

На правах рукописи

Петр

Петрова Полина Радиковна

**ХИНОЛИЗИДИНОВЫЕ АЛКАЛОИДЫ РАСТЕНИЙ
СЕМЕЙСТВА *FABACEAE* В СИНТЕЗЕ НОВЫХ ПРОТИВОГРИППОЗНЫХ
АГЕНТОВ**

02.00.03 – Органическая химия

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук**

Уфа – 2020

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении Уфимском федеральном исследовательском центре Российской академии наук (в лаборатории биоорганической химии и катализа Уфимского Института химии – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук (УФИХ УФИЦ РАН))

Научный руководитель: **Цыпышева Инна Петровна**
кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории биоорганической химии и катализа Уфимского Института химии – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук

Официальные оппоненты: **Катаев Владимир Евгеньевич**
доктор химических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории фосфорсодержащих аналогов природных соединений Института органической и физической химии им. А. Е. Арбузова – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» (г. Казань)

Соколова Анастасия Сергеевна
кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологически активных веществ Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирского института органической химии им. Н. Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (г. Новосибирск)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук» (г. Сыктывкар)

Защита диссертации состоится 20 мая 2020 года в 16 час. 00 мин. на заседании диссертационного совета Д 002.198.02 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук по адресу: 450054, Республика Башкортостан, г. Уфа, проспект Октября, 69 (УФИХ УФИЦ РАН, конференц-зал). Тел./факс: (347)2356066. E-mail: dissovetioh@anrb.ru.

С диссертацией и авторефератом диссертации можно ознакомиться в научной библиотеке Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук и на сайте ufaras.ru по адресу:

http://ufaras.ru/wp-content/uploads/2020/02/2020_2_Petrova-PR_disser-1.pdf

Автореферат разослан «__» _____ 2020 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор химических наук

Фризен А. К.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Грипп – это вирусное заболевание, характеризующееся острым началом, тяжестью протекания, частым возникновением осложнений и высоким уровнем смертности. Скорость распространения и исключительная контагиозность возбудителя гриппа, как правило, приводят к сезонным вспышкам этого заболевания, которые иногда перерастают в пандемии: «испанка» 1918-1919 годов (грипп А, штамм H1N1), пандемия гриппа А 1957 года (штамм H3N2) и пандемия 2009 года (вирус A(H1N1)pdm09 свиного происхождения). Недавно выявлены новые высокопатогенные штаммы гриппа А - H7N9 и H5N1, причем смертность от последнего составляет почти 60%. Среди медикаментозных средств лечения и профилактики гриппа лидирующие позиции занимают препараты Арбидол®, римантадин и амантадин, занамивир (Реленца®), осельтамивир (Тамифлю®), перамивир (Рапиакта®) и ланинамивир (Инавир®), а также разрешенный в 2018 году в Японии и США Балоксавирмарбоксил (Ксофлуза®). К сожалению, практически все средства химиотерапии гриппа имеют серьезные противопоказания к применению и побочные эффекты, к тому же, скорость возникновения новых штаммов вирусов гриппа с лекарственной резистентностью очень высока, поэтому поиск и разработка новых противогриппозных агентов, лишенных указанных недостатков, остаются актуальными задачами органической и медицинской химии, решение которых имеет огромное значение для профилактики и борьбы с этим опасным социально-значимым заболеванием.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ УФИХ УФИЦ РАН по темам «Синтез биологически активных гетероциклических и терпеноидных соединений» АААА-А17-117011910025-6; Гранта Республики Башкортостан для молодых ученых и молодежных научных коллективов, проект «Производные алкалоида термопсина в синтезе новых противовирусных агентов»; Гранта РФФИ № 18-33-00877 мол_а, проект «Ингибиторы нейраминидазы вируса гриппа А (H1N1) на основе синтетических и природных 2-пиридонов и хинолизидинов». Физико-химические анализы выполнены на оборудовании Центра коллективного пользования «Химия» УФИХ УФИЦ РАН.

Степень разработанности темы. В лечении инфекционных заболеваний, включая вирусные, существует многовековая традиция применения лекарственных растений, значительную часть которых составляют алкалоидоносы. Так, экстракты некоторых растений семейства бобовых (*Fabaceae*) – основных продуцентов хинолизидиновых алкалоидов, эффективно ингибируют репродукцию вируса гриппа А (H1N1). Установлено, что среди индивидуальных хинолизидиновых алкалоидов выраженной противогриппозной активностью обладают алкалоиды структурных групп матрина и спартеина. На основе (–)-цитизина – трициклического хинолизидинового алкалоида с 2-пиридоновым ядром, также получено несколько производных (мочевины и тиомочевины) с потенциальными противогриппозными свойствами. Несмотря на отдельные обнадеживающие результаты, в мировой литературе практически отсутствуют данные о систематическом поиске новых противогриппозных агентов среди синтетических производных хинолизидиновых алкалоидов. Таким образом, учитывая доступность, высокий синтетический потенциал, а также обнаруженные у отдельных представителей противогриппозные свойства, синтез новых производных этих алкалоидов с параллельной оценкой способности ингибировать репродукцию вируса гриппа А (H1N1), может стать одним из эффективных вариантов решения задачи

создания новых противогриппозных агентов на основе веществ природного происхождения.

Цель работы: синтез новых производных хинолизидиновых алкалоидов – вторичных метаболитов растений семейства бобовых (*Fabaceae*), с потенциальной противогриппозной активностью.

В соответствии с целью работы поставлены следующие **задачи:**

- выявление структурных типов хинолизидиновых алкалоидов, потенциально ответственных за противогриппозную активность, путем оценки способности алкалоидсодержащих экстрактов растений родов *Thermopsis*, *Chamaecytisus*, *Genista* (*Fabaceae*) ингибировать репродукцию вируса гриппа А (H1N1);
- синтез новых тио- и карбоксамидов, гуанидиновых производных, а также конъюгатов с некоторыми пиримидинами и биологически значимыми органическими кислотами на основе производных хинолизидиновых алкалоидов, содержащих галоид-, нитро- и аминогруппу в 2-пиридоновом ядре;
- разработка способа прямого формилирования псевдоароматического 2-пиридонового ядра метилцитизина, превращение полученного альдегида в соответствующие 9-енил-, 9-инил-, 9-имино- производные;
- функционализация 2-пиридонового ядра 2-оксо и 4-оксометилцитизина, химические трансформации их формил-, галоид- и аминопроизводных на основе реакций построения новых связей «углерод-углерод» и «углерод-азот»;
- синтез аддуктов Дильса-Альдера 2-оксо- и 4-оксопроизводного метилцитизина с *N*-замещенными имидами малеиновой кислоты; выявление факторов, влияющих на стереохимический результат [4+2]-циклоприсоединения;
- оценка противогриппозной активности синтезированных соединений (совместно с Институтом микробиологии и эпидемиологии имени Пастера, Санкт-Петербург).

Научная новизна. Впервые систематически исследованы состав и содержание хинолизидиновых алкалоидов в надземной части растений семейства бобовых (*Fabaceae*) – ракитнике русском (*Chamaecytisus ruthenicus* (Fisch. ex Wolf. Klásk.)), дроке красильном (*Genista tinctoria* L.) и в термопсисе Шишкина (*Th. Schischkinii* Czefr.), произрастающих на территории РФ и РБ, в зависимости от органа растения, фазы вегетации, условий произрастания и внутривидовых различий; показана противогриппозная активность их «алкалоидсодержащих» экстрактов. Впервые реализованы прямое электрофильное 9-формилирование, йодирование и введение изотиоцианатной группы в 2-пиридоновое ядро производных (–)-цитизина и метилцитизина, что позволило получить серию новых тио- и карбоксамидов, 9-енил-, 9-инил-, 9-иминопроизводных, а также конъюгатов с 1,3-диметилурацилом и урокановой кислотой. Комбинацией окислительных трансформаций биспидиновой части молекулы метилцитизина с разработанными способами функционализации его 2-пиридонового ядра получены библиотеки его 2-оксо- и 4-оксопроизводных с галоид-, нитро- и аминогруппами, а также с фенильным заместителем, связанным со стартовым алкалоидом спейсерами различной природы. Впервые в реакцию [4+2]-циклоприсоединения с *N*-замещенными имидами малеиновой кислоты вовлечены 2-оксо- и 4-оксопроизводное метилцитизина; в термических условиях проведения этой реакции получены аддукты с 3aS,4R,12aR,12bS и 3aR,4S,12aS,12bR конфигурацией новых асимметрических центров. Проведена оценка противогриппозных свойств всех синтезированных производных в отношении вирусов парагриппа, гриппа А (H1N1) и высокопатогенного вируса «птичьего» гриппа А (H5N2).

Теоретическая значимость работы. Выявлены закономерности распределения и накопления хинолизидиновых алкалоидов в надземной части растений семейства бобовых (*Fabaceae*) – термопсиса Шишкина, раkitника русского и дрока красильного в зависимости от органа и стадии развития растения, внутривидовых отличий и условий произрастания. Выявлены (совместно с сотрудниками Института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, г. Санкт-Петербург) структурные типы алкалоидов, потенциально ответственных за противогриппозную активность. Показана возможность прямого 9-формилирования 2-пиридинового ядра метилцитизина по Даффу, синтеза 9-изотиоцианата (из соответствующего аминопроизводного) и 9-йодида (через стадию исчерпывающего йодирования). Разработаны последовательности химических трансформаций алкалоидов (–)-цитизина, термопсина, метилцитизина, а также его 2-оксо- и 4-оксопроизводного, путем функционализации их 2-пиридинового ядра (электрофильное замещение) с последующими трансформациями введенных функциональных групп на основе реакций, приводящих к образованию новых «С-С» и «С-N» связей. Установлены стереохимические закономерности протекания реакции Дильса-Альдера 2-оксо- и 4-оксопроизводного метилцитизина с имидами малеиновой кислоты в термическом ее варианте: [4+2]-циклоприсоединение к 2-оксометилцитизину приводит к образованию пары диастереомерных аддуктов, в которой преобладающим является аддукт с «β-эндо» расположением сукцинимидного фрагмента, в случае 4-оксометилцитизина процесс протекает «β-эндо» диастереоспецифично. На основе результатов оценки способности синтезированных производных алкалоидов (–)-цитизина, метилцитизина и термопсина ингибировать репродукцию вирусов гриппа А и вируса парагриппа (НPIV3) получены данные о зависимости «структура – противогриппозные свойства» важные для последующих этапов поиска и создания новых противогриппозных агентов на основе хинолизидиновых алкалоидов и/или их синтетических аналогов.

