

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора химических наук, доцента,
главного научного сотрудника лаборатории органического синтеза и химии природных соединений Института химии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН Чукичевой Ирины Юрьевны на
диссертационную работу **Кандалинцевой Натальи Валерьевны** на тему
«Гидрофильные халькогенсодержащие производные алкилированных фенолов: синтез, свойства, антиокислительная и биологическая активность», представленную
на соискание ученой степени доктора химических наук
по специальности 02.00.03 – Органическая химия

Многочисленные литературные данные показывают, что фундаментальным свойством фенолов, как природного, так и синтетического происхождения, является их антирадикальная/антиоксидантная активность. В связи с тем, что свободнорадикальные процессы являются ведущим звеном патогенеза многих заболеваний, замещенные фенолы (пространственно-затрудненные фенолы), как активные антиоксиданты, обладают широким спектром фармакологической активности. Важной отличительной особенностью процесса перекисного окисления липидов является быстрое накопление гидропероксидов, соответственно, эффективное ингибирование процесса путем использования антиоксидантов исключительно антирадикального действия не может быть достигнуто. Вместе с тем, применяемые в медицинской практике природные и синтетические фенольные антиоксиданты по существу являются антирадикальными ингибиторами и не проявляют противопероксидной активности. Кроме того, для медицинской практики интересны гидрофильные антиоксиданты, отличающиеся высокой биодоступностью, удобством способов введения и дозирования, пригодные для применения в инфузионной терапии острых состояний. В этой связи, одним из наиболее **актуальных** направлений в совершенствовании фенольных антиоксидантов является разработка на их основе полифункциональных гидрофильных биоантиоксидантов, способных ингибировать радикально-цепные процессы по различным механизмам.

Разработка подходов к синтезу новых полифункциональных производных фенолов и исследование их антиоксидантных и биологических свойств – перспективные направления фундаментальных изысканий в области органической химии.

Цель диссертационного исследования Натальи Валерьевны Кандалинцевой заключалась в создании нового поколения гидрофильных фенольных антиоксидантов с полифункциональным механизмом антиокислительного действия и комплексом ценных свойств для применения в различных областях биологии и медицины.

Для достижения этой цели диссертантом были поставлены следующие задачи: разработать способы синтеза гидрофильных алкилфенолов, содержащих в заместителях изотиурониевые, сульфонатные, тио(селено)сульфатные, карбоксильные, а также сульфидные, селенидные и теллуридные группы и получить библиотеки структурно-родственных гидрофильных S (Se, Te)-содержащих фенольных соединений; исследовать (био)антиоксидантную активность синтезированных соединений в различных модельных системах, выявить зависимости «структура – свойство», открывающие возможности для молекулярного дизайна и направленного синтеза полифункциональных гидрофильных биоантиоксидантов, обладающих набором ценных свойств; предложить новые эффективные гидрофильные антиоксиданты для использования в биологии и медицине.

Научная новизна проведенного Кандалинцевой Н.В. исследования заключается в синтезе и исследовании библиотеки гидрофильных производных алкилированных фенолов – галогенидов S-(ω -(4(2)-гидроксиарил)алкил)изотиурония, S-(ω -(4(2)-гидроксиарил)алкил)тио- и Se-(ω -(4-гидроксиарил)алкил)селеносульфатов, ω -(4-гидроксиарил)алкансульфонатов натрия, а также ω -(4(2)-гидроксиарил)алкилтио-(селено,теллури)алкановых кислот и их солей.

Автором предложены удобные методы синтеза ранее неизвестных Se-(ω -(4-гидроксиарил)алкил)селеносульфатов и соответствующих им диселенидов. Впервые показана возможность использования бис-(3-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенил)-пропил)дителлурида в синтезах различных теллуриалкилфенолов. Осуществлен синтез ряда новых производных фенолов – бутил-(3-(3,5-диметокси-4-гидроксифенил)- и бутил-(3-(3,4,5-тригидроксифенил)пропил)сульфидов, 2-(3-(4-гидроксиарил)пропилтио)этан-1,1-диил-бис-(диэтилфосфонат)ов, бутил-(3-(3-этокси-4-гидроксифенил)- и бутил-(3-(3,4-дигидроксифенил)пропил)селенидов, бис-(3-(4-гидроксиарил)пропил)селенидов и диселенидов, бис-(3-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенил)пропил)теллурида и дителлурида.

Разработан метод получения ω -(3-(4-гидроксиарил)пропилселено(теллури)алкановых кислот из соответствующих диселенидов (дителлуридов) с использованием тетрагидробората натрия и галогеналкановых кислот.

Выявлены новые соединения, обладающие противовоспалительной, гипогликемической, гепатопротекторной, противоопухолевой, хондропротекторной и геропротекторной активностью, кардио- и радиопротекторными свойствами. Установлено, что для ряда синтезированных соединений фармакологически ценные свойства проявляются через влияние на геном клетки посредством активации системы Keap1/Nrf2/ARE.

