

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ, ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ, ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ
ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.27.06.2017.К/В/Т.13.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ

ТЕРЕНТЬЕВА ЕКАТЕРИНА ОЛЕГОВНА

**ТЕТРАГИДРОИЗОХИНОЛИН ҚАТОРИГА МАНСУБ
БИРИКМАЛАРИНИНГ ЦИТОТОКСИК ФАОЛЛИГИНИ ЎРГАНИШ**

02.00.10 – Биоорганик кимё

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2018

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)

Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)

Терентьева Екатерина Олеговна

Тетрагидроизохинолин қаторига мансуб бирикмаларнинг
цитотоксик фаоллигини ўрганиш.....3

Терентьева Екатерина Олеговна

Изучение цитотоксической активности соединений
тетрагидроизохинолинового ряда.....23

Terenteva Ekaterina Olegovna

Study of cytotoxic activity of tetrahydroisoquinoline compounds.....43

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ
List of published works.....46

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ, ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ, ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ
ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.27.06.2017.К/В/Т.13.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ

ТЕРЕНТЬЕВА ЕКАТЕРИНА ОЛЕГОВНА

**ТЕТРАГИДРОИЗОХИНОЛИН ҚАТОРИГА МАНСУБ
БИРИКМАЛАРИНИНГ ЦИТОТОКСИК ФАОЛЛИГИНИ ЎРГАНИШ**

02.00.10 – Биоорганик кимё

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2018

Биология фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2017.4. PhD /В130 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Ўсимлик моддалари кимёси институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (рус, ўзбек, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифаси (www.biochem.uz) ва «ZiyoNet» Ахборот-таълим порталида (www.ziyo.net) жойлаштирилган.

Илмий маслаҳатчи: **Азимова Шахноз Садыковна**
биология фанлари доктори, профессор

Расмий оппонентлар: **Далимова Сурайё Нугмановна**
биология фанлари доктори, профессор

Саитмуратова Угилжан Худайбергеновна
биология фанлари доктори, доцент

Етакчи ташкилот: **Тошкент фармацевтика институти**

Диссертация ҳимояси Биоорганик кимё институти, Ўзбекистон Миллий университети, Ўсимлик моддалари кимёси институти ҳузуридаги DSc.27.06.2017.К/В/Т.13.01 рақамли Илмий кенгашининг 2018 йил «__» _____соат __ даги мажлисида бўлиб ўтади (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улугбек кўч., 83. Тел.:262-35-40, факс: (99871) 262-70-63

Диссертация билан Биоорганик кимё институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (_____рақами билан рўйхатларга олинган). (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улугбек кўч., 83. Тел.:262-35-40, факс: (99871) 262-70-63, e-mail: asrarov54@mail.ru).

Диссертация автореферати 2018 йил «__» _____ кун тарқатилди.
(2018 йил «__» _____ даги _____ рақамли реестр баённомаси).

Ш.И. Салихов
Илмий даражалар берувчи бир марталик илмий кенгаш
раиси, б.ф.д., академик

М.И. Асраров
Илмий даражалар берувчи бир марталик илмий кенгаш
котиби, б.ф.д., профессор

Ш.У. Турдикулова
Илмий даражалар берувчи бир марталик илмий кенгаш қошидаги
илмий семинар раиси, б.ф.д., доцент

КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертация аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёда замонавий тиббиёт ва фармакологиянинг долзарб муаммоларидан бири хавfli ўсмаларга қарши янги бирикмаларни излашдан иборат. Ҳозирги вақтда экспериментал ва клиник онкологияда саратон касалликларини даволаш учун канцеролитик ва ўсмага қарши кенг турдаги препаратлар мавжуд, уларнинг кўпчилиги учун аҳамиятли бўлган камчилик соғлом тўқималар ва тана аъзолари учун юқори заҳарли эканлигидир. Инфекция кўзгатувчиларининг мавжуд микробга қарши дори воситаларига нисбатан чидамлилигининг ортиб бораётганлиги янги антибактериал ва замбуруғларга қарши бирикмаларни аниқлашни тақозо этади.

Бугунги кунда дунё миқёсида изохинолин қатори алкалоидлари ва уларнинг синтетик ҳосилаларининг биологик фаолликлари интенсив тарзда тадқиқ этилиб, уларнинг кенг кўламли физиологик хусусиятлари, жумладан цитотоксик ва антибактериал хоссаларининг аниқланишига олиб келди. Тетрагидроизохинолиннинг турли ҳосилалари глиома, кўкрак саратони, бачадон бўйни ва йўғон ичак хавfli ўсмалари, лейкозларга қарши фаоллик намоён этиб, ўсма ҳужайраларининг дори воситаларига нисбатан кўплаб резистентлигини енгиб ўтади. Изохинолин қаторига мансуб бирикмаларнинг грам-мусбат ва грам-манфий бактерия штамmlарига нисбатан юқори антибактериал фаоллик намоён этиши келтириб ўтилган.

Мамлакатимизда ҳозирги кунда маҳаллий хом-ашё асосида импорт ўрнини босувчи янги доривор воситалар яратиш ҳамда фармацевтика саноатини янада ривожлантириш мақсадида кенг кўламли чора-тадбирлар амалга оширилди, бу соҳада аҳолини арзон ҳамда сифатли дори воситалари билан таъминлашда муайян натижаларга эришилди. Ўзбекистон Республикасини ривожлантиришнинг устувор йўналишлари бўйича Ҳаракатлар стратегиясининг 4 - йўналишида фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, тиббиёт муассасалари ва аҳолини арзон, сифатли дори воситалари ва тиббиёт буюмлари билан таъминланишини яхшилаш юзасидан муҳим вазифалар белгилаб берилган¹. Ушбу вазифалардан келиб чиқиб, ўсма ҳужайраларига қарши цитотоксик ва антимиқроб фаолликка эга янги бирикмаларни аниқлаш келгусида самарали онкологик ва микробга қарши дори воситаларини яратишда муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2016 йил 16 сентябрдаги ПҚ-2595-сон «2016-2020 йилларда республика фармацевтика саноатини янада ривожлантириш чора-тадбирлари дастури тўғрисида»ги Қарори ва 2017 йил 7 февралда ПФ-4947-сон «2017-2021 йилларда Ўзбекистонни ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши бўйича Ҳаракатлар стратегияси» тўғрисидаги Президент Фармони ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йилнинг 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида» Фармони

амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот Республика фан ва технологиялари ривожланишининг VI «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Табиий изохинолинлар ва уларнинг синтетик ҳосилаларининг цитотоксик фаоллигини ўрганиш бўйича илмий изланишлар Франция, Япония ва бошқа давлатлар тадқиқотчилари томонидан олиб борилмоқда. Хусусан, Миср онкологлари томонидан мия ўсимтасининг агрессив шакли – глиобластомаларга нисбатан ўсмага қарши хусусият намоён этадиган тетрагидроизохинолинлар аниқланган (Patil R). Франциялик тадқиқотчилар томонидан кўпчилик изохинолин бирикмалари саратон хужайралари ДНК репарациясига таъсир ўтказиши аниқланган (D.J. Mabire, J.E. Guillemont). Муаллифлар полиаденозиндифосфорибоза-полимераза ингибирловчи изохинолин ва дигидроизохинолинларнинг кенг спектрини келтириб ўтишган. Ушбу фермент фаоллигини сусайтириш ДНК икки ипли ажралишининг репарацияси бўйича дефектли саратон хужайраларининг ўлимига олиб келади. Хитойнинг Нанкин шаҳри Фармацевтика университети олимлари томонидан ўсма хужайраларининг дори воситаларига нисбатан резистентлигини бартараф этадиган тетрагидроизохинолинлар олинган (Fang W.).