Практическая значимость работы. Определены оптимальные сроки сбора надземной части *Ch. ruthenicus* (Fisch. ex Woł. Klásk.), *G. tinctoria* L. и *Th. Schischkinii* Czefr., произрастающих на территории РФ и РБ, соответствующие максимальному содержанию алкалоидов и максимальному разнообразию в растительном сырье; оценена противогриппозная активность «алкалоидсодержащих» экстрактов этих растений (совместно с сотрудниками Института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, г. Санкт-Петербург). Разработаны простые и удобные с практической точки зрения способы синтеза новых производных алкалоидов (–)-цитизина, термопсина, метилцитизина и его 2-оксо- и 4-оксо- аналога, несущих в своей структуре галоид-, нитро-, amino-, формил-, изотиоцианатную, амидную, тио- и карбоксамидную, гуанидиновую функциональные группы, конъюгатов с 1,3-диметилаурацилом, урокановой кислотой, с фенильным фрагментом, связанным с 2-пиридиновой частью молекул этих алкалоидов этильным, этенильным, этинильным, аминометиленовым, тио- и карбоксамидным спейсерами, а также аддуктов Дильса-Альдера метилцитизина, его 2-оксо- и 4-оксопроизводного с N-замещенными имидами малеиновой кислоты. В результате предпринятых химических трансформаций получены новые соединения с противогриппозными свойствами, обладающие доказанной способностью ингибировать репродукцию вирусов парагриппа (НPIV3), гриппа А (H1N1) и подтипа вируса высокопатогенного «птичьего» гриппа А (H5N2).

Методология и методы исследования. Подходы к синтезу библиотек новых потенциальных противогриппозных агентов разрабатывались с учетом принципов комбинаторной химии и заключались в «периферийном дизайне» исходных

хинолизидиновых алкалоидов посредством сочетания с известными фармакофорными фрагментами (мочевинным, тиомочевинным, амидным, пиримидиновым, имидазолиновым и т.д.), включая синтез «молекул-гибридов», в которых алкалоидный скаффолд и фармакофорный фрагмент связывались спейсерами различной природы. В процессе реализации плана синтеза библиотек потенциальных противогриппозных агентов были использованы классические и современные методы органического синтеза: реакции электрофильного замещения в ароматическом ряду, окислительные трансформации углеродного скелета стартовых молекул, каталитическое восстановление функциональных групп, реакции кросс-сочетания (Сузуки, Хека и Соногашира) и конденсации, приводящие к образованию новых «углерод-углеродных» и «азот-углеродных» связей, а также реакция [4+2]-циклоприсоединения (реакция Дильса-Альдера). Выделение и очистка исходных алкалоидов из растительного сырья и синтезированных соединений осуществлены методами экстракции, колоночной хроматографии и кристаллизации. Строение синтезированных соединений устанавливали с помощью современных методов физико-химического анализа: хромато-масс-спектрометрии, ИК-спектроскопии, спектроскопии ЯМР ^1H , ^{13}C и РСА.

Положения, выносимые на защиту: способ синтеза амидов, карбоксамидов и тиокарбоксамидов (–)-цитизина, содержащих галоид-, нитро- или аминогруппу в 2-пиридиновом ядре;

способы синтеза 9-формил- и 9-йодметилцитизина, и соответственно, 9-енил-, 9-инил- и 9-иминопроизводных на их основе;

способ синтеза 9-изотиоцианата метилцитизина и его превращения в соответствующие тиокарбоксамиды и, далее, в гуанидины;

синтез конъюгатов 9-амино-3-*N*-замещенных производных (–)-цитизина и 9-аминотермопсина с 1,3-диметил-5-формулаурацилом;

синтез производных 2-оксо- и 4-оксометилцитизина, несущих в 9 и 11 положении 2-пиридинового ядра нитро-, галоид-, амино- и альдегидную группы, а также фенильный фрагмент, связанный со стартовой молекулой спейсерами различной природы;

диастереоселективный способ синтеза аддуктов Дильса-Альдера 2-оксо- и 4-оксометилцитизина с имидами малеиновой кислоты.

Степень достоверности. Высокая достоверность научных положений и выводов основана на значительном объеме экспериментальных данных, полученных с применением современного испытательного и аналитического оборудования: чистота всех новых полученных веществ определена, и строение доказано методами элементного анализа, масс-спектрометрии, ИК, ^1H и ^{13}C ЯМР спектроскопии, в том числе, с привлечением двумерных гомо- и гетероядерных экспериментов (^1H – ^1H COSY, ^1H – ^1H NOESY, ^1H – ^{13}C HMBSC, ^1H – ^{13}C HSQC).

Апробация работы. Результаты работы представлены на IX всероссийской конференции «Химия и технология растительных веществ» (Москва-Сыктывкар, 2015), II всероссийской молодежной конференции «Достижения молодых ученых: химические науки» (Уфа, 2016), XX Менделеевском съезде по общей и прикладной химии «Фундаментальные проблемы химической науки» (Екатеринбург, 2016), X всероссийской научной конференции и школы молодых ученых «Химия и технология растительных веществ» (Казань, 2017), XX молодежной школе-конференции по органической химии (Казань, 2017), IV всероссийской конференции по медицинской химии (Екатеринбург, 2019).

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в проведении экспериментов по выделению алкалоидсодержащих экстрактов и индивидуальных хинолизидиновых алкалоидов из растительного сырья, синтезе производных алкалоидов (–)-цитизина, термопсина и метилцитизина, обработке результатов экспериментальных данных, в анализе и интерпретации полученных результатов, а также в подготовке научных статей к публикации, тезисов к докладам на конференциях (апробация работы) и в написании диссертационной работы. В совместных публикациях автору принадлежат результаты и выводы, связанные с изучением динамики накопления хинолизидиновых алкалоидов в надземной части термопсиса Шишкина, ракитника русского и дрока красильного, выделением алкалоидов (–)-цитизина, метилцитизина и термопсина из растительного сырья, синтезом тио- и карбоксамидов на основе этих алкалоидов, их конъюгатов с 1,3-диметилаурацилом и урокановой кислотой, с формилированием метилцитизина и функционализацией его оксопроизводных, включая синтез аддуктов Дильса-Альдера и выявление стереохимических закономерностей протекания данной реакции.

Публикации. По материалам диссертации опубликованы 17 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ, из них 14 в журналах, включенных в Web of Science и Scopus, тезисы 11 докладов на конференциях.

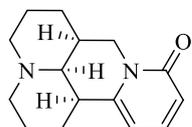
Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 188 страницах и состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, заключения, выводов, списка литературы и приложений.

Благодарности: Автор выражает глубокую благодарность кандидату химических наук, старшему научному сотруднику лаборатории биоорганической химии и катализа УФИХ УФИЦ РАН Цыпышевой Инне Петровне за постоянное внимание и помощь при выполнении и оформлении работы, кандидату химических наук старшему научному сотруднику лаборатории физико-химических методов анализа УФИХ УФИЦ РАН Лобову Александру Николаевичу за помощь в расшифровке спектров ЯМР синтезированных соединений, кандидату химических наук старшему научному сотруднику лаборатории физико-химических методов анализа УФИХ УФИЦ РАН Галкину Евгению Григорьевичу за помощь в идентификации хинолизидиновых алкалоидов методом хромато-масс-спектрометрии, кандидату химических наук старшему научному сотруднику лаборатории химической физики УФИХ УФИЦ РАН Борисевич Софии Станиславовне за выполнение квантово-химических расчетов термодинамических параметров реакции Дильса-Альдера, доктору биологических наук, старшему научному сотруднику лаборатории вирусных инфекций Института микробиологии и эпидемиологии им. Пастера г. Санкт-Петербурга Зарубаеву Владимиру Викторовичу за оценку противогриппозной активности всех синтезированных соединений, доктору биологических наук, заведующему лабораторией экологии растительных ресурсов УИБ УФИЦ РАН Федорову Николаю Ивановичу за сбор и подготовку растительного сырья.

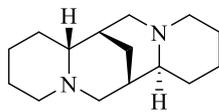
ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В разработке новых противогриппозных агентов существует несколько основных направлений: 1) химические модификации известных противогриппозных лекарственных средств; 2) мишень-ориентированный синтез, включающий *in silico* оценку способности синтезируемых соединений к взаимодействию с вирусными белками-мишенями; 3) рациональный дизайн БАВ с уже доказанной или потенциальной

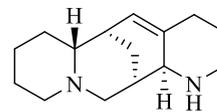
противогриппозной активностью. В рамках последнего направления поиск новых противогриппозных агентов ведется среди веществ природного происхождения. Так, недавно показано, что некоторые алкалоиды **1-3** растений родов – *Sophora*, *Acacia*, *Caragana* (*Fabaceae*) – продуцентов хинолизидиновых алкалоидов (ХА), проявляют противогриппозную активность¹ (рис. 1).



Софорамин 1

IC₅₀=63.1 мкМ/мл, А (H3N2)

Спартеин 2

IC₅₀=19.7 мкМ/мл, А (H1N1)

Алоперин 3

IC₅₀=14.5 мкМ/мл, А (H1N1)

Рисунок 1 – Хинолизидиновые алкалоиды с противогриппозной активностью

На территории Российской Федерации (РФ) и Республики Башкортостан (РБ) к основным продуцентам ХА относятся раkitник русский (*Chamaecytisus ruthenicus*), дрок красильный (*Genista tinctoria*) и термопсис Шишкина (*Thermopsis Schischkinii*). Однако, ни алкалоидный состав, ни противогриппозный потенциал экстрактов и индивидуальных компонентов этих растений до настоящего времени систематически не изучались.

1 Оценка способности экстрактов хинолизидиновых алкалоидов *Chamaecytisus ruthenicus*, *Genista tinctoria* и *Thermopsis Schischkinii* (*Fabaceae*) ингибировать репродукцию вируса гриппа А (H1N1)

Для оценки противогриппозной активности алкалоидов *Th. Schischkinii*, *Ch. ruthenicus* и *G. tinctoria* использовали так называемый метод «сужения», подразумевающий выделение суммы алкалоидов из каждого растения, разделение ее на отдельные более «узкие» фракции методом колоночной хроматографии (КХ), определение их алкалоидного состава хромато-масс-спектрометрически и, далее, изучение их вирус-ингибирующих свойств.

Суммы алкалоидов надземных частей *Th. Schischkinii* и *G. tinctoria*, собранных в период цветения, и надземной части *Ch. ruthenicus* фенофазы бутонизации (соответствующие максимальному содержанию и разнообразию алкалоидов) были разделены на фракции методом градиентной КХ на SiO₂ (полярность элюента повышали, начиная с CHCl₃:MeOH = 99:1, до CHCl₃:MeOH = 1:1 и, далее - MeOH). Компонентный состав каждой фракций устанавливали хромато-масс-спектрометрически. Оценка цитотоксичности и противогриппозных свойств полученных фракций была проведена в Институте эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (С.-Петербург) (таблица 1). Критериями оценки противогриппозной активности являлись значения IC₅₀ (концентрация экстракта, при которой погибало 50% вируса) и индекс селективности – SI, отношение CC₅₀ (концентрация, при которой погибало 50% клеток MDCK) к IC₅₀. Как оказалось, индексы селективности фракций *Th. Schischkinii* (SI = 300), *G. tinctoria* (SI = 10), содержащие в качестве мажорного компонента алкалоид анагирина **4**, и *Ch. ruthenicus* (SI = 52), где основной компонент – спартеин **2** (рис. 1, 2), превосходят таковой для препарата сравнения римантадин (SI =

¹Moradi, M.-T. Alkaloids as the natural anti-influenza virus agents: a systematic review / M.-T. Moradi, A. Karimi, Z. Lorigooini // Toxin Rev. – 2017. – V. 37. – P. 1-8.

