

АННОТАЦИЯ

диссертации на тему «Химическая разработка биологически активной субстанции на основе новых производных N-арилалкилпиперидина»

**на соискание степени доктора философии (PhD)
по специальности 6D074800 – Технология фармацевтического производства**

Максатовой Аяулым Максаткызы

Актуальность темы исследования.

Глава государства поставил задачу довести к 2025 году долю отечественного производства на фармацевтическом рынке до 50%. Для его реализации утвержден комплексный план развития фармацевтической отрасли до 2025 года.

Одной из важных задач здравоохранения является обеспечение населения безопасными, эффективными, качественными препаратами и в последние несколько десятилетий наблюдается быстрый рост научных исследований, направленных на разработку новых лекарств и улучшение многих существующих лекарств. Исследователи всегда стремились создать «идеальное лекарство» и формулировали требования, которым должны соответствовать лекарства: эффективность, безопасность, минимальные побочные эффекты, вкусовые качества и адекватная продолжительность действия.

Любой препарат влияет как на патологические, так и на нормальные биохимические процессы. Кроме того, процессы разработки, исследования, производства и широкого применения лекарств должны быть достаточно взаимосвязаны, чтобы специалисты в каждой из этих областей должны были достаточно понимать друг друга.

90% рынка Республики Казахстан представлено импортными препаратами. Малые и средние фирмы с небольшой капитализацией не имеют достаточного потенциала для технического перевооружения и внедрения современных высокотехнологичных процессов.

Обеспечение населения республики лекарствами – одна из важных задач государства. В свою очередь, лекарственные вещества играют важную роль в профилактической медицине и лечении заболеваний. А бюджетные деньги, выделенные на бесплатное лекарственное обеспечение, наше государство тратит на приобретение оригинальных лекарств.

Основной продукцией фармацевтического производства в нашей стране являются дженерики, а подготовка новых патентованных препаратов требует длительного времени и большого финансирования. Поэтому производство новых лекарственных средств имеет стратегическое, экономическое и социальное значение для развития фармацевтического направления нашей страны и для Республики Казахстан.

Кроме того, одной из важных задач современной фармацевтической науки является создание новых лекарственных веществ и препаратов для обеспечения национальной безопасности. Достижения лекарственной терапии связаны не только с созданием современных уникальных и безопасных лекарственных средств, но и с разработкой и совершенствованием оптимального состава и технологии применяемых в фармацевтической промышленности лекарственных веществ, имеющих широкий спектр действия и не вызывающих появления резистентных микроорганизмов.

Поэтому исследование и разработка новых лекарственных средств, а также совершенствование методов оценки их качества для обеспечения максимальной терапевтической эффективности и безопасности является одной из основных задач фармацевтической химии.

Новые производные пиперидина представляют большой интерес в поиске новых противомикробных веществ, что является актуальной проблемой современной медицины.

Цель исследования: Химическая разработка потенциально биологически активной субстанции на основе новых производных ряда N-арилалкилпиперидинов, разработка технологической схемы получения.

Задачи исследования:

1. Синтез различных 4,4-дизамещенных производных на основе N-фенилэтилпиперидин-4-она и их дальнейшая модификация с целью получения водорастворимых форм.

2. Установление тонкой структуры синтезированных соединений с помощью современных физико-химических методов.

3. Установление взаимосвязи «структура-биологическая активность».

4. Определение показателей качества, стабильности и срока годности активного соединения;

5. Исследование безопасности и фармакологического действия активного соединения;

6. Разработка и стандартизация эффективной технологии выбранного продукта;

Методы исследования: Химические, физико-химические, биологические, фармацевтико-технологические, фармакологические, статистические.

Объекты исследования:

N-замещенные производные пиперидина с потенциальной противомикробной активностью, N-замещенные 4-оксопиперидины, N-фенилэтилзамещенные пиперидолы и их 4,4-дизамещенные производные, обладающие потенциально фармакологической активностью, а также их гидрохлориды и β -циклодекстриновые комплексы.

Предмет исследования:

Химические процессы, приводящие к получению полифункциональных объектов исследования и их химической модификации, а также изучению тонкой структуры и свойств синтезированных соединений.

Синтез различных 4,4-дизамещенных производных N-фенилэтилпиперидинового ряда и их водорастворимых солей, определение их строения

современными физико-химическими методами, определение антибактериальных, противомикробных, фунгицидных, цитотоксических свойств соединений. Стандартизация потенциально биологически активной субстанции, разработка технологии его производства.

Научная новизна:

Впервые:

- Синтезированы новые 4,4-дизамещенные производные путем введения в структуры N-фенилэтилпиперидинов *n*-фторфенил-, *m*-фторфенил-, *o*-фторфенил-, 4-(трифторметил)- циклогексан-, адамантан-, нафтоилокси-фрагментов, придающих молекуле противоинфекционные свойства;

- получены их гидрохлориды и комплексы с β -циклодекстрином;

- изучены антимикробные и фунгицидные свойства синтезированных соединений;

- проведены исследования по стандартизации, определению стабильности и изучению острой токсичности гидрохлорида 1-(2-фенилэтил)-4-адамантанкарбониллоксипиперидина (AIP-2).

Научная новизна исследования подтверждена получением патента на полезную модель под регистрационным номером №4782 от 20.06.2019 г. «1-(2-фенилэтил)-4-адамантанкарбониллоксипиперидина гидрохлорид с антимикробной активностью».

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Синтез новых производных ряда N-арилалкилпиперидинов и получение их водорастворимых форм с целью химической разработки биологически активной субстанции;

2. Доказательство структуры синтезированных соединений современными физико-химическими методами анализа;

3. Изучение связи структура-активность в ряду полученных веществ;

4. Технология приготовления субстанции AIP-2, показатели качества и результаты исследований по определению срока годности и стабильности;

5. Создание и стандартизация эффективной технологии выбранного продукта;

Практическая значимость исследования.

Экспериментальная часть и химический синтез новых производных ряда N-фенилэтилпиперидинов в рамках диссертационной работы «**Химическая разработка биологически активной субстанции на основе новых производных N-арилалкилпиперидина**» выполнены в лаборатории химии синтетических и природных лекарственных веществ АО «Институт химических наук им. А.Б. Бектурова».

- Впервые разработана и внедрена технология получения субстанции гидрохлорида 1-(2-фенилэтил)-4-адамантанкарбониллоксипиперидина (AIP-2) в АО «Научный центр противоинфекционных препаратов»;

- внедрен акт определения противомикробной активности субстанции в АО «Национальный научный центр особо опасных инфекций имени М.Айкимбаева»;

- разработан проект НД AIP-2 на базе «Института химических наук им.

А.Б. Бектурова».

Практическая значимость работы прежде всего состоит в накоплении и развитии научных представлений о пиперидиновых соединениях, методах их синтеза, строения, свойствах, которые могут впоследствии использоваться при целенаправленном конструировании и идентификации еще более сложных систем и помогут предсказывать их поведение. Вторым, но не менее важным достижением проведенного исследования, является перспективность развития дальнейших исследований по химии 4,4-дизамещенных производных пиперидина. Синтезированные соединения прошли испытания на кафедре фармакологии «Казахского национального медицинского университета им. С.Д. Асфендиярова», в лабораториях микробиологии и вирусологии АО «Научный центр противоинфекционных препаратов».

В результате фармакологического скрининга выявлены, что ряд соединений проявляют высокую противоинфекционную активность, и были рекомендованы для углубленного изучения их фармакологических свойств.

Личный вклад докторанта.

По теме диссертационной работы соискателем самостоятельно проведен обзор отечественной и зарубежной литературы, выполнены практические работы по всем поставленным задачам. Это подтверждается результатами исследований, полученных в лабораторных и производственных условиях с использованием современных аппаратов и оборудования.

Достоверность и обоснованность результатов исследования подтверждается направленностью на решение актуальной проблемы, выполнением работ, нормативных документов в современных исследовательских центрах и проектах.

Выводы:

1. Путем введения в структуры N-фенилэтилпиперидинов *n*-фторфенил-, *m*-фторфенил-, *o*-фторфенил-, 4-(трифторметил)-, циклогексан-, адамантанкарбонилокси-, нафтоилокси- фрагментов получены различные 4,4-дизамещенные производные. Синтезировано 25 производных N-фенилэтилпиперидинового ряда, из них 22 соединения являются новыми, ранее не описанными в литературе. Для изучения их биологической активности были получены соответствующие водорастворимые гидрохлориды и комплексы с β -циклодекстрином;

2. Строение синтезированных соединений подтверждено на основании комплекса физико-химических методов анализа, такими как ИК-, ^1H - и ^{13}C -ЯМР-спектроскопии и элементного анализа, определены температуры плавления всех продуктов.