МДХ давлатларида Карцев В.Г. ва ходимлари томонидан бачадон бўйни карциномасига нисбатан яққол ифодаланган цитостатик хусусият намоён этувчи макролид изохинолин алкалоидлари аниқланган. Лапа Г.Б. ва б.3-бензоиламин-6,7-диметокси-1-метилизохинолин ҳосилаларининг CaOV тухумдон карциномасига нисбатан цитотоксик фаоллигини баён этишди. Бугунги кунда 6,9-бис(2-аминоэтиламин)бензоизохинолин-5,10-дион изохинолин ҳосиласи асосида ўсмага қарши Pixuvri (Cell Therapeutics, США) савдо маркаси асосида ишлаб чиқарилувчи, тажрибавий Пиксантрон препарати яратилган бўлиб, юрак тўқимасига унчалик кучли бўлмаган токсик таъсир намоён этади. Пиксантроннинг цитотоксик фаоллиги механизми асосида топоизомераза II ни ингибирлаш ва ДНК интеркаляцияси ётади (www.drugbank.ca).

Тадқиқотнинг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Ўсимлик моддалари кимёси институти илмий-тадқиқот ишлари режасининг ФА–Ф6–Т198 «Биологик фаол моддаларни хужайра метаболизмига таъсирини ўрганиш» (2012–2016) ва ВА-ФА-Ф-6-009 «Табиий бирикмалар ва уларни синтетик ҳосилаларининг цитотоксик, антибактериал, замбуруғга қарши ва антиоксидант фаоллигини ўрганиш» мавзусидаги фундаментал ва амалий лойиҳалар доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади синтетик алкалоидлар ва 1,2,3,4-тетрагидроизохинолин ҳосилалари орасидан саратон хужайралари ўсиниши тўхтадиган ва соғлом хужайраларга нисбатан кам заҳарли бўлган, шунингдек микробга қарши фаолликка эга бирикмаларни аниқлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

1,2,3,4-тетрагидроизохинолин моно- ва бимолекуляр ҳосилаларининг, изохинолинлар ва дигидрокверцетин асосидаги конъюгатларнинг цитотоксик фаоллигини *in vitro* шароитида аниқлаш;

1,11-бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) ундекан тетрагидроизохинолинининг ўткир токсиклигини *in vivo* шароитида тадқиқ этиш;

1,2,3,4-тетрагидроизохинолинларнинг антибактериал ва замбуруғларга қарши фаоллигини *in vitro* шароитида тадқиқ этиш;

1,2,3,4-тетрагидроизохинолинларнинг гипоосмотик стрессдаги хужайра ҳажмининг тикланиши кинетикасига таъсирини тадқиқ этиш;

1,2,3,4-тетрагидроизохинолинлар таъсирида хужайра нобуд бўлишининг типини аниқлаш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида бачадон бўйни эпителиал карциномаси (HeLa), сут беши аденокарциномаси (HBL-100), ҳалқум аденокарциномаси (HEp-2), тери меланомаси (КМЛ), Т-лимфобластли лейкемия (CCRF-CEM) кўпайтириладиган хужайралари; фибробластлар, гепатоцитлар хужайраларининг бирламчи культуралари, тимоцитлар суспензияси; грам-позитив (*Bacillus subtilis* ва *Staphylococcus aureus*) ва грам-негатив (*Pseudomonas aeruginosa* ва *Escherichia coli*) бактерияларнинг штаммлари ва *Candida albicans* замбуруғи; моно- ва бимолекуляр 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинлар, изохинолин ва дигидрокверцетиннинг конъюгатлари танланган.

Тадқиқотнинг предмети 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинларнинг цитотоксик, антибактериал, замбуруғга қарши ва метаболик фаолликлари, ўткир заҳарлилиги ҳисобланади.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқотда биоорганик кимё (оксилларни миқдор ва сифат жиҳатидан аниқлаш, спектрофотометрия усуллари), хужайра биологияси ва муҳандислиги (бирламчи хужайра культураларини олиш), биокимё (МТТ-тест, трипан кўки билан бўйаш, ЛДГ-тест, МДА миқдорини аниқлаш), биофизика (РУО) услубларидан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

илк бор моно- ва бимолекуляр 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинларнинг *in vitro* шароитида цитотоксик, антибактериал, замбуруғга қарши фаолликлари аниқланган;

бирикмаларнинг цитотоксик фаоллиги намоён бўлиши учун тегишли функционал-аҳамиятли гуруҳлар аниқланган;

бирикмаларнинг хужайра ҳажмининг регулятор камайиши кинетикасига таъсири аниқланган;

1,2,3,4-тетрагидроизохинолинларнинг цитотоксик фаоллиги апоптоз оксидланишли стресс ва хужайра мембрана бутунлигининг бузилиши билан эмас, балки хужайрани апоптоз йўли орқали nobуд қилиши исботланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

рак хужайраларига нисбатан юқори ингибиторлик хусусиятли ва соғлом хужайраларга нисбатан кам захарли бўлган бирикмалар топилган;

бирикмаларнинг ўртача-токсик дозалари аниқланган;

грам-позитив ва грам-негатив бактерия штамmlари ва замбуруғга қарши яққол антимиқроб эффект намоён этадиган бирикмалар аниқланган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги замонавий биокимё ва молекуляр-биология усулларидан фойдаланилганлиги билан асосланади. Натижалар замонавий аналитик ва статистик усуллар ёрдамида таҳлил қилинган. Бунинг тасдиғи сифатида мутахассислар томонидан эксперт хулосалари, ҳамда республика ва халқаро илмий конференцияларда муҳокамадан ўтганлиги, рецензия қилинувчи илмий нашрларда чоп этилганлиги ва олинган патентлар хизмат қилади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.

Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти шундан иборатки, 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинларнинг кимёвий тузилиши ва уларнинг цитотоксик фаоллиги ўртасидаги боғлиқлик уларнинг биологик фаоллигини ва канцеролитик таъсир механизмини прогнозлаш имкониятини беради.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти тетрагидроизохинолинларнинг аниқланган цитотоксик фаоллиги соғлом хужайраларга нисбатан кам захарли бўлганлиги сабабли ўсмага қарши препаратларнинг фаол компоненти сифатида фойдаланиш имкониятини беришида намоён бўлади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши.

