

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора химических наук по специальности 1.4.3 – органическая химия, профессора Филяковой Веры Ивановны на диссертационную работу 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 диссертации

Диссертационная работа МУХИНА Евгения Максимовича посвящена разработке универсального подхода к синтезу ранее неизвестных 3-бром- и 3-иодпиразоло[1,5-а]пиримидинов, исследованию их строения, реакционной способности, биологической активности, а также изучению возможности получения на их основе ранее неизвестных С-нуклеозидов. Выбор направления исследования представляется своевременным и актуальным, поскольку производные пиразоло[1,5-а]пиримидина обладают широким спектром фармакологической активности (противовирусной, психотропной, противомикробной, противоопухолевой, антигрибковой, противопаразитарной, анаболической). Из-за быстрой адаптации вирусов и бактерий к существующим лекарственным препаратам поиск новых биологически активных веществ необходимо проводить непрерывно. А потому разработка новых структур в данной группе органических соединений является перспективным направлением научных исследований, направленных на создание нового поколения лекарственных препаратов. Для достижения поставленной цели диссертантом решались следующие задачи:

- Проведение аналитического обзора литературы по методам синтеза С-нуклеозидов и родственных им структур на основе галогенсодержащих азолоазинов;
- Разработка синтетических подходов к получению 3-бром- и 3-иодпиразоло[1,5-а]пиримидинов, имеющих различные заместители в положениях С2, С5-С7;
- Исследование реакционной способности 3-галогенпиразоло[1,5-а]пиримидинов в реакциях С-С-сочетания в присутствии металлоорганических реагентов;
- Исследование структуры и физико-химические свойства полученных соединений;
- Изучение фармакологической активности синтезированных гетероциклов;
- Анализ данных по противовирусной активности 3-Н- и 3-галогенпиразоло[1,5-а]пиримидинов.

### Общая характеристика работы

Диссертационная работа Мухина Е. М. построена традиционно. Она состоит из введения, литературного обзора, обсуждения полученных результатов, экспериментальной части, заключения, списков сокращений и условных обозначений и цитируемой литературы. Диссертация изложена на 193 страницах машинописного текста, содержит 123 схемы, 13 таблиц, 27 рисунков. Список цитируемой литературы включает 125 наименований работ отечественных и зарубежных авторов.

По материалам диссертационной работы Мухина Евгения Максимовича «3-ГАЛОГЕНПИРАЗОЛО[1,5-а]ПИРИМИДИНЫ: СИНТЕЗ, СВОЙСТВА И ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ», опубликовано 9 научных работ, из них 1 обзор, в котором рассматриваются подходы к получению С-нуклеозидов, 2 статьи по полученным в работе результатам. Указанные работы опубликованы в рецензируемых научных журналах, определенных ВАК РФ и Аттестационным советом УрФУ, индексируемых библиографическими базами Scopus и Web of Science. Кроме того, представлено 6 докладов на Международных и Всероссийских

конференциях.

Следует отметить, что рецензируемая работа является частью обширной программы исследований, направленных на синтез и всестороннее изучение разнообразных гетероциклических систем, проводимых на кафедре органической и биомолекулярной химии и в лаборатории органического синтеза Научно-образовательного и Инновационного центра химико-фармацевтических технологий Химико-технологического института ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина» под руководством доктора химических наук, профессора, члена-корреспондента РАН, РУСИНОВА Владимира Леонидовича. Результаты данного диссертационного исследования получены в рамках программы Министерства науки и высшего образования Российской Федерации «Приоритет 2030» (проект «Противовирусные нуклеозиды в ряду пиримидинов и их азолоаннелированных аналогов»), проекта фундаментальных и поисковых научных исследований Российского научного фонда (проект 22-23-00282).

Необходимо подчеркнуть, что соискатель выполнил основную часть работы по поиску и систематизации литературных данных, планированию и проведению экспериментов, анализу и интерпретации полученных результатов, подготовке публикаций.

**Во введении** диссертационной работы обоснована актуальность работы, сформулированы цель и задачи исследований, научная новизна и практическая значимость полученных результатов. Представлена информация о личном вкладе автора, методологии и методах исследования, степени достоверности и апробации результатов диссертационной работы. Здесь же представлены «Положения, выносимые на защиту», а именно:

- Разработка методов синтеза 3-бром- и 3-йодпиразоло[1,5-а]пиримидинов;
- Исследование реакционной способности 3-галогенпиразоло[1,5-а]пиримидинов в реакциях с литийорганическими реагентами, в том числе, с целью образования новой гликозидной С-С связи;
- Изучение противовирусной активности в отношении вируса SARS-CoV-2 и цитотоксичности в системах *in vitro* и *in vivo* для полученных 3-Н- и 3-галогенпиразоло[1,5-а]пиримидинов.