5). Также в наиболее активных фракциях присутствуют тетрациклические алкалоиды d-лупанин **5**, термопсин **6**, баптифолин **7** (рис. 2).

Таблица 1 – Противогриппозная активность отдельных фракций сумм алкалоидов растений *Ch. ruthenicus*, *Th. Schischkinii* и *G. tinctoria*

Растение	<i>Ch. ruthenicus</i> ²	<i>Th. Schischkinii</i>	<i>G. tinctoria</i>
Фракция	4	2	3
Алкалоидный состав, % ^a			
Спартеин	75.0	-	-
Метилцитизин	-	-	4.4
(-)-Цитизин	-	2.1	19.1
d-Лупанин	2.0	-	3.6
Термопсин	-	10.6	-
Анагинин	-	82.6	53.2
Баптифолин	-	-	8.2
Активность в отношении вируса гриппа А (H1N1)pdm09 ⁶			
CC ₅₀ , мкг ^b	171	>300	>300
IC ₅₀ , мкг	3.3	1.0	30
SI ^r	52	300	10

^aТемпература инжектора 250 °С, колонка HP-5MS, 30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм толщина фазы; режим: начальная температура 120°С 3 мин, изотерма 250 °С 10 мин; ⁶Получен из Центра по контролю за заболеваемостью (CDC, Atlanta, USA); ^bМТТ-тест, клетки MDCK (ATCC # CCL-34); ^rОтношение CC₅₀/IC₅₀ (SI римантадина 5, рибавирина 147).

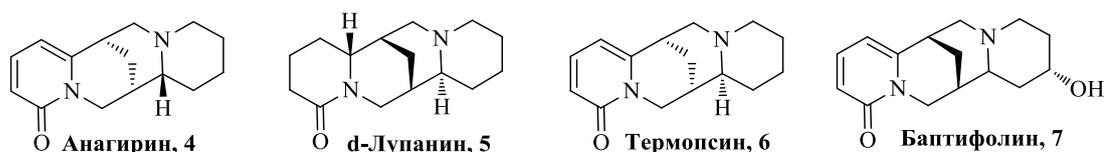


Рисунок 2 – Алкалоиды анагинин **4**, d-лупанин **5**, термопсин **6**, баптифолин **7**

Полученные результаты являются основанием для направленного поиска ингибиторов репродукции вируса гриппа среди синтетических производных ХА (рис. 1, 2). Однако, для спартеина **2**, и d-лупанина **5** известны лишь окислительные превращения, а анагинин **4** исключительно токсичен. В то же время, данные о противогриппозном потенциале синтетических производных (-)-цитизина **8** и метилцитизина **9**, например, 9-фенилмочевины³ **10** (рис. 3) позволяют рассмотреть **8** и **9** в качестве стартовых молекул для синтеза на их основе потенциальных противогриппозных агентов.

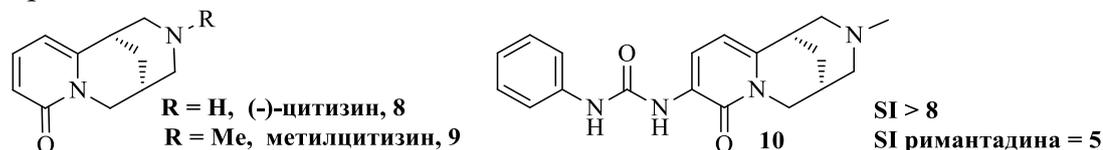


Рисунок 3 – Алкалоиды (-)-цитизин **8**, метилцитизин **9** и фенилмочевина **10**

²Цыпышева, И. П. Активность алкалоидов *Chamaecytisus ruthenicus* (*Fabaceae*) в отношении вируса гриппа А (H1N1) / И. П. Цыпышева, Е. Г. Галкин, Н. И. Федоров, Я. Р. Оршанская, В. А. Федорова, В. В. Зарубаев // Химия растительного сырья. – 2016. – № 2. – С. 153-156.

³Tsypysheva, I. P. Search for compounds with antiviral activity among synthetic (-)-cytisine derivatives / I. P. Tsypysheva, A. V. Kovalskaya, A. N. Lobov, V. V. Zarubaev, L. A. Karpinskaya, I. A. Petrenko, E. A. Nikolaeva, A. A. Shtro, M. S. Yunusov // Chem. Nat. Compd. – 2013. – V. 48. – P. 1042-1046.

С нашей точки зрения, периферийный дизайн исходных (-)-цитизина **8**, метилцитизина **9**, а также термопсина **6** может быть осуществлен путем функционализации их 2-пиридинового ядра с последующей трансформацией введенных функциональных групп в комбинации с варьированием заместителей у вторичного атома азота (в случае (-)-цитизина **8**) – общая структурная формула **A** (рис. 4). К этой же группе химических трансформаций можно отнести и синтез конъюгатов с биологически значимыми органическими кислотами и пиримидиновыми основаниями.

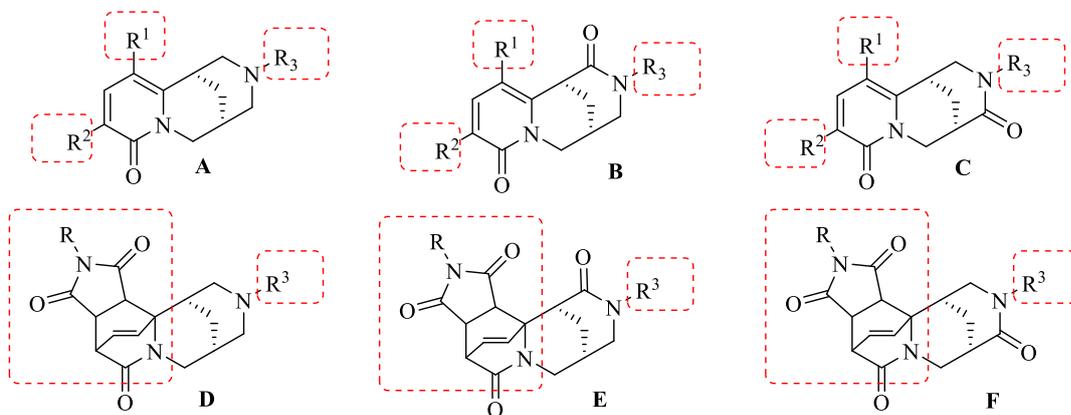


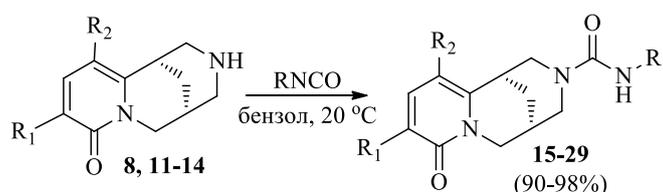
Рисунок 4 – Основные направления химических трансформаций (-)-цитизина **8**, метилцитизина **9** и термопсина **6**

Вторая группа трансформаций включает в себя комбинацию этих подходов с окислительными превращениями биспидиновой части молекулы – это реакции 2- и 4-оксо- производных 3-*N*-замещенного (-)-цитизина – **B**, **C**. К третьей относятся реакции циклоприсоединения, позволяющие перейти к тетрациклическим структурам «в один прием», исходя из 3-*N*-замещенных производных (-)-цитизина, а также его 2- и 4-оксопроизводного (**D** - **F**, рис. 4).

2 Синтез производных хинолизининовых алкалоидов с потенциальной противогриппозной активностью

2.1 Тио- и карбоксамиды на основе (-)-цитизина и его 9- и 11-замещенных производных

Синтез мочевин **15-29** с аллильным, фенильным и адамантильным фрагментами осуществлен изоцианатным методом с высокими выходами (90-98 %), исходя из **8** и описанных ранее **11-14** (схема 1).



R = Ad, R₁, R₂ = H (**15**),
 R = Ph, R₁, R₂ = H (**16**),
 R = All, R₁, R₂ = H (**17**),
 R = Ad, R₁ = NO₂, R₂ = H (**18**),
 R = Ph, R₁ = NO₂, R₂ = H (**19**),
 R = All, R₁ = NO₂, R₂ = H (**20**),
 R = Ad, R₁ = Br, R₂ = H (**21**),
 R = Ph, R₁ = Br, R₂ = H (**22**),
 R = All, R₁ = Br, R₂ = H (**23**),
 R = Ad, R₁ = Br, R₂ = Br (**24**),
 R = Ph, R₁ = Br, R₂ = Br (**25**),
 R = All, R₁ = Br, R₂ = Br (**26**),
 R = Ad, R₁ = H, R₂ = Cl (**27**),
 R = All, R₁ = H, R₂ = Cl (**28**),
 R = Ph, R₁ = H, R₂ = Cl (**29**).

Схема 1

Аналогичный подход был использован и для синтеза тиокарбоксамидов **30-43**, несущих в 9 и 11 положениях 2-придонового ядра нитрогруппу или атомы Br или Cl (схема 2).

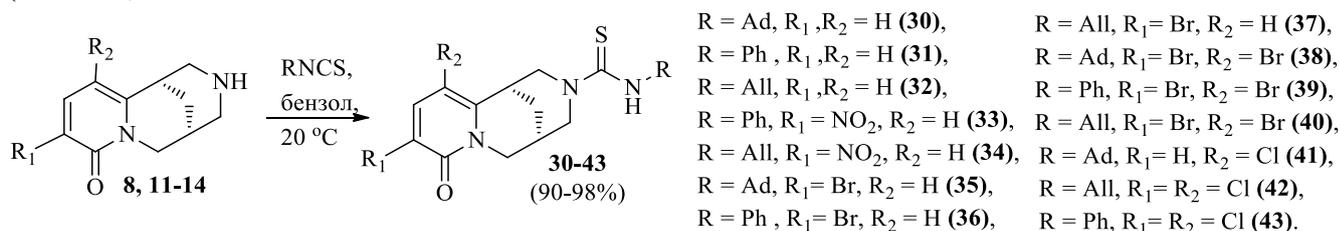


Схема 2

Введение тиомочевинной группы в 9 положение 2-придонового ядра метилцитизина **9** представлено на схеме 3. Сначала из 9-аминопроизводного **44** с выходом 98% был получен изотиоцианат **45**, который далее вовлекали во взаимодействие с первичными и вторичными аминами, приводящее к 9-тиокарбоксамидам **46-60** с выходами 89-97%.

