

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Пановой Валерии Анатольевны

на тему «Синтез замещенных пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов – потенциальных ингибиторов моноаминоксидазы», представленной на соискание
ученой степени кандидата химических наук по специальности

1.4.3 – «Органическая химия»

Актуальность работы. Интерес к химии пиразола и хиноксалина в последнее время значительно возрос. Производные пиразолов и хиноксалинов обладают широким спектром фармацевтической активности. Среди них известны селективные антагонисты толл-подобного рецептора TLR7, перспективные для разработки новых лекарственных средств, регулирующих активность иммунной системы. Структура 1-арилпиразола присутствует в таких лекарственных средствах, как ингибиторы циклооксигеназы-2 (Cox-2) и ингибиторы протеинкиназы, а также в противогрибковых препаратах. Пиразоло[1,5-а]хиноксалины являются малоизученными соединениями, однако их структурные аналоги обладают противовоспалительной и противоопухолевой активностью. Разнообразие областей применения производных пиразола и хиноксалина обуславливает актуальность новых исследований, направленных не только на модификацию известных методов синтеза, но и на поиск принципиально новых подходов, позволяющих получить ранее труднодоступные конденсированные производные на основе этих ценных фармакофорных фрагментов.

Цель работы заключается в разработке нового подхода к синтезу замещенных 5-гидроксипиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов и NH-пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов и изучении 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 7 таблиц, 74 схемы, 20 рисунков.

Во «Введении» автор определяет актуальность и цели поставленного исследования, а также кратко охарактеризовывает полученные результаты, составляющие научную новизну и практическую значимость работы.

Литературный обзор логично построен, написан хорошим языком, дает достаточно полное представление о изучаемой проблеме за последние двадцать лет. В обзоре приведена систематизация данных по методам синтеза пиразолохиноксалинов, рассмотрены особенности методов получения пиразольного цикла по средствам реакции циклоконденсации производных гидразина с биелектрофильными соединениями и через дипольное циклоприсоединение, а также методов получения хиноксалинового цикла реакциями конденсации. В завершении обзора представлен анализ реакций получения пиразоло[1,5-а]хиноксалинов.

Из литературного обзора следует, что имеющиеся методы синтеза различных производных пиразолохиноксалинов представляют широкие возможности для расширения класса этих веществ.

Раздел **обсуждение результатов** посвящен исследованию вопросов молекулярного моделирования ингибиторов МАО, синтезу этил диарилпиразол-5-карбоксилатов, изучению их реакционной способности в реакциях с гидразином, восстановительной циклизации, в том числе хлоридом олова, а также гидрированием молекулярным водородом на палладиевом катализаторе и металлическим цинком в среде хлорида аммония, а также процессам химической модификации, алкилированию, ацилированию. Значительная часть уделяется обсуждению 2-арилпиразоло[1,5-а]хиноксалин-4(5H)-онов в качестве новых биологически активных веществ.

Показан разработанный метод получения замещенных пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов путем взаимодействия этил-3-арилпиразол-5-карбоксилатов и замещенных орто-нитрохлораренов с последующей восстановительной циклизацией.

В рамках молекулярного моделирования ингибиторов MAO для получения представлений о способах связывания и взаимодействия пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов в активных центрах MAO-A и MAO-B, проведены эксперименты молекулярной стыковки с пакетом программного обеспечения Discovery Studio 3.1 (Accelrys) с использованием приложения CDOCKER. Для построения модели белков были использованы данные рентреструктурного анализа сокристаллизатов человеческой MAO-A с гармином (запись в базе данных белков № 2Z5X) и человеческой MAO-B с сафинамидом (запись в базе данных белков № 2V5Z). Для докинг-исследования были проведены расчеты с использованием рядов структурных аналогов. Для ряда соединений была спрогнозирована высокая активность к связыванию со структурами активного центра MAO, определяющая актуальность их синтеза и изучения ингибирующей активности.

Синтезированные впервые замещенные пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-оны были изучены методом *in vitro* в отношении изоформ моноаминоксидазы человека (MAO-A и MAO-B)

Экспериментальная часть представленного диссертационного исследования состоит из нескольких разделов, раскрывающих подробно методы получения исследуемых соединений, их описание, аналитическое оборудование, используемое для доказательства строения всех полученных веществ методами спектроскопии ядерно-магнитного резонанса, инфракрасной спектроскопии и масс-спектрометрии, описаны условия проведения тонкослойной хроматографии. Показаны методы и условия определения биологической активности синтезированных соединений, в частности ингибирующей активности соединений по отношению к моноаминоксидазе.

Рецензируемую работу приятно отличает тщательность экспериментального выполнения, а также тот факт, что автор старается объяснить обнаруженные им экспериментальные, часто неожиданные факты.

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

1. Описано неизвестное ранее нуклеофильное замещение пиразольного фрагмента в 1-N-арилпиразол-5-карбоксилатах на гидразин с образованием арилгидразинов.

2. Впервые разработан метод получения 5-гидроксипиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов с различными заместителями, позволяющих получать широкий спектр их структурных аналогов.

3. Предложен некаталитический метод синтеза NH-пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов, основанный на N-дегидроксилировании 5-гидроксипиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов.

4. 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.

