

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Пановой Валерии Анатольевны

на тему «Синтез замещенных пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов – потенциальных ингибиторов моноаминоксидазы»,

представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности
1.4.3 – «Органическая химия»

Актуальность работы. Гетероциклические соединения представляют собой привилегированную структурную группу с точки зрения медицинско-химического дизайна новых лекарственных кандидатов. В частности, производные пиразолов и хиноксалинов обладают перспективными фармакологическими свойствами, описанными в актуальных научных и патентных источниках. Не меньший интерес вызывают их конденсированные производные – пиразолохиноксалины, которые могут рассматриваться в качестве биоизостерных аналогов целого ряда известных фармакофорных структур. В частности, замещенные пиразоло[1,5-а]хиноксалины обладают потенциально перспективным профилем фармакологической активности, являясь при этом малоизученными соединениями с точки зрения синтеза и биологической активности. Особую ценность представляют методы, позволяющие получать пиразоло[1,5-а]хиноксалины с разнообразным профилем замещения вокруг центрального молекулярного скелета. В том случае, если для подобных новых структур удастся показать высокий уровень биологической активности в отношении актуальных биологических мишеней, разработка переходит на новый теоретический и прикладной уровень.

Рецензируемая диссертационная работа посвящена разработке новых методов получения пиразоло[1,5-а]хиноксалинов с разнообразными заместителями вокруг центрального молекулярного фрагмента, а также исследованию их ингибирующей активности в отношении фермента моноаминоксидаза. В связи с вышесказанным, работа является высокоактуальным современным исследованием, открывающим перспективы создания нового структурно-функционального хемотипа таргетных лекарственных соединений для терапии социально-значимых патологий.

Цель работы. Разработка нового подхода к синтезу замещенных 5-гидрокси-пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов и *NH*-пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов и изучение их биологической активности.

Структура и объем работы. Диссертация построена по традиционной схеме и состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка цитируемой литературы, включающего 131 наименование. Работа изложена на 141 странице печатного текста и содержит 74 схемы, 20 рисунков и 7 таблиц.

Во введении автор определяет актуальность и цели поставленного исследования, а также кратко характеризует полученные результаты, составляющие научную новизну и практическую значимость работы.

В литературном обзоре проанализирован обширный массив современных научных источников, посвященный методам синтеза целевых пиразоло[1,5-а]хиноксалинов, а также их предшественников – производных пиразола и хиноксалина. Литературный обзор содержателен, хорошо и логично структурирован, написан хорошим академическим стилем, дает достаточно полное представление о современном состоянии изучаемой проблемы. Следует отметить, что, несмотря на очевидную актуальность, пиразоло-хиноксалинам до сих пор посвящено весьма незначительное число синтетических работ, что делает информационно-аналитические исследования в этом направлении весьма актуальными.

В разделе «Обсуждение результатов» представлено основное содержание проведенного исследования, начиная с молекулярного моделирования ингибиторов моноаминоксидазы, продолжая детальным описанием синтетических этапов и заканчивая изложением биологических исследований. Докинг-исследование взаимодействия пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов с активным центром фермента позволяет сделать вывод о возможности эффективной стыковки, а также дает информацию о предпочтительных вариантах замещения вокруг центрального скаффолда. Синтетическая часть систематически описывает способ получения целевых соединений из исходных коммерчески доступных реагентов. Ключевые этапы этой работы – это синтез диарилпиразол-5-карбоксилатов, исследование вариантов их циклизации, ведущей к целевым пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4(5*H*)-онам, а также исследование вариантов дальнейшей химической модификации последних. В финальном разделе описано исследование 2-арилпиразоло[1,5-а]хиноксалин-4(5*H*)-онов в качестве новых ингибиторов моноаминоксидазы.

Экспериментальная часть диссертационного исследования состоит из нескольких разделов, в которых последовательно описаны приборы, методы анализа, а также методы синтеза и аналитические характеристики ключевых полученных соединений – этил диарилпиразол-5-карбоксилатов, 2-арилпиразоло[1,5-а]хиноксалин-4(5*H*)-онов и их производных, а также методики компьютерного и биологического экспериментов.

В заключительных разделах диссертации приводятся обобщающие выводы, список публикаций автора, списки сокращений и терминов, список литературы и благодарности.

Необходимо отметить ряд несомненных **положительных особенностей** рецензируемой работы. Во-первых, это современный концептуальный уровень. При безусловном доминировании органохимической проблематики и методологии, в работе реализована современная междисциплинарная исследовательская парадигма разработки новых потенциальных лекарственных соединений, основанная на сочетании трех технологических платформ – компьютерное моделирование, тонкий органический синтез, биологическое тестирование. В итоге не только успешно решены все научно-теоретические задачи, но и получен ряд перспективных прикладных результатов в сфере идентификации новых потенциальных лекарственных кандидатов.