В результате проведенных диссертантом исследований созданы банки констант скоростей взаимодействия синтезированных серо(селен)содержащих фенолов с пероксидными радикалами стирола, кумола и метилолеата, в том числе в водных средах. Установлено, что для ω -((4-гидроксиарил)алкилтио(селено)алкановых кислот стехиометрия разложения гидропероксида кумола в среде уксусной кислоты изменяется в зависимости от строения заместителя, содержащего атом серы. Выявлена взаимосвязь между структурой гидрофильных фенолов и способностью ингибировать окисление липидных субстратов (в том числе выделенных липопротеинов), взаимосвязь между структурой и их противовоспалительной активностью, токсическими свойствами.

Перечисленные результаты составляют и **теоретическую значимость** работы Кандалинцевой Натальи Валерьевны.

Практическая значимость работы определяется разработкой эффективных методов синтеза большого набора производных замещенных фенолов: галогенидов S-(ω -(4(2)-гидроксиарил)алкил)изотиурония, S-(ω -(4(2)-гидроксиарил)алкил)тио- и Se-(ω -(4-гидроксиарил)алкил)селеносульфатов, ω -(4-гидроксиарил)алкансульфонатов натрия, ω -(4(2)-гидроксиарил)алкилтио(селено, теллури)алкановых кислот и их солей. Синтезирована библиотека гидрофильных производных алкилированных фенолов.

В рядах синтезированных соединений выявлены агенты, обладающие выраженной противовоспалительной, гипогликемической, гепатопротекторной, противоопухолевой и геропротекторной активностью, кардиопротекторными и радиозащитными свойствами.

Предложен новый эффективный индуктор системы Keap1/Nrf2/ARE.

Разработан способ экспресс-скрининга потенциальных антиоксидантов с использованием модели Cu^{2+} -индуцированного окисления выделенных ЛНП.

По теме диссертационного исследования оформлены 2 патента РФ, которые подтверждают возможность практического применения полученных Н.В. Кандалинцевой результатов.

Диссертация Н.В. Кандалинцевой состоит из введения, литературного обзора, обсуждения полученных результатов, экспериментальной части, выводов, списка литературы и приложений. Работа изложена на 377 страницах машинописного текста, содержит 131 схему, 35 рисунков, 63 таблицы, список цитируемой литературы (495 литературных источников).

Литературный обзор (глава 1) посвящен алкилфенольным антиоксидантам и синтезу S-, Se-, Te-содержащих производных в качестве гидрофильных полифункциональных антиоксидантов. Представлен механизм действия и факторы, влияющие на эффективность фенольных антиоксидантов. Обоснована актуальность расширения списка гидрофильных фенольных антиоксидантов за счет синтеза соединений с полифункциональным механизмом антиокислительного действия.

Следует отметить, что обзор включает цитирование 325 литературных источников, порядка 40 ссылок за последний 10-летний период, из них 8 ссылок за период 2015–2019 гг.

Раздел «Обсуждение результатов» включает обсуждение синтетической и аналитической части работы, связи структуры соединений с проявляемой антиоксидантой и биологической активностью.

В главе 2 представлены результаты по определению оптимальных условий синтеза галогенидов S-(ω -(гидроксиарил)алкил)изотиурония. В результате получены ряды структурно-связанных соединений с различиями в степени экранированности фенольной ОН-группы, в длине и строении углеводородной цепи между ароматическим и изотиуриониевым фрагментом, в числе и строении N-заместителей и природе галогенид-иона, в положении заместителя, несущего изотиуриониевую группу, относительно фенольной ОН-группы, а так же в числе фенольных гидроксильных групп. Автором подробно изучены химические свойства галогенидов S-(ω -(4(2)-гидроксиарил)-алкил)изотиурония (действие на них галогеноводородных кислот, щелочной гидролиз, окисление, синтез на их основе S-содержащих производных).

Синтезу и свойствам S-(ω -(гидроксиарил)алкил)тио(селено)сульфатов и ω -(гидроксиарил)алкансульфонатов натрия и производных на их основе посвящена глава 3. Диссертантом разработаны эффективные методики синтеза указанных производных.

В главе 4 представлены синтез и свойства S-, Se- и Te-содержащих аналогов фенозана калия – ω -(4(2)-гидроксиарил)-алкилтио(селено, теллура)алкановых кислот и их солей. Наличие карбоксилатного аниона в структуре последних обеспечивает им хорошую растворимость в водных средах – сопоставимую с таковой для аналогичных тиосульфатов и сульфонов и более высокую, чем у соответствующих галогенидов изотиурония. Автору удалось получить структурные аналоги фенозана калия, которые превосходят его по способности ингибировать окислительные процессы в реакциях с активными радикалами и с гидропероксидами.

