

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

*доктора химических наук, профессора, член-корреспондента РАН
Федорова Алексея Юрьевича на диссертацию Мухина Евгения Максимовича
«3-Галогенпиразоло[1,5-а]пиримидины: синтез, свойства и противовирусная
активность», представленную на соискание ученой степени кандидата
химических наук по специальности 1.4.3. Органическая химия*

Актуальность темы исследования

Работа Е. М. Мухина выполнена в актуальной области органической и медицинской химии и посвящена разработке методов региоселективного синтеза галогенсодержащих пиразолопиримидинов и изучению их биологической активности. Пиразолопиримидины и их производные являются важным классом гетероциклических производных, широко применяемых в фармакологии и медицине в качестве ГАМК-эргических препаратов с анксиолитическим (Оцинаплон) и седативным (Залеплон и Индиплон) действием, а также в качестве противовирусных препаратов (Триазаверин, Триазид). С-Гликозидные аналоги пиразолопиримидинов – нуклеозиды на основе пуриновых оснований проявляют противовирусные свойства, например, ремдесивир является средством, применяемым для лечения РНК-содержащих вирусов, в том числе SARS-CoV-2. В связи с этим диссертационная работа Е. М. Мухина является обоснованной и актуальной.

Общая структура и апробация работы

Рецензируемая работа изложена на 193 страницах, содержит 123 схемы, 13 таблиц, 27 рисунков. Библиографический список цитируемой литературы содержит 125 наименований. Работа имеет традиционную структуру, включающую введение, аналитический обзор литературы, результаты и их обсуждение, экспериментальную часть, заключение, перечень условных обозначений и сокращений и список литературы. Результаты работы опубликованы в 3 статьях в журнале Изв. РАН. Сер. хим (Russ. Chem. Bull.), по результатам исследований подготовлена и отправлена заявка на получение патента РФ. Работа прошла успешную апробацию на 6 российских и международных конференциях и симпозиумах.

Литературный обзор

Приведенный в работе Е. М. Мухина обзор литературы (77 страниц, 109 литературных источников) систематизирует информацию о методах синтеза гетероциклов, относящихся к классу С-нуклеозидов и родственных структур, а также аспекты их биологической активности. К сожалению, в обзоре не затронута химия П. Кношеля (LMU, Мюнхен, Германия) и его последователей в области синтеза и реакционной способности неклассических реактивов

Гриньяра, цинк-, марганецорганических соединений, использования турбооснований, которые находят широкое применение для селективных трансформаций полифункционально-замещенных карбо- и гетероароматических соединений. Полагаю, что этот материал был бы полезен автору для успешного выполнения второй части работы, посвященной синтезу пиразолопиримидиновых С-гликозидов. Тем не менее, обзор является содержательным, имеет аналитический характер, и при желании читателя позволяет оценить не только путь, уже пройденный в данной области, но и наметить новые перспективные направления в области синтеза гетероциклических С-гликозидов.

Научная новизна исследования

В ходе выполнения своего исследования Е. М. Мухин получил ценные научные результаты:

1. Разработаны методы синтеза галогенпроизводных пиразолопиримидинов.
2. Сделаны попытки синтезировать С-гликозиды на основе полученных галогенированных пиразолопиримидинов и рибонolakтоном.
3. Изучение *in vitro* и *in vivo* противовирусной активности для полученных соединений.

В первой части работы автором проделана очень большая и трудоемкая экспериментальная работа, в результате которой был разработан универсальный метод синтеза широкого ряда 3-бромо- или йодопиразоло[1,5-а]пиримидинов, основанный на последовательности реакций «циклоконденсация-галогенирование» с применением доступных галогенирующих агентов (NBS или NIS). Показано, что такая последовательность более эффективна, чем циклоконденсация галогенсодержащих аминопиразолов с биелектрофилами. Предложенный метод позволяет синтезировать различные галогенсодержащие пиразолопиримидины с различными заместителями в пиразольном и пиримидиновом циклах (алкильные, арильные, гетарильные, адамантильные, amino- и нитрильные группы, сложноэфирные, сульфидные и морфолиновые фрагменты) с хорошими – высокими выходами и отличной региоселективностью.

Автором сделано интересное наблюдение, что 3-амино-4-бромпиразол может выступать селективным бромлирующим агентом для замещенных пиразолопиримидинов.

Следует отметить, что Е. М. Мухиным скрупулезно оптимизированы условия проведения синтезов, в том числе с применением современных физикохимических методов ЯМР и масс-спектрометрии.

