

ОТЗЫВ
официального оппонента на диссертацию
Агафоновой Натальи Анатольевны на тему
«Синтез биоактивных полифторалкилсодержащих пиразолов»,
представленную на соискание ученой степени кандидата
химических наук
по специальности 1.4.3. Органическая химия

Актуальность темы исследования

Работа Н.А. Агафоновой выполнена в актуальной области органической и медицинской химии и посвящена разработке методов региоселективного синтеза полифторалкилсодержащих пиразолов и изучению их биологической активности. Пиразолы и их производные являются важным классом гетероциклических производных, широко применяемых в фармакологии и медицине в качестве анальгетиков и противовоспалительных средств, антикоагулянтов, противовирусных, антибактериальных препаратов, антиоксидантов и противоопухолевых препаратов. Многие терапевтические агенты пиразольного ряда, применяемые в медицинской практике или находящиеся на различных стадиях клинических испытаний содержат в своем составе перфторалкильные фрагменты. В связи с этим диссертационная работа Н.А. Агафоновой является обоснованной и актуальной.

Общая структура и апробация работы

Рецензируемая работа изложена на 193 страницах, содержит 15 таблиц, 78 рисунков, 164 схем. Список литературы включает 214 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 7 экспериментальных статьях в журналах Изв. РАН. Сер. хим (Russ. Chem. Bull.), Eur. J. Med. Chem., Med. Chem., J. Fluor. Comp. (3 статьи), Chem. Heterocycl. Compd., индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus). Работа прошла успешную апробацию на 10 российских и международных конференциях и симпозиумах.

Литературный обзор

Приведенный в работе Н.А. Агафоновой обзор литературы (46 страниц, 138 источника литературы) систематизирует всю известную к настоящему времени информацию о методах синтеза *N*- и *O*-алкил-, 4-нитрозо-, 4-гидроксиимино-, 4-нитро-, 4-аминопроизводных полифторалкилпиразолов и их предшественников. Также рассмотрены различные виды биологической активности известных пиразолсодержащих производных, что указывает на перспективность исследований в данном направлении.

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 полифторалкилсодержащих пиразолов.

Научная новизна

В ходе выполнения своего исследования Н.А. Агафонова получила ценные научные результаты:

1. Разработаны препаративные методы региоселективного алкилирования и аминометилидирования 1-арил-3-полифторалкилпиразол-5-олов и 3-трифторметилпиразол-5-ола.
2. Предложены удобные синтетические методики получения полифторалкилсодержащих 4-гидроксиимино-, 4-нитрозо-, 4-нитро- и 4-аминопиразолов и их производных.
3. Получены данные по биологической активности синтезированных соединений.

В первой части экспериментальной работы автором проделана очень большая и трудоемкая работа по исследованию региоселективности алкилирования и аминометилидирования 1-арил-3-полифторалкилпиразол-5-олов и 3-трифторметилпиразол-5-ола. Показано, что в случае арил-3-полифторалкилпиразол-5-олов, *N*-метилирование проходит в отсутствие оснований в избытке диметилсульфата, при этом образуются полифторалкилированные аналоги антибиотика. В присутствии основания происходит *O*-метилирование с образованием 5-метокси-1-арил-3-полифторалкилпиразолов. В случае 3-трифторметилпиразол-5-ола в основных условиях происходит образование моно-метокси- и диметил-*N*²,*O*-производных, а в отсутствии основания предпочтительно реализуется *N*-метилирование. В работе установлено, что 1-арил-3-полифторалкилпиразол-5-олы и 3-трифторметилпиразол-5-ол под действием диметилформамида диметилацетала подвергаются *C*-аминометилидированию с образованием 4-диметиламинометилированных производных пиразолов. Региоселективность реакций алкилирования объяснена авторами с применением квантово-химических расчетов, а тautомерные превращения и равновесия в пиразольных системах подробно изучены с применением методов ЯМР и ИК-спектроскопии.

Авторами предложены удобные one-pot методики синтеза 4-гидроксиимино- и 4-нитрозопиразолов в результате реакций 3-оксоэфиров или их енолятов с гидразинами с последующим *in situ* нитрозированием. Эти подходы оказались более эффективными по сравнению с традиционным нитрозированием пиразолов по положению 4. Показано, что 2-арил-1-метил-5-трифторметилпиразол-3-оны подвергаются эффективному нитрованию с использованием нитрующей смеси в положение 4 пиразолонового кольца и по ароматическому фрагменту. Найдены эффективные системы,

позволяющие восстанавливать 4-нитрозо-, 4-нитро- и 4-гидроксииминовые производные пиразолов до соответствующих аминов ($Zn/AcOH$, $SnCl_2/HCl$, $H_2/Pd/C$, водный раствор дитионата натрия). Модификация 4-аминопиразолов позволила синтезировать перспективные молекулы с точки зрения биологических свойств: замещенные амины, имины, тиомочевины.