Антирадикальные и брутто-ингибирующие свойства синтезированных в диссертационной работе соединений рассмотрены в главе 5. Противокислительные свойства синтезированных соединений были изучены в различных модельных системах,

но поскольку основной потенциальной областью применения синтезированных производных замещенных фенолов является ингибирование процессов перекисного окисления в биологических системах, автор заострил внимание на экспериментальных системах, основанных на окислении метил(этил)олеатов как модельных липидных субстратов.

Глава 6 посвящена биологической активности синтезированных соединений. На большом спектре соединений изучено влияние строения гидрофильных алкилфенолов на проявление ими токсических свойств в отношении бактериальных культур *Ph. phosphoreum* (ID₅₀) и лабораторных мышей (LD₅₀). Результаты проведенных исследований свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований синтезированных соединений в качестве фармацевтических субстанций лекарственных препаратов для терапии свободнорадикальных патологий.

В экспериментальной части (глава 7) представлены методики синтеза и идентификации синтезированных соединений. Экспериментальные результаты получены с использованием комплекса актуальных физико-химических методов анализа (ВЭЖХ, масс-спектрометрия, ИК-спектроскопия, спектроскопия ЯМР на ядрах ¹H, ¹³C, ⁷⁷Se, ¹²⁵Te, элементный анализ, рентгеноструктурное исследование). Свойства синтезированных соединений изучены с привлечением манометрического, титриметрического, спектрофотометрического и биолуминесцентного методов. Достоверность результатов, полученных в ходе выполнения представленного исследования и сформулированных на их основе выводов, сомнений не вызывает.

Выводы о проделанной работе соответствуют изложенному материалу и свидетельствуют о решении задач и достижении цели диссертационного исследования.

В Приложении к диссертационной работе приводятся сведения, подтверждающие возможность практического применения полученных автором научных результатов (Акт внедрения, отчет о фармакологических испытаниях).

Автореферат, как по своей структуре, так и по сути изложения материала соответствует обсуждению основных результатов, описанных в диссертации.

По работе имеется **ряд вопросов и замечаний**:

1. Литературный обзор сложно назвать обзором современного состояния исследований по данной проблеме: лишь 10% использованных в обзоре ссылок относятся к периоду последнего десятилетия.
2. Следовало бы более подробно обосновать выбор функционализации фенолов и с точки зрения антиоксидантных свойств, и с точки зрения гидрофильности.
3. В обсуждении результатов часто не приводятся выходы продуктов, например, нет описания галогенпроизводных **80-96** (в экспериментальной части также не представлены выход и спектральные характеристики этих соединений); не указан выход сульфонатов **202-213** (стр. 140).
4. Не всегда дается информация о гидрофильности (водорастворимости) синтезированных соединений. В частности, на стр. 90 автор указывает, что «Все изотиурониевые соединения обладают водорастворимыми свойствами» (был синтезирован ряд галогенидов S-(ω-(гидроксиарил)алкил)изотиурония **106-125**). Однако в таблице 2-4 приводятся данные о растворимости в воде только нескольких галогенидов S-(ω-(4-гидроксиарил)алкил)изотиурония. Это также относится к бисфосфонатам **160-162**, селенидам **193-199**, сульфонатам **202-213**.