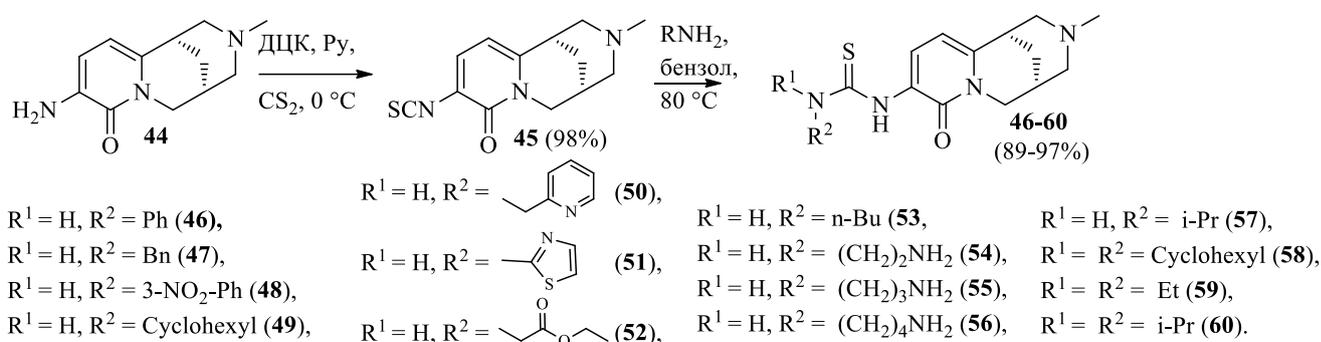


Схема 3

Известное превращение тиомочевин в гуанидиновые производные дает возможность получения библиотеки N,N',N'' -тризамещенных гуанидинов. Исходя из фенолтиомочевинны **46** и замещенных анилинов целевые гуанидины **61-66** получены с выходами 43-80% (схема 4).

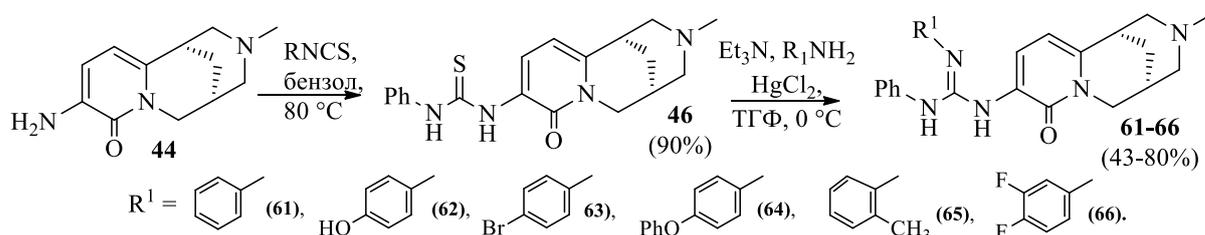


Схема 4

2.2 Конъюгация 1,3-диметил-5-формилурацила с 9-амино-3-*N*-замещенными производными (-)-цитизина и 9-аминотермопсином

Для введения пиримидинового фрагмента в 2-придоновое ядро 3-*N*-замещенных производных **8** и термопсина **6** была выбрана реакция восстановительного алкилирования аминогруппы альдегидами. Однако, если варианты функционализации **8** и **9** путем электрофильного нитрования и галогенирования известны, то

функционализация 2-пиридинового ядра термопсина **6**, была осуществлена нами впервые (схема 5).

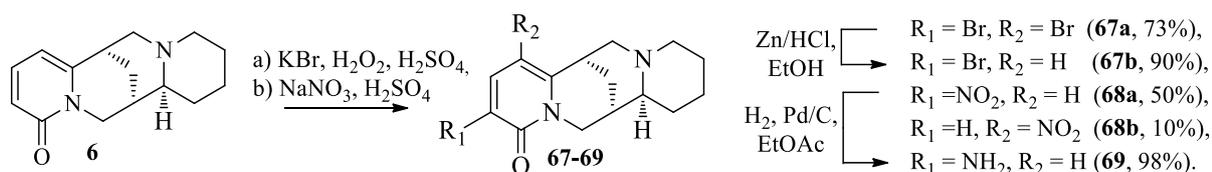


Схема 5

Получение набора стартовых 9-аминов для синтеза конъюгатов типа «урацил-алкалоид», было выделено в отдельную задачу. Так, амин **72** был получен в две стадии, исходя из эфира **70**, который нитровали, и полученное нитропроизводное **71** далее восстанавливали в условиях, представленных на схеме 6. Для синтеза аминов **75-78** нитрованию сначала подвергали **8** без защиты его аминогруппы. Затем полученный 9-нитроцитизин **11** вовлекали в реакции с аллил-, бензилбромидом, с фенилизо- и фенилизотиоцианатом, получая соответствующие нитропроизводные **73, 74, 19, 33**. Целевые амины **75-78** были получены их восстановлением с выходами от 50 до 76% по методике для **72** (схема 6). Заключительную конъюгацию аминов **44, 69, 72, 75-78** с формильным производным **79** осуществили их кипячением в бензоле, без выделения восстанавливая азометиновый интермедиат боргидридом натрия, соединения **80-86** получены с выходами 40-77% (схема 7).

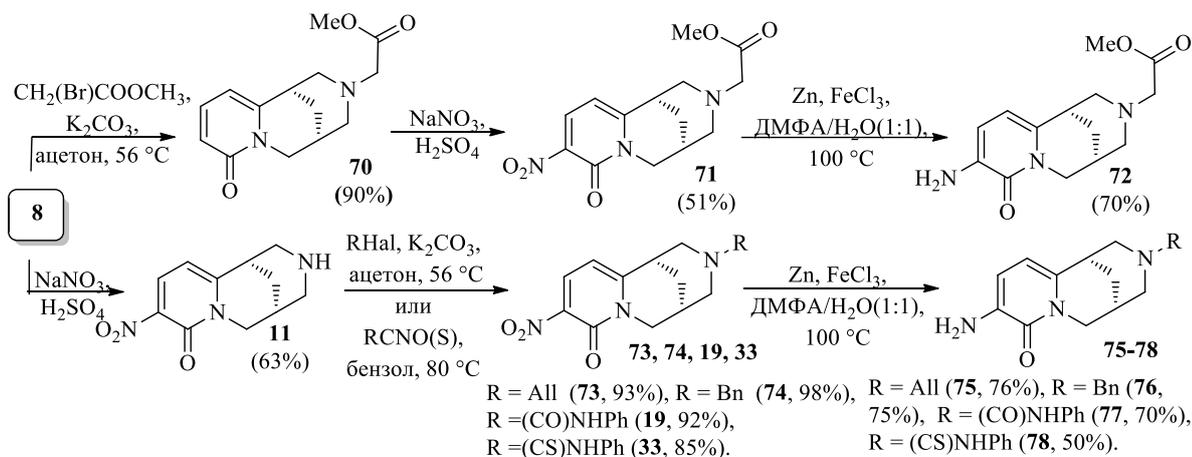


Схема 6

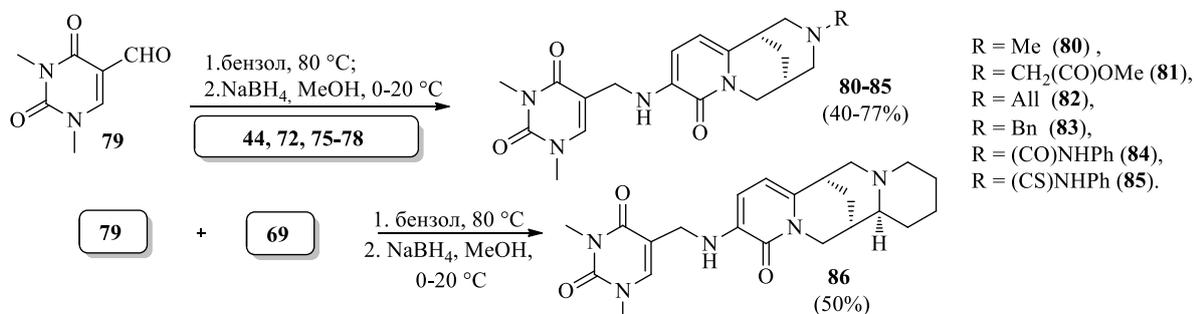


Схема 7

2.3 Синтез амидов урокановой кислоты на основе 9- и 11-замещенных производных (-)-цитизина

Для оценки противовирусных свойств производных (-)-цитизина **8**, несущих в 3-положении молекулы имидазолилакриловые фрагменты, проведено ацилирование (-)-цитизина и его производных **12-14** замещенными урокановыми кислотами **88** и **89** (схема 8).

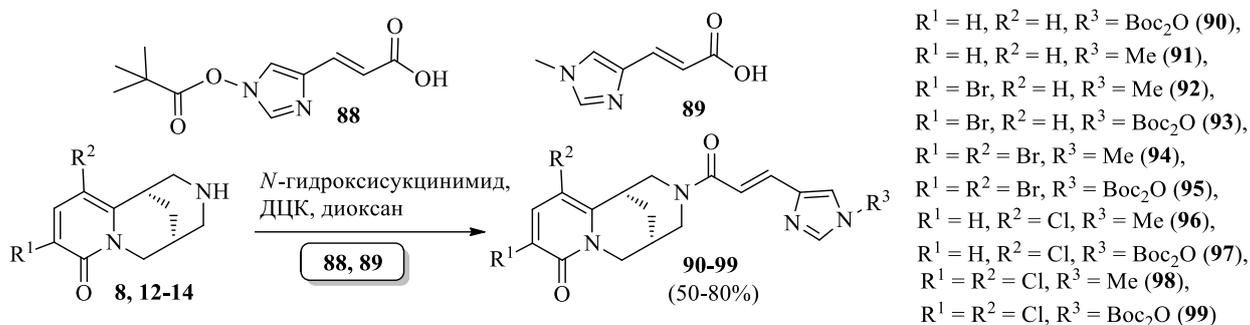


Схема 8

Реализация данного подхода позволила получить амиды **90-99** с выходами 50-80% в присутствии *N*-гидроксисукцинимид и *N,N*-дициклогексилкарбодиимида в диоксане без выделения промежуточных гидроксисукцинимидных эфиров (схема 8).

2.4 Формилирование 2-пиридинового ядра метилцитизина, синтез 9-енил, 9-инил и 9-иминопроизводных метилцитизина

В литературе описан только один пример введения формильной группы в псевдоароматическое ядро (-)-цитизина **8**, путем карбонилирования его 9-бромида в присутствии палладиевого катализатора. Поэтому нами была предпринята попытка прямого электрофильного формилирования 2-пиридинового ядра метилцитизина **9** в классических условиях. Так, формилирование **9** по Вильсмейеру-Хааку оказалось малоэффективным: выход целевого альдегида **100** составил лишь 8%; вариант Гаттермана также не привел к успеху (схема 9). Однако формилирование по Даффу (кипячение **9** с гексаметилентетрамином в TFA в течение 6 часов) привело к 9-формилметилцитизину **100** с выходом 80%. Необходимо отметить, что КХ с использованием в качестве элюента смеси CHCl_3 и MeOH может сопровождаться образованием незначительного количества диметилацетата **100a** (схема 9).

