

О Т З Ы В

официального оппонента на диссертационную работу

Шариповой Дилрабо Азизбековны

на тему: «Синтез и исследование аминокислотных производных фуллерена C_{60} обладающими антивирусными свойствами в отношении вируса птичьего гриппа А/Н5N1», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – органическая химия

В настоящее время нанохимия интенсивно развивается благодаря систематического исследования материалов на основе углерода, в частности, таких как фуллерены, нанотрубки, графит и графен для проведения целенаправленных исследований по изучению методов синтеза различных производных C_{60} , а так же исследование их биологических свойств. Такие исследования позволяют расширить представления о механизме образования производных C_{60} , их строение, свойствах и осуществлять целенаправленный синтез и условия синтеза новых производных, обладающих уникальными свойствами. Получение водорастворимых соединений фуллеренов и синтез их производных на основе аминокислот и пептидов является важной проблемой органической химии. На основе этого синтезированы аминокислотные и производные C_{60} , проведены физико-химические и биологические исследования на примере антивирусных свойств против заболевания гриппа.

Целью настоящей работы является синтез, физико-химические и биологические исследования фуллера C_{60} аминов, аминокислот и их композиций, изучение их структурной организации и развитию подходов к созданию антивирусных препаратов.

На защиту вынесены следующие основные положения:

- Синтезированные новые алкилдиамино-, гетероамино-, α -L-аминокислотные, пептидные производные фуллерена C_{60} и их композиции, которые способны подавлять вирус птичьего гриппа А/Н5N1. Антивирусный эффект достигается в результате сочетания C_{60} с аминокислотами и их композиций.

- Установлено, что синтезированные соединения: $N,N-C_{60}(H)_8[L-Lys-ONa]_4 \cdot 10H_2O$, композит $N,N-C_{60}(H)_5[(Gly-ONa)_3(L-Lys-ONa)_2] \cdot 10H_2O$ и композит $N,N-C_{60}(H)_7(Gly-ONa)_3(L-Asp-ONa)_2 L-Arg-ONa \cdot 10H_2O$ являются хорошими вируснейтрализующими соединениями, способными в условиях *in vitro* на примере противовирусной способностью подавлять репликацию вируса А/Н5N1 птичьего гриппа.

• Подбор условий синтеза ряда модифицированных производных фуллерена C_{60} , в том числе, C_{60} аминокантипирин, $C_{60}Gly-OH$, $C_{60}Ala-OH$, $C_{60}Gly-OMe$, C_{60} диаминогексан-1,6, C_{60} карбонилхлорид, C_{60} карбамил-L-Ala-OH, $C_{60}-\beta-Ala-OH$, $N,N-C_{60}(H)_8[L-Lys-ONa]_4 \cdot 10H_2O$, композит $N,N-C_{60}(H)_5[(Gly-ONa)_3(L-Lys-ONa)_2] \cdot 10H_2O$, композит $N,N-C_{60}(H)_7(Gly-ONa)_3(L-Asp-ONa)_2L-Arg-ONa \cdot 10H_2O$ и др. являются новыми соединения с хорошими выходами и высокой чистоты и в литературе неописанными веществами.

• Строение, идентичность и молекулярный состав полученных соединений, исследованы методами ИК-, ЯМР 1H ЯМР, ^{13}C ЯМР, Масс-спектрометрии и рентгенографии.

Научная новизна диссертационной работы.

• Изучены реакции фуллерена C_{60} с аминокислотами и их композиции с алкилдиаминными и пептидами в щелочном растворе диметилформаида с арилгалогенидами.

• Установлено, что фуллерен C_{60} с аминокислотами и органическими аминами образует устойчивые аддукты.

• Синтезированные производные фуллерена C_{60} на основе C_{60} и аминокислотами и их композиции, алкилдиаминными и пептидами растворимые в диметилсульфоксиде и в воде.

• Строение синтезированных аминокислотных производных фуллерена C_{60} изучены физико-химическими методами исследования.

