

## ОТЗЫВ

официального оппонента по диссертационной работе

Шестопалова Михаила Александровича «Октаэдрические металлокластерные комплексы и перспективы их применения в биологии и медицине», представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.01 – неорганическая химия.

Производные переходных металлов играют важное значение для реализации большинства процессов, протекающих в живых организмах. Хотя содержание большинства переходных металлов в живых организмах очень мало и исчисляется долями процентов, их роль для реализации большинства процессов трудно переоценить. Более того, производные переходных металлов приобретают все большее значение для дизайна новых лекарственных средств широкого круга действия. Из числа наиболее потенциально значимых и перспективных областей применения производных металлов в медицине следует выделить создание контрастных реагентов для рентгеновской и магниторезонансной томографии, фотодинамической терапии, противоопухолевых препаратов. Однако следует заметить, что большинство исследований проводится на основе соединений, содержащих один или два атома металла в соответствующем лигандном окружении. Значительно меньше раскрыт потенциал применения кластеров переходных металлов (за исключением разве что ферредоксинов - железо-сульфидных кластеров), хотя подобные соединения обладают комплексом различных свойств, которые делают их весьма перспективными соединениями для создания новых лекарственных средств. В частности, высокая концентрация тяжелых атомов в подобных соединениях позволяет создавать на их основе реагенты для рентгеновской и магниторезонансной томографии. Возможность кластеров переходных металлов генерировать синглетный кислород является предпосылкой создания новых препаратов для фотодинамической терапии. Относительно низкие потенциалы окислительно-восстановительных реакция с участием кластеров переходных металлов позволяют их использовать как переносчики электронов. В связи с этим, диссертационная работа Шестопалова М.А., направленная на дизайн

новых халькогенидных и галогенидных кластеров молибдена и рения, а также материалов на их основе на их биологические свойства для выявления возможности их применения в различных областях биологии и медицины, является **актуальной и значимой**.

Диссертационная работа Шестопалова М.А. состоит из введения, трех глав, заключения и списка литературы, изложена на 401 странице, содержит 249 рисунков и 78 таблиц. Первая глава изложена на 98 страницах и посвящена анализу литературных данных по галогенидным и халькогенидным комплексам молибдена и вольфрама, а также халькогенидным комплексам рения и технеция. Отдельное внимание уделено гетерометаллическим октаэдрическим кластерам. Вторая глава, изложенная на 32 страницах, содержит описание экспериментов, проведенных в ходе выполнения работы. В частности, представлены экспериментальные данные по синтезу новых октаэдрических комплексов рения и молибдена, описаны подходы к созданию новых материалов на их основе и исследованию их биологических свойств. В третьей главе, изложенной на 207 страницах, проведено обсуждение результатов, полученных автором. Список использованной литературы содержит 614 наименований.

В ходе выполнения работы Шестопаловым М.А. был получен ряд интересных значимых результатов. В частности, впервые обнаружена высокая рентгеноконтрастность водных растворов ряда гексацианидных кластерных комплексов молибдена и рения, выявлены препараты-лидеры на основе кластеров с ядром состава  $[\text{Re}_6\text{Te}_8]^{2+}$ ,  $[\text{Re}_6\text{Se}_8]^{2+}$ ,  $[\text{Re}_6\text{S}_8]^{2+}$  и  $[\text{Mo}_6\text{I}_8]^{4+}$ . В развитие данного наблюдения автором в качестве рентгеноконтрастного препарата при ангиографическом исследовании крыс впервые был использован водный раствор одного из кластеров рения, что позволило получить изображения высокого качества и четкости кровеносных сосудов малого диаметра. Несомненно, данная находка имеет значительные перспективы в части создания новых рентгеноконтрастных реагентов. Дополнительным свидетельством можно считать и проведенное автором исследование токсикологических свойств ряда гексацианидных кластерных комплексов рения на моделях *in vitro* и *in vivo*, в результате чего наглядно показано, что наименьшую токсичность проявляет комплекс, содержащий атомы теллура в

кластерном ядре. Значение LD<sub>50</sub> последнего составляет более 1000 мг/кг, что позволяет отнести его к малотоксичным соединениям.