**В первой главе** приводится обзор литературы, в котором обсуждаются подходы к получению гетероциклов класса С-нуклеозидов. Автор выделяет три основных подхода к формированию данных систем: прямое С-С сочетание агликона и углеводного фрагмента, построение агликонового фрагмента на углеводном остатке и построение углеводного фрагмента на агликоне. Обзор дает полное представление о состоянии исследований в данной области.

Всесторонний анализ достоинств и недостатков каждого из подходов позволил автору сделать выбор в пользу первого подхода. В качестве агликонов обоснованно выбраны 3-бром- и 3-йодпиразоло[1,5-а]пиримидины. Данная гетероциклическая система ранее не была использована для формирования С-нуклеозидов. В то же время пиразоло[1,5-а]пиримидины довольно легко синтезировать путем взаимодействия доступных субстратов: аминопиразолов и 1,3-дикарбонильных соединений. Причем, строение и свойства обоих реагентов можно варьировать в довольно широких пределах.

Однако, учитывая название рецензируемой диссертационной работы и заявленные цели исследований, на мой взгляд, следовало бы включить в этот обзор раздел, посвященный методам синтеза и свойствам 3-бром- и 3-йодпиразоло[1,5-а]пиримидинов. Эти данные в работе имеются, однако они не сконцентрированы в одном разделе. Тем не менее, обзор является итогом большой грамотной работы с литературными источниками и представляет ценность

для исследователей, работающих в данной области. Представленный в диссертации материал составил основу обзора, опубликованного в одном из ведущих химических журналов: **Мухин, Е. М.** Подходы к синтезу гетероциклов класса С-нуклеозидов / **Е. М. Мухин**, К. В. Саватеев, В. Л. Русинов // Изв. АН. Серия химическая. – 2023. – Т. 72. – № 2. – С. 425-481 [**Mukhin, E. M.** Approaches to the synthesis of heterocyclic C-nucleosides / **E. M. Mukhin**, K. V. Savateev, V. L. Rusinov // Russian Chemical Bulletin. – 2023. – Vol. 72, Issue 2. – P. 425-481.] (3.42 п.л./1.14 п.л.) (*Scopus, Web of Science*).

Во *второй главе* обсуждаются результаты проведенных автором исследований. Основной задачей диссертанта явилась разработка методов синтеза 3-бром- и 3-йодпиразоло[1,5-а]пиримидинов – перспективных агликонов для получения С-нуклеозидов. Автор рассмотрел два варианта стратегии формирования указанных пиразоло[1,5-а]пиримидинов. Первая предполагает [3+3]-циклоконденсацию галогенсодержащих аминопиразолов с различными биелектрофилами. Вторая предполагает введение атома галогена в предварительно сформированный пиразолопиримидин. Исследования, проведенные диссертантом, показали перспективность второго подхода, т.к. в процессе циклоконденсации 5-амино-4-галогенпиразолов с различными биелектрофилами наряду с целевым продуктом имеет место диспропорционирование с образованием дегалогенированных и дигалогенированных производных пиразолопиримидинов. Введение же галогена в предварительно сконструированную бициклическую систему позволяет избежать образования нежелательных продуктов реакции.

Мухиным Е.М. проделана огромная синтетическая работа по выявлению факторов, способствующих протеканию реакций в нужном направлении с высокими выходами целевых продуктов. В широких пределах варьировались условия реакций (температура, время реакций, природа растворителей). В результате автору удалось найти оптимальные условия подавляющего большинства процессов. В процессе выполнения рассматриваемого исследования автор продемонстрировал понимание теоретических основ органической химии и хорошее владение современными физико-химическими методами доказательства структуры органических соединений.

Диссертант получил серию 3-бром- и 3-йодпиразоло[1,5-а]пиримидинов, доказал их состав и строение, изучил возможность формирования на их основе С-нуклеозидов. Важной частью работы Мухина Е.М. является исследование биологической активности полученных соединений. Показано, что этиловый эфир 2-(адамantan-1-ил)-3-бром-7-оксо-4,7-дигидропиразоло[1,5-а]пиримидин-6-карбоновой кислоты обладает выраженным противовирусным действием в отношении коронавируса SARS-CoV-2.