• Проведены биологические испытания синтезированных аминокислотных производных C_{60} и их композиты, выявлена их биологическая активность на примере противовирусной способности подавлять репликацию вируса A/H5N1 птичьего гриппа.

Практическая значимость полученных результатов. Разработаны лучшие методы синтеза аминокислотные, их композитные, алкилдиаминные и пептидные производные C_{60} , которые растворимы в воде и диметилсульфоксиде. Получены аминокислотные композиты и органические амины фуллерена C_{60} , которые могут быть использованы в органической химии, нанохимии и как лекарственные препараты в фармакологии, медицине и химии углерода.

Внедрение результатов исследования. Данные диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры органической химии химического факультета Таджикского национального университета и используются при чтении специальных курсов, выполнении курсовых, дипломных, магистерских и исследовательских работ студентами и соискателями. Результаты проведенного исследования также могут быть

использованы в современной медицине, нанохимии, химии аминокислот и пептидов.

Личный вклад соискателя. Соискателем сформулированы цели и задачи исследования, поиск и анализ научной литературы по теме диссертации, интерпретация и обработка экспериментальных результатов, сформулированы выводы. Все экспериментальные данные получены лично автором или при его непосредственном участии, оформлены в виде публикаций.

Публикации и апробация результатов диссертационной работы. По материалам диссертации опубликованы 7 научных статей в ведущих рецензируемых научных журналах рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией Республики Таджикистан и Российской Федерации, а также 8 тезисов докладов в сборниках Международных, Республиканских и региональных конференций.

Структура и содержание диссертации. Диссертационная работа Шариповой Д.А. изложена на 131 странице компьютерного набора, содержит 6 таблиц, 27 рисунков, 5 схем и 13 фигур. Работа состоит из введения, четырёх глав- литературный обзор, обсуждения научных результатов, биологические свойства фуллероаминокислот, экспериментальная часть, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 141 источник. Библиографическая запись. Структура и правила оформления.

Во введении обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель, задачи исследования, отражены научная новизна, теоретическая и практическая ценность исследования, защищаемые положения, перечислены научные конференции, на которых прошли апробацию материалы диссертации, указан личный вклад автора диссертации.

В первой главе даётся литературный обзор по теме диссертации, рассмотрены структура фуллеренов, строение фуллеренов, гидрофильность, свойства и биологической активности синтетических производных фуллеренов C_{60} , их растворимости и применения в области медицины, приведены сведения о фуллереновой коре, гидроксилсодержащей C_{60} , отличительные биосвойства фуллереновых соединений. Описаны токсические свойства фуллереновых соединений, а также фуллерен C_{60} аминокислоты и пептиды, и их особенности.

Вторая глава посвящена химическим свойствам фуллерена C_{60} , модификации фуллерена C_{60} аминокислотами, отличающимися строениями и функциональными свойствами. Разработан приемлемый экспериментальный метода, применяемый в синтезе фуллеро C_{60} с аминокислотами и

органическими аминосоединениями с разной степенью нуклеофильности. Количество аминокислоты присоединившейся к C_{60} , определяли с помощью раствора $AgNO_3$. Для подтверждения содержания приблизительного количества аминокислотных фрагментов, присоединившихся на поверхности фуллерена C_{60} , использовали предложенную автором произвольную формулу.

Рассматривается присоединение к фуллерену C_{60} алкилдиамино-, имино- и имидинокислот с разными молекулярными строениями нуклеофильностью и их физико-химические свойства структуры и конфигурационные особенности. Проблема селективности при функционализации фуллерена C_{60} и получение индивидуальных соединений требует однозначно определить число присоединившихся функциональных групп к C_{60} . Для решения данной проблемы диссертант использовал данные масс-спектрального анализа для определения молекулярной массы исследуемого соединения.

Придаётся особое внимание присоединения фуллерена C_{60} к лекарственному препарату с гетероциклическим строением, синтезу и физико-химическим исследованиям аминокислотных производных фуллерена C_{60} в виде композита, состоящего из разных α – аминокислот.

