

ОТЗЫВ

официального оппонента профессора кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации доктора фармацевтических наук, доцента Клен Елены Эдмундовны по диссертации Кузнецова Александра Сергеевича на тему: «Синтез, свойства и биологическая активность соединений на основе химических превращений 2(3)-[2-(адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразонов 5-(гет)арилфуран-2,3-дионов», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

1. *Актуальность выполненного исследования*

Создание новых отечественных фармацевтических субстанций на основе направленного поиска в рядах соединений, содержащих фармакофорные группы, является приоритетной задачей фармацевтической химии и фармации. Фрагмент адамантана, обладая качествами фармакофора, входит в состав лекарственных препаратов с противовирусной, нейротропной, иммуностимулирующей и другими видами активности, которые широко применяются в медицинской практике. Кроме того, фрагмент фурана часто встречается в составе лекарственных средств.

Трифенилфосфоранилиденгидразоны (трифенилфосфазины), содержащие фрагмент адамантана, являются удобными синтонами для получения производных 2(3)-[2-(адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразонов 5-(гет)арилфуран-3(2)-онов, содержащих несколько потенциальных фармакофорных фрагментов. В литературе описано лишь несколько таких производных. Кроме того, мало изучены реакции 2(3)-{[2-(адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2)-онов с OH-, SH-, NH-нуклеофилами и ароилкетеном, а биологическая активность продуктов их взаимодействия не исследована.

Таким образом, синтез новых биологически активных соединений в рядах 2(3)-{[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2)-онов и продуктов их химических превращений с OH-, SH-, NH-нуклеофилами, ароилкетеном, исследование биологической активности синтезированных соединений и выявление взаимосвязи «структура-биологическое действие веществ» является актуальным.

2. Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность

В соответствии с поставленной целью и задачами диссертантом разработаны методы синтеза новых 1-(3-R-адамантан-1-ил)-2-(трифенилфосфоранилиденгидразоно)этанонов и продуктов их взаимодействия с 4-(гет)арил-2,4-диоксобутановыми кислотами.

Автором показана возможность совмещения реакций Штаудингера и диаза-Витига для синтеза 2-{[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2H)-онов.

Установлено различное направление атаки нуклеофильного реагента в реакциях 2(3)-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2)-онов с тиогликолевой кислотой с образованием, соответственно, 2-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксо-1-(2-(5-арил-3-оксофуран-2-илиден)гидразинил)этил]тио}этановых и 2-{2-[2-(3-R-адамантан-1-ил)оксоэтилиденгидразинил]-4-арил-4-оксобут-2-еноилтио}этановых кислот.

Выявлено, что 2-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2H)-оны с ароилкетеном образуют два типа продуктов присоединения: 10-[2-(адамантан-1-ил-2-оксоэтилиден)амино]-2,7-диарил-1,6-диоксо-10-азаспиро[4.5]дека-2,7-диен-4,9-дионы и 2-(адамантан-1-карбонил)-6-арил-3-[(5-арил-3-оксофуранилиден)амино]-4H-1,3-оксазин-4-оны.

Автором установлены закономерности взаимодействия 2(3)-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2)-онов с водой, алифатическими спиртами и ароматическими аминами. Установлено, что 2(3)-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2)-оны реагируют с водой в мягких условиях с образованием продуктов гидролиза фуранового цикла: N-[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-енгидразидов и 2-{[2-(3-R¹-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-(гет)арил-4-оксобут-2-еновых кислот, соответственно. В случае алифатических спиртов и ароматических аминов для 2-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3-онов образуются продукты присоединения по активированной связи HC=N, а для 3-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-2-онов - продукты раскрытия фуранового цикла.

В результате изучения реакций комплексообразования N-[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-енгидразидов с дигалогенидами никеля, марганца, кобальта установлена бидентатная O-O координация исходных гидразидов.

Для проведения биологических испытаний впервые получены водорастворимые 4-(гет)арил-2-{2-[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-оксобут-2-еноаты натрия.

Автором установлено, что наличие электронодонорных заместителей в арильном радикале 2-[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиденгидразинил]-4-(гет)арил-4-оксобут-2-еновых кислот и их производных приводит к увеличению противомикробного действия. Кроме того, дополнительное введение атома галогена в ядро адамантила натриевых солей 2-[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиденгидразинил]-4-(гет)арил-4-оксобут-2-еновых кислот увеличивает гемостатическую активность. Установлено, что увеличению анальгетической активности способствуют, помимо наличия электронодонорных заместителей в арильном фрагменте 2-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразино}-5-(гет)арилфуран-3(2H)-онов, дополнительные функциональные группы при атоме C⁴ фуранового цикла.