Обнаружены необычные превращения в ряду пиразоло[1,5-а]пиримидинов в присутствии литийорганических реагентов (*n*-BuLi, LDA, LiHMDS и PhLi): образование продуктов нуклеофильного замещения по пиримидиновому кольцу или по функциональным группам в этом кольце с параллельным дегалогенированием пиразольного цикла. К сожалению, автору не удалось создать универсальный метод формирования С-С гликозидной связи с участием циклогексанона (модельное соединение) и рибонолактона. Но это действительно очень сложная задача, решить которую в рамках одного диссертационного исследования чрезвычайно сложно. Тем не менее, значительная часть пути к успеху проделана в рамках данной работы: продемонстрировано, что между пиразоло[1,5-а]пиримидиновым агликоном и циклогексаноном в присутствии *n*-BuLi возможно образование новой С-С гликозидной связи.

Следует особо отметить, что в данной работе обнаружен ряд необычных, ранее не описанных превращений. Так, благодаря СН-кислотности метильных заместителей в 3-бром-5,7-

диметилпиразоло[1,5-*a*]пиримидине происходит присоединение циклогексанона к метильной группе в положение C(7). Кроме того, показана склонность 2-*R*-3-бромпиразоло[1,5-*a*]пиримидинов в присутствии LDA, LiHMDS или *n*-BuLi вступать в реакцию димеризации по C7Н-положению в соответствии с механизмом нуклеофильного замещения водорода (S<sub>N</sub><sup>H</sup>);

**Третья глава** включает всю экспериментальную часть работы и содержит описание подготовки реактивов, методов синтеза, условий анализа соединений физико-химическими методами. Особо следует отметить простоту методик синтеза и, как правило, высокие выходы целевых соединений. Важно, что в каждой методике представлены соответствующие структуры, что делает комфортным рассмотрение представленных данных ИК, ЯМР, масс-спектров.

Завершает диссертацию **Заключение**, которое соответствует сформулированным во введении целям и задачам исследования.

**Основные достижения диссертанта, на мой взгляд, заключаются в следующем:**

- Осуществлен синтез ранее неизвестных 3-бром- и 3-иод-пиразоло[1,5-*a*]пиримидинов путем галогенирования предварительно синтезированных пиразоло[1,5-*a*]пиримидинов *N*-бром- или *N*-иодсукцинимидом. Данные соединения проявляют фармакологическую активность и являются перспективными предшественниками новых С-нуклеозидов.

- Показано, что 3-бром- и 3-иод-пиразоло[1,5-*a*]пиримидины способны вступать в реакцию обмена «галоген-литий» с последующим взаимодействием с электрофилом с образованием новой С-С-псевдогликозидной связи. Данная реакция является перспективным подходом к синтезу как ранее неописанных С-нуклеозидов, так и димерных структур с потенциально интересными фармакологическими, химическими и физико-химическими свойствами;

- Обнаружены новые необычные превращения, основанные на СН-кислотности метильных заместителей в 3-бром-5,7-диметилпиразоло[1,5-*a*]пиримидине в присутствии сильных оснований.

- Показано, что действие LDA, LiHMDS и *n*-BuLi на 3-бром-7Н-пиразоло[1,5-*a*]пиримидины приводит к получению димерных структур.

Показано, что 3-Н- и 3-галогенпиразоло[1,5-*a*]пиримидины проявляют противовирусную активность в отношении коронавируса SARS-CoV-2 *in vitro*. Выявлено соединение-лидер: этиловый эфир 2-(адамант-1-ил)-3-бром-7-оксопиразоло[1,5-*a*]пиримидин-6-карбоновой кислоты, проведены его испытания *in vivo* и показало значительное преимущество данного соединения перед соединением-прототипом 3-бензил-5-метил-6-(фенилтио)-[1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(3Н)-оном по показателям SI и цитотоксичности, подготовлена и отправлена заявка на получение патента РФ (Регистрационный номер 2024121106).

- Результаты испытаний позволили позиционировать 3-галогенпиразоло[1,5-*a*]пиримидины как новый хемотип с высокой противовирусной активностью.

Результаты исследований Мухина Е.М. могут использоваться в организациях и научных центрах, занимающихся синтезом и исследованием гетероциклических соединений, разработкой и внедрением новых лекарственных препаратов, например, в ФГБУН Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, ФГБУН Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, РХТУ им. Д.И. Менделеева, ИОС УрО РАН им. И.Я. Попова и других.

Все сказанное определяет **научную и практическую значимость результатов** данного исследования.

Анализ текста диссертации, автореферата и публикаций Мухина Е.М. показывает, что рецензируемая работа обладает научной новизной и очевидной практической значимостью.

Автор демонстрирует понимание теоретических основ органической химии и хорошо владеет современными физико-химическими методами доказательства структуры органических соединений. Это позволило правильно трактовать полученные результаты и обеспечило их **достоверность**. Сомнений в корректности представленных данных не возникает. Все это позволяет высоко оценить результаты, полученные в рамках данной диссертационной работы.