Приведена реакция хлоркарбонилирования C_{60} , устойчивость полученного продукта и его свойства. Синтез хлорангидрида фуллерена C_{60} осуществлен действием жидкого или газообразного фосгена на раствор фуллерена C_{60} .

Синтезированы новые производные C_{60} аминокислот содержащие из двух и трёх аминокислотных остатков в виде композитов. Для уточнения количеств приблизительно присоединившихся аминокислот на поверхности фуллерена использовали молекулярную массу, взятую из масс-спектрограммы

В третьей главе приводятся результаты биологического исследования. Рассматриваются цитотоксические свойства синтезированных некоторых фуллераминокислот и фуллераолигоаминокислот в виде композита. Обсуждаются результаты исследования вирулицидной активности полученных соединений в отношении вируса гриппа A / duck / Novocibirck / 56 / 05 (H5N1).

Цитотоксичность препаратов композитов $N,N-C_{60}(H)_5[(Gly_3-ONa)_3(L-Lys-ONa)_2] \cdot 10H_2O$ (I); $N,N-C_{60}(H)_7[(Gly-ONa)_3(L-Asp-ONa)_2(L-Arg-ONa)] \cdot 10H_2O$ (II) и $N-C_{60} [(L-Lys-ONa)_4]$ (III) была изучена на монослое культуры клеток Vero-E₆. Показано, что соединения I-III в концентрациях 50, 25, 12, 6.3

и 1.5 мг/мл не проявляли токсического действия на клетки Vero-E₆. Оценку цитотоксичности определяли колориметрическим способом.

Противовирусная активность соединений I-III в отношении вируса гриппа A/duck/Novocibirk/56/05(H5N1) изучена на монослое клеток Vero-E₆. Концентрация соединений I-III составляла 50.25, 12.6, 3.15 и 0.3 мкг/мл. Противовирусный эффект соединений I-III оценили по проценту жизнеспособных клеток, путём сравнения интенсивности окрашивания раствора в контрольных и опытных лунках на автоматическом спектрофотометре при длине волны 450 нм.

Обсуждаются результаты вирулицидной активности соединений I-III против вируса птичьего гриппа H5N1

В опыте использованы концентрации соединений 10.0 мг/мл–200.0 мкл раствора соединения с добавлением 100.0 мкл вирусосодержащего материала в исходной концентрации. Экспозиция с вирусосодержащим материалом проведена при комнатной температуре в течение 20 минут. По разнице титров вируса выявили, что вирулицидная активность обнаружена у соединения (III). На основе этих соединений можно создать новые противовирусные препараты.

Четвертая глава. В этой главе приведены способы синтезов натриевых и калиевых солей фуллерена C₆₀ с аминокислотами и соединения фуллерена с алкиламинами и гетероциклическими аминами. При синтезе использован L-аминокислоты и аминокислотные производные фирмы «Ренал» (Венгрия). Идентификация синтезированных соединений осуществлена с помощью ТСХ на пластинках Silyfol (Чехия) и D-Rieselgel 60 (Merck) в различных хроматографических системах. Электрофорез проводился на бумаге ватман ММ в буфере ТЭА-аммиак-МеОН-вода при рН 11-12, 400V. ИК-спектры записывали на приборе SHIMADZUFTIR Measurement. Молекулярный вес был установлен с помощью MALDI-TOF. Спектры ¹H и ¹³C ЯМР получены на спектрофотометре BrukerAM-300 в CDCl₃.

Идентификация аминокислотных остатков, соединений 1-4 подвергалась кислотному гидролизу в 6 н и 12 н. HCl в запаянной ампуле при 120°C в течение 20 часов.