Несомненно, что одним из этапов создания лекарственных средств на основе октаэдрических кластеров молибдена и рения является придание данным комплексам водорастворимости. Для этого автором проведено варьирование лигандного окружения кластеров рения с использованием как фосфиновых и азотистых соединений. При этом для синтеза комплексов с высокогидрофильными фосфинами автором был использован оригинальный метод, основанный на гидролизе нитрильных групп трис(2-цианоэтил)фосфина в процессе гидротермального синтеза комплекса. При этом на моделях *in vitro* и *in vivo* показано, что фосфиновые кластеры рения обладают значительно меньшей токсичностью в противоположность аналогичным комплексам с 1,2,3-бензотриазолом.

Отдельным достижением диссертационной работы Шестопалова М.А. является синтез устойчивого 23-электронного кластера молибдена с ядром [Mo<sub>6</sub>I<sub>8</sub>]. Автором найден оригинальный способ получения данного комплекса, заключающийся в использовании электрохимического окисления соответствующего 24-электронного комплекса. Это позволило провести комплексное изучение свойств 23-электронного кластера молибдена, в частности показать наличие эффекта Яна-Теллера в кристалле, а также исследовать методом магнитной восприимчивости и ЭПР спектроскопии.

Дополнительная значимость диссертационной работы Шестопалова М.А. заключается в проведенном исследовании возможности иммобилизации октаэдрических комплексов молибдена и рения на полимерных матрицах с целью придания гидролитической стабильности с одной стороны и придания новых свойств с другой. Одним из подходов, апробированным автором, стало создание координационных полимеров на основе октаэдрических комплексов молибдена и рения. Однако более продуктивным стал использование готовых органических матриц, в роли которых автором был апробирован широкий круг полимеров: полистрилсульфонат натрия, полистирол, полиметилметакрилат и фторопласт. При этом свойства материала существенно зависят от типа матрицы и выбора кластера,

позволяя селективно настраивать люминесцентные и фотосенсибилизационные свойства. Несомненно, что выявление подобных закономерностей является фундаментальной ценностью данной работы. В частности, автором впервые были получены водорастворимые полимерные материалы содержащие кластерные комплексы молибдена, иммобилизованные на матрице полистиролсульфоната натрия, обладающих низкой темновой и фотоиндуцированной цитотоксичностью. Существенное улучшение люминесценции удалось достигнуть автору при связывании кластеров молибдена с пара-толуолсульфонатным остатком и полиметилметакрилата и фторопласта Ф-32Л, что позволило продемонстрировать возможность применения подобных материалов в качестве самоочищающихся покрытий и сенсоров на кислород.

Автором впервые изучена возможность образования соединений типа гость-хозяин октаэдрических кластерных комплексов с мезопористым металл-органическим координационным полимером MIL-101, способным генерировать активные формы кислорода внутри клеток, обладая при этом умеренной фотоиндуцированной цитотоксичностью.

Шестопаловым М.А. впервые проведено изучение возможности иммобилизации октаэдрических кластерных комплексов молибдена на микро- и наночастицах диоксида кремния. Хотя автор отмечает, что при этом имеет место частичный или полный гидролиз, полученные материалы проявляют интересные биологические свойства, существенно определяющиеся размером и морфологией частиц. Так, автором установлено, что уменьшение размера частиц диоксида кремния/кластер, существенно увеличивает эффективность генерации синглетного кислорода. Более того, высокая люминесценция микро- и наночастиц SiO<sub>2</sub>/кластер позволила автору наглядно продемонстрировать, что подобные агрегаты способны проникать в клетку и находиться в ней в течение продолжительного времени, что может быть использовано для трансдукции белков.

Таким образом, совокупность результатов, полученных Шестопаловым М.А. в ходе выполнения диссертационной работы, позволяет квалифицировать их как **крупное научное достижение**, вносящей существенный вклад в развитие неорганической химии.

Полученные результаты являются **достоверными**. Все новые соединения надежно охарактеризованы набором спектральных данных, включая спектроскопию ЯМР, включая твердотельную CP-MAS-спектроскопию, ИК-спектроскопию, состав подтвержден данными элементного анализа, атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой, масс-спектроскопией высокого разрешения. Структура большинства новых соединений была подтверждена методом рентгеноструктурного анализа. Для изучения свойств полученных материалов был использован комплекс современных методов исследования, включая электронную спектроскопию поглощения и люминесценции, оптическую микроскопию, электронную микроскопию, термогравиметрический анализ, гель-проникающую хроматографию, рентгенофлуоресцентный анализ с использованием синхротронного излучения и другие.

