

АННОТАЦИЯ

диссертации на соискание степени доктора философии (PhD)
по образовательной программе «8D05301 – Химия»

Тойгамбекова Нуризат Нуржановна

**«Синтез, строение и биологическая активность новых производных
на основе алкалоида хинина»**

Общая характеристика работы. Настоящая работа посвящена синтезу, структурной модификации и комплексному биологическому исследованию новых производных алкалоидов цинхона на основе хинина, функционализированных в положении С-9 триазольными и азотсодержащими фрагментами. В работе объединены методы органического синтеза, спектрального анализа, *in vitro* и *in vivo* биологических испытаний, исследования анальгетической, противовоспалительной, цитотоксической, антимикробной и антибиоплёночной активности, а также молекулярного докинга с целью установления закономерностей «структура–активность» и поиска перспективных антибактериальных агентов.

Актуальность работы

Алкалоиды цинхона, и прежде всего хинин, относятся к числу природных соединений с уникальным сочетанием структурной сложности и широкого спектра биологической активности. Хинин, выделяемый из коры деревьев рода *Cinchona*, издавна используется в медицинской практике как противомаларийное средство и служит классическим примером природного алкалоида, обладающего выраженной фармакологической эффективностью. Наряду с антималярийным действием, хинин и его производные проявляют антибактериальную, противовирусную, противовоспалительную, анальгетическую и антиоксидантную активность, что подтверждает их многофункциональный биологический потенциал.

Введение в структуру хинина триазольных, изоксазольных, изотиазольных и других азотсодержащих фрагментов способствует расширению химического и биологического пространства его производных, а также формированию гибридных молекул с потенциально синергетическим эффектом. Такой подход соответствует современным тенденциям медицинской химии, ориентированным на создание многоцелевых молекул, способных одновременно воздействовать на несколько биологических мишеней, включая ферментативные системы и процессы формирования бактериальных биоплёнок.

Цель исследования

Синтез новых производных алкалоида цинхона на основе хинина, установление их молекул и изучение биологической активности.

Задачи исследования

1. Получение функционализированных производных хинина по положению С-9 на основе изучения реакций О-пропаргилирования, мезилирования и азидирования хинина, а также синтез триазольных производных хинина методом Cu(I)-катализируемого азид-алкинового циклоприсоединения (CuAAC) на основе О-пропаргилхинина и 9-азидо-9-дезоксихинина.

2. Исследование реакции пропаргилирования 9-триазолилзамещённых производных эпи-хинина, установление диастереоселективности процесса, получение диастереомеров (9S)- и (9R)-ряда, а также осуществление Cu-катализируемой трёхкомпонентной A³-реакции для введения различных вторичных аминных заместителей в положение С-9 хинина.

3. Установление молекулярного строения и стереохимии новых синтезированных производных методами ИК-, ¹H и ¹³C ЯМР-спектроскопии (HSQC, HMBC, COSY, NOESY), масс-спектрометрии и рентгеноструктурного анализа.

4. Исследование биологических активностей синтезированных производных, проведение молекулярного докинга, анализ зависимости «структура–активность» (SAR) и выявление перспективных соединений в качестве потенциально биологически активных агентов.

Методы исследования

В рамках диссертационного исследования применён комплекс взаимодополняющих экспериментальных и вычислительных методов. Получение целевых соединений осуществляли с использованием приёмов органического синтеза, а их очистка — методом колоночной и тонкослойной хроматографии. Идентификацию состава и установление строения веществ проводили на основе данных ИК-, УФ-, ¹H- и ¹³C (HSQC, HMBC, COSY, NOESY) ЯМР-спектроскопии, высокоразрешающей масс-спектрометрии, рентгеноструктурного и элементного анализа, а также с привлечением методов высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Изучение биологической активности синтезированных соединений проводили *in vitro* с применением микробиологических методов, включающих диффузию в агаре, серийные разведения и модели формирования бактериальных биоплёнок. Для интерпретации экспериментальных данных и прогнозирования взаимодействия исследуемых молекул с биологическими мишенями использовали квантово-химические расчёты, методы молекулярного моделирования и молекулярного докинга, в том числе в отношении фермента MurB. Цитотоксичность новых производных хинина оценивали в биотесте на личинках *Artemia salina*, что позволило провести первичный скрининг токсичности исследуемых соединений. Анальгетическую активность изучали *in vivo* на модели уксуснокислых корчей у мышей с использованием диклофенака натрия в качестве препарата сравнения. Противовоспалительную активность исследуемых соединений изучали *in vivo* на модели острой экссудативной реакции (перитонит) у белых беспородных крыс массой 190–210 г с использованием диклофенака натрия в качестве препарата сравнения. Совокупность экспериментальных и теоретических подходов обеспечила