5. Впервые обнаружена высокая ингибирующая активность замещенных пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов в отношении ферментов моноаминоксидазы А и Б

Практическая значимость заключается в том, что разработан новый подход к синтезу пиразоло[1,5-а]хиноксалиновой гетероциклической системы, заключающийся в использовании коммерчески доступных химических восстановителей для получения 5-гидроксипиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов и последующего их N-дегидроксилировании в пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов. Так же получены данные о химических особенностях 5-гидроксипиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов (N-OH / NH-группы) в сравнении с пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов в реакциях алкилирования и ацилирования.

Синтезировано 40 новых соединений класса пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов, ранее не описанных в литературе. В результате эксперимента по ингибированию рекомбинантных моноаминоксидаз А и Б человека *in vitro* установлено, что некоторые из синтезированных в работе соединений являются

селективными ингибиторами моноаминоксидазы в субмикромольных концентрациях, что позволяет рассматривать их в качестве основы для дальнейшей разработки лекарственных средств.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений, так как они получены с применением необходимых современных методов физико-химического анализа, обеспечивается использованием современных методов корреляционной двумерной спектроскопии, масс-спектрометрии и рентгеноструктурного анализа.

Апробация работы. Результаты работы были представлены на всероссийских и международных химических конференциях и форумах, в том числе на Всероссийской конференции «Химия нитросоединений и родственных азот-кислородных систем (АКС-2019)», Markovnikov congress on organic chemistry – Москва-Казань, – 2019, Международной научной конференции «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии» (18–21 ноября 2020 г., Уральский федеральный университет, Екатеринбург).

Публикации. По теме диссертации опубликованы 3 статьи в научных журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, и индексирующихся базой данных Web of Science. В сборниках научных конференций различного уровня опубликовано 3 тезисов докладов.

Личный вклад автора заключается в осуществлении экспериментов по синтезу соединений и изучению их свойств, обсуждению и интерпретации полученных данных.

Замечания и вопросы по работе. Рецензируемая диссертация написана хорошим научным языком, четко изложены основные положения, выносимые на защиту, представлены все необходимые разделы. Диссертация легко читается, выводы, сформулированные автором, полностью отражают полученные результаты и проведенную аналитическую работу. Однако, как и любая научно-исследовательская работа, выполненная на высоком научном уровне, содержит определенные недочеты, неточности.

Так, на странице 4 в разделе «Введение» автор использует некорректный термин «Фармацевтическая активность», который следовало бы заменить на термин «Фармакологическая активность» или Биологическая активность».

В цели работы (с. 4), задачах (с. 5) и положениях, выносимых на защиту (с. 6) автором, декларируются исследования биологической активности, однако в самой работе такие исследования ограничиваются изучением влияния полученных веществ на процесс ингибирования фермента моноаминоксидазы (с. 72-78).

На с. 78 указывается, что новые замещенных пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-оны по показателю половинной максимальной ингибирующей концентрацией сопоставимы с эффективными препаратами, применяемыми для лечения депрессии. При этом в качестве препарата приводится только один - антидепрессант Толоксатон – селективный ингибитор МАО-А.

При прочтении диссертации и анализе проведенных исследований возникли следующие вопросы:

1. Почему для соединений 35 а-f приводятся только данный спектроскопии ЯМР ^1H , тогда, как для остальных полученных соединений приводятся данные ИК-спектроскопии, спектроскопии ЯМР ^1H , ^{13}C , масс-спектрометрии, элементного анализа?

2. Почему в качестве препарата сравнения, при проведении исследований на ингибирование фермента моноаминоксидазы использовался препарат Толоксатон, не входящий в рекомендации, например согласно Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств и почему исследование на активность в отношении ингибирования МАО проводили по источникам 120 и 131, в не по вышеописанному Руководству?

3. Чем обусловлен выбор заместителей при проведении синтеза и было ли исследовано влияние природы заместителей на выход и скорость реакций, а также на фармакологические свойства?

4. На схеме 65 (с. 57) показано взаимодействие этиловых эфиров (соединения 15) с гидразином в среде кипящего этанола. Изучалась ли эта

реакция в более мягких температурных условиях и, например, не для этилового, а для метилового эфира?

Сделанные замечания и имеющиеся по диссертационной работе вопросы не носят принципиального характера и не влияют на общую положительную и очень высокую оценку работы Пановой В.А. Результаты и выводы, сделанные на основании большого и тщательно выполненного эксперимента, не вызывают сомнений и возражений.

Автореферат диссертации написан хорошим научным языком и 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 оптимально приемлемые условия синтеза новых биологически активных пиразоло[1,5-а]хиноксалин-4-онов – потенциальных ингибиторов моноаминоксидазы, содержащих заместители различной природы с целью изучения их строения и свойств, что имеет колоссальное значение для науки и практики.

Рецензируемая диссертационная работа по тематике, методам и объектам исследования, представленным, на защиту новым научным положениям соответствует паспорту заявленной специальности 1.4.3 – Органическая химия – в части: «выделение и очистка новых соединений» и «выявление закономерностей типа “структура-свойство”». 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**, безусловно, заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 – Органическая химия.

Официальный оппонент

к.х.н., заведующий кафедрой химической
технологии лекарственных веществ Федерального
государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования «Санкт-
Петербургский государственный химико-
фармацевтический университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

Лалаев Борис Юрьевич

17 февраля 2024 г.

Адрес организации:

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-
фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской
Федерации

197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14

Телефон: +7 812 439-99-00

e-mail: rectorat.main@pharminnotech.com

Подпись руки

удостоверяю 17.02.2024

Начальник отдела документации Павлок И.Б.

ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России