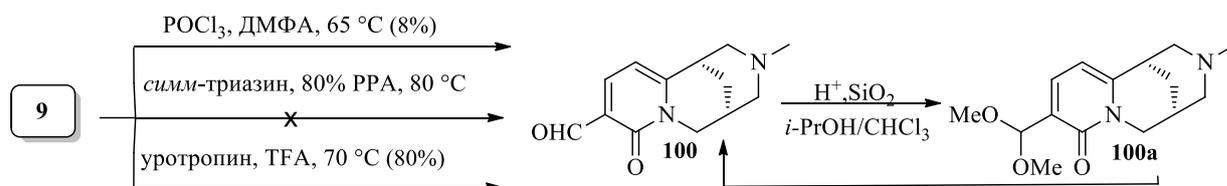


Схема 9

Для синтеза 9-енил-, 9-инил- и 9-иминопроизводных метилцитизина на основе **100** использованы классические методы построения ненасыщенных «C=C», «C≡C» или «C=N» связей (схема 10). Так, конденсация 9-формил-3-*N*-метилцитизина **100** с ацетоном в щелочных условиях привела к сопряженному кетону **101** с выходом 70%. 9-

Нитровинилпроизводное **102** получено из альдегида **100** и нитрометана в уксусной кислоте с выходом 87%.

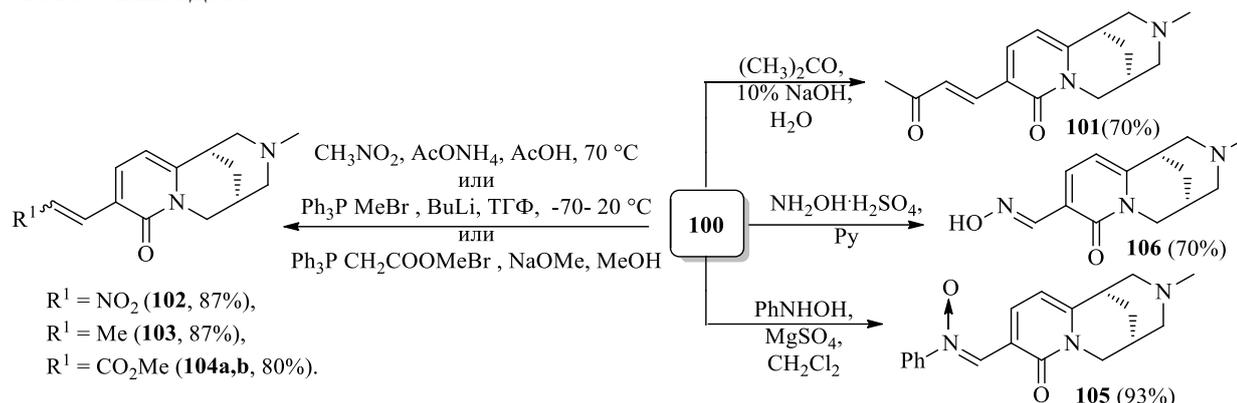


Схема 10

Реакция Виттига **100** с илидами фосфора в зависимости от условий ее проведения дала *E* изомер **103** или пару *Z* и *E* 9-енильных производных **104a** и **104b** в соотношении 1.8:1. Нитрон **105** был синтезирован из **100** и фенилгидроксиламина в CH_2Cl_2 в присутствии безводного MgSO_4 с выходом 93%. Классический метод синтеза оксимов был использован для получения **106** с выходом 70% (схема 10). Альтернативно, реакция Хека бромида **107** с циклогексеноном, катализируемая $\text{Pd}(\text{OAc})_2/(\text{o-Tol})_3\text{P}$, привела к 9-алкенил производному **108** с выходом 70%, а с метилвинилкетонном к **101** с выходом 55% (схема 11).

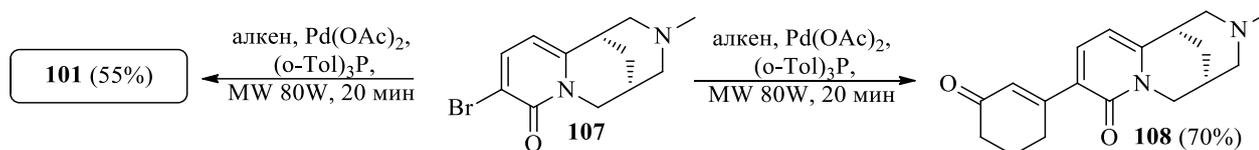


Схема 11

С целью введения ацетиленового фрагмента в 2-пиридиновое ядро метилцитизина **9** кросс-сочетанием по Соногашира нами была проведена дополнительная серия экспериментов по выбору региоселективного способа синтеза целевого 9-йодзамещенного предшественника (схема 12).

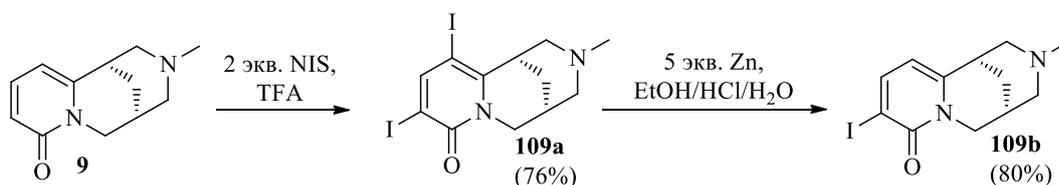


Схема 12

Как оказалось, лишь при использовании 2 экв. NIS в TFA возможно получение 9,11-дийодпроизводного **109a** с выходом 76%, которое обработкой цинковой пылью в смеси этанол/вода/соляная кислота было переведено в 9-йодпроизводное **109b** с выходом 80 %, из которого далее путем кросс-сочетания по Соногашира с этилнитриметилсиланом (схема 13) был получен целевой ацетилен **110** с выходом 60%.

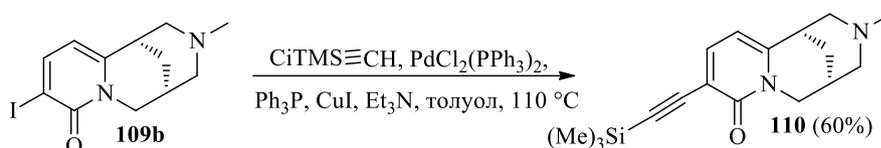


Схема 13

2.5 Окисление биспидиновой части молекулы метилцитизина в комбинации с функционализацией 2-пиридинового ядра

Окисление биспидиновой части метилцитизина **9** в комбинации с разработанными ранее методами функционализации его 2-пиридинового ядра дает возможность получения новых производных этого алкалоида. Так, окисление 9-нитрометилцитизина **11** и 9-бромметилцитизина **12** оказалось неприемлемым с точки зрения выхода продуктов реакции (схема 14).

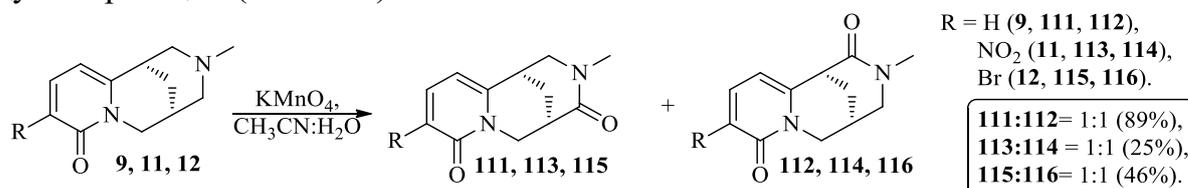


Схема 14

Однако, функционализация 2-пиридинового ядра 2-оксо- и 4-оксопроизводного метилцитизина **111** и **112** дала соответствующие нитролактамы **113** и **117** с выходом 75% в соотношении 3:1 (схема 15). Бромирование **111** одним эквивалентом NBS в хлористом метиле дало смесь 9- и 11-бромпроизводных **115** и **118** с общим выходом 92% (1:1.1). Йодирование **111** действием 2 экв. NIS при кипячении в CH_2Cl_2 привело к смеси йодидов **119** и **120** (выход 97%, соотношение 4:1), а формилирование **111** к 9-альдегиду **121** с выходом 89%.

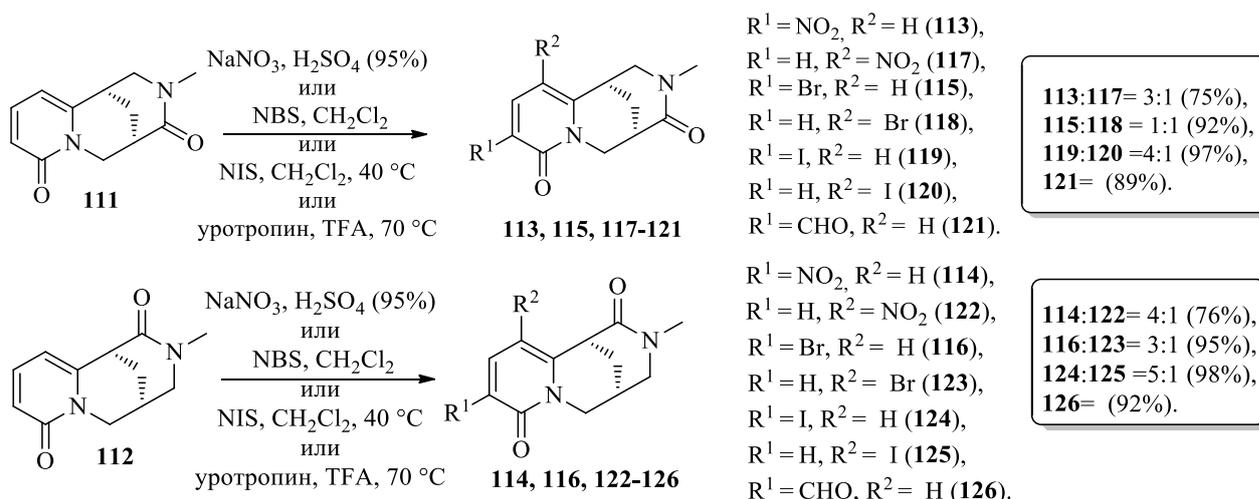


Схема 15

Аналогичный подход был использован и для синтеза 9- и 11-нитро-, 9- и 11-бром-, 9- и 11-йод- и 9-формилпроизводных 4-оксометилцитизина **112** с выходами 76%, 95%, 98% и 92%, соответственно (схема 15). Далее из **113-126** была получена группа соединений, содержащих фенильный фрагмент, связанный с исходной молекулой

спейсерами этильного, этенильного, этинильного, акрилоильного, аминотильного, амидного, тио- и карбоксамидного типов. Восстановительным алкилированием аминопроизводного **127** получен бензиламин **128** (98%), а взаимодействие **127** с бензоилом хлористым, фенилизотио- и -изоцианатом привело к амиду **129**, мочеvine **130** и тиомочевине **131** с выходами 83, 60 и 93% соответственно (схема 16).