4. Все синтезированные соединения ряда N-фенилэтилпиперидина, структуры которых однозначно подтверждены, были изучены в эксперименте *in vitro* в отношении 3 различных бактерий, грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов в Университете Миссисипи, США. В результате среди 12-ти соединений только одно соединение под шифром МАМ-9 (гидрохлорид 1-(2-фенилэтил-4-нафтоилокси)пиперидина, 2,19) проявило высокую активность в отношении мультирезистентного *Staphylococcus* MRS,

ингибирующая концентрация которого составило IC_{50} 11,87 мкг/мл, тем самым превосходя препарат сравнения Цефотаксим в 2,6 раза, в 3,5 раза превосходя Меропенем, в 3,8 раза превосходя Метициллин, но немного уступает препарату Ванкомицин.

5. Среди синтезированных соединений наибольшую противомикробную активность, особенно по показателю фунгицидной активности проявил гидрохлорид 1-(2-фенилэтил)-4-адамантанкарбониллоксипиперидина (AIP-2, F-11). Бактерицидная активность AIP-2 в отношении стафилококка в 8 раз выше, чем у препарата сравнения ампициллина, противомикробное действие AIP-2 в 4 раза превышает действие препарата сравнения в отношении штамма *Escherichia coli* ATCC 8739, а фунгицидная активность в отношении дрожжевого грибка штамма *Candida albicans* в 20 раз превосходит коммерческий препарат флуконазол.

6. На основании изучения противомикробной активности соединений в университете Миссисипи (США) также подтвердилась высокая противогрибковая активность гидрохлорида 1-(2-фенилэтил)-4-адамантанкарбониллоксипиперидина (AIP-2, F-11) и его комплексов с β -циклодекстрином гидрохлорида и основания (МAM-1, МAM-2), композиция с гуматом (МAM-3). Их значения IC_{50} в отношении штамма *Cryptococcus neoformans* составили <0,8 мкг/мл, 2,54 мкг/мл, 1,36 мкг/мл, <0,8 мкг/мл. Соединение (AIP-2, F-11) превосходит по показателю противогрибковой активности в 2 раза препарат сравнения Амфотерицин В, в 7,18 раза Флуконазол. Все 4 соединения, проявившие высокую фунгицидную активность оказались адамантановыми производными основе N-фенилэтилпиперидина.

3. Введение циклогексанового, 3-фторфенильного фрагментов в структуру N-фенетилпиперидинов привело к проявлению противоинойфекционной/противомикробной активности соединений. Так антимикробная активность гидрохлорида 1-(2-фенилэтил)-4-(*m*-фторбензоилокси)пиперидина (MA-5, 2.11) в отношении музейно-чувствительного тест-штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P и *Escherichia coli* ATCC 8739 в 2 раза выше, чем у препарата сравнения ампициллина, также соединение гидрохлорид 1-(2-фенилэтил)-4-циклогексанкарбониллоксипиперидина (MA-10, 2.12) превышает в 4 раза действие препарата сравнения ампициллина.

7. Выявлены некоторые корреляции «структура-активность»:

Введение в структуры N-фенилэтилпиперидинов *n*-фторфенил-, *m*-фторфенил-, *o*-фторфенил-, 4-(трифторметил)- циклогексан-, адамантан-, нафтоилокси- фрагментов, придали молекуле противоинойфекционные свойства, все синтезированные соединения проявили противомикробную/фунгицидную активность.

Оказалось, что сочетание адамантанового фрагмента, фенилэтильного заместителя в пиперидиновом цикле привело к проявлению высокой фунгицидной активности соединения.

Также высокая антимикробная активность соединений в отношении мультирезистентного стафилококка MRSA объясняется наличием и введением фрагмента нафтоилоксигруппы в структуру N-фенилэтилпиперидина.

8. Изучена цитотоксичность в эксперименте *in vitro* новых производных N-фенилэтилпиперидинового ряда под шифрами: AIP-2, MA-1, MA-2, AIP-2 с гуматом, AIP-33, MA-3, MA-4, MA-5, MA-6, MA-7, MA-8, MA-9 и MA-10 на клеточной линии MDCK. Из всех исследуемых производных было обнаружено, что для клеток MDCK эффект цитотоксичности соединений MA-8, AIP-2, AIP-33 и MA-9 имеет наименьший показатель.