Считаю, что содержание диссертационной работы «Синтез и исследование аминокислотных производных фуллерена C₆₀ обладающими антивирусными свойствами в отношении вируса птичьего гриппа А/Н5N1», соответствует паспорту специальности 02.00.03- органическая химия:

п.1. Изучение строения и свойств органических соединений с использованием химических, физико-химических и физических методов исследования и теоретических расчётов. (Для подтверждения строения

вновь синтезированных им соединений, автор успешно применяет такие современные методы, как ИК-, масс- и ЯМР- спектральные методы анализа. Индивидуальность полученных соединений контролировалась тонкослойной хроматографией в различных хроматографических системах, которые не вызывают сомнений- глава 2 и 4 работы);

п.2. Изучение реакционной способности и механизмов реакций органических соединений. Теоретическое описание зависимостей между строением, свойствами и реакционной способностью органических соединений. (-найденны оптимальные условия взаимодействия фуллерена C_{60} с аминокислотами, впервые получен ряд аминокислотных производных фуллерена C_{60} ;

- разработаны способы направленного синтеза аминосоединениями с разной степенью нуклеофильности, получены алкилдиамино-, амино-, имино- и имидинокислотные производные фуллерена C_{60} с целью модификации и структурно – функционализации фуллерена C_{60} ;

- разработана методика присоединения фуллерена C_{60} к лекарственному препарату 1-фенил-2,3-диметил-4-аминопиразолон-5 (аминоантипирину) с гетероциклическим строением и установленны их состав и строение;

-изучены условия реакция получения $C_{60} (H)_2(COCl)_2$ по механизму хлоркарбонилирования на основе C_{60} и жидкого фосгена;

- разработана методика синтеза аминокислотных производных фуллерена C_{60} в виде композита содержащие два три аминокислотных остатков, установлено количество присоединившихся аминокислот на поверхности C_{60} - глава 2 и 4 работы);

п.3. Открытие новых реакций органических соединений и методов их исследования. (- разработан эффективный метод синтеза производных C_{60} с аминокислотами, алкилдиамино-, амино-,имино- и имидинокислот с разными молекулярными строениями и нуклеофильностью, 1-фенил-2,3-диметил-4-аминопиразолон-5(аминоантипирин), фосгеном и с композитами аминокислот. Нетоксичность и антивирусная активность и вирулицидное действие данных соединений позволяют разработать на их основе различные лекарственные препараты;

- синтезированные новые производные C_{60} с аминокислотами, алкилдиамино-, амино-, имино- и имидинокислот, и с композитами аминокислот, могут быть использованы в нанохимии и медицине для получения лекарственных средств- глава 3 работы);

п.4. Препаративная органическая химия, разработка методов органического синтеза, его теории и практики, молекулярный дизайн, комбинаторная химия. (три синтезированные соединения, относящиеся к

композитам аминокислот с фуллереном C_{60} , обладают выраженной противовирусной активностью в отношении вируса гриппа A/duck/Novocibirk/56/05(H5N1) в дозе 50.25, 12.6, 3.15 и 0.3 мкг/мл);

п.6. Промышленная органическая химия и научные основы технологии органического синтеза (результаты изучения нетоксичности композитов аминокислот с C_{60} и их антивирусное свойства, синтезированные новые аминокислотные, алкилдиамино-, amino-, имино- и имидинокислотные производные фуллерена C_{60} , могут быть использованы в медицине для получения новых противовирусных препаратов, как в виде индивидуального лекарства, так и в составе комплексной терапии- глава 3 работы).

Таким образом, представленная диссертационная работа Д.А. Шариповой выполнена на высоком научном уровне, приведенные в ней рисунки и таблицы позволяют глубже и нагляднее ознакомиться с обсуждаемыми результатами и является законченным научным исследованием. Выводы достаточно полно и правильно отражают основные достижения данного исследования. Соискателем выполнен большой объем экспериментальной работы. Давая, диссертационной работе в целом положительную оценку следует отметить некоторые недостатки:

1. На странице 30 приводятся антиоксидантные свойства фуллереновых соединений на примере $C_{60}OH_{24}$ и сравнивается с антиоксидантом бутилгидрокситолуолом. Однако существуют более мощные антиоксиданты превосходящие $C_{60}OH_{24}$ или бутилгидрокситолуол. Почему-то диссертант не приводила в этом разделе подобных антиоксидантов.
2. На странице 62 приводится ИК-спектр фуллера-N- $C_{60}(H)_3-[\beta-L-AlaONa]_3$ по качеству и оригинальности уступает другим подобным спектром. В нем интенсивность спектров из-за накладки друг с другом трудно интерпретируются.
3. На странице 85 диссертации показана схема реакции получения двух продуктов из C_{60} и аминокантипирина, т.е. 1-фенил-2,3-диметил-4-(N, N -бис-моно- C_{60} - пиразолон - 5 (1)- (монофуллеренантипирина)) и 1-фенил-2,3-диметил - 4-(N, N -бис - ди C_{60} - пиразолон - 5. Эти обе реакции нуклеофильного присоединения, разделены друг от друга с помощью колоночной хроматографии. Для достоверности результата разделения было-бы хорошо, если их разделили с помощью ВЭЖХ - хроматографии. Данный подход не вызывало бы сомнения.
4. В главе 2.5 приводится хлоркарбонилирование фуллерена C_{60} фосгеном. В результате получен мощный ацилирующий реагент хлорангидрид фуллерена, легко вступающий в реакцию с аминокислотами, пептидами, белками и

вообще с любыми нуклеофильными реагентами. Почему-то такая возможность диссертантом не учтена и не использована.

5. Диссертант синтезировала целый ряд аминокислотных, алкиламиновых и алкилиминовых производных фуллерена C₆₀. Однако автором не освещена корреляция этих соединений, степени нуклеофильности и реакционной способности этих двух разных по степени основности органических соединений.

6. В диссертации имеются некоторые грамматические ошибки и опечатки, которые до защиты необходимо исправить.

Отмеченные замечания носят частный характер и не влияют на общую, весьма положительную оценку диссертационной работы. Полученные автором результаты достоверны, выводы и заключения в основном обоснованы. Работа базируется на достаточном объеме экспериментальных данных, написана хорошо и в целом грамотно.

Общая оценка работы. Диссертационная работа Шариповой Дилрабо Азизбековны представляет собой законченное научное исследование, выполненное на высоком экспериментальном уровне. Она содержит новые научно-теоретические и практические результаты и положения, которые свидетельствуют об определенном личном вкладе соискателя в органическую химию. Сведение об опубликованных соискателем работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, достоверны, цитирование оформлено корректно, ссылки на авторов и соавторов оформлены в соответствии с критериями, установленными ВАК Республики Таджикистан.

Автореферат и опубликованные работы соответствуют основному содержанию диссертационной работы.

Диссертационная работа Шариповой Дилрабо Азизбековны на тему «Синтез и исследование аминокислотных производных фуллерена C₆₀ обладающими противовирусными свойствами в отношении вируса птичьего гриппа А/Н5N1», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03- органическая химия, является завершённой научно-квалификационной работой. Диссертационная работа соискателя по объёму, теоретической и практической значимости, новизне отвечает всем требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК при Президенте Республики Таджикистан от 26.11.2016 г. за № 505, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Её автор Шарипова Дилрабо Азизбековна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03- органическая химия.

Официальный оппонент, кандидат
химических наук, заведующий
клинической лабораторией
Государственного предприятия
Гастроэнтерологического института
Министерства здравоохранения и
социальной защиты
Республики Таджикистан



Самандаров Н. Ю.

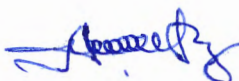
Контактные телефоны: (+992) 93 730 33 50
E-mail: nasrullo.samandarov@mail.ru
Адрес: 734025, г. Душанбе, ул. Маяковского 2.

Подпись кандидата химических наук, заведующего клинической
лабораторией Государственного предприятия Гастроэнтерологического
института Министерства здравоохранения и социальной защиты
Республики Таджикистан Самандарова Насрулло Юсуповича



заверяю:

Начальник ОК Государственного предприятия
Гастроэнтерологического института
Министерства здравоохранения и
социальной защиты
Республики Таджикистан



Ниязов А. Н.

«10» 11 2020 г.