5. В таблице 2-8 «Условия и результаты взаимодействия хлорида S-(3-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил)изотиурония (**106a**) с гидроксидом натрия (стр. 107) продемонстрировано, что увеличение объемной доли воды привело к увеличению выхода тиола **128** до 98 %. Проводили ли эту реакцию только в водной среде? И почему эти условия не использовали для синтеза других производных, например, в синтезе бутилсульфидов (**140**, **143**, **152**, **154**)?
6. Автором были синтезированы бисфосфонаты **160–162** с хорошим выходом (93%), но, к сожалению, их свойства и дальнейшее назначение не обсуждается.
7. Диссертантом обнаружен удивительный факт для S-(ω -(гидроксиарил)алкил)тиосульфатов натрия: *орто*-дизамещенные тиосульфаты **168** и **170** растворяются в воде существенно лучше (15 г и 25 г на 100 г H₂O, соответственно), чем их *орто*-незамещенный аналог (стр. 125). В тоже время для натриевых и калиевых солей **294–306** на основе ω -(3-(4-гидроксиарил)пропилтио(селено, теллуридо) алкановых кислот растворимость ди-*трет*-бутилзамещенных солей примерно в 2-4 раза меньше, чем *орто*-незамещенных соединений (при комнатной температуре 5–10 г на 100 г H₂O против > 20 г/100 г H₂O). Соли изотиурония, полученные на основе галогенпроизводных *орто*-ди-*трет*-бутилзамещенных фенолов, также обладают меньшей растворимостью в воде, чем соли изотиурония с меньшим экранированием фенольной ОН-группы. Автор предполагает, что это связано с бифильным строением S-(ω -(гидроксиарил)алкил)тиосульфатов натрия и, соответственно, их склонностью к мицеллообразованию в водных растворах. Но, наверно, можно говорить о бифильном строении и для натриевых и калиевых солей **294–306** на основе ω -(3-(4-гидроксиарил)пропилтио(селено, теллуридо) алкановых кислот? Как диссертант представляет себе процесс мицеллообразования этих соединений в воде?
8. В продолжение предыдущего вопроса, почему в отличие от галогенидов изотиурония, тио(селено)сульфатов и сульфонов ω -(4-гидроксиарил)алкильного ряда соответствующие им тио(селено)алкановые кислоты не проявляют выраженной гидрофильности?
9. Для оценки антиоксидантных свойств использовались различные модели. Как согласуются данные по антипероксидной активности с биологическими испытаниями?
10. Как можно объяснить, что токсичность гидрофильных производных алкилфенолов в отношении бактериальных культур *Photobacterium phosphoreum* и лабораторных животных (мыши) снижается при удалении *трет*-бутильных *орто*-заместителей и их замене на менее разветвленные группы? Этот вопрос возник, поскольку группой ученых под руководством член-корр. РАН А.В. Кучина было показано, что введение в молекулу замещенных фенолов второго объемного заместителя (изоборнильный фрагмент) в *орто*-либо *пара*-положение способствует снижению токсичности [О.Г. Шевченко, С.Н. Плюснина, Е.В. Буравлев, И.Ю. Чукичева, И.В. Федорова, О.В. Щукина, А.В. Кучин. Закономерности «структура–гемолитическая активность» производных изоборнилфенолов // Изв. АН. Серия хим. 2017. № 10. С. 1881-1890].
11. В работе присутствует ряд логических и смысловых неточностей и несоответствий, таких как:
- на стр. 89 и 99 соединение **116b** имеет разную структуру;
- на стр. 94, схема 2-7 под соединением **126** обозначен алканол и по тексту алканол, но на схеме 2-9 стр. 95 под номером **126** обозначен тиол. В таблице 2-5 (стр. 96) данный тиол обозначен под номером **130**;

в таблице 2-5 (стр. 96) соединение 3-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенил)пропанол-1 имеет номер (20), а в таблице 2-6 – (99);

некорректное название соединения **81с** – «стр. 124: «На примере превращения иодпропана **81с**...», то же самое замечание относится к стр. 131, 132, рисункам 3-1, 3-2, 3-3 соединения названы: хлорпропан **81а**, бромпропан **81b** и иодпропан **81с**;

Указанные замечания ни в коей мере не снижают ценности и значимости выполненных исследований, а возникшие вопросы лишь подтверждают интерес к данному направлению изысканий.

В диссертационной работе Н.В. Кандалинцевой представлен огромный массив экспериментальных данных по халькогенсодержащим производным алкилированных фенолов: их синтезу, свойствам и биологической активности. Это законченное многоплановое исследование, выполненное на высоком теоретическом и экспериментальном уровне. По сути, представленная диссертационная работа является учебным методическим пособием, которое, несомненно, будет востребовано для дальнейших изысканий, проводимых не только в современной органической химии, но и биоорганической и медицинской химии.

Результаты диссертационной работы Н.В. Кандалинцевой опубликованы в ведущих российских и зарубежных профильных периодических изданиях (32 статьи), индексируемых в международных базах данных, подготовлены 2 монографии. Экспериментальные исследования многократно докладывались на международных и всероссийских конференциях, симпозиумах и съездах.

Результаты представленной диссертации соответствуют паспорту специальности 02.00.03 – Органическая химия (химические науки), области исследований: п. 1 «Выделение и очистка новых соединений»; п. 3 «Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул»; п. 7 «Выявление закономерностей типа «структура – свойство». п. 8 «Моделирование структур и свойств биологически активных веществ».

Экспериментальное исследование Кандалинцевой Н.В. находится в рамках реализации приоритетов стратегии научно-технологического развития Российской Федерации: переход к персонализированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровьесбережения, в том числе за счет рационального применения лекарственных препаратов (прежде всего антибактериальных); переход к высокопродуктивному и экологически чистому агро- и аквахозяйству, разработку и внедрение систем рационального применения средств химической и биологической защиты сельскохозяйственных растений и животных, хранение и эффективную переработку сельскохозяйственной продукции, создание безопасных и качественных, в том числе функциональных, продуктов питания.

Диссертационная работа Кандалинцевой Натальи Валерьевны на тему «Гидрофильные халькогенсодержащие производные алкилированных фенолов: синтез, свойства, антиокислительная и биологическая активность», представленная на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.03 – Органическая химия по своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости полученных результатов полностью соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением

