

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора фармацевтических наук, доцента, кафедры фармацевтической и токсикологической химии Новикова Михаила Станиславовича на диссертационную работу Кожухаря Вячеслава Юрьевича на тему «Синтез производных 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот на основе 3-имино-3H-фуран-2-онов и их биологическая активность», представленную на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Актуальность темы.

N-Замещенные 2-амино-4-арил- и -гетероарил-4-оксобут-2-еновые кислоты это интересный класс соединений, которые обладают широким спектром биологической активности. Среди представителей данного ряда найдены соединения, обладающие анальгетической, противовоспалительной, гипогликемической, противомикробной, в том числе и противотуберкулезной активностью. Особо следует подчеркнуть низкую токсичность соединений производных 2-амино-4-арил- и -гетероарил-4-оксобут-2-еновых кислот. Это наиболее важно в случае длительного курса приема лекарственных средств или применение высоких (ударных) доз препарата. N-Замещенные 2-амино-4-арил- и -гетероарил-4-оксобут-2-еновые кислоты можно рассматривать и как потенциальную замену противобактериальным и противотуберкулезным антибиотикам, применение которых сопровождается рядом серьезных негативных последствий, связанных с их токсичностью. Кроме того, длительное использование антибиотиков в клинической практике привело к появлению резистентных к антибиотикам вариантов микроорганизмов. По этой причине поиск и создание новых отечественных лекарственных препаратов, имеющих низкую токсичность, для современной фармации является серьезной проблемой. В этой связи актуальность диссертационной работы Кожухаря В.Ю., посвященной синтезу новых производных N-замещенных 2-амино-4-арил- и -гетеро-арил-4-оксобут- 2-еновых кислот и изучению их биологических свойств, не вызывает сомнений.

Новизна исследования и полученных результатов.

Установлена возможность замены уксусного ангидрида на пропионовый для оптимизации циклизации 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот в 3-иминофуран-2-оны. Впервые изучено взаимодействие 5-арил-3-арилимино-3H-фуран-2-онов с алифатическими и ароматическими тиолами, приводящее к тиоэфирам 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот. Впервые установлено, что многоатомные спирты раскрывают цикл 3-иминофуран-2-онов с образованием соответствующих эфиров 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот. Получены неописанные ранее производные 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот, содержащие в структуре биологически активные фрагменты 2-(1,3-тиазолила), 2-(бензо[d]тиазолила), 2-(5-R-1,3,4-тиадиазолила), 3-(тиено[2,3-b]пиридила), 3-(4-R-1,2,5-оксадиазолила). Установлено, что выраженную анальгетическую и противовоспалительную активность проявляют 2-(5-R-1,3,4-тиадиазо-лил)амиды и пиперазиды 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот, содержащие в пара-положении ариламинного фрагмента электроно-акцепторный заместитель. Выявлено, что введение двух электронодоноров в арильный радикал

при атоме углерода в положении 4 и одного электронодонорного заместителя в *пара*-положение ариламиного фрагмента 2-ариламино-1-(пиперазин-1-ил)-4-фенилбут-2-ен-1,4-диона гидрохлоридов, способствует существенному увеличению гемостатического действия, в то же время, введение электроноакцептора в ариламиновый фрагмент, при наличии фенила в положении C4, приводит к усилению их инсектицидных свойств.

Научная новизна исследования подтверждена 1 патентом РФ, а также поданы 2 заявки на патент РФ на изобретение.

Структура и содержание диссертации.

Диссертационная работа Кожухаря В.Ю. построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, обсуждения результатов, экспериментальной части, заключения, главы, посвященной обсуждению результатов биологических исследований, заключения и списка литературы, включающего 199 ссылок на работы отечественных и зарубежных авторов. Работа изложена на 199 страницах машинописного текста и содержит 55 схем, 43 таблицы и 11 рисунков.

Во введении автор аргументировано обосновал актуальность своего диссертационного исследования, грамотно сформулировал его основные цели и задачи, показал научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, ясно изложил положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы (Глава 1) представлены сведения о методах синтеза N-замещенных 2-амино-4-арил- и -гетероарил-4-оксобут-2-еновых кислот и их производных, которые основаны на использовании в качестве исходных 4-арил- и -гетероарил-4-оксобут-2-еновых кислот и 3-имино-3*H*-фуран- 2-онов. Также в обзоре литературы приведены спектральные характеристики N-замещенных 2-амино-4-арил- и -гетероарил-4-оксобут-2-еновых кислот и их производных (ИК- и ЯМР-спектроскопия). Обсуждаются некоторые химические свойства N-замещенных 2-амино-4-арил- и -гетероарил-4-оксобут-2-еновых кислот и их производных, в частности, гидролиз, галогенирование и образование 3-имино-3*H*-фуран-2-онов. Кроме того, в обзоре литературы представлен раздел, в котором обсуждается биологическая активность N-замещенных 2-амино-4-арил- и -гетероарил-4-оксобут-2-еновых кислот и их производных.