Во-вторых, следует упомянуть привлечение самого современного высокотехнологичного инструментария для всех указанных платформенных уровней. Виртуальный поиск активных соединений рационализирован при помощи высокотехнологичных решений в области молекулярного докинга. Тонкий и систематический синтетический эксперимент дополнен исчерпывающим набором передовых инструментальных химико-аналитических исследований. Биологический этап построен на использовании современных молекулярно-биологических подходов.

В-третьих, следует отметить практически безупречную логику и систематичность всех этапов проведенного достаточно сложного и комплексного исследования. Все этапы разворачивались в должной последовательности, соответствующей проектной логике, а в необходимых случаях исследование велось в гибком параллельном или итеративном режиме.

В-четвертых, укажем на привлечение сторонних специализированных соисполнителей, что отличает современные междисциплинарные проекты. Можно сказать, что в исследовании участвовал настоящий оркестр высококвалифицированных разнопрофильных профессионалов при несомненной центральной роли исполнителя химико-синтетической партии.

В-пятых, следует отметить высокое качество оформления диссертации, в том числе графического иллюстративного материала, в частности, таблиц, схем и рисунков. Диссертация удачна как по содержанию, так и по оформительно-стилевому исполнению, что облегчает ее изучение.

Научная новизна рецензируемой работы заключается в получении новых научных данных о строении и реакционной способности ранее не описанных гетероциклических соединений. А именно:

- открыто неизвестное ранее нуклеофильное замещение пиразольного фрагмента в 1-*N*-арилпиразол-5-карбоксилатах на гидразин с образованием арилгидразинов;
- впервые разработан метод получения 5-гидроксипиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов с различными заместителями, позволяющих получать широкий спектр их структурных аналогов;
- предложен и экспериментально апробирован некаталитический метод синтеза *NH*-пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов, основанный на *N*-дегидроксилировании 5-гидроксипиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов;
- впервые проведено систематическое исследование закономерностей протекания алкилирования и ацилирования 5-гидроксипиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов и *NH*-пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов;
- впервые обнаружена высокая ингибирующая активность замещенных пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов в отношении ферментов моноаминоксидазы А и Б.

Практическая значимость. Практическая значимость работы заключается в том, что разработан новый подход к синтезу 40 новых, ранее не описанных в литературе производных пиразоло[1,5-а]хиноксалина с разнообразными заместителями вокруг центрального молекулярного скаффолда. Изучены закономерности проявления химических и биологических свойств полученных соединений. В частности, детально исследованы реакции восстановительного *N*-дегидроксилирования 5-гидроксипиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов, а также поведение соединений в реакциях восстановления, алкилирования и ацилирования. В биологической части работы была продемонстрирована высокая *in vitro* активность ряда полученных производных пиразоло[1,5-а]хиноксалина по отношению к рекомбинантным моноаминоксидазам А и Б человека. Установлено, что некоторые из соединений являются селективными ингибиторами указанных изоформ моноаминоксидазы в наномолярных концентрациях, что позволяет рассматривать их в качестве перспективной основы для дальнейшей разработки лекарственных средств. Потенциал полученных соединений не ограничивается указанным видом активности, поскольку полученные производные пиразоло[1,5-а]хиноксалина являются биоизостерными миметиками целого ряда описанных в литературе фармакофорных структурно-функциональных хемотипов.

Основные результаты, полученные автором представляют интерес для специалистов, работающих в области изучения химических и биологических свойств полифункциональных гетероциклических соединений, и могут быть использованы рядом ведущих отечественных научно-исследовательских организаций и университетов (например, ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН, ИОХ им. Н.Д. Зелинского РАН, ИНЭОС им. А.Н. Несмеянова РАН, РХТУ им. Д.И. Менделеева, Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Казанского (Приволжского) федерального университета, Университета Сириус и др.).

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений, поскольку они получены с применением современных спектральных методов (ИК, ¹H и ¹³C ЯМР, НМВС, NOESY), масс-спектрометрии высокого разрешения, элементного и рентгеноструктурного анализа, прошли глубокое рецензирование в ходе подготовки научных публикаций, а также экспертного обсуждения на профильных научных форумах. Сформулированные в работе выводы и положения подкреплены убедительными экспериментальными данными, наглядно представленными в тексте диссертации, таблицах и графических иллюстрациях.

Апробация работы. Основные результаты работы докладывались автором на трех научных конференциях: Всероссийская конференция «Химия нитросоединений и родственных

азот-кислородных систем (АКС-2019)», Москва, 2019; Международная научная конференция «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии», Екатеринбург, 2020; Международный Марковниковский конгресс по органической химии, Москва-Казань, 2019.

Публикации. Основные положения диссертационной работы опубликованы в 6 научных работах, включая 3 публикации в ведущих рецензируемых научных журналах, включенных в перечень ВАК при Минобрнауки России и международную систему цитирования Scopus, а также 3 работы, опубликованных в материалах научных конференций различного уровня.