Во второй части работы автором была сделана попытка осуществить галоген-литиевый обмен с полученными в первой части работы

галогенированными пиразолопиримидинами или реализовать их прямое металлизирование амидами лития с последующим проведением реакций нуклеофильного присоединения с циклогексаноном или рибонлактоном. К сожалению данный фрагмент работы не привел к ожидаемому результату. Более подробные рассуждения по поводу этой части работы будут приведены в разделе «вопросы, замечания и предложения».

В третьей части работы авторами проведены *in vitro* исследования противовирусной активности полученных соединений по отношению к нескольким штаммам коронавируса - hCoV-19/Russia/Vologda-171613-1208/2020, nCov/Victoria/1/2020 и nCov/Victoria/1/2020. Найдены соединения лидеры. На основе полученных результатов обсуждены корреляции структура/активность. По некоторым параметрам активность соединений лидеров сравнима с Ремдесивиром.

Противовирусная активность соединения лидера была также исследована *in vivo* на модели сирийского хомяка. Для заражения был использован вариант hCoV-19/Russia/Vologda-171613-1208/2020 коронавируса SARS-CoV-2. Показано, что лечение зараженных животных с применением соединения лидера существенно снижает тяжесть заболевания по сравнению с контрольными группами животных.

Достоверность полученных результатов

Результаты рецензируемой работы сомнений не вызывают, поскольку получены на основе квалифицированного применения современных методов органического синтеза и физико-химического исследования: ЯМР, масс-спектрометрии и ИК-спектроскопии, рентгеноструктурного анализа, элементного анализа, а также с использованием классических методов биологических экспериментов. Полученные результаты обсуждены с использованием новых данных современной химической литературы.

Практическая значимость

Практическая ценность полученных результатов определяется тем, что в диссертации предложены эффективные препаративные методы синтеза галогенпроизводных замещенных пиразолопиримидинов. Среди синтезированных соединений найдены соединения лидеры, демонстрирующие значимую *in vitro* и *in vivo* активность по отношению к коронавирусной инфекции.

Замечания, вопросы и предложения

Исследование Е. М. Мухина выполнено на высоком научном уровне, диссертация отличается связностью и логичностью изложения, что говорит об Авторе, как о сложившемся ученом и компетентном специалисте в области

органической и медицинской химии, владеющим широким кругом практических навыков и теоретических знаний. По работе отсутствуют сколько-нибудь серьезные замечания. Имеются вопросы, носящие дискуссионный характер:

1. Каков механизм бромирования пиримидинопиразолов под действием 3-амино-4-бромопиразола?

2. В какое положение автор хотел провести литирование субстрата **35** с помощью LiHMDS?

3. Зачем автор для галоген-литиевого обмена на субстрате **37** использовал 3.3 экв. *n*-BuLi (Схема 18, Табл. 1)?

4. Полагаю, что автор не имел шансов осуществить галоген-литиевый обмен по реакциям 3-галоген-6-нитро- или 3-галоген-6-цианопиразолопиримидинов **53**, **54**, **35** и **36** под действием *n*-BuLi ввиду специфической активности нитро- и нитрильных групп. В классической химии подобный галоген-литиевый обмен на нитро(или циано)аренах (гетероаренах) проводят под действием PhLi при -100 °С. Эти методики имеют ограниченное применение, а повышение температуры до -78 °С приводит к образованию сложных смесей побочных продуктов. Проведение подобных галоген-литиевых обменов возможно также в проточных реакторах с временами удерживания от десятых до сотых долей секунды [J. Yoshida et al., *Nature Commun.* **2011**, 264 DOI:10.1038/ncomms1264; *Org. Biomol. Chem.*, **2010**, 8, 1212]. Есть удачные примеры проведения обменов галоген-магний на нитро(циано)аренах(гетероаренах) под действием PhMgCl или MesMgHal [P.Knochel et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 4302; *Chem. Commun.*, **2006**, 583], однако, у меня есть опасения, что магнийорганика будет избыточно реакционноспособной для целевых субстратов данной диссертации. Как правило, большинство удачных примеров проведения галоген-магниевого обмена осуществлено на *орто*-галогеннитроаренах (стабилизирующее действие нитрогруппы). Полагаю, что наиболее рациональный подход к синтезу С-гликозидов пиразолопиримидинов предполагает получение цинкорганических соединений на основе пиразолопиримидинов с последующей каталитической реакцией Негиши с галоген(псевдогалоген)производными углеводов [*Org. Lett.*, **2012**, 14, 6, 1480] или использование кросс-каплинга галогенсодержащих пиразолопиримидинов с борированными углеводами [*J. Synth. Org. Chem. Jpn.*, **2024**, 82, 11, 1052]. Цинкорганические пиразолопиримидины, могут быть синтезированы исходя из соответствующих галогенпроизводных с использованием системы Zn/LiCl или прямого металлирования не галогенированных пиразолопиримидинов с использованием турбооснований (например, TMPZnX/LiCl и т.п.) [*J. Org. Chem.*, **2014**, 79, 4253].

