство и хорошую теоретическую подготовку автора. 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 Нгуен Хоанг Бао Чан 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 Нгуен Хоанг Бао Чан соответствует паспорту специальности 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 Нгуен Хоанг Бао Чан «Синтез и свойства новых диарилметилфосфонатов, 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 требованиям пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям. В диссертации содержится решение задачи синтеза новых функционально замещенных диарилметилфосфонатов, содержащих ПЗФ-фрагмент, включающих производные мочевины (с арильными и 2-хлорэтильными заместителями), амидные производные (с бромметильными и полихлоралкильными группами), изатинсодержащие имины, азидопроизводные, 1,2,3-триазолы, хинонметиды (полученные окислением 2-хлорэтилмочевин), а также водорастворимые аналоги, имеющей существенное значение для развития органической химии, а ее автор, Нгуен Хоанг Бао Чан, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. Органическая химия.

Отзыв на диссертацию Нгуен Хоанг Бао Чан 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 №19 от 20 апреля 2026 года.

Отзыв подготовлен кандидатом химических наук по специальности 02.00.03 (1.4.3.) - Органическая химия, 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 и

доктором химических наук по специальности 02.00.03 (1.4.3.) - Органическая химия, 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.

20.04.2026

Вавилова Алёна Артёмовна

Должность: доцент кафедры органической и медицинской химии

Адрес электронной почты: Alena_Vavilova_KFU@mail.ru

Телефон: +7(843)233-72-41

Стойков Иван Иванович

Должность: заведующий кафедрой органической и медицинской химии

Адрес электронной почты: ivan.stoikov@mail.ru

Телефон: +7(843)233-72-41

Наименование организации: ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Химический институт им. А.М. Бутлерова

Адрес: 420008, г. Казань. ул. Кремлевская, д. 18

Подпись Вавиловой А.А. заверяю

Подпись Стойкова И.И. заверяю



Вход. № 05-8998
« 03 » 06 2026 г.
подпись