комплексную оценку биологического потенциала синтезированных производных хинина.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Разработан эффективный метод селективного введения функциональных групп в положение С-9 алкалоида хинина, включающий стадии О-пропаргилирования, мезилирования и нуклеофильного замещения. Установлено, что реакция О-пропаргилирования хинина в среде сухого DMF в присутствии NaN протекает селективно с образованием О-пропаргилхинина с выходом до 80%, что позволяет использовать его в качестве эффективного исходного соединения для последующих клик-реакций. Разработан метод селективного получения 9-азидо-9-дезоксихинина посредством нуклеофильного замещения мезилатной группы азид-ионом в полярном апротонном растворителе. В результате оптимизации температурного режима выход целевого азид хинина составил 79%, что подтверждает высокую реакционную способность промежуточного продукта. Cu(I)-катализируемая реакция азид-алкинового циклоприсоединения (CuAAC) внедрена как ключевой инструмент модульной модификации хинина и обеспечивает региоселективное формирование 1,2,3-триазольного фрагмента. С использованием данного подхода впервые синтезированы новые триазольные производные хинина с выходами до 70%.

2. Установлена возможность контролируемой инверсии конфигурации в положении С-9 при О-пропаргилировании триазольных производных хинина в присутствии сильных оснований. В результате образуются новые легко разделяемые диастереомеры с суммарным выходом до 70%, что расширяет доступ к стереохимически различным производным и позволяет исследовать влияние конфигурации на биологическую активность. Впервые изучена Cu-катализируемая трехкомпонентная реакция А³-присоединения (альдегид–алкин–амин) для модификации 9-замещённых производных алкалоида хинина. Показано, что данный подход позволяет в одну стадию вводить вторичные аминсодержащие фрагменты в структуру 2(S)- и 2(R)- 2-(6-метоксихинолин-4-ил)(4-(2-(проп-2-инилокси) пропан-2-ил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)метил)-5-винилхинуклидинов, что позволило увеличить выход целевых пропаргиламиновых производных хинина до 88%.

3. Впервые молекулярная структура и стереохимия новых синтезированных производных хинина установлены и доказаны методами ИК-, ¹H и ¹³C ЯМР-спектроскопии (HSQC, HMBC, COSY, NOESY), масс-спектрометрии и рентгеноструктурного анализа.

4. Впервые исследованы биологические активности новых синтезированных производных, проведён молекулярный докинг, проанализирована зависимость «структура–активность» (SAR) и установлены соответствующие закономерности.

Характеристика основных результатов исследования

В результате проведённого исследования разработаны эффективные синтетические подходы к селективной функционализации алкалоида хинина в положении С-9. Установлены оптимальные условия протекания реакций О-пропаргилирования, мезилирования и азидирования, обеспечивающие получение

целевых продуктов с высокими выходами. С использованием Cu(I)-катализируемой реакции азид-алкинового циклоприсоединения (CuAAC) впервые синтезирован ряд новых 1,2,3-триазольных производных хинина с высокой региоселективностью.

В ходе исследования продемонстрирована возможность управления конфигурацией в положении C-9 алкалоида хинина, получены новые (9R)- и (9S)-диастереомеры и установлено влияние стереохимии на биологическую активность. Кроме того, реализована Cu-катализируемая трёхкомпонентная A³-реакция, в результате которой установлено региоселективное образование новых производных, содержащих вторичные аминные фрагменты. На основе проведённых химических превращений синтезировано 34 производных хинина, из которых 27 являются новыми соединениями.

В результате проведённых биологических исследований установлено, что ряд синтезированных соединений проявляет выраженную антибактериальную, антимикробную, антибиоплёночную, противовоспалительную, антиоксидантную, анальгетическую и цитотоксическую активность. На наиболее биологически активные соединения получены патенты на полезную модель Республики Казахстан (№ 9011, 10114, 9770, 8794).