Личный вклад автора. Автор лично осуществил эксперименты по синтезу соединений и исследованию их свойств, а также принял активное участие в анализе, обсуждении и интерпретации полученных данных.

Замечания по работе. Из обычного набора проблем, которые часто сопровождают кандидатские работы, следует отметить, пожалуй, лишь неединичные случаи грамматических ошибок и опечаток, порою досадных, а также стилистических погрешностей. На фоне значимых достоинств работы, в том числе прекрасного в целом оформления, эти презентационные проблемы не носят существенного характера.

Однако хотелось бы обратить внимание на некоторые вопросы, относящиеся к стратегии и методологии исследования в контексте разработки лекарств.

Во-первых, несколько туманно описаны основания для экспериментального исследования полученных соединений в качестве ингибиторов моноаминоксидазы. Из диссертации следует, что эти основания начинаются с молекулярного докинга, однако на практике докинг является инструментом тонкой настройки и интерпретации при поиске активных структур. Первичные основания в абсолютном большинстве случаев возникают при исследовании структурного подобия к известным активным соединениям. В данном случае эта часть осталась за рамками обсуждения, что позволительно для специальности «органическая химия», но выглядит концептуально-методическим пробелом с точки зрения поиска мишень-специфичных соединений.

Во-вторых, методологическим недостатком на этапе анализа и интерпретации биологических данных является достаточно простая, описательная, можно сказать тривиальная интерпретация закономерностей «структура-свойства» для ингибиторов моноаминоксидазы. Именно для такого анализа наиболее подходящим инструментом является молекулярный докинг, но, к сожалению, автор не использовал эту возможность, что выглядит особенно странным, учитывая доступность в его распоряжении соответствующей докинг-модели.

В-третьих, вызывает сожаление тот факт, что, получив и идентифицировав в результате прекрасно проведенного исследования ряд высокоактивных соединений-хитов с наномолярной активностью и высокой селективностью, которые вполне могли бы стать основой для поиска новых лекарственных кандидатов, исследователи не предприняли шагов для защиты интеллектуальной собственности на новый хемотип ингибиторов моноаминоксидазы. Вместо этого они опубликовали полученные данные в серии научных публикаций (к слову, весьма рейтинговых, что подтверждает тезис о перспективности), тем самым фактически исключив возможности их дальнейшего практической разработки в качестве лекарственных кандидатов.

В-четвертых, синтез новых структур, обладающих несомненным биоизостерным подобием к целому ряду известных лекарственных хемотипов, должен сопровождаться чуть ли не автоматическим анализом на предмет их потенциального структурного подобия к таким хемотипам. Такая процедура дает основания для быстрой и эффективной идентификации новых патентоспособных лекарственных аналогов, что многократно увеличивает потенциальную прикладную значимость проведенного исследования.

Впрочем, указанные замечания скорее носят характер рекомендаций на будущее, не влияя на общую высокую оценку работы Пановой В.А. Результаты и выводы, сделанные на основании экспериментальной работы, не вызывают сомнений.

Автореферат диссертации в полной мере отражает содержание и выводы диссертационной работы.

По результату рецензирования представленной к защите работы **Пановой Валерии Анатольевны** можно сделать следующее заключение: диссертация является законченной научно-квалификационной работой, которая позволила разработать эффективные методы синтеза новых производных пиразоло[1,5-а]хиноксалина с различными заместителями вокруг центрального молекулярного скаффолда, а также исследовать их химические, физико-химические и биологические свойства, что имеет большое значение для современных прикладных направлений химии, биологии и фармакологии, а также потенциал развития.

Рецензируемая диссертационная работа по тематике, методам и объектам исследования, представленным, на защиту новым научным положениям соответствует паспорту заявленной специальности 1.4.3 – Органическая химия. Рассмотренные в диссертации вопросы соответствуют следующим направлениям исследований, включенным в паспорт специальности 1.4.3 – Органическая химия: п.1. выделение и очистка новых соединений; п.3. развитие рациональных путей синтеза сложных молекул; п.7. выявление закономерностей типа «структура-свойства». По актуальности, новизне, уровню выполнения, объему, научной и практической ценности полученных результатов диссертация полностью отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям в «Положении о порядке присуждения ученых степеней», утвержденном постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (пункты 9-14), а ее автор **Панова Валерия Анатольевна** заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 – Органическая химия.

Официальный оппонент

Д.х.н., доцент, в.н.с. лаборатории медицинского оборудования в области ин витро диагностики
ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)»

Балакин Константин Валерьевич

16.02.2024

Адрес организации:
ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт»
(национальный исследовательский университет)
117303, г. Москва, ул. Керченская, д. 1А, корп. 1
Тел.: +7 (495) 408 45 54, E-mail: info@mipt.ru