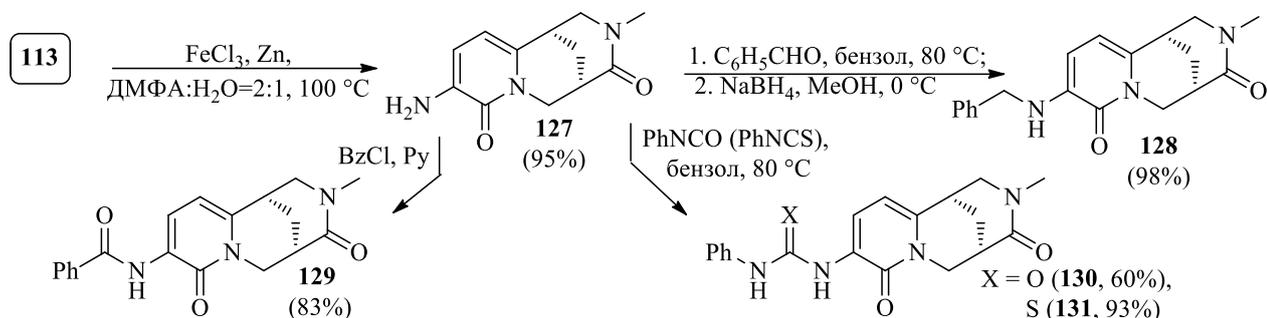


Схема 16

Кросс-сочетанием по Сузуки **115** с фенилборной кислотой получено производное **13** с выходом 71%, аналогичное сочетание 11-бромида **118** привело к **136** с выходом 89% (схема 17). Реакция Хека **115** со стиролом, катализируемая $\text{Pd}(\text{OAc})_2/(\text{o-Tol})_3\text{P}$, дала лактам **133** с выходом 93%; **118** в аналогичных условиях трансформирован в **137** с выходом 94%. Восстановление **133** и **137** водородом над Pd/C привело к фенилэтильным производным **134** и **138** с выходами 80% и 81%. Кросс-сочетание 9-йодида **119** с фенилацетиленом по Соногашира дало ацетилен **135** (выход 31%).

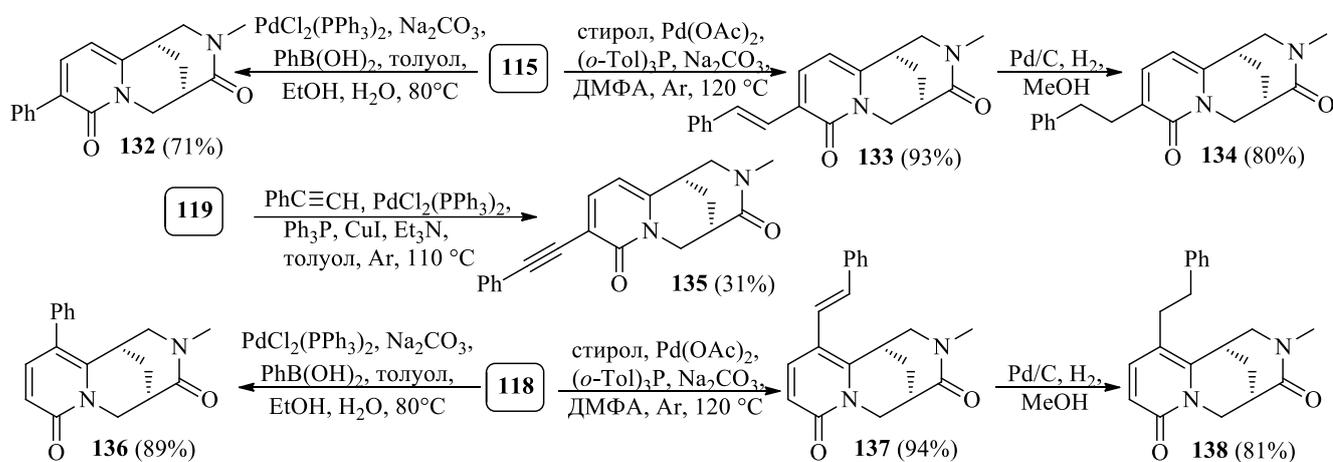


Схема 17

Конденсацией 9-формилпроизводного **121** с ацетофеноном в щелочных условиях получен сопряженный кетон **138** с выходом 41%, а реакция Виттига альдегида **121** с иллидом фосфора привела к образованию 9-фенилэтильного производного **133** с выходом 58% (схема 18).

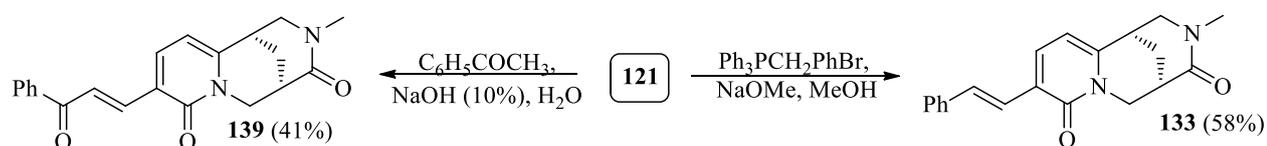


Схема 18

154a,b-165a,b и **166-170** был выделен методом КХ на SiO₂ и охарактеризован методами спектроскопии ЯМР и методом РСА.

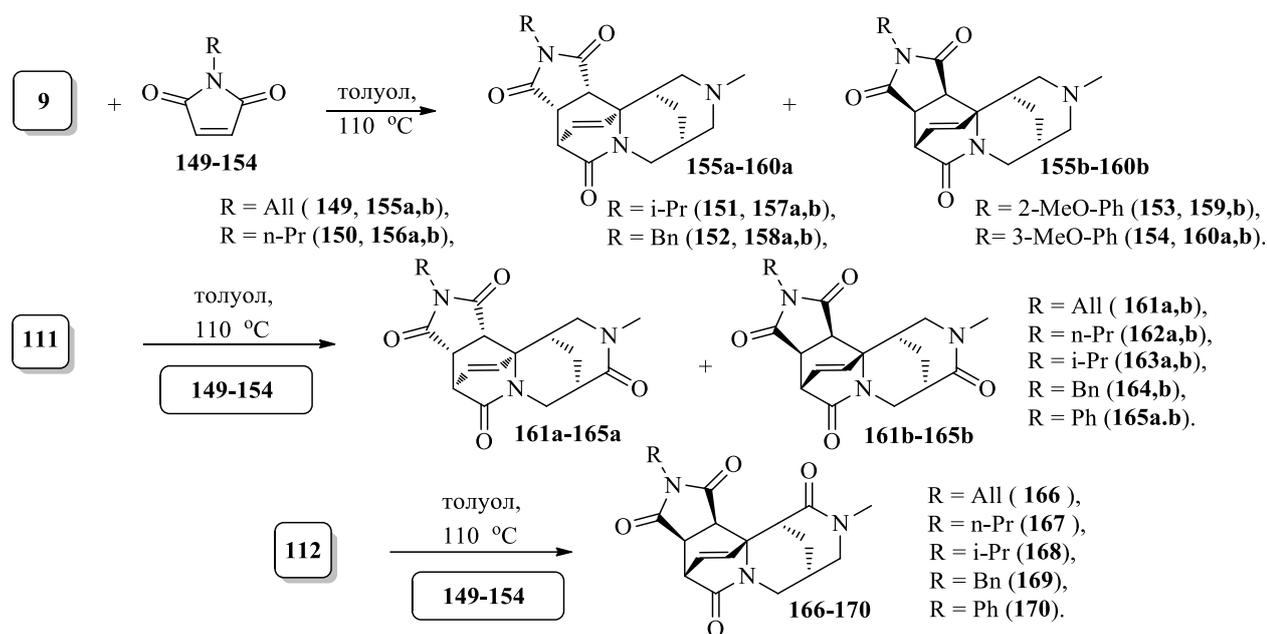


Схема 20

Так, рентгеноструктурный анализ аддукта **166** (рис. 5), выполненный в Институте элементоорганических соединений имени А. Н. Несмеянова (г. Москва) однозначно указал на « β -эндо» расположение сукцинимидного фрагмента и, следовательно, на $3aR,4S,12aS,12bR$ конфигурацию новых асимметрических центров в **166**.

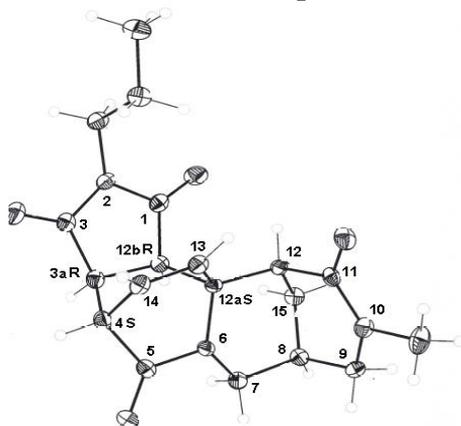


Рисунок 5 – Аддукт **166** в представлении атомов эллипсоидами атомных смещений с 50% вероятностью

А значительная схожесть ЯМР ¹H и ¹³C спектральных характеристик соединений **166-170** позволила отнести все эти аддукты к одному $3aR,4S,12aS, 2bR$ ряду. Это позволило сделать вывод, что реакция Дильса-Альдера 4-оксометилцитизина **112** с *N*-замещенными имидами малеиновой кислоты протекает диастереоспецифично, приводя к образованию β -аддуктов с эндо-расположением сукцинимидного фрагмента с $3aR,4S,12aS,12bR$ конфигурацией новых асимметрических центров.

Доказательство строения диастереомерных аддуктов **161a,b-165a,b** было выполнено на примере пары **165a** и **165b** методом спектроскопии ЯМР и дополнительно подтверждено квантово-химическими (QC) расчетами. Так, для данной пары аддуктов

константа $^3J_{4-3a}$ одинакова и составляет ≈ 3.2 Гц (рис. 6). Это указывает на синперипланарное расположение протонов Н-4 и Н-3а, а также на *экзо*-ориентацию Н-3а, следовательно, на *эндо*-расположение *N*-фенилсукцинимидного фрагмента в каждом из аддуктов **165a** и **165b**. Данные проведенных экспериментов ЯМР в режиме NOESY и наличие NOE эффекта между Н-12b и Н_{эндо}-11 и Н-13 и Н_{син}-15 для аддукта **165b** подтвердили *эндо*-ориентацию *N*-фенилсукцинимидного фрагмента (рис. 6).