Научная новизна работы:

1. Впервые разработаны эффективные подходы к селективной функционализации алкалоида хинина в положении C-9 через стадии O-пропаргилирования, мезилирования и азидирования. На основе Cu(I)-катализируемых реакций азид-алкинового циклоприсоединения (CuAAC) между O-пропаргилхином и органическими азидами, а также между 9-азидо-9-дезоксихином и терминальными алкинами синтезированы новые триазольные производные хинина, ранее не описанные в литературе. Установлено влияние структуры алкинового фрагмента на выходы реакций и свойства целевых соединений.

2. Впервые изучена реакция пропаргилирования 9-триазолилзамещённых эпи-производных хинина, в результате которой получены диастереомерные пары (9S)- и (9R)-производных. Показано, что процесс сопровождается частичной инверсией конфигурации в положении C-9, а соотношение диастереомеров зависит от условий реакции. Кроме того, реализована Cu-катализируемая трёхкомпонентная A³-реакция (альдегид-алкин-амин) для введения различных вторичных аминных заместителей в положение C-9 алкалоидов цинхоны. Установлено, что данный подход позволяет эффективно и диастереоселективно формировать пропаргиламинные фрагменты в структуре хинина, существенно расширяя структурное разнообразие получаемых производных.

3. На основе проведённых химических превращений синтезировано 34 производных алкалоида хинина, из которых 27 являются новыми соединениями. Молекулярная структура и стереохимия новых синтезированных производных хинина доказаны методами ИК-, ¹H и ¹³C ЯМР-спектроскопии (HSQC, HMBC, COSY, NOESY), масс-спектрометрии и рентгеноструктурного анализа.

4. Впервые для новых синтезированных соединений алкалоида хинина проведены квантово-химическое моделирование и молекулярный докинг. Установлены биологические активности новых синтезированных производных, в частности антимикробная, антибактериальная, антиоксидантная, противовоспалительная, анальгетическая и цитотоксическая активности. На наиболее биологически активные соединения получены патенты на полезную модель Республики Казахстан (№ 9011, 10114, 9770, 8794).

Важность полученных результатов исследования

В результате проведённых химических превращений синтезированы 27 ранее не изученных новых производных хинолинового алкалоида хинина, структура которых установлена современными методами ИК-, ^1H и ^{13}C ЯМР (HSQC, HMBC, COSY, NOESY)-спектроскопии, масс-спектрометрии и рентгеноструктурного анализа.

Результаты квантово-химического моделирования и молекулярного докинга синтезированных соединений позволили уточнить реакционную способность и стереохимические особенности полифункциональной молекулы хинина, а также установить влияние природы заместителей на направление протекания реакций и их селективность. Проведённые синтетические трансформации существенно расширили возможности целенаправленной модификации хинолинового алкалоида хинина и углубили теоретические представления о его химических свойствах и реакционной способности.

Впервые исследованы биологические активности синтезированных соединений, включая антимикробную, антибактериальную, антиоксидантную, противовоспалительную, анальгетическую и цитотоксическую активности, в результате чего выявлены высокоактивные соединения. Изучены закономерности зависимости «структура – биологическая активность». Наиболее значимые новые соединения, проявившие высокую биологическую активность, защищены патентами Республики Казахстан. Полученные патенты подтверждают практическую значимость результатов исследования и свидетельствуют о высоком потенциале дальнейшего использования данных соединений в качестве субстанций лекарственных средств.

Связь работы с научно-исследовательскими работами и государственными научными программами

Диссертационная работа выполнена на химическом факультете НАО «Карагандинский национальный исследовательский университет имени академика Е.А. Букетова» в рамках грантового проекта КН МНВО РК № AP19674667 «Синтез и химические превращения нового типа полигетероциклических соединений на основе хинолиновых и изохинолиновых алкалоидов для целенаправленной доставки в биологические системы» на 2023-2025 гг (№ гос. регистрации 0123РК00214).

Личный вклад автора в выполнение диссертационного исследования состоит в самостоятельном анализе научно-технической, патентной и специализированной литературы по теме работы. Автором осуществлялось планирование и проведение комплекса химических экспериментов, включая синтетические превращения, хроматографическое разделение реакционных

смесей, выделение и очистку новых индивидуальных соединений. Соискателем лично выполнена структурная идентификация синтезированных веществ на основе интерпретации данных спектральных и аналитических методов исследования. Полученные экспериментальные результаты анализировались и обсуждались совместно с научными консультантами.