Научная новизна исследования подтверждена 3 заявками на выдачу патента РФ на изобретение: «2-[2-(3-Хлорадамантан-1-ил)-2-оксоэтилиденгидразино]-4-(2,4-диметоксифенил)-4-оксо-2-бутеновая кислота, обладающая антифлавивирусной активностью» № 2015131648/04 (048803) от 29.07.2015; «Бис{3-(4-метилфенил)-1-N²-[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиденгидразидо]-1,3-пропандионато}никель, обладающий противомикробной активностью» № 2016119072 (029956) от 17.05.2016; «4-(4-Метоксифенил)-2-{2-[2-оксо-(3-хлорадамантан-1-ил)этилиден]гидразинил}-4-оксобут-2-еноат натрия, обладающий гемостатической активностью» № 2016127930(043717) от 11.07.2016.

3. *Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации*

Диссертационная работа Кузнецова А.С. грамотно спланирована, выполнена на высоком научном уровне, содержит достаточный и достоверный экспериментальный материал.

В работе автор научно обоснованно и эффективно использовал для решения поставленной цели и задач комплекс современных физико-химических методов установления структуры: элементный анализ, ЯМР ¹H- и ИК-спектроскопию, масс-спектрометрию, ТСХ. Результаты фармакологических экспериментов статистически обработаны.

Теоретические и практические положения четко сформулированы автором в диссертации и логически вытекают из экспериментальных данных. Заключительные выводы диссертации доказательны, обоснованы и достоверны.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений.

Основные результаты работы доложены отечественных и зарубежных конференциях и Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство».

4. *Значимость для науки и практики результатов диссертации, возможные конкретные пути их использования*

На основании проведенных автором исследований установлены направления реакций 2(3)-адамантаноилметиленидразонов 5-(гет)арилфуран-2,3-дионон с нуклеофильными реагентами, что позволяет прогнозировать строение продуктов аналогичных превращений.

Диссертантом разработаны удобные препаративные методы синтеза новых рядов биологически активных производных 1-(3-R-адамантан-1-ил)-2-(трифенилфосфоранилиденгидразон)этанонн, 2-{[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразон}-5-(гет)арилфуран-3(2Н)-онн, 2-{[2-(адамантан-1-ил)-1-алкокси-2-оксоэтил]гидразон}-5-арилфуран-3-онн, 2-{[(2-(адамантан-1-ил)-2-оксо-1-ариламино)этил]гидразон}-5-арилфуран-3-онн, 2-{[2-(адамантан-1-ил)-2-оксо-1-(2-(5-арил-3-оксофуран-2-илиден)гидразинил)этил]тио}этанонн кислот, 3-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразон}-5-(гет)арилфуран-2(3Н)-онн, 10-[2-(адамантан-1-ил-2-оксоэтилиден)амино]-2,7-диарил-1,6-диоксо-10-азаспиро[4.5]дека-2,7-диен-4,9-дионон, 2-(адамантан-1-карбонил)-6-арил-3-[(5-арил-3-оксофуранилиден)амино]-2Н-1,3-оксазин-4(3Н)-онн, 2-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-(гет)арил-4-оксобут-2-онн кислот и их натриевых солей, N-[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-енидразидон и их комплексов с Ni(II), Mn(II), Co(II), алкил 2-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-арил-4-оксобут-2-еноатон, 2-{2-[2-(3-R-адамантан-1-ил)оксоэтилиден]гидразинил}-4-арил-4-оксобут-2-еноилтио}этанонн кислот, 2-{[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-арил-4-оксо-N-арилбут-2-енамидон.

Для соединений-лидерон: 4-(2,4-диметоксифенил)-2-{[2-(3-хлорадамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-оксобут-2-онн кислот, проявляющей антифлавивирусную активность, и 4-(4-метоксифенил)-2-{2-[2-оксо-(3-хлорадамантан-1-ил)этилиден]гидразинил}-4-оксобут-2-еноата натрия, проявляющего гемостатическую активность, разработаны стандартные образцы и предложены методики установления качества.

Диссертантом синтезировано 92 неописанных в литературе соединения, 73 из которых подвергнуто фармакологическому скринингу. Выявлены перспективные соединения с высокой противовирусной и гемостатической активностью при низкой острой токсичности. Установлены некоторые закономерности фармакологического действия синтезированных соединений от их строения.

Полученные автором результаты можно использовать в поиске новых биологически активных веществ в научно-исследовательских центрах и ВУЗах фармацевтического профиля, занимающихся созданием новых лекарственных средств.