9. Определены показатели качества субстанции AIP-2, разработана спецификация качества. Разработана технологическая схема производства субстанции AIP-2, состоящая из 5 основных этапов: подготовка сырья для производства субстанции AIP-2; проведение реакции; осаждение; разделение продукта; фасовка, упаковка, маркировка. Субстанция стандартизирована. При длительном или фактическом исследовании срока хранения все качественные показатели, закрепленные в нормативном документе, не превышали предельных размеров за период до настоящего времени, т. е. отклонений не было. Результаты исследований показали, что при температуре $25\pm 2^\circ\text{C}$ при показателе относительной влажности $60\pm 5\%$ Срок хранения по данным исследований на сегодняшний день составляет 24 месяца.

10. Согласно результатам исследования токсичности, токсичность вещества AIP-2 по классификации Ходжа и Стернера и К. К. Сидорова $LD_{50} > 5000$ мг/кг относили к 5 классу «веществ низкого риска», то есть практически малотоксичных веществ.

Апробация результатов диссертации

Основные результаты исследований, выполненных по теме диссертации, были представлены на XX международной научно-практической конференции «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2019); На XIV международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Научная дискуссия: актуальные проблемы, достижения и инновации в медицине» (Душанбе, 2019 г.); на международной научно-практической конференции «XXI Менделеевский съезд по общей и прикладной химии» (Санкт-Петербург, 2019 г.); на международной научно-практической конференции «XXI Менделеевский съезд по общей и прикладной химии» (Санкт-Петербург, 2019 г.); Международная конференция «Современные проблемы химии и технологии органических веществ и материалов» (Алматы 2019), «Химический журнал Казахстана» (Алматы 2019), «Актуальные вопросы химической технологии и охраны окружающей среды» VIII Всероссийская, посвященная 60-летию КСК «Химпром» на конференции (Чебоксары 2020);

На III международной научно-практической конференции «Формирование и перспективы развития научной школы фармации: преемственность поколений» (Алматы 2020); «Исследовательский журнал фармацевтики и технологий» (Scopus, Индия, 2020); Патент № 4782 на гидрохлорид 1-(2-фенилэтил)-4-адамантанкарбонилокси пиперидина, обладающий антимикробной активностью, под названием «Современная фармация: новые

подходы и актуальные исследования» С.Д. Международная научно-практическая конференция, посвященная Дню университета КазНМУ имени Асфендиярова (Алматы 2021); на научной конференции «Тонкий органический синтез-2021» (Алматы 2021); II международная научно-практическая конференция «Инновационное развитие образования, науки и технологий» (Москва 2022); Международная научно-практическая конференция молодых ученых «Наука и инновации» (Ташкент 2022); На международной научно-практической конференции «Актуальные тенденции развития науки и образования в области естественных наук» (Алматы 2022); На форуме с участием молодых ученых СНГ в рамках программы мероприятий по празднованию 300-летия Российской академии наук «Наука без границ» (Нижний Новгород, 2022 г.); «Перспективные направления развития химической науки, технологии и экологии» А.Б. Он был представлен и опубликован на международной научной конференции, посвященной 75-летию Института химических наук им. Бектурова (Алматы, 2022 г.).

Публикации:

По результатам диссертационной работы опубликовано 20 работ, из них:

- в базе данных иностранных журналов, входящих в «Scopus» - 1 статья;
- в журналах рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК - 3 статьи;
- в сборниках материалов и тезисов международных и зарубежных конференций - 15 публикаций;
- патент - 1.

Связь работы с планом государственных и научных программ:

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ в АО «Институт химических наук им. А.Б. Бектурова» по темам: «Физико-химические основы создания неорганических, органических, полимерных соединений, систем и материалов с необходимыми свойствами» (Научно-техническая программа № BR05234667) (2018-2020 г.), «Разработка оригинальных отечественных инновационных фармацевтических субстанций с противомикробной активностью (лигандов)» (Проект грантового финансирования Министерства образования и науки Республики Казахстан № AP05131065) (2018-2020 гг.), «Инновационные материалы многофункционального назначения на основе природного сырья и техногенных отходов» (Научно-техническая программа №BR10965255) (2021-2023 гг.).

Объем и структура диссертации.

Диссертация состоит из введения, литературного обзора, обсуждения практических результатов, технологической части, заключения, списка использованной литературы и приложений. Материал диссертации изложен в 146 страницах компьютерного набора, содержит 42 таблицы, 17 рисунков, списка использованной литературы, включающего 175 наименований.