Во второй главе (материалы и методы исследования) указаны объекты исследования, спектральные методы, используемые для подтверждения структуры соединений, приборы и реактивы. Также в этой главе подробно описаны методы определения биологической активности полученных соединений: острой токсичности, анальгетической, противовоспалительной, гипогликемической, гемостатической, противомикробной активности и инсектицидного действия, определения влияния синтезированных соединений на ориентировочно-исследовательское поведение животных при индуцированном сахарном диабете, фагоцитоз. Помимо этого, в данном разделе приведены методики установления подлинности и чистоты синтезированных соединений.

Третья глава посвящена обсуждению полученных результатов. С использованием программы PASS было проведено прогнозирование спектра биологической активности синтезированных соединений. Далее автор подробно описывает получение 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот и синтез на их основе 5-арил-3-арилимино-3*H*-фуран-2-онов. Также в данной главе описаны

многочисленные примеры реакции раскрытия фуранового цикла различными нуклеофилами: взаимодействие с одно- и многоатомными спиртами, с алифатическими и ароматическими тиолами, с гетероциклическими аминами, гетероароматическими аминами, содержащими в своем составе один или несколько гетероатомов, с ароилгидразинами. С целью получения соединений, имеющих лучшую растворимость в воде, диссертантом был разработан метод получения гидрохлоридов ряда 2-ариламино-1-(пиперазин-1-ил)-4-фенилбут-2-ен-1,4-дионов.

Кроме того, диссертантом усовершенствован метод циклизации 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот путем замены уксусного ангидрида пропионовым, впервые изучены особенности взаимодействия 5-арил-3-арил-имино-3*H*-фуран-2-онов многоатомными спиртами и установлено строение продуктов раскрытия фуранового цикла. Впервые установлено, что атака алифатических и ароматических тиолов направлена на атом углерода в положении 2 фуран-2-она, ведущая к размыканию цикла и образованию соответствующих S-R-4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-ентииоатов.

В экспериментальной части (четвертая глава) автором представлены подробные методики получения как промежуточных продуктов, так и конечных соединений. В этой же главе приведены методики определения подлинности и чистоты для отдельных, наиболее перспективных соединений.

В главе 5 обсуждается биологическая активность 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот и их производных. В частности, приведены данные по острой токсичности, анальгетической, активности, противовоспалительному действию, гипогликемической, гемостатической, противомикробной и инсектицидной активности. Приведены данные о влиянии полученных соединений на ориентировочно-исследовательское поведение животных при индуцированном сахарном диабете.

Обнаружено, что некоторые 2-(ариламино)-4-арилбут-2-ен-1,4-дионы, содержащие в своем составе пиперазиновый или морфолиновый фрагмент, проявляют высокое инсектицидное и гемостатическое действие. Найдены основные закономерности структура-активность. Так, показано, что введение двух электронодонорных заместителей в арильный радикал при атоме углерода C⁴ и одного электронодонорного заместителя в *пара*-положение ариламинного фрагмента 2-ариламино-1-(пиперазин-1-ил)-4-фенилбут-2-ен-1,4-диона гидрохлоридов, способствует существенному увеличению гемостатического действия. При этом выявлено соединение-лидер – 4-(2,4-диметилфенил)-2-(4-метоксифениламино)-1-(пиперазин-1-ил)бут-2-ен-1,4-диона гидрохлорид, оказывающий гемостатическую активность, превышающую действие этамзилата более чем в 2 раза.

Также было обнаружено, что ряд соединений проявляет выраженную анальгетическую и противовоспалительную активность. При этом 2-(5-этил-1,3,4-тиадиазолил)амид 2-(4-бром-фениламино)-4-оксо-4-фенил-2-бутеновой кислоты является соединением-лидером, активность которого превосходит активность диклофенака и нимесулида.

Завершает диссертационную работу заключение, список цитированной литературы и приложения – патент РФ на изобретение и акты внедрения.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключений, сформулированных в диссертационной работе.

Целью своей диссертационной работы Кожухарь Вячеслав Юрьевич обозначил как разработку синтеза и изучением биологических свойств новых N-замещенных 2-ариламино-4-арил-4-оксобут-2-еновых кислот их производных. Для достижения поставленной цели, автором был сформулирован и успешно решен ряд задач таких, как осуществление синтеза 4-арил-2-арилаимно-4-оксобут-2-еновых кислот с введением в состав молекулы различных функциональных групп, определяющих биологические свойства соединений; разработка усовершенствованного метода синтеза 5-арил-3-арилимино-3*H*-фуран-2-онов путем циклизации 4-арил-2-арил-имино-4-оксобут-2-еновых кислот; изучение взаимодействия 5-арил-3-арилимино-3*H*-фуран-2-онов с различными нуклеофилами; получение водорастворимых соединений 2-ариламино-1-(пиперазин-1-ил)-4-арилбут-2-ен-1,4-диона гидрохлоридов; изучение фармакологической активности синтезированных соединений и выявление веществ, обладающие анальгетической, гемостатической, противовоспалительной, инсектицидной, противомикробной, гипогликемической активностью, а также изучить взаимосвязь «строение-биологическое действие».