Диссертационная работа Мухина Е.М. грамотно написана, хорошо оформлена, а **научные положения, выводы и рекомендации, сделанные диссертантом обоснованы**.

**Автореферат** по структуре и содержанию полностью соответствует диссертации.

**При общей положительной оценке работы имеются следующие замечания и вопросы:**

1. В литературный обзор следовало бы включить раздел, посвященный методам синтеза и свойствам 3-бром- и 3-иодпиразоло[1,5-а]пиримидинов. Эти данные в работе имеются, однако они не сконцентрированы в одном разделе.

2. Чем обусловлен выбор функционализированных 1,3-дикарбонильных соединений, использованных в качестве исходных в синтезе пиразоло[1,5-а]пиримидинов?

3. Имеются ли в литературе примеры диспропорционирования галоген-замещенных азолоазинов?

4. Является ли *one pot* синтез соединения **26** оригинальным или автор использовал разработку других исследователей (стр. 8 автореферата и 96 диссертации)? Если это разработка автора, то в чем она заключается?

5. Использовался ли циклогексанон в качестве модельного соединения для исследований формирования С-нуклеозидов в работах других авторов? Является ли такой подход оправданным?

6. В чем автор видит причины неудач формирования С-нуклеозидов: в природе использованных в работе агликонов или углевода (или модельного циклогексанона)?

7. Имеются погрешности в описании спектров ЯМР. Так, не даны отнесения сигналов в спектрах ЯМР <sup>13</sup>С.

8. Имеются опечатки и неудачные выражения, например: «наблюдается выход ниже отличного» (стр. 7 автореферата).

9. В списке статей, опубликованных по результатам данного диссертационного исследования, почему-то приведены ссылки не на оригинальные статьи в Изв. АН, сер. хим., а на «переводные» издания.

**Степень обоснованности научных положений, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации**

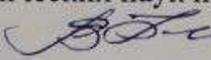
Положения и выводы диссертации базируются на фундаментальных основах химической науки. Автором проведен анализ современной литературы по результатам исследований российских и зарубежных ученых, посвященных использованию галогенсодержащих азолоазинов в синтезе С-нуклеозидов и родственных им структур. С использованием современных синтетических методологий и методов выделения и очистки продуктов реакций осуществлен направленный синтез широкого круга пиразоло[1,5-а]пиримидинов, содержащих наряду с атомами брома или иода в положении 3 указанного гетероцикла, разнообразные функциональные группы; создана библиотека новых производных пиразоло[1,5-а]пиримидина, позволяющая провести исследования их фармакологической активности. Доказательство индивидуальности и структуры полученных соединений проведено с использованием современных физико-химических методов исследования структур органических соединений, включающих ме-

тоды ИК-спектроскопии, газо-жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии, ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$ , ЯМР 2D HMQC  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ , рентгеноструктурного анализа. Анализ состава, структуры и чистоты полученных соединений осуществлялся на сертифицированном оборудовании ЦКП УрФУ и «САОС» ИОС УрО РАН.

Представленное исследование является логически завершенным, но имеет потенциал дальнейшего развития. Приведенные **выводы** соответствуют полученным в диссертационной работе результатам. Их достоверность основывается на большом экспериментальном материале, согласованности проанализированных литературных и полученных экспериментальных данных. Указанные замечания не носят принципиального характера.

Таким образом, по актуальности темы, поставленным задачам, научной новизне и практической значимости, а также личному вкладу автора, представленная диссертация «3-ГАЛОГЕНПИРАЗОЛО[1,5-а]ПИРИМИДИНЫ: СИНТЕЗ, СВОЙСТВА И ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ», соответствует требованиям, изложенным в п. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней в УрФУ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Мухин Евгений Максимович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3 Органическая химия.

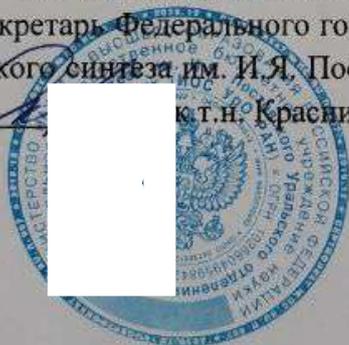
Официальный оппонент:

Доктор химических наук по специальности 1.4.3 – органическая химия,  
профессор   Филякова Вера Ивановна

Должность: Ведущий научный сотрудник лаборатории гетероциклических соединений  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук (ИОС УрО РАН)  
620108, г. Екатеринбург, ул. С.Ковалевской, 22 / Академическая, 20  
Адрес электронной почты: filver@mail.ru  
Тел. 8-922-203-30-95

**Подпись Филяковой Веры Ивановны заверяю:**

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук,   т.н. Красникова Ольга Васильевна



26.03.2025