Особого внимания заслуживает биологическая часть диссертационной работы. Для синтезированных соединений проведен широкий спектр испытаний по оценке их биоактивности. Для большинства соединений, синтезированных в работе, определена острая токсичность. Установлено, что производные трех типов пиразолов **2.4**, **2.5** и **2.7** обладают низкой острой токсичностью. Трифторметилантипирин **2.4a** был выбран в качестве соединения-лидера в качестве анальгетического и противовоспалительного агента на основе проведенных комплексных исследований, включающих эксперименты РАМРА, определение острой токсичности, тесты «горячая пластина», «карагениновый отек», механическая гиперальгезия, «tail-flick», «открытое поле» и изучение жаропонижающей активности. На основании экспериментальных исследований и данных молекулярного докинга в качестве потенциальной биологической мишени для соединения **2.4a** выбран TRPA-1 анкириновый рецептор из семейства TRP-рецепторов. Кроме того, установлено, что нитропиразолы с незамещенной NH-группой проявляют значительную туберкулостатическую и антибактериальную активность, N-незамещенные 4-аминопиразолы, их гидрохлориды, а также гидрохлориды 4-аминопиразол-5-олов обладают высокой антирадикальной активностью, а соединение **2.28d** проявляет антипrolиферационную активность в отношении опухолевых клеток HeLa, не проявляя цитотоксичности по отношению к нормальным фибробластам человека.

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- и ИК-спектроскопии, газово-жидкостной хроматографии, рентгеноструктурного анализа, элементного анализа, современных методов квантовой химии, 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 региоселективного алкилирования и аминометилидирования 1-арил-3-полифторалкилпиразол-5-олов и 3-трифторметилпиразол-5-ола, а также получения полифторалкилсодержащих 4-гидроксиимино-, 4-нитрозо-, 4-нитро- и 4-аминопиразолов и их производных. Найдены перспективные

нетоксичные молекулы, проявляющие противовоспалительную активность, действие которых сравнимо с активностью анальгина и диклофенака.

Замечания

Исследование Н.А. Агафоновой 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. Автор написал качественный литературный обзор, который интересно читать, что, безусловно, вызывает у оппонента много положительных эмоций. При этом хотелось бы, чтобы фрагмент литературного обзора, посвященный биологической активности производных пиразола (стр. 39-55) завершался выводами или заключениями, из которых логически вытекают цели работы в области биологических исследований. В этой части обзора приводятся структурные формулы соединений и говориться, что приведенные молекулы обладают определенным видом биологической активности. В тексте недостает количественных данных по различным видам активности, нет описания SAR, практически не обсуждаются рецепторы, ответственные за проявление конкретного типа активности (пожалуй, за исключением небольшого абзаца, посвященного ингибиторам ЦОГ-2, на стр. 39).
2. На стр. 44 (рис. 1.15) приведены аналоги седаксана, обладающие противогрибковой и цитотоксической активностью. Какова роль в биологической активности феррацинильного фрагмента и железа, в частности? Могут ли здесь быть какие-нибудь аналогии с антималярийным агентом феррохином?
3. На стр. 66 диссертации (схема 2.7) приведен предполагаемый механизм реакции С4-аминометилидирования пиразолов системой ДМФ/ДМА. Почему гидроксикиразолы **2.3a,d** выступают в этой реакции *C*-нуклеофилами, а не *O*-нуклеофилами?
4. Почему в качестве стандартов сравнения для определения анальгетической и противовоспалительной активностей были выбраны старые и достаточно токсичные препараты – анальгин и диклофенак? Чем обусловлен выбор в качестве агентов сравнения по цитотоксической активности доксорубицина и камптотецина?
5. Чем обусловлена на 2-3 порядка более высокая антипролиферативная активность и индекс селективности для соединения **2.28d** по сравнению с другими полученными пиразолами? Есть ли идеи по механизму его действия?

6. Какая модель теоретических расчетов использовалась для описания взаимодействия соединения **2.4а** с TRPA-1 рецептором? Моделировалась ли фосфолипидная оболочка ионного канала или применялся «обычный» докинг с использованием РСА белка?
7. В разделе 2.4 «Биологическая активность синтезированных соединений» (стр. 98-128), авторы в тексте описывают зависимость активности от строения тестируемых молекул. Такое описание не наглядно. Желательно в будущем, сопровождать текст иллюстрациями, позволяющими читателю видеть основные фармакофорные группы, изменение строения которых влияет на активность. Это значительно облегчит понимание материала.
8. В экспериментальной части отсутствует описание биологических экспериментов и докинга.

Очевидно, что указанные вопросы не принципиальны и не могут повлиять на общую высокую оценку работы и, тем более, не ставят под сомнение ценность полученных в ней результатов.

Заключение

Диссертационная работа Агафоновой Натальи Анатольевны является законченным оригинальным научным исследованием, посвященным синтезу полифторалкилсодержащих пиразолов и их аналогов, позволившим получить новые ценные данные о препаративных методах синтеза этих соединений, некоторых корреляциях структура-активность, а также получить нетоксичные соединения-лидеры, обладающие значительной анальгетической и противовоспалительной активностью.

По теме диссертации опубликовано 7 статей в международных журналах, рекомендованных ВАК и Аттестационным советом УрФУ (Изв. РАН. Сер. Хим., Eur. J. Med. Chem., Med. Chem., J. Fluor. Comp. (3 статьи), Chem. Heterocycl. Compd.). Работа прошла успешную апробацию на 10 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 Агафоновой Натальи Анатольевны «Синтез биоактивных полифторалкилсодержащих пиразолов» 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 «Синтез биоактивных полифторалкилсодержащих пиразолов», Агафонова Наталья Анатольевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. Органическая химия.

Официальный оппонент,
доктор химических наук, доцент,
заведующий кафедрой органической химии химического факультета
Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

Федоров Алексей Юрьевич

Тел: +7 (831) 462-3232 e-mail: afedorovnn@yandex.ru

603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23

«27» октября 2021 г.

Подпись доцента, д.х.н. А.Ю. Федорова удостоверяю:

к.соц.н., ученый секретарь ученого совета

Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования

«Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»



Черноморская Л.Ю.