1,2,3,4-тетрагидроизохинолинларнинг цитотоксик фаоллиги бўйича олинган илмий натижалар асосида:

селектив цитотоксик фаолликка эга булган 1,11-бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) ундекан учун Ўзбекистон Республикаси Интеллектуал мулк агентлигининг ихтирога патенти олинган (№IAP 05683, 2018 й.). Натижада ушбу бирикманинг тиббиётда ўсмага қарши восита сифатида фойдаланиш имконияти яратилган;

селектив цитотоксик фаолликка эга булган 1-(3',4'-метилendioксифенил)-2-метил-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин учун Ўзбекистон Республикаси Интеллектуал мулк агентлигининг ихтирога патенти олинган (№IAP 05664, 2018 й.). Натижада мазкур бирикмалардан тиббиётда ўсмага қарши восита сифатида фойдаланиш имконияти яратилган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 6 та халқаро ва республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 16 та илмий ишлар чоп этилган, шулардан

Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертацияларнинг асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий нашрларда 8та, жумладан, 5таси Республика ва 3таси халқаро журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, учта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 108 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурийлиги, мақсад ва вазифалари асослаб берилган, тадқиқотнинг объект ва предметлари ифодаланган, тадқиқотнинг республика фан ва технологияларни ривожлантиришнинг устувор йўналишларига мувофиқлиги келтирилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг назарий ва амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Тетрагидроизохинолин қаторига мансуб бирикмаларнинг цитотоксик фаоллигини тадқиқ этиш**» деб номланган биринчи бобида ўсимлик, ҳайвон ва микроб табиатли организмларнинг маҳсулотлари орасидан канцеролитик бирикмаларни излаш, уларнинг зарарловчи таъсир механизмлари ва цитотоксик фаолликни ўрганиш юзасидан тажриба моделлари ҳақида хорижий ва маҳаллий илмий адабиётлар шарҳи батафсил баён этилган.

Диссертациянинг «**Ишда қўлланилган материаллар, шароитлар ва биоорганик кимё ва хужайра биологиясининг усуллари**» деб номланган иккинчи бобида турли биологик фаолликларни аниқлаш учун фойдаланилган материал ва усулларнинг тавсифи баён этилган тажриба қисми келтирилган.

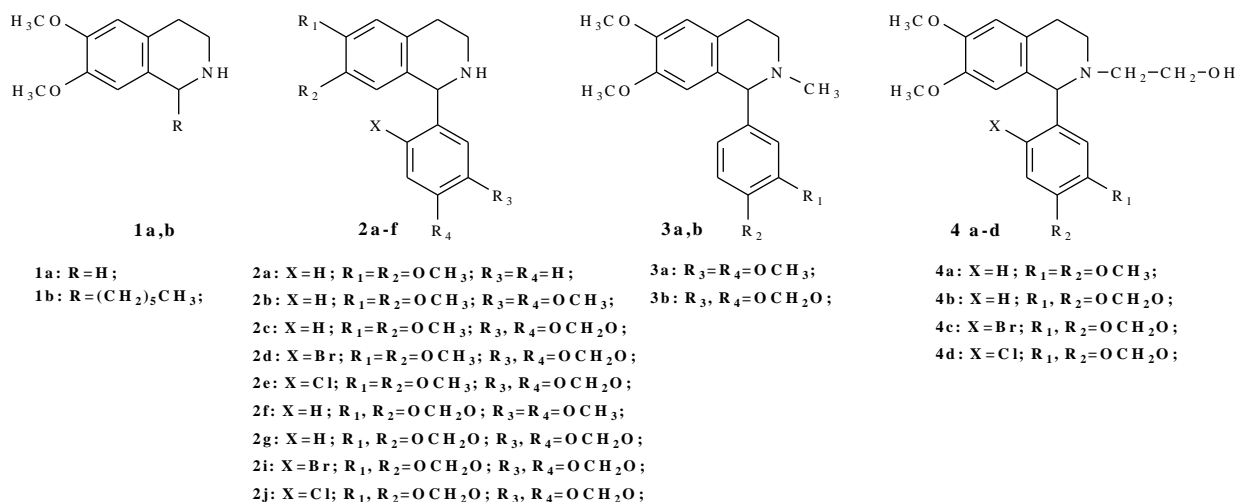
Диссертациянинг учинчи боби «**Тетрагидроизохинолин қаторига мансуб бирикмаларнинг цитотоксик фаоллигини тадқиқ этиш**» га бағишланган. Бобда моно- ва бимолекуляр 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинларнинг цитотоксик, антибактериал ва замбуруғларга қарши, антиоксидант фаолликлари ва кимёвий тузилиш-функционал боғлиқлигини тадқиқ этиш жараёнида олинган шахсий натижалар келтирилган.

Тадқиқотларда РФА Цитология институти хужайра культураси банкидан олинган бачадон бўйни эпителиал карциномаси (HeLa), сут беzi аденокарциномаси (HBL-100), ҳалқум аденокарциномаси (HEp-2), ЎзРФА Биоорганик кимё институти томонидан тақдим этилган тери меланомаси (КМЛ), Ҳайдельберг Университети (Германия) коллекциясидан Т-лимфобластли лейкомия (CCRF-CEM) хужайралари, шунингдек тери хужайралари – фибробластлар, гепатоцит хужайраларининг бирламчи культуралари ва тимоцит суспензиясидан фойдаланилган.

Цитотоксик фаолликни аниқлаш учун МТТ-тест ва трипан кўки билан бўяш усулидан фойдаланилган. Қиёслаш эталони сифатида цисплатин (Fresenius Kabi, Ҳиндистон) ўсмага қарши препаратидан фойдаланилган.

Криптостилинлар ва сальсолидин алкалоидлари синтетик ҳосилаларининг цитотоксик фаоллигини тадқиқ этиши

Тетрагидроизохинолиннинг моноҳосилалари (ТГИХ) ЎЗР ФА ЎМКИ алкалоидлар кимёси ходими Ш.Н. Жўракулов томонидан к.ф.н. В.И.Виноградова раҳбарлиги остида синтез қилинган (1-расмга қаранг).



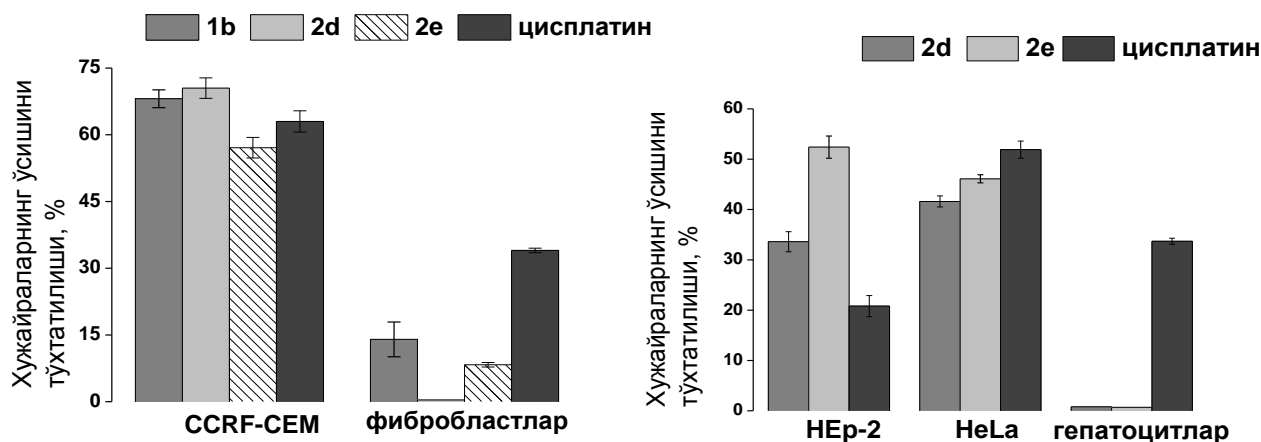
1-расм. Тетрагидроизохинолинларнинг (ТГИХ) кимёвий тузилиши.

