

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.

В соответствии с разделом 4 концепции развития здравоохранения Республики Казахстан до 2026 года (постановление Правительства РК от 24 ноября 2022 года 945) отечественное фармацевтическое производство и национальная санитарно-эпидемиологическая служба инновационных лекарственных препаратов обеспечивают внутреннюю потребность, независимость от мирового фармацевтического рынка и биобезопасность населения.

Глава государства поставил задачу довести к 2025 году долю отечественного производства на фармацевтическом рынке до 50 %. Во исполнение Комплексного плана развития фармацевтической промышленности страны, направленного на 2020-2025 годы, вопрос организации производства лекарственных препаратов на основе химических субстанции на территории РК с различным химическим синтезом, широким фармакологическим действием имеет для нашего государства значительный статус.

Реализация национальной лекарственной политики, т. е. снижение зависимости от зарубежных фармацевтических продуктов путем обеспечения населения высококачественными, эффективными, безопасными и недорогими лекарственными средствами, развитие внутреннего рынка, повышение финансовой устойчивости системы здравоохранения, поиск новых лекарственных соединений, разработка и внедрение в практику отечественных лекарственных препаратов химического происхождения, имеет очень большое значение. В связи с этим, наиболее глубокое изучение лекарственных средств химического происхождения, производимых на нашей стране, имеет высокую научно-техническую значимость.

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 средств 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 применяемые в фармацевтической промышленности лекарственных веществ, имеющих широкий спектр и не оказывающих побочных действия.

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 (ИК, ^1H и ^{13}C ЯМР спектроскопии, тонкослойной хроматографии, элементного микроанализа).

3. Определение показателей качества, стабильности и срока годности активной субстанции;

4. Разработка технологии и стандартизация полученной субстанции;

5. Исследование безопасности и фармакологического действия фармацевтической субстанции;

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 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 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. Разработка технологии и стандартизация полученной субстанции;

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».

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 патентный поиск и анализ проведенной исследования; выполнены практические работы по всем поставленным задачам. Это подтверждается результатами исследований, полученных в лабораторных и производственных условиях с использованием современных аппаратов и оборудования.

Достоверность 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 ¹³C-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 IC₅₀ 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-адамантанкарбонилокси)пиперидина (АІР-2, F-11). Бактерицидная активность АІР-2 в отношении стафилококка в 8 раз выше, чем у препарата сравнения ампициллина, противомикробное действие АІР-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 IC50 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 (МА-5, 2.11) в отношении музейно-чувствительного тест-штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-Р и *Escherichia coli* ATCC 8739 в 2 раза выше, чем у препарата сравнения ампициллина, также соединение гидрохлорид 1-(2-фенилэтил)-4-циклогексанкарбониллоксипиперидина (МА-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, МА-1, МА-2, AIP-2 с гуматом, AIP-33, МА-3, МА-4, МА-5, МА-6, МА-7, МА-8, МА-9 и МА-10 на клеточной линии MDCK. Из всех исследуемых производных было обнаружено, что для клеток MDCK эффект цитотоксичности соединений МА-8, AIP-2, AIP-33 и МА-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 стандартизировано. 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 $LD50 > 5000$ 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 г.); 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 г.), «Актуальные вопросы химической технологии и охраны окружающей среды» VIII Всероссийская, посвященная 60-летию КСК «Химпром» на конференции (Чебоксары 2020 г.);

На III международной научно-практической конференции «Формирование и перспективы развития научной школы фармации: преемственность поколений» (Алматы 2020 г.); «Исследовательский журнал фармацевтики и технологий» (Scopus, Индия, 2020); Патент № 4782 на гидрохлорид 1-(2-фенилэтил)-4-адамантанкарбониллоксипиперидина, 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 г.); на научной конференции «Тонкий органический синтез-2021» (Алматы 2021г.); II международная научно-практическая конференция «Инновационное развитие образования, науки и технологий» (Москва 2022 г.); Международная научно-практическая конференция молодых ученых «Наука и инновации» (Ташкент 2022 г.); На международной научно-практической конференции «Актуальные тенденции развития науки и образования в области естественных наук» (Алматы 2022 г.); 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 противоинфекционной 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 177 страницах компьютерного набора, содержит 42 таблицы, 17 рисунков, списка использованной литературы, включающего 176 наименований.