Следует отметить тот факт, что автором для подтверждения структуры полученных соединений были использованы современные физико-химические методы анализа: ИК- и ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия, элементный анализ. Для определения чистоты применялся метод тонкослойной хроматографии. Это говорит о достоверности полученных результатов.

Также об обоснованности и достоверности результатов работы говорит и тот факт, что материалы диссертационного исследования были опубликованы в пяти (5) статьях в журналах, включенных в перечень ВАК РФ. Кроме того диссертантом получен патент РФ и опубликовано 16 тезисов научных докладов. Помимо этого, необходимо отметить и серьезную апробацию работы в ходе целого ряда профильных научных и научно-практических семинаров и конференций.

Таким образом, научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в работе Кожухаря В.Ю. представляются достаточно обоснованными, а их достоверность и новизна не вызывают сомнений. Содержание автореферата отражает содержание диссертационной работы; выводы, сформулированные в диссертации и автореферате, совпадают.

В целом, работа выполнена на высоком научном уровне, представленные материалы изложены последовательно и логично, согласуются с выводами. Данные, полученные в ходе экспериментальных исследований, подтверждены статистически, достоверны и также не вызывают сомнения.

Теоретическая и практическая значимость работы.

В ходе своего исследования диссертантом был усовершенствован метод циклизации N-замещенных 2-амино-4-арил-4-оксобут-2-еновых кислот. Вместо ангидрида уксусной кислоты, являющийся прекурсором, им был использован пропионовый ангидрид. Диссертантом разработаны препаративные методы синтеза не описанных ранее N-замещенные 2-амино-4-арил- и -гетероарил-4-оксобут-2-еновые кислоты, являющиеся продуктами раскрытия 3-арилимино-3*H*-фуран-2-онов.

В ходе выполнения диссертационной работы было синтезировано 122 неописанных в литературе соединения, из них было подвергнуто скринингу 74 вещества. Выявлены соединения-лидеры, проявляющие высокую анальгетическую, противовоспалительную, гемостатическую, инсектицидную активность.

Установлены закономерности биологического действия от химической структуры веществ, которые могут быть использованы в дальнейшем поиске биологически активных соединений в ряду производных 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот.

В ходе ознакомления с диссертацией, возникало ряд вопросов и замечаний.

Замечания:

1. В диссертационной работе схемы и подписи к ним должны располагаться на одной странице. В некоторых случаях это не соблюдается.

2. Слишком большой объем диссертации. В литературном обзоре, в пояснениях к схемам перечисляются все использованные заместители. Это мешает адекватному восприятию материала. На мой взгляд, достаточно указать общую структуру соединения.

3. На мой взгляд, в разделе, где диссертант ставит перед собой задачи (стр. 7), 3-ю и 4-ю задачи следовало бы объединить.

4. В работе имеется ряд опечаток и неточностей. Так, на стр. 44 – *Candida albicans* – это грибок, возбудитель оппортунистических инфекций человека, поэтому следует говорить о не о противобактериальных, а о противогрибковых свойствах синтезированных соединений.

5. Не для всех соединений представлены ЯМР-спектры (стр. 79-81, 86, 98, 105,106,109,110).

6. В списке литературы некоторые ссылки на статьи, опубликованные в Химико-Фармацевтическом Журнале почему-то даны в английском варианте (например, ссылки 188, 191-194).

Вопросы:

1. На стр. 64 описан усовершенствованный метод получения 3-имино-3*H*-фуран-2-онов. Однако из текста работы не понятно, в чем уступает неусовершенствованный способ получения. Хотелось бы получить разъяснения на этот счет.

2. Для создания препарата требуется изучения его механизма действия. В этой связи вопрос: какой предполагаемый механизм действия у соединений-лидеров, проявивших анальгетическую, противовоспалительную и гемостатическую активности?

Следует отметить, что замечания и вопросы носят, в большей степени, рекомендательный характер и не снижают общей положительной оценки диссертационной работы Кожухаря В.Ю.

Заключение о соответствии диссертации критериям «Положения о присуждении ученых степеней»

Диссертационная работа Кожухаря Вячеслава Юрьевича на тему «Синтез производных 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот на основе 3-имино-3*H*-фуран-2-онов и их биологическая активность», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, является научно-квалификационной работой, в которой изложены обоснованные автором результаты исследований, посвященные разработке синтеза и изучением

биологических свойств новых N-замещенных 2-ариламино-4-арил-4-оксобут-2-еновых кислот их производных.

По своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости полученных результатов, представленная работа полностью соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 № 335), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент:

Доктор фармацевтических наук (14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия), доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, доцент
400131, Волгоград,
Пл. Павших Борцов, д. 1.
Тел. (8442) 943900.

Электронная почта: m-novikov1@mail.ru

Новиков Михаил Станиславович