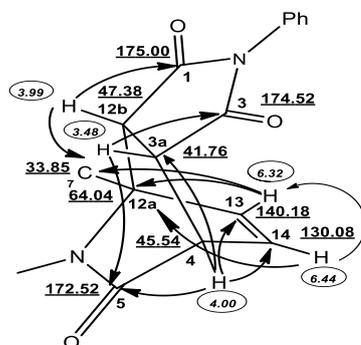


Рисунок 6 – HMBC корреляция в соединении **165b**

На следующем этапе для отнесения мажорного аддукта в диастереомерной паре **165a** и **165b** к « α -эндо» или « β -эндо» ряду были проведены QC расчеты термодинамических параметров реакции их образования, как в газовой фазе, так и в толуоле (таблица 2). Согласно полученным результатам, образование продукта β -атаки **165b** с *эндо*-*N*-фенилсукцинимидным фрагментом является термодинамически наиболее выгодным. Термодинамический контроль образования аддукта **165b** дополнительно был подтвержден экспериментами по вовлечению индивидуальных аддуктов **165a** и **165b** в ретро-реакцию Дильса-Альдера. Установлено, что при кипячении мажорного аддукта **165b** в толуоле в течение 16 часов исходный 2-оксометилцитизин **111** образуется с выходом 35%. Выход **111** в аналогичном опыте с минорным аддуктом **165a** намного выше и составляет 99%. В таблице 2 также представлены термодинамические параметры ретро-реакций **165a** и **165b**.

Таблица 2 – Термодинамические параметры прямой и ретро-реакции Дильса-Альдера в газовой фазе и в толуоле для аддуктов **165a** и **165b**

Аддукт 169	Газовая фаза		Толуол, T = 383 K	
	Термодинамические параметры прямой реакции Дильса-Альдера			
	ΔH° , кДж/моль	ΔH^\ddagger , кДж/моль	ΔH^T , кДж/моль	$\Delta H^{\ddagger T}$, кДж/моль
α -эндо	10.9	119.1	15.5	124.9
β -эндо	9.9	112.3	14.1	116.5
α -экзо	37.1	146.1	42.5	150.6
β -экзо	30.3	136.2	31.2	139.4
Термодинамические параметры ретро-реакции Дильса-Альдера				
Образование 111	$\Delta H^\circ_{\text{rev}}$, кДж/моль	$\Delta H^\ddagger_{\text{rev}}$, кДж/моль	$\Delta H^\circ_{\text{rev}}$, кДж/моль	$\Delta H^\ddagger_{\text{rev}}$, кДж/моль
из 165a	-10.2	108.9	-15.5	109.4
из 165b	-9.9	102.4	-14.1	102.4

ΔH° , кДж/моль = стандартная энтальпия реакции, ΔH^\ddagger , кДж/моль – энтальпия активации, ΔH^T , кДж/моль – энтальпия реакции в толуоле, $\Delta H^{\ddagger T}$, кДж/моль – энтальпия активации в толуоле, $\Delta H^\circ_{\text{rev}}$, кДж/моль - стандартная энтальпия ретро-реакции, $\Delta H^\ddagger_{\text{rev}}$, кДж/моль - энтальпия активации ретро-реакции.

Оказалось, что в отличие от [4+2]-циклоприсоединения имидов малеиновой кислоты к метилцитизину **9**, реакция Дильса-Альдера 2-оксометилцитизина **111** с малеинимидами **149-154** протекает с преимущественным образованием термодинамически выгодного (\approx на 7 кДж/моль) « β -эндо» аддукта. В совокупности с расчетными данными близкий характер спектров ЯМР ^1H и ^{13}C групп аддуктов **161a-165a** и **161b-165b** позволил определить конфигурацию их новых асимметрических как $3aR, 4S, 12aS, 12bR$ для мажорных « β -эндо» аддуктов **161b-165b** и как $3aS, 4R, 12aR, 12bS$ конфигурацию для минорных « α -эндо» аддуктов **161a-165a**. Выходы продуктов реакции Дильса-Альдера лактамов **111**, **112** с имидами малеиновой кислоты **149-154** и соотношение дистереомерных аддуктов представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Общий выход и соотношение диастереомеров в реакции Дильса-Альдера 2-оксо- и 4-оксопроизводного метилцитизина с *N*-замещенными имидами малеиновой кислоты

№	Аддукт	α : β	Выход, %	№	Аддукт	β	Выход, %
1	161a,b	1:6	96	8	166	1	81
2	162a,b	1:2.1	98	9	167	1	92
3	163a,b	1:10	98	10	168	1	50
4	164a,b	1:1.5	90	11	169	1	80
7	165a,b	1:10	96	14	170	1	79

3 Активность синтезированных соединений в отношении вирусов гриппа А и парагриппа

Скрининг противогриппозной активности в отношении вирусов гриппа А (H1N1) и (H5N2) и вируса парагриппа всех синтезированных соединений был проведен в Институте микробиологии и эпидемиологии им. Пастера (С.-Петербург). Полученные результаты подтвердили правильность выбранных направлений химических трансформаций (–)-цитизина **8** и метилцитизина **9**. Так, среди производных (–)-цитизина с фрагментами мочевины и тиомочевины выявлены соединения **22**, **33**, **25** и **39** активные в отношении вируса гриппа А (H1N1) с индексами селективности (SI) от 14 до 41 и вируса парагриппа с SI равным 17 и 94.3, соответственно (рис. 7).

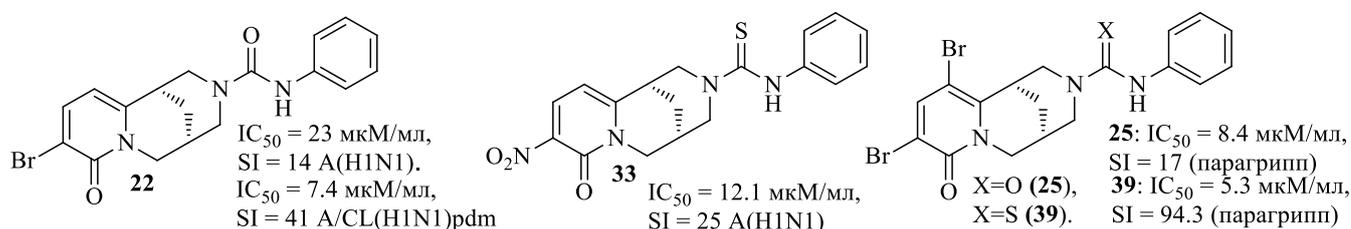


Рисунок 7 – Производные (–)-цитизина **22**, **24**, **33** и **39** с противогриппозной активностью

Среди аллильных производных активными оказались **17**, **21**, **23**, **37**, **26**, **42** и **34**, их SI лежат в интервале от 11 до 16 для вируса гриппа А (H1N1), и от 17 до 55.9 для вируса парагриппа (рис. 8). Противогриппозные свойства адамантанов **28**, **41** и **21** и значения их индексов селективности представлены на рисунке 9.

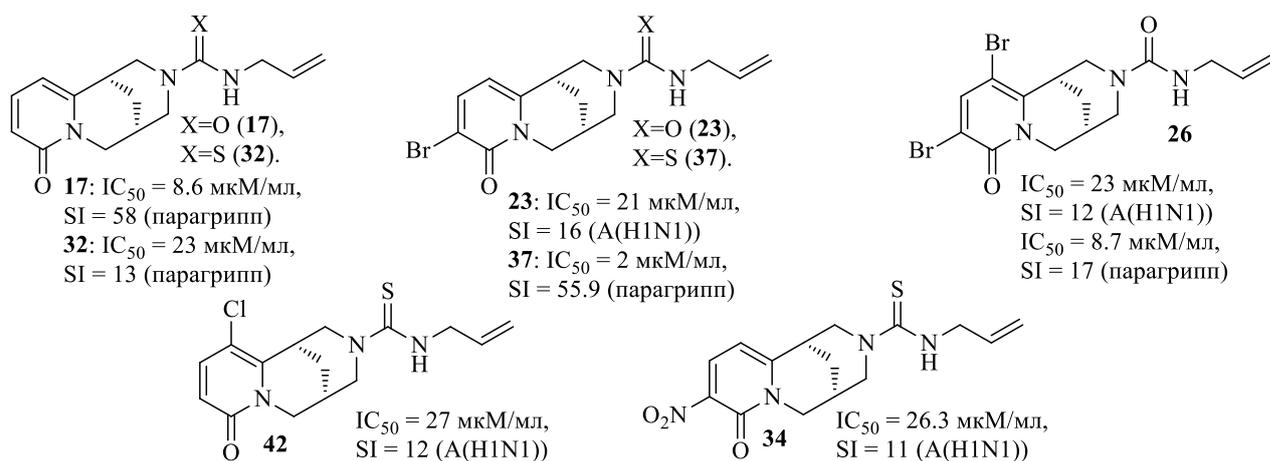


Рисунок 8 – Производные (–)-цитизина **17**, **26**, **23**, **32**, **34**, **37** и **42** с противогриппозной активностью

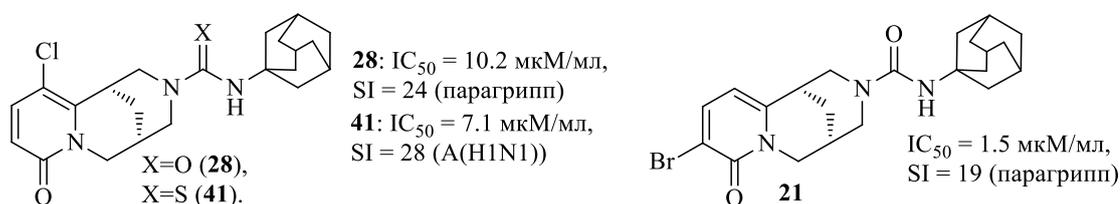


Рисунок 9 – Производные (–)-цитизина **21**, **28** и **41** с противогриппозной активностью

Наиболее перспективной трансформацией исходных ХА оказалась реакция Дильса-Альдера **9** с имидами малеиновой кислоты (рис. 10); SI соединений **155a-160a** превышали таковой для римантадина (SI = 5), а в отдельных случаях были близки к SI рибавирина (SI = 96).

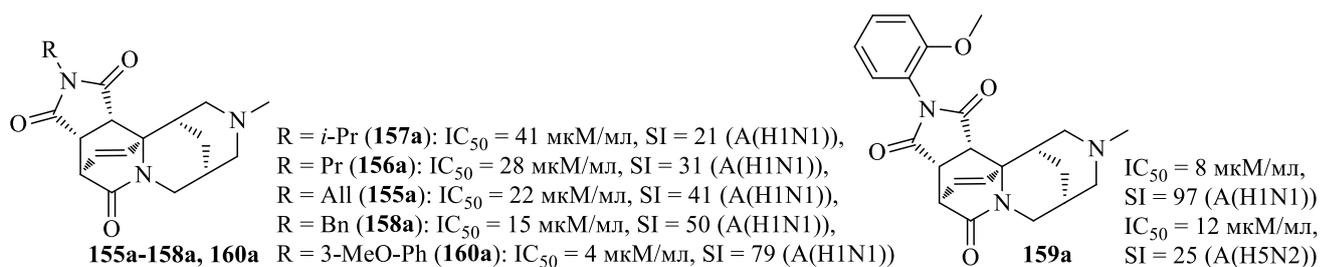


Рисунок 10 – Аддукты Дильса-Альдера метилцитизина с **155a-160a** противогриппозной активностью

Соединение **159a** (рис. 10) наряду с высокой вирус-ингибирующей активностью в отношении вируса гриппа А (H1N1) проявило заметную активность и в отношении высокопатогенного подтипа вируса «птичьего» гриппа А (H5N2).