Вкладом докторанта в подготовку каждой публикации является проведение литературного и патентного поиска, выбор научного журнала, подготовка и описание статьи и интерпретация полученных результатов, переписка с редакцией журналов и рецензентами следующих научных статей:

1. «Synthesis, Antibacterial Properties and Molecular Docking Studies of Nitrogen Substituted 9-(((4X-But-2-ynloxy) methyl)- 1,2,3-triazolyl) –Cinchona Alkaloid Conjugates» <https://doi.org/10.3390/molecules30224352> - Синтез новых 9-триазолил- и аминзамещённых производных алкалоидов цинхоны, установление их структуры методами ИК-, ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии, исследование антибактериальной активности и молекулярного докинга в FAD-связывающем участке фермента MurB.

2. «Synthesis and Biological Activity of Novel Polyazaheterocyclic Derivatives of Quinine» <https://doi.org/10.3390/molecules27217387> - Синтез новых полиазагетероциклических производных хинина, установление строения молекул с использованием спектральных и аналитических методов, а также изучение их биологической активности и зависимости «структура–активность».

3. «Development and computational analysis of new alkaloid derivatives as potential inhibitors of the SARS-CoV-2 M^{pro}» <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2025.124718> – Разработка новых производных природных алкалоидов, проведение молекулярного докинга и квантово-химического анализа с целью оценки их потенциала в качестве ингибиторов основной протеазы SARS-CoV-2 (M^{pro}).

4. «Изучение противовоспалительной активности серии азотистых гетероциклических соединений и сравнение полученных данных с результатами квантово-химических расчетов ab initio методом DFT» <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2024-68-6-454-459> – Исследование противовоспалительной активности азотсодержащих гетероциклических соединений и сопоставление экспериментальных данных с результатами квантово-химических расчётов, выполненных методом DFT.

5. «Synthesis and investigation of the derivatives of quinine alkaloid as potential inhibitors of the main protease SARS-COV-2 M^{pro}» <https://doi.org/10.51580/2023-1.2710-1185.01> - Синтез новых производных алкалоида хинина, установление их структуры физико-химическими методами и оценка ингибирующей активности в отношении основной протеазы SARS-CoV-2 с применением молекулярного докинга.

6. «Получение новых производных алкалоида хинина и изучение их противовоспалительной активности» <https://doi.org/10.32014/2025.2518-1491.289> – Синтез новых производных хинина и исследование их противовоспалительной активности in vivo, а также анализ влияния химической модификации алкалоида на выраженность биологического эффекта.

7. Design, DFT, Docking And In Silico Analysis Of Alkaloids Acyl Derivatives As Potential Inhibitors Of SARS-COV-2 Main Protease M^{Pro} <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2026-62-1-45-54>.–Проведение молекулярного докинга и квантово-химического анализа с целью оценки их потенциала в качестве ингибиторов основной протеазы SARS-CoV-2 (M^{Pro}).

8. Анальгетическая активность серии азотсодержащих гетероциклических соединений: эксперимент и сравнение полученных данных с результатами квантово-химических расчетов ab initio методом DFT - <https://doi.org/10.52540/2074-9457.2024.2.67> – Исследование анальгетической активности серии азотсодержащих гетероциклических соединений и сопоставление экспериментальных фармакологических данных с результатами квантово-химических расчётов, выполненных ab initio методом DFT (статья опубликована в рецензируемом научном журнале, индексируемом в РИНЦ).

Основные положения, выводы и научные результаты диссертации докладывались и обсуждались на международных конференциях:

1. (2s,4s,5r)-2-((r)-(6-метокси-1-метилхинолин-1-иум-4-ил) ((1-метилпиридин-1-иум-4-карбонил)окси)метил)- 1-метил-5-винилхиноклидин-1-иум трийодид, обладающий антимикробной активностью – г. Киров, Россия. – 2022. – С.199 – Синтез четвертичного ионного производного алкалоида хинина, установление его строения и исследование антимикробной активности.