Вместе с тем, в диссертационной работе имеются небольшие недостатки.

1. Рентгеноконтрастные свойства кластерных комплексов молибдена и рения были оценены с использованием в качестве положительного контроля препарат Йогексол. Однако следует отметить, что препарат Йогексол, в отличие от рассматриваемых кластеров молибдена и рения, не является ионным соединением, практически не диссоциирует в растворе, то есть не обладает свойством существенно повышать осмолярность. Поэтому при обсуждении результатов, приведенных в диссертации на стр.147, рисунок 55, таблица 11 следует рассматривать осмолярные концентрации, то есть учитывать количество ионов, образующихся при диссоциации кластеров. На мой взгляд, более корректным было бы использование в качестве положительного контроля натрия амидотризоат, также относящееся к ионным рентгеноконтрастным реагентам.
2. На стр.133, 134 диссертации в разделе 2.3.4., абзац 2 приводится ссылка на раздел 2.4.1., что затрудняет восприятие диссертационной работы.
3. Оценка генерации синглетного кислорода кластерными комплексами (стр. 138) была проведена с использованием 2,3-дифенил-*пара*-диоксана с использованием метода ЯМР  $^1\text{H}$  спектроскопии. Поскольку метод ЯМР спектроскопии относится в первую очередь к методам установления

структуры вещества, было бы более правильным применять методы хроматографии (ГЖХ или ВЭЖХ).

4. На стр. 163 и стр. 177 автором проведена оценка токсических свойств ряда кластеров рения. Согласно требованиям надлежащей лабораторной практики (GLP) оценка острой токсичности должна быть проведена не только с использованием контрольной группы, но и интактной группы животных.
5. В таблице 18, приведена динамика распределения кластерного комплекса рения по внутренним органам мышей. Из обсуждения данных непонятно, проведено ли данное исследование на фоне контрольной и интактной группы животных или нет.
6. Не приведена нумерация полученных соединений, что сильно затрудняет восприятие полученных результатов.
7. Автор достаточно вольно варьирует термины жизнеспособность и выживаемость (см. вертикальная шкала рисунков 102 и 105). Кроме того, жизнеспособность клеток линии Нер-2 в МТТ-тесте, выраженная в процентах, в ряде экспериментов имеет значение более 120 (стр. 201, рис.102, справа, стр.202 рис.103, справа, стр. 203, рис.104, слева), что требует отдельного пояснения.
8. На стр.198 при обсуждении токсичности кластерных комплексов рения приведена ссылка на таблицу 26, в то время как в таблице 26 на стр. 189 представлены данные об рентгенолюминесцентных свойствах кластеров рения.

Однако сделанные замечания не снижают высокой оценки диссертационной работы Шестопалова М.А. Автором проведено интересное, актуальное, хорошо спланированное исследование, направленное на получение новых материалов на основе халькогенидных и галогенидных кластеров молибдена и рения и исследование их биологических свойств. Содержание диссертационной работы полно представлено в 32 публикациях в высокорейтинговых российских и международных журналах. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Диссертационная работа Шестопалова М.А., посвященная синтезу новых октаэдрических кластеров рения и молибдена, созданию новых материалов на их основе и изучению их биологических свойств полностью соответствует паспорту специальности 02.00.01 – Неорганическая химия.

Диссертационная работа Шестопалова Михаила Александровича «Октаэдрические металлокластерные комплексы и перспективы их применения в биологии и медицине», представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.01 – неорганическая химия, является законченным научно-квалификационным исследованием, которое по актуальности, объему экспериментального материала, новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК РФ. Шестопалов Михаил Александрович заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.01 – Неорганическая химия.

Заведующий технологической лабораторией  
Института органической и физической химии  
им.А.Е.Арбузова – обособленного структурного  
подразделения Федерального исследовательского центра  
«Казанский научный центр Российской академии наук»  
Доктор химических наук, доцент

 В.А. Милуков

Подпись <u>Милуков</u>
ЗАВЕРЯЮ
НАЧАЛЬНИК ОТДЕЛА ПРОТОКОЛА И ДЕЛОПРОИЗВОДСТВА <u>Михаил</u>
« 13 » 12