5. Оценка содержания диссертации

Диссертация построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, 4 глав собственных исследований, заключения, выводов, рекомендаций и библиографического указателя, включающего 98 отечественных и 132 зарубежных источника. Работа иллюстрирована 82 схемами химических реакций, 43 таблицами и 11 рисунками.

Во введении обоснована актуальность и степень разработанности темы, сформулированы цель и задачи исследования, отмечена новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов, а также изложены положения, выносимые на защиту.

В первой главе обобщены и систематизированы литературные данные по синтезу, строению и химическим свойствам трифенилфосфоранилиденгидразонов. Отмечено, что в ряду трифенилфосфазинов, содержащих фрагмент адамантана, получено лишь 2 вещества, а в реакции диаза-Виттига известно всего 3 примера образования адамантилпроизводных на основе 5-арилфуран-2,3-дионов.

Вторая глава посвящена материалам и методам исследования. Приведены объекты исследования – производные химических превращений 2(3)-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2)-онов, методики физического и физико-химического изучения синтезированных соединений, методы исследования биологической активности, а также методы установления качества соединений лидеров.

Собственные исследования диссертанта обсуждаются в третьей главе. В этой главе автор приводит:

- получение исходных 1-(3-R-адамантан-1-ил)-2-(трифенилфосфоранилиденгидразоно)этанонов реакцией Штаудингера;
- синтез 2-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-(гет)арилбут-2-еновых кислот реакциями 1-(3-R-адамантан-1-ил)-2-(трифенилфосфоранилиденгидразоно)этанонов с 4-(гет)арил-2,4-диоксобутановыми кислотами;
- синтез 3-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-2(3H)-онов циклизацией 2-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-(гет)арилбут-2-еновых кислот под действием уксусного ангидрида;
- синтез 2-{[2-(3-R¹-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арил-4-R²-фуран-3(2H)-онов из трифенилфосфазинов и 4-R-5-(гет)арилфуран-2,3-дионов;
- химические превращения 2-{[2-(3-R¹-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арил-4-R²-фуран-3(2H)-онов под действием воды, спиртов, ароматических аминов, тиогликолевой кислоты и ароилкетенов;

- химические превращения 3-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-2(3H)-онов под действием воды, спиртов, ароматических аминов и тиогликолевой кислоты;
- физико-химические свойства и спектральные характеристики синтезированных соединений.

Глава четыре содержит экспериментальную часть работы, в которой указаны методики синтеза 1-(3-R-адамантан-1-ил)-2-(трифенилфосфоранилиденгидразоно)этанонов, 2-{[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2H)-онов, 2-[(2-(адамантан-1-ил)-1-алкокси-2-оксоэтил)гидразоно]-5-арилфуран-3-онов, 2-{[(2-(адамантан-1-ил)-2-оксо-1-ариламино)этил]гидразоно}-5-арилфуран-3-онов, 2-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-(гет)арил-4-оксобут-2-еновых кислот и их натриевых солей, 3-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-2(3H)-онов, N-[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-енгидразидов и их комплексов с Ni(II), Mn(II), Co(II), 2-{[2-(адамантан-1-ил)-2-оксо-1-(2-(5-арил-3-оксофуран-2-илиден)гидразинил)этил]тио}этановых кислот, 10-[2-(адамантан-1-ил-2-оксоэтилиден)амино]-2,7-диарил-1,6-диоксо-10-азаспиро-[4.5]дека-2,7-диен-4,9-дионон, 2-(адамантан-1-карбонил)-6-арил-3-[(5-арил-3-оксофуранилиден)-амино]-2H-1,3-оксазин-4(3H)-онов, алкил 2-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-арил-4-оксобут-2-еноатов, 2-{2-[2-(3-R-адамантан-1-ил)оксоэтилиден]гидразинил}-4-арил-4-оксобут-2-еноилтио}этановых кислот, 2-{[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-арил-4-оксо-N-арилбут-2-енамидов.

Логическим завершением исследований автора стала пятая глава, посвященная анализу результатов изучения биологической активности синтезированных соединений. На основании компьютерного прогнозирования биологической активности, проведенного автором в программе PASS, были определены направления фармакологического скрининга синтезированных соединений на противомикробную, анальгетическую, гипокликемическую, антифлавивирусную, противовоспалительную, иммуностимулирующую, гемостатическую и психотропную активности.

В результате определения острой токсичности некоторых представителей синтезированных соединений установлено, что они относятся к 4 и 5 классам опасности.

Исследование противомикробной активности 66 синтезированных соединений показало, что наиболее активными в отношении *E. coli* ATCC 25922 и *St. aureus* ATCC 6538-P являются 2-{[2-(3-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-(2,4-диметоксифенил)бут-2-еновая кислота и ее натриевая соль, марганцевые и никелевые комплексы N-[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-енгидразидов, а также 2-{[2-(3-хлорадамантан-1-ил)-2-оксо-1-(2-(5-(4-метоксифенил)-3-оксофуран-2-илиден)гидразинил)этил]тио}этановая кислота.