2. Алкалоиды как трейлеры для доставки фармакофорных структур в клетки-мишени – г. Киров, Россия. – 2022. – С.56 – Анализ возможности использования природных алкалоидов в качестве молекулярных носителей (трейлеров) для направленной доставки фармакофорных фрагментов в клетки-мишени.

3. Синтез и биологическая активность новых комбинированных производных хинина – г. Минск. - 2023 г. - С.105-108 – Синтез новых комбинированных производных алкалоида хинина и изучение их биологической активности с установлением зависимости «структура–активность».

4. Синтез новых 1,2,3-триазольных производных хинина – Сыктывкар. – 2024. – С.7 – Разработка синтетических подходов к получению 1,2,3-триазольных производных хинина и подтверждение их структуры методами спектроскопии.

5. Производные алкалоидов как фитопрепараты – Сыктывкар. – 2024. – С.61 – Рассмотрение производных природных алкалоидов как перспективных компонентов фитопрепаратов с биологической активностью.

6. Синтез и противовоспалительная активность (1r)-(6-метоксихинолин-4-ил)(2s,4s,5r)-5-винилхиноклидин- 2-ил)метил 2-фенилхинолин-4-карбоксилата – Сыктывкар. – 2024. – С.134 – Синтез нового сложного эфира на основе алкалоида хинина и исследование его противовоспалительной активности в экспериментальных моделях.

7. Метод предварительной оценки биологической активности органических соединений путем квантово-химического моделирования их структуры и свойств ab initio методом DFT – г. Витебск. – 2025. – С. 275-276 – Разработка метода предварительного прогнозирования биологической

активности органических соединений на основе квантово-химического моделирования их структуры и электронных свойств методом DFT.

8. (1R)-(6-метоксихинолин-4-ил) (2S,4S,5R)-5-винилхинуклидин-2-ил) метил 4,5-дихлоризотиазол-3-карбоксилаттың синтезі және микробқа қарсы белсенділік – Караганда – 2023. – Б. 326-328 – Синтез нового изотиазольного производного алкалоида хинина и исследование его антимикробной активности.

9. Анальгетическая активность (R)-(6-Метоксихинолин-4-ил) (1S,2R,4S,5R)-5 винилхинуклидин-2-илметил 2-фенилхинолин-4-карбоксилата – Нижний Новгород. – 2025. – С.188 – Исследование анальгетической активности нового производного хинина и сопоставление полученных результатов с действием референтных препаратов.

10. Analgesic activity of novel quinine derivatives – Караганда – 2025. – Р. 133-134 – Изучение анальгетической активности новых производных хинина и анализ влияния химической модификации алкалоидного остова на выраженность фармакологического эффекта.

По материалам диссертационной работы получены патенты Республики Казахстан на полезную модель:

1. Патент РК № 9011 от 06.02.2024 по заявке № 2024/0168.2 на полезную модель (1S,2R,4S,5R)-2-(R)-(6-метокси-1-метилхинолин-1-иум-4-ил)(5-фенилизоксазол-3-карбонил)оксиметил-1-метил-5-винилхинуклидин-1-иум дийодид, обладающую анальгетической активностью;

2. Патент РК № 10416 от 09.02.2025 по заявке № 2025/0187.2 на полезную модель (2S,4S,5R)-2-(R)-(2-хлорацетил)(6-метокси-1-метилхинолин-1-иум-4-ил)метил-1-метил-5-винилхинуклидин-1-иум дийодид, обладающую антимикробной активностью;

3. Патент РК № 9770 от 21.09.2024 по заявке № 2024/1155.2 на полезную модель (1S,2R,4S,5R)-2-((R)-((1-бензил-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метокси)(6-метоксихинолин-4-ил)метил)-5-винилхинуклидин, обладающую антимикробной активностью;

4. Патент РК № 8774 от 03.11.2023 по заявке № 2023/1099.2 на полезную модель (1R)-(6-метоксихинолин-4-ил)((2S,4S,5R)-5-винилхинуклидин-2-ил)метил 2-фенилхинолин-4-карбоксилат, обладающую противовоспалительной активностью.

Издана монография:

1. «*Synthesis and analysis of esters of heterocyclic compounds*». – Karagandy: LLP Typography Colorprint, 2022. – 127 p. – ISBN978-601-08-5483-3