Тадқиқ этилган моддаларнинг рақ хужайралари ўсишини тўхтатиши ва кимёвий тузилиши ўртасидаги боғлиқликни ўрганиш жараёнида тетрагидроизохинолин моноҳосилаларининг орасида С-1 (**1a**) ҳолатида ҳеч қандай ўринбосарнинг бўлмаслиги унчалик катта бўлмаган ингибирловчи фаоллик юзага чиқишига сабаб бўлиши аниқланди (1-расмга қаранг). С-1 (**1b**) ҳолатига гексил (CH₂)₅CH₃ гуруҳини киритиш деярли барча ўрганилаётган рақ хужайраларига нисбатан цитотоксиклини кескин ортишига сабаб бўлади. Шунинг билан бирга (CH₂)₅CH₃- гуруҳини бензол ҳалқасига (**2a**) алмаштирилиши бирикмаларнинг ингибирловчи эффеқтини дастлабки молекула (**1a**) каби бўлишига олиб келади.

Метилендиокси- гуруҳини С бензол ҳалқасига галогенлар билан киритилиши ТГИХ (**2e**, **2d**) цитотоксик хусусиятларининг ортишига сабабчи бўлади.

Бу ерда галогеннинг табиати ҳам муҳим аҳамият касб этади. Масалан, **2d**, **2e** ва ТГИХ **1b** бирикмаларининг таъсирига энг юқори сезгирликни Т-лимфобластли лейкомиялинияси кўрсатди: 1 мкг/мл концентрацияда ССRF-СЕМ хужайраларининг ўсишини тўхтатиш даражаси 70,5±2,3%, 57,1±2,3% ва 68,1±2,0%ни ташкил этиб, қиёслаш препарати цисплатин даражасида - 63,0±2,4% эканлиги аниқланди (2-расмга қаранг). Худди мана шу шароитларда ТГИХ **1b** ва **2e** фибробластларда цисплатинга солиштирилганда

2-3 марта кам ингибирловчи фаоллик намоён этган ҳолда, **2d** ҳосиласи тери соғлом хужайраларига нисбатан мутлақо захарли эмаслиги аниқланди. **2d** ва **2e** ҳосилаларининг яққол ифодаланган цитотоксик фаоллигини HeLa бачадон бўйни эпителиал карциномаси хужайралари (ўсишни тўхтатиши $41,6 \pm 1,1\%$ ва $46,1 \pm 0,8\%$) ва HEP-2 ҳалқум аденокарциномаси хужайраларида (ўсишни тўхтатиши $33,6 \pm 2,0\%$ ва $52,4 \pm 2,2\%$) кузатилди.



2-расм. 1,2,3,4-тетрагидроизохинолин моноҳосилаларининг 1 мкг/мл концентрациядаги цитотоксик фаоллигини қиёсий баҳолаш ($M \pm m$, $n = 9$, $P < 0,05$)

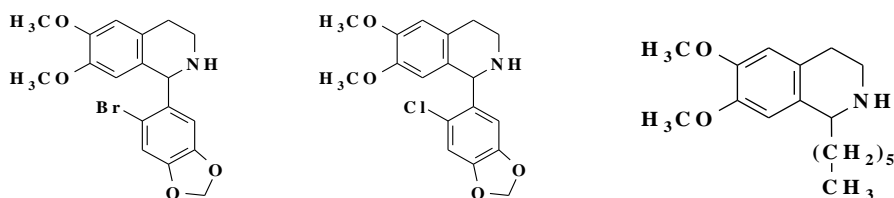
Бунда мазкур бирикмаларнинг гепатоцитларни ингибирловчи эффекти юзага чиқмаган ҳолда, референс препарат цисплатин жигарнинг нормал хужайраларини $33,7 \pm 0,6\%$ га нобуд қилиши намоён бўлди.

А ҳалқадаги (**2g-2j**) икки метоксил радикалларни метилендиокси-гуруҳларига алмаштириш бензолли С ҳалқада метилендиоксилли ўринбосар ёки галогенлар бўлишидан қатъий назар ТГИХ цитотоксик хоссаларининг буткул йўқолишига олиб келади. Шунингдек, ингибирловчи эффект пиперанилни А ҳалқага, диметокси- гуруҳларни С (**2f**) ҳалқага кўчирилганда ҳам намоён бўлмайди (1-расмга қаранг).

Молекулани N-алкиллашда ҳам қизиқарли натижа олинди. CH_3 радикали мавжуд бўлганда диметокси-гуруҳлари ТГИХни цитотоксик фаолликдан маҳрум қилади (**3a**), шу билан бирга А ҳалқада (**3b**) икки метоксил гуруҳ сақланиб қолиши баробарида пиперанил ўринбосари модданинг ҳалқум карцинома хужайраларига нисбатан танлаб таъсир этиш қобилиятини юзага чиқаради.

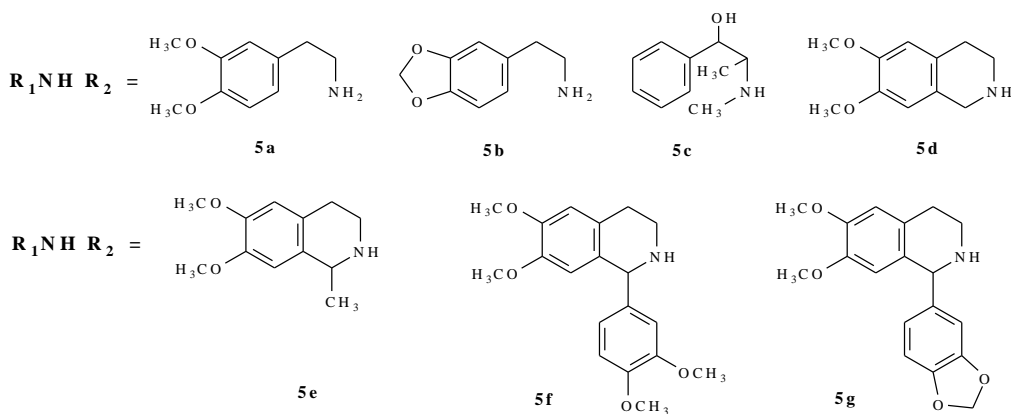
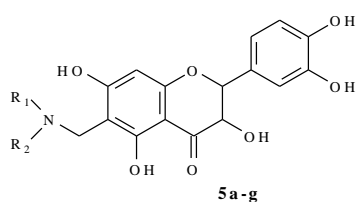
N атомида (**4a-4d**) гидроксизтил $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$ ўринбосарининг мавжуд бўлган ҳолатида галоген ва бошқа функционал радикалларнинг мавжудлигидан қатъий назар ингибирловчи хусусиятлар кузатилмади.

Мана шу асосда цитотоксик фаолликни юзага чиқиши учун зарур шартлар қуйидагилардан иборат: А ҳалқада 2 метоксил ўринбосарнинг мавжудлиги, эркин N атоми, метилендиокси- гуруҳли бензол ҳалқаси ва С-1 ҳолатда галоген ёки гидрофоб гуруҳларининг мавжудлигидир.