В результате изучения антифлавивирусной активности установлено, что 4-(2,4-диметоксифенил)-2-{[2-(3-хлорадамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-оксобут-2-еновая кислота проявляет высокую антифлавивирусную активность и по выраженности данного эффекта не уступает противоклещевому иммуноглобулину человека.

Анализ результатов исследования анальгетической активности 42 синтезированных соединений показал, что все испытанные вещества проявляют активность с достоверно большим эффектом, чем метамизол натрия. Активность, сравнимую с диклофенаком и нимесулидом проявили, 2-{[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразино}-5-(4-метилфенил)фуран-3(2H)-он и 2-{[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразино}-4-бензоил-5-фенилфуран-3(2H)-он.

Анализ результатов изучения противовоспалительной активности показал, что 2-{[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-(4-метилфенил)бут-2-еновая кислота и 2-{[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразино}-5-(4-бромфенил)фуран-3(2H)-он в дозе 10 мг/кг проявляют активность, превышающую препарат сравнения диклофенак в аналогичной дозе.

Синтезированные соединения не проявляют гипогликемической активности, не оказывают статистически значимого влияния на ориентировочно-исследовательское поведение при аллоксан-индуцированном диабете, но активизируют процессы фагоцитоза.

В результате изучения влияние синтезированных соединений на свертывающую систему крови установлено, что 4-(4-метоксифенил)-2-{2-[2-оксо-(3-хлорадамантан-1-ил)этилиден]гидразинил}-4-оксобут-2-еноат натрия превосходит в 2,5 раза по гемостатическому действию этамзилат.

В Приложения включены акты внедрения результатов работы.

По теме диссертации опубликовано 24 научные работы, 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Данные диссертации используются в научно-исследовательской работе кафедры биологической химии ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедры природных и биологически активных соединений и научно-исследовательской лаборатории биологически активных веществ ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», а также в учебном процессе кафедры природных и биологически активных соединений ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет».

Полученные автором результаты можно использовать в научно-исследовательских центрах и ВУЗах фармацевтического профиля, занимающихся созданием новых лекарственных средств.

При ознакомлении с работой возникли отдельные редакционные замечания и вопросы:

1. Для известных соединений 4 и 12, полученных автором, не приводятся методики синтеза в экспериментальной части. Например, на стр. 69 указано, что выходы производных 3 могут снижаться за счет образования пиразолов 4 при несоблюдении условий эксперимента. Какие это условия и каковы выходы пиразолов?
2. Почему реакции с ароилкетенами исследованы только для 2-{[2-(3-R¹-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразино}-5-(гет)арил-4-R²-фуран-3(2H)-онов?
3. На каком основании проводилось отнесение сигналов изомеров и расчет их содержания в спектрах ЯМР ¹H 4-арил-2-{[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-оксобут-2-еновых кислот 3 и их производных 16-18?
4. В диссертационной работе имеются отдельные опечатки и стилистические погрешности. Например, стр.3, стр.20, стр. 167, на стр. 65 в табл. 5 у соединения 3м указана температура разложения, а на стр. 125 температура плавления и др.

Данные замечания и предложения не касаются существа выполненных исследований, не снижают научную и практическую ценность диссертации и не уменьшают общего положительного впечатления от выполненной автором большой и актуальной работы.

6. Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата полностью соответствует и отражает основные положения и выводы диссертации, и также, как и диссертационная работа Кузнецова Александра Сергеевича полностью соответствует паспорту специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

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

Таким образом, диссертационная работа Кузнецова Александра Сергеевича на тему: «Синтез, свойства и биологическая активность соединений на основе химических превращений 2(3)-[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразонов 5-(гет)арилфуран-2,3-дионо», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, является завершенной научной квалификационной работой, в которой содержится решение важной научной задачи современной фармацевтической химии по разработке методов синтеза биологически активных 2(3)-{[2-(3-R-адамантан-

1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2)-онов и продуктов их химических превращений, имеющая важное значение для развития фармации в России.

Диссертационная работа Кузнецова Александра Сергеевича соответствует требованиям п. 9 – 14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (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

профессор кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации;
450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3;
тел.: 8(919)1591308;
e-mail: klen_elena@yahoo.com,
доктор фармацевтических наук, доцент,
14.04.02 – фармацевтическая химия,
фармакогнозия

Клен Елена Эдмундовна

« 10 » января 2017 г.