Заключение

В рамках выполненной диссертационной работы успешно реализована стратегия поиска и создания новых противогриппозных агентов на основе хинолизидиновых алкалоидов растений семейства бобовых (*Fabaceae*), заключающаяся в следующих

последовательных шагах: оценке способности алкалоидсодержащих экстрактов растений родов *Thermopsis*, *Chamaecytisus*, *Genista* ингибировать репродукцию вируса гриппа А (H1N1), выявлении структурных типов хинолизидиновых алкалоидов, потенциально ответственных за противогриппозную активность, синтезе библиотек новых производных наиболее доступных алкалоидов этих растений – (–)-цитизина, метилцитизина и термопсина путем исчерпывающего использования их синтетического потенциала (это реакции электрофильного замещения в псевдоароматическом ядре и реакция [4+2]-циклоприсоединения, реакции вторичной аминогруппы и окисления биспидиновой части их молекул). Параллельный скрининг противогриппозных свойств всех синтезированных соединений, выполненный в Институте эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (г. Санкт-Петербург) позволил выявить образцы с выраженной способностью ингибировать репродукцию вирусов парагриппа HPIV3, гриппа А (H1N1) и высокопатогенного вируса «птичьего» гриппа А (H5N2), близкие, а в некоторых случаях превосходящие по своей активности препараты сравнения римантадин и рибавирин, что является основной составляющей прикладного аспекта выполненного исследования. А значительный объем полученных в результате скрининга данных о взаимосвязи «структура – противогриппозная активность» позволяет сделать вывод о перспективности предпринятых химических трансформаций хинолизидиновых алкалоидов (–)-цитизина, метилцитизина и термопсина и представляет собой теоретический репер для направленной разработки новых средств химиотерапии гриппа на основе веществ природного происхождения.

Выводы

1. Путем оценки способности алкалоидсодержащих экстрактов растений родов *Thermopsis*, *Chamaecytisus*, *Genista* (*Fabaceae*) ингибировать репродукцию вируса гриппа А (H1N1) выявлены структурные типы хинолизидиновых алкалоидов, потенциально ответственных за противогриппозную активность – тетрациклические алкалоиды групп спартеина и термопсина;

2. На основе хинолизидиновых алкалоидов (–)-цитизина, метилцитизина и термопсина, содержащих галоид-, нитро- и аминогруппы в 2-пиридоновом ядре синтезированы новые тио- и карбоксамиды, гуанидиновые производные, конъюгаты с 1,3-диметилурацилом и урокановой кислотой;

3. Впервые осуществлены прямое формилирование по Даффу и введение изотиоцианатной группы в 9 положение 2-пиридонового ядра исходных алкалоидов, предложен региоселективный способ синтеза 9-йодпроизводного (–)-цитизина и метилцитизина;

4. С помощью электрофильного формилирования, галогенирования и нитрования проведена функционализация 2-пиридонового ядра 2-оксо и 4-оксометилцитизина, показана возможность последующих трансформаций введенных формильной, галоид- и аминной групп на основании реакций, приводящих к образованию новых связей «С-С» и «С-N»;

5. В термическом варианте реакции [4+2]-циклоприсоединения осуществлен синтез новых диастереомерных аддуктов Дильса-Альдера метилцитизина, его 2-оксо и 4-оксопроизводного с *N*-замещенными имидами малеиновой кислоты; показано, что [4+2]-циклоприсоединение к 4-оксометилцитизину протекает диастереоспецифично, приводя к соответствующему «β-эндо» аддукту, а в случае с 2-оксопроизводным приводит к паре «β-эндо» и «α-эндо» диастереомеров;

6. Среди синтезированных новых производных хинолизидиновых алкалоидов найдены образцы с выраженной противогриппозной активностью в отношении вируса парагриппа, гриппа А(Н1N1) и высокопатогенного вируса «птичьего» гриппа А (H5N2), превосходящие и сравнимые по своей активности препараты сравнения римантадин и рибавирин.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1 Tsypysheva, I. P. Activity of *Thermopsis Schischkinii* alkaloids against influenza A (H1N1) pdm09 virus / I. P. Tsypysheva, E. G. Galkin, I. P. Baikova, N. I. Fedorov, **P. R. Petrova**, Ya. R. Orshanskaya, V. A. Fedorova, V. V. Zarubaev // Chemistry of Natural Compounds. – 2015. – V. 51. – P. 1003-1005.

2 Tsypysheva, I. P. Synthesis of several 3,5- and 3-substituted thermopsine derivatives / I. P. Tsypysheva, **P. R. Petrova**, A. V. Koval'skaya, A. N. Lobov, I. P. Baikova, V. I. Vinogradova, F. Z. Galin // Chemistry of Natural Compounds. – 2015 – V. 51. – P. 805-807.

3 Цыпышева, И. П. Состав и сезонная динамика алкалоидов в надземной части растений *Chamaecytisus ruthenicus* в горно-лесной зоне Южного Урала / И. П. Цыпышева, Е. Г. Галкин, **П. Р. Петрова**, И. П. Байкова, Ф. З. Галин, Н. И. Федоров // Химия растительного сырья. – 2015. – № 3. – С. 65–69.

4 Цыпышева, И. П. Экологические и внутривидовые особенности состава и содержания алкалоидов в надземной части *Chamaecytisus ruthenicus* (Fisch. ex Woloszcz.) Klaskova, произрастающего на Южном Урале / И. П. Цыпышева, Е. Г. Галкин, **П. Р. Петрова**, А. В. Ковальская, И. П. Байкова, Ф. З. Галин, Н. И. Федоров // Химия растительного сырья. – 2017. – № 1. – С. 93-97.

5 Цыпышева, И. П. Противовирусная активность суммы алкалоидов *Genista tinctoria* и ее отдельных фракций в отношении вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 / И. П. Цыпышева, Е. Г. Галкин, А. В. Ковальская, **П. Р. Петрова**, И. П. Байкова, Я. Р. Оршанская, В. А. Федорова, Н. И. Федоров, Ф. З. Галин, В. В. Зарубаев // Химия растительного сырья. – 2017. – №3. – С. 71-76.

6 **Petrova, P. R.** Direct 9-formylation of 2-pyridone core of 3-*N*-methylcytisine via Duff reaction; synthesis of 9-enyl, 9-ynyl and 9-imino derivatives / **P. R. Petrova**, A. V. Koval'skaya, A. N. Lobov, I. P. Tsypysheva // Natural Product Research. – 2018. – V. 5. – P. 1-6.

7 Tsypysheva, I. P. Synthesis and cytotoxic activity of conjugates of (–)-cytisine and thermopsin amine derivatives with 1,3-dimethyl-5-formyluracil / I. P. Tsypysheva, **P. R. Petrova**, A. V. Koval'skaya, A. N. Lobov, M. A. Maksimova, L. F. Zainullina, V. I. Vinogradova, V. A. Vakhitov, Yu. V. Vakhitova, F. Z. Galin // Chemistry of Natural Compounds. – 2018. – V. 54. – P. 938-946.

8 Цыпышева, И. П. Влияние засухи на состав и содержание алкалоидов в семенах *Chamaecytisus ruthenicus*(Fisch. ex Woloszcz.) Klaskova, произрастающего в горно-лесной зоне Южного Урала / И. П. Цыпышева, Е. Г. Галкин, **П. Р. Петрова**, А. В. Ковальская, Н. И. Федоров // Химия растительного сырья. – 2018. – № 4. – С. 169-176.

9 Tsypysheva, I. P. Diels-Alder adducts of 3-*N*-substituted derivatives of (–)-cytisine as influenza A/H1N1 virus inhibitors; stereodifferentiation of antiviral properties and preliminary assessment of action mechanism / I. P. Tsypysheva, A. V. Koval'skaya, **P. R. Petrova**, A. N. Lobov, S. S. Borisevich, D. O. Tsypyshev, V. V. Fedorova, E. V. Gorbunova, A. V. Galochkina, V. V. Zarubaev // Tetrahedron. – 2019. – V. 75. – P. 2933e2943.

10 **Petrova, P. R.** Synthesis of methylcytisine 9-thiocarboxamides / **P. R. Petrova, A. V. Koval'skaya, A. N. Lobov, I. P. Tsypysheva** // Chemistry of Natural Compounds. – 2019. – V. 55. – P. 908-913.

11 Tsypysheva, I. P. Variation of spacer type and topology of phenyl moiety in 2-pyridone core of 4-oxo-3-N-methylcytisine; effect of synthesized compounds on rat's behavior in conditioned passive avoidance reflex (CPAR) test / I. P. Tsypysheva, **P. R. Petrova, A. V. Koval'skaya, A. N. Lobov, T. Sapozhnikova, N. Makara, S. Gabdrakhmanova, F. Zarudii** // Natural Product Research. – 2019. DOI 10.1080/14786419.2019.1622106.

12 **Petrova, P. R.** Synthesis of guanidine derivatives of methylcytisine / **P. R. Petrova, A. V. Koval'skaya, A. N. Lobov, I. P. Tsypysheva** // Chemistry of Natural Compounds. – 2019. – V. 55. – P. 1110-1114.

13 Koval'skaya, A. V. Iodination of cytisine and methylcytisine alkaloids / A. V. Koval'skaya, **P. R. Petrova, A. V. Lobov, I. P. Tsypysheva** // Chemistry of Natural Compounds. – 2019. – V. 55. – P. 1101-1105.

14 **Petrova, P. R.** Conjugates of 9- and 11-halo-substituted cytisines with 1'-N-methylurocanic acid / **P. R. Petrova, A. V. Koval'skaya, A. N. Lobov, I. P. Tsypysheva** // Chemistry of Natural Compounds. – 2019. – V. 55. – P. 1106-1109.

15 Галочкина, А. В. Производные хинолизидинового алкалоида (–)-цитизина с противогриппозной активностью / А. В. Галочкина, **П. Р. Петрова, А. В. Ковальская, И. П. Цыпышева, В. В. Зарубаев** // Известия Уфимского научного центра РАН. – 2019. – №4. – С. 41-44.

16 Ковальская, А. В. Цитотоксичность новых противогриппозных агентов – аддуктов Дильса-Альдера 3-N-замещенных производных (–)-цитизина с имидами малеиновой кислоты / А. В. Ковальская, **П. Р. Петрова, Т. И. Иванова, И. П. Цыпышева** // Известия Уфимского научного центра РАН. – 2019. – №4. – С. 54-59.

17 Fedorova, V. A. Antiviral activity of amides and carboxamides of quinolizidine alkaloid (-)-cytisine against human influenza virus A(H1N1) and parainfluenza virus type 3 / V. A. Fedorova, R. A. Kadyrova, A. V. Slita, A. A. Muryleva, **P. R. Petrova, A. V. Koval'skaya, A. N. Lobov, D. O. Tsypyshev, S. S. Borisevich, I. P. Tsypysheva, Z. R. Zileeva, J. V. Vakhitova, V. V. Zarubaev** // Natural Product Research. – 2019. DOI 10.1080/14786419.2019.1696791.