Дигидрокверцетин билан синтетик комплексларнинг цитотоксик фаоллигини тадқиқ этиш

1-арилтетрагидроизохинолинлар ва уларнинг аминлари, шунингдек сальсолидин ва псевдоэфедрин алкалоидлари, ҳамда дигидрокверцетин (ДГК) асосидаги конъюгатлар ЎМКИ алкалоидлар кимёси лабораториясида Ш.Н. Жўракулов ва В.И. Виноградова томонидан олинган.



3-расм. Изохинолинлар ва ДГК асосидаги конъюгатларнинг кимёвий тузилиши

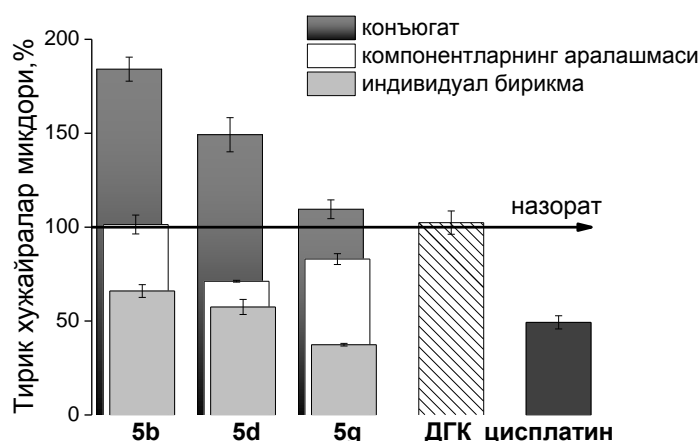
ДГК асосидаги синтетик комплексларнинг цитотоксик фаоллигини тадқиқ этиш жараёнида, келтирилган бирикмаларнинг биронтаси ҳам цитотоксик фаоллик намён этмаслиги, аксинча уларнинг баъзилари рақ хужайраларининг яққол пролиферациясини чақирши кўрсатиб берилди (4-расмга қаранг).

Жумладан, энг катта пролифератив фаолликни гомопиперанилни ДГК билан конъюгирлаш асосида олинган **5b** намуна НЕР-2 хужайраларида кўрсатди: 10 ва 1 мкг/млга мувофиқ 184,1 ва 148,7%.

Шунинг билан бирга айрим компонентларнинг аралашмаси уларнинг синтетик комплексларидан фарқли равишда рақ хужайраларининг ўсишини тўхтатиши ёки пролиферациясини чақиршига таъсир этмаслиги аниқланди.

Мана шу асосда алкалоидлар ва аминларни дигидрокверцетин билан кимёвий боғлаш моддаларнинг (**2b** ва **2c**) цитотоксик хусусиятларининг

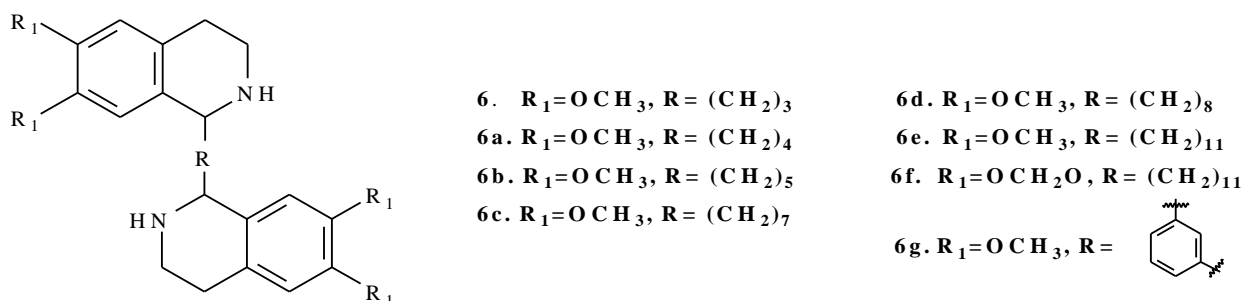
бутунлай йўқолишига, баъзи ҳолларда эса рак ҳужайраларининг юқори пролифератив фаоллигига сабаб бўлади.



4-расм. Рак ҳужайраларига (HEp-2, %, $M \pm m$, $n=9$) нисбатан конъюгатларнинг фаоллиги ва конъюгатлар таркибига кирувчи компонентларнинг қўшма таъсири.

1,4-бис(6,7-диметокси- ва 1,4-бис(6,7-метилендиокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил)алканларнинг цитотоксик фаоллигини ўрганиш.

Бимолекуляр тетрагидроизохинолинларнинг (Саидов А.Ш., Виноградова В.И.) тадқиқ этиш натижалари 6 ва 7-расмларда келтирилган.



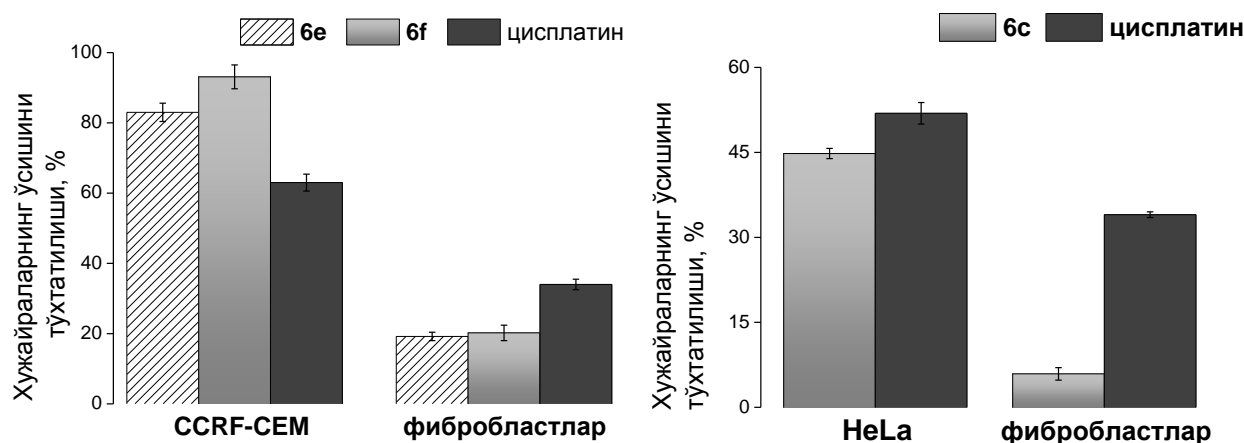
5-расм. 1,4-бис(6,7-диметокси-ва 1,4-бис(6,7-метилендиокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил)алканларнинг кимёвий тузилиши.

Бис-бирикмалар тетрагидроизохинолин моноҳосилаларига қараганда кўпроқ цитотоксик эффект намоён этишди (6-расмга қаранг).

Энг юқори фаолликни **6e** ва **6f** намуналари кўрсатишди: бирикмалар 10 мкг/мл концентрацияда барча рак ҳужайраларининг 95-100%га нобуд бўлишини чақиради.

Шуниси эътиборга лойиқки, ушбу ҳосилаларнинг концентрацияси 10 мартага камайтирилганда улар Т-лимфобластли лейкомия ССRF-СЕМ ҳужайраларига нисбатан юқори $83,0 \pm 1,6$ ва $93,1 \pm 2,4\%$ фаолликни сақлаб қолишди, бунда уларнинг нормал ҳужайраларга нисбатан токсиклиги назорат

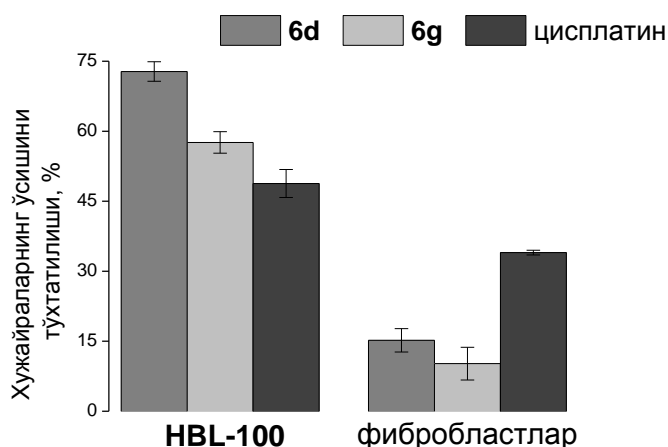
намунага қараганда бир неча баробарга, цисплатинга нисбатан эса 2 марта паст эканлиги намоён бўлди (6-расмга қаранг).



6-расм. Бимолекуляр 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинларнинг 1 мкг/мл концентрациядаги цитотоксик фаоллиги ($M \pm m, n = 9, P < 0,05$)

Изохинолин **6c** томонидан бачадон бўйни карциномасига нисбатан танлаб ингибирловчи эффект намоён бўлди (HeLa хужайраларининг нобуд бўлиши $44,8 \pm 0,9\%$). Ушбу концентрацияда текширилаётган ҳосиланинг соғлом тери хужайраларидаги таъсири референс-намунага нисбатан 6 марта кучсиз бўлди (6-расм).

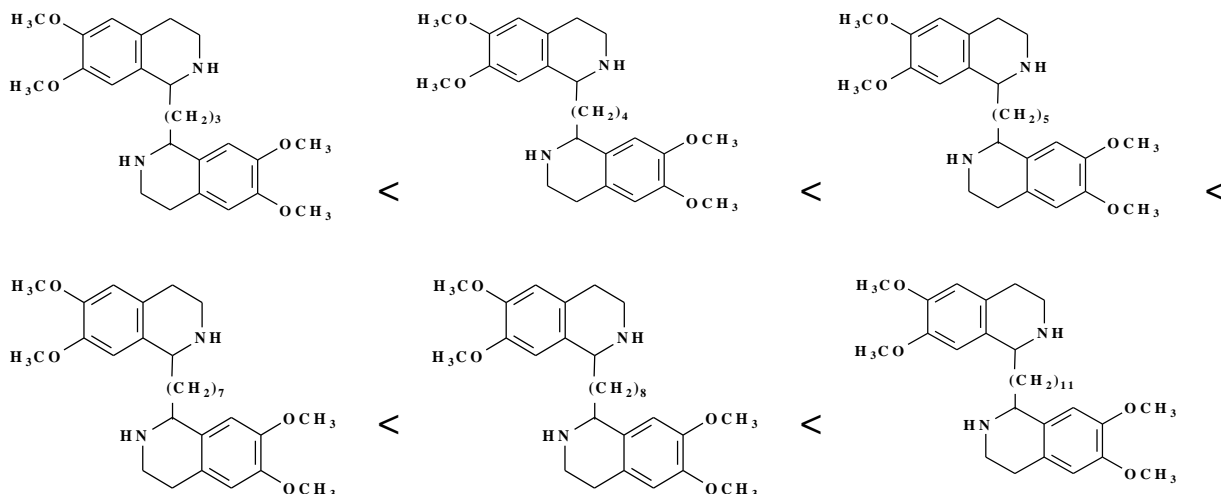
HBL-100 сут беги аденокарциномаси хужайралари ўсишини 1 мкг/мл концентрацияда 50% га камайтирувчи ва солиштирилувчи препаратга қараганда фибробластларга нисбатан кам токсик бўлган ягона тетрагидроизохинолинлар **6d** ва **6g** эканлигини таъкидлаб ўтиш жоиздир (7-расм).



7-расм. Бимолекуляр 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинларнинг 1 мкг/мл концентрациядаги ингибирловчи эффекти ($M \pm m, n = 9, P < 0,05$)

Мана шу асосда, тетрагидроизохинолин тузилишига иккинчи молекуланинг киритилиши моддаларнинг цитотоксик фаоллигининг кескин ортишига ва рақ хужайраларига нисбатан танлаб таъсир қилиш

хусусиятининг камайишига олиб келади. Цитотоксик фаолликнинг юзага чиқишида молекулалар ўртасидаги метилен занжирининг узунлиги муҳим аҳамият касб этади. $-CH_2-$ фрагментини кетма-кет қўшиш хужайра линияларининг ўсишини сусайтириш даражасининг ортишига ва моддаларнинг спецификлигини камайишига олиб келади:



Эҳтимол узун занжир изохинолин молекулаларининг ўзига хос рецепторлар билан ўзаро таъсирлашувини рағбатлантиради, бу эса хужайралар ўсишининг тўхтатилишига олиб келади.

Цитотоксик фаолликнинг намоён бўлишида диметокси- гуруҳини метоксил радикалига (**6f**) алмаштириш ҳам сезиларли фарқни бермайди. $(-CH_2-)_{11}$ ўрнига бензол ҳалқасини киритиш бирикма (**6g**) таъсирининг селективлигини намоён қилишга ва КМЛ, шунингдек HeLa хужайраларига нисбатан таъсирчанликнинг йўқолишига сабаб бўлади (5-расм).

Яққол ифодаланган цитотоксик эффект намоён қиладиган бирикмалар учун IC_{50} дозалари, хужайраларнинг 50% нобуд бўладиган концентрациялари ўрганилди. Олинган натижалар (1-жадвалга қаранг) саратон хужайраларига

1-жадвал.

1,2,3,4- тетрагидроизохинолинлар учун IC_{50} кўрсаткичи, мкМ

Бирикма	HeLa	HEp-2	HBL-100	CCRF-CEM	гепатоцитлар
1b	288.8±4,1	54.2±2,9	43.3±1,5	1.8±0,0	252.7±12,9
2d	51.0±2,1	210.6±15,6	255.0±15,9	0.2±0,0	76.5±3,3
2e	2.3±0,5	5.2±0,2	230.5±11,6	2.3±0,4	240.1±9,8
6c	6.2±0,3	103.7±4,9	10.4±1,1	41.5±2,6	207.4±10,0
6d	14.1±1,0	83.0±6,0	1.0±0,2	18.1±0,7	16.1±2,0
6e	3.1±0,0	3.5±0,4	4.0±1,0	0.2±0,0	10.9±0,0
6f	5.2±0,5	5.5±0,7	6.2±0,3	0.16±0,0	12.6±0,4
6g	173.9±7,9	10.9±0,8	2.1±0,0	11.2±1,2	43.5±1,6

нисбатан ТГИХ **1b**, **2e**, **2d**, **6c** ва **6g** юқори селектив цитотоксик фаоллик ва соғлом хужайраларга нисбатан кам токсиклигини намоиш этади. Т-лимфобластик лейкемия хужайраларининг культураси CCRF-CEM тетрагидроизохинолинларнинг таъсирига нисбатан анча сезгир бўлиб, ушбу ҳолат уларнинг кимёвий тузилиши билан боғлиқ бўлиши мумкин.

Шундай қилиб, мазкур бирикмалар ўсмага қарши воситалар сифатида *in vivo* тадқиқотлар учун истиқболли ҳисобланади.

In vivo ўткир токсикликни аниқлаш.

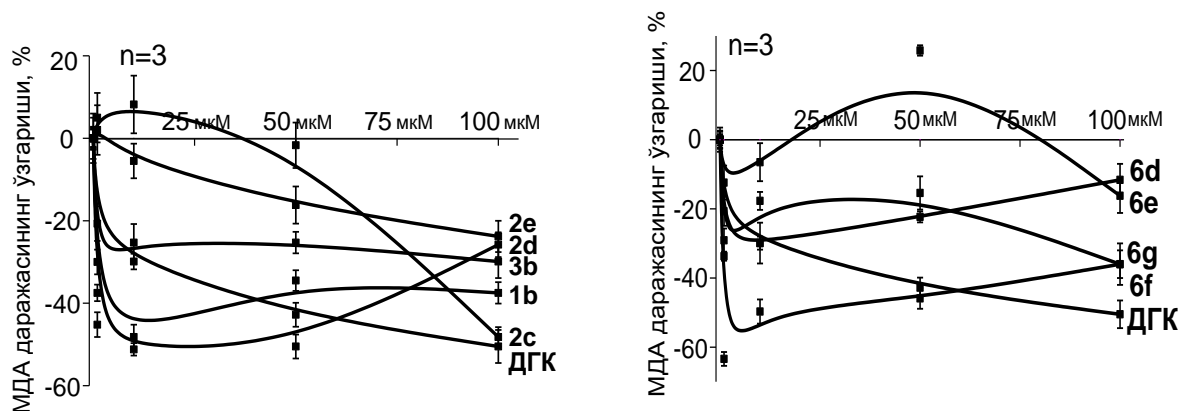
1,11-бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) ундекан (**6e**), текширилаётган барча хужайралар, шу жумладан, фибробластлар ва гепатоцитлар учун ҳам юқори цитотоксик фаоллик намоён этганлиги сабабли биз унинг *in vivo* ўткир токсиклигини ўргандик.

Тажирибалар 18-20 г гача бўлган ҳар иккала жинсдаги зотсиз оқ сичқонларда ўтказилди. Ҳайвонларни ҳар бири бта сичқондан иборат гуруҳларга ажратилди. Бирикмаларни қорин ичига 5.0 дан 200.0 мг/кг доза оралиғида киритилди. Ҳайвонларни бир ҳафта мобайнида кузатилди.

Бирикмани қорин ичига киритилганда LD₅₀ дозаси 80.5 ± 12.5 мг/кг ни ташкил етди, бу ТГИХ **6e** токсикликнинг III-синфига (ўртача токсик) тегишли эканлигини кўрсатади. Шундай қилиб, **6e** намунани янада чуқур ўрганиш учун тавсия этиш мумкин.

1,2,3,4-тетрагидроизохинолинларнинг ЛПО жараёнига таъсири.

Моддаларнинг цитотоксиклиги кўп ҳолларда эркин радикал бирикмаларнинг жадал шаклланиши билан боғлиқ бўлиб, хужайралардаги метаболик жараёнларнинг бузилишига ва уларнинг кейинги ўлимига олиб келади. ТГИХ нинг гепатосит хужайраларига нисбатанэнг кам цитотоксик фаоллик кўрсатганлигини инобатга олиб, биз уларнинг липидларни пероксидли оксидланиш (ЛПО) жараёнларига таъсирини текширдик.



8-расм. Цитотоксик фаол 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинларнинг малон диальдегид (МДА) микдорининг ўзгаришига таъсири $M \pm m$, $n=3$, $P<0,05$.

ЛПО интенсификацияси *in vitro* каламуш жигари гомогенатидаги малон диальдегид миқдорининг ошиши билан баҳоланди. Қиёслаш препарати сифатида дигидрокверцетин (ДГК) флавоноиди хизмат қилди. Натижалар 8-расмда келтирилган.

Олинган натижалар 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинлар ТБК-фаол маҳсулот миқдорини камайтириши ҳисобига маълум даражадаги антиоксидантлик хоссаларини намоён этади.

1,2,3,4-тетрагидроизохинолинлар антиоксидант фаоллик юзага чиқиши ҳисобига гепатоцитларни нобуд бўлишдан ҳимоя қилиши аниқланди.

Антибактериал ва замбуруғга қарши фаолликларини тадқиқ этиши.

Юқори цитотоксик таъсир намоён этган 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинларнинг антимикроб фаоллиги грам-мусбат (*B.subtilis* ва *St.aureus*) ва грам-салбий (*Ps.aeruginosa* ва *E.coli*) бактериялар, шунингдек *Candida albicans* замбуруғида текширилди. Тадқиқотлар агар-диффузион усули ёрдамида Клиник ва лаборатория стандартлари институтининг (CLSI, Германия) протоколлари асосида амалга оширилди.

2-жадвал.

Тетрагидроизохинолин ҳосилаларининг антимикроб фаоллиги (ингибирлаш зонасининг диаметри, мм), М ± m, n = 3, P<0,05

	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
1b	8,1±0,1	7,1±0,1	0,0±0,0	12,3±0,4	7,1±0,1
2c	0,0±0,0	7,0±0,3	6,1±0,2	0,0±0,0	0,0±0,0
2d	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
2e	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
3b	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
6c	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
6d	6,0±0,1	0,0±0,0	0,1±0,0	0,0±0,0	7,1±0,0
6e	24,1±0,5	18,3±0,1	25,0±0,3	14,2±0,3	20,0±0,2
6f	19,3±0,2	13,8±0,1	13,3±0,4	13,1±0,2	12,9±0,1
6g	0,0±0,0	0,0±0,0	0,1±0,0	0,0±0,0	7,2±0,2
Ампицилин	25,9±0,5	27,1±0,0	0,0±0,0	25,1±0,6	nt
Тетрациклин	34,1±1,0	23,2±0,4	26,1±0,5	20,2±0,1	nt
Цефтриаксон	nt	nt	27,0±0,0	27,0±0,0	nt
Флюконазол	nt	nt	nt	nt	30,0±0,3

Цитотоксик фаол ТГИХлар орасидан фақат **6e** ва **6f** бирикмалари сезиларли антибактериал ва замбуруғларга қарши фаоллик намоён этишди. 1,11-бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил)ундекан *C. albicans*га нисбатан кучли замбуруғга қарши хусусият намоён этди – ингибирланиш зонаси 20 мм, флюконазол препаратиники эса – 30 мм ни

ташқил этади. **6е** бирикмаси таъсир эттирилган *P.aeruginosa* ва *B.subtilis* ўсишининг ингибирланиш зоналарининг диаметрлари 19 мм дан кўп бўлсада, тетрациклин ва цефтриаксонлардан кичикроқ бўлди. ТГИХ **6е** учун МІС – минимал ингибирловчи концентрацияси аниқланди. Шундай қилиб, *B. Subtilis* ва *C. albicans* учун $\leq 2,5$ мкг (4,9 мкМ), *S. aureus* ≤ 3 мкг (5,9 мкМ), *E. coli* ≤ 5 мкг (9,9 мкМ), *P. aeruginosa* учун МІС ≤ 10 мкг (19,7 мкМ) ташқил этиши аниқланди.

6е бирикмасининг МІС кўрсаткичи клиник микробга қарши препаратларнинг минимал ингибирловчи концентрациялари билан таққосланадиган даражадалиги сабабли, олинган натижалар 1,11-бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) ундеканни микробга қарши комбинацияланган восита сифатида келгуси тадқиқотлар учун тавсия этишга имконият беради.

1,2,3,4-тетрагидроизохинолинлар таъсирида хужайра нобуд бўлишининг типини аниқлаш.

ТГИХ ларни саратон хужайраларининг некрозига олиб келиши ЛДГ фаоллигини аниқлаш усули ёрдамида, яъни хужайра мембраналарининг шикастланишини қайд этиш орқали баҳоланди. Лактатдегидрогеназа цитозол ферментининг хужайралардан культура суюқлигига чиқарилиши уларнинг яхлитлигини бузилиши сабабли юзага келади. Культура суюқлигида ЛДГ намоён бўлишини 24 соат давомида ТГИХ билан инкубирланган НEr-2 хужайраларида кузатилди.

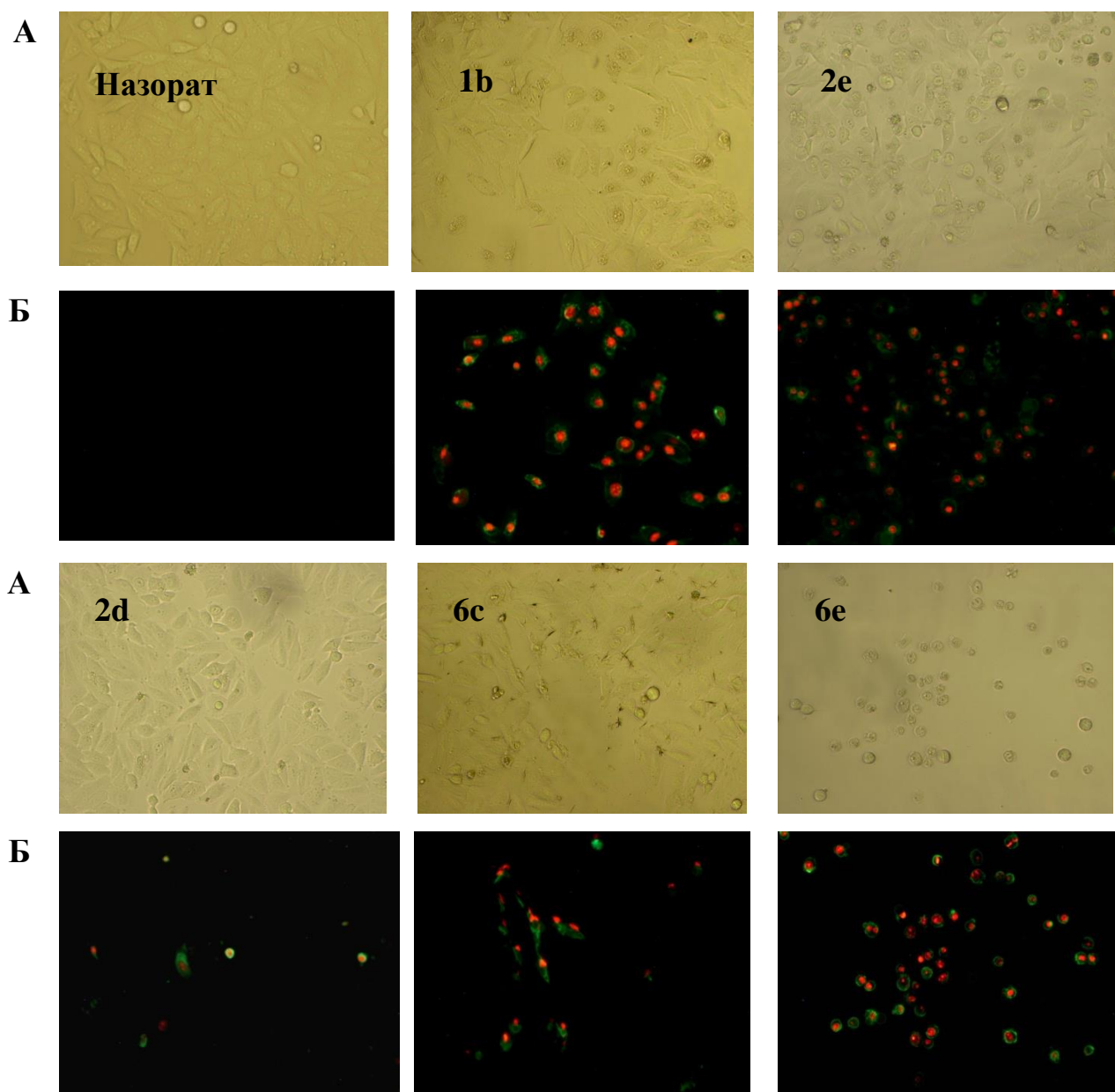
Цитотоксик фаол тетрагидроизохинолинлар ЛДГни ажралишига ёрдам бермади, шу сабабли плазма мембраналарининг яхлитлиги бузилмади. Мана шу асосда 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинларнинг плазма мембранасига зарар бермаслиги ва некроз орқали хужайра нобуд бўлишига олиб келмаслиги аниқланди.

ТГИХнинг саратон хужайраларида апоптозни ишга тушириш қобиляти хужайраларни Аннексин V Alexa Fluor 488 ва пропидиум йодид билан (PI) билан иккиламчи флуоресцент бўйлаб орали баҳоланди.

Аннексин V апоптотик хужайралар юзасида пайдо бўладиган фосфатидилсеринга специфик ва юқори афинлик билан боғланади; PI фақат ўлик хужайраларга киради ва ДНК билан боғланади. Апоптознинг кеч босқичидаги ёки аллақачон ўлик бўлган хужайралар ҳар иккала маркерга нисбатан ҳам ижобий бўлади (AnnV+PI+). Бу мембраналарнинг асимметрияси апоптознинг дастлабки босқичларидан бошлаб бузилганлиги ва апоптознинг кечки босқичларида хужайра ва ядро мембраналарининг ДНКни боғлайдиган бўёқларга нисбатан ўтказувчан бўлиб қолиши билан боғлиқ.

Бизнинг шароитимизда эрта апоптозни келтириб чиқариш учун IC₅₀ концентрацияларида юқори даражадаги цитотоксик таъсир намоён этган ТГИХ **1b-6e** моддаларини НEr-2 хужайра культурасида 6 соат мобайнида инкубация қилинди, кейин Alexa fluor 488 ва PI билан бўйлаб орали. Хужайраларнинг ҳолатини 15 дақиқадан сўнг ёруғлик майдонидаги

флуоресцент микроскоп ёрдамида ва яшил (488 нм), шунингдек қизил (535 нм) нурда баҳоланди (9-расм).



9-расм. AnnV Alexa fluor 488 ва PI билан бўялган HEp-2 хужайралари RPMI-1640 (назорат) муҳитида ва ТГИХ (концентрация IC₅₀) мавжуд бўлган шароитда 6 соат давомида инкубациялангандан сўнг; 20X. А – кўринадиган ёруғлик; Б – GFP ва RFP қопланиши.

9-расмдан кўриниб турганидек, ТГИХ апоптоз орқали хужайра ўлимига сабаб бўлади