5. 3-Бромо-5,7-диметилпиразолопиримидин **3**, полагаю, не стоило металлировать с помощью *n*-BuLi т.к. всегда будет получаться стабилизированное за счет НЭП азота LiOC, образующееся при металлировании метильной группы в положении «7» гетероциклического

скелета (см., например, металлизирование альфа-пиколина). Думаю, что в этом случае, как и в пункте 4 этого раздела, имеет смысл проводить синтез С-гликозидов с использованием реакции Негиши или реакции Сузуки-Мияура.

6. Соискатель иногда путается в терминологии, например, стр. 84: «Наиболее распространённым и перспективным является подкласс первой стратегии, заключающийся в образования С-С-связи между риболактоном и литиевым интермедиатом, образующимся в результате взаимодействия галогенсодержащего агликона с литийорганическим основанием.» Что такое основание и что такое нуклеофил и чем они отличаются в этом контексте? Оглавление, пункт 1.1.1: «Реакции органометаллических реагентов...»; в русском языке – реакции металлорганических реагентов.

7. В библиографическом списке автореферата следует приводить русскоязычные версии статей в Изв. АН (серия химическая) с указанием выходных данных англоязычных версий.

Заключение

Диссертационная работа Мухина Евгения Максимовича является законченным оригинальным научным исследованием, посвященным разработке препаративных синтетических методов получения галогензамещенных пиразолопиримидинов. Среди полученных соединений найдены нетоксичные соединения – лидеры, демонстрирующие значительную *in vitro* и *in vivo* активность по отношению короновирусной инфекции, выявлены корреляции структура-активность.

По теме диссертации опубликовано 3 статьи в журнале Изв. РАН. Сер. Хим., рекомендованном ВАК и Аттестационным советом УрФУ, подготовлена и отправлена заявка на получение патента РФ. Работа прошла успешную апробацию на 6 российских и международных конференциях и симпозиумах. Печатные работы и автореферат в полной мере отражают содержание диссертации.

Диссертационная работа является завершенным научно-квалификационным исследованием, удовлетворяющим критериям актуальности, научной новизны и практической значимости. Полученные соискателем экспериментальные данные достоверны. Эксперимент описан в объеме, достаточном для воспроизведения грамотным синтетиком. Вероятность плагиата полностью исключена. Выводы носят обобщающий характер.

Результаты, полученные в ходе выполнения диссертационного исследования, могут быть рекомендованы для применения в научных организациях, работающих в области синтеза и исследования биологически активных веществ: Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, РОНЦ им. Н.Н. Блохина, Химический факультет ННГУ им. Н.И. Лобачевского, ИОХ им. Н.Д. Зелинского, ИМХ им. Г.А. Разуваева РАН, ИБМХ им. В.Н. Ореховича, ИБХ РАН, РХТУ им. Д.И. Менделеева и др.

Диссертационная работа Мухина Евгения Максимовича «3-Галогенпиразоло[1,5-*a*]пиримидины: синтез, свойства и противовирусная активность» удовлетворяет всем требованиям, установленным п. 9 Положения о присуждении ученых степеней в УрФУ. Представляемая работа соответствует специальности 1.4.3. Органическая химия.

Автор диссертационного исследования «3-Галогенпиразоло[1,5-*a*]пиримидины: синтез, свойства и противовирусная активность», Мухин Евгений Максимович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. Органическая химия.

Официальный оппонент,
доктор химических наук, профессор,
член-корреспондент РАН,
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет
им. Н. И. Лобачевского»,
заведующий кафедрой
органической химии химического факультета
Федоров Алексей Юрьевич

Контактная информация:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский
государственный университет им. Н. И. Лобачевского»,
603950, г. Нижний Новгород, просп. Гагарина, д. 23, +7-910-872-38-70
Адрес электронной почты: afedorovnn@yandex.ru

«06» _____ марта _____ 2025 г.



А.Ю. Федоров

подпись А. Ю. Федорова удостоверяю
начальник управления кадров
ННГУ им. Н. И. Лобачевского



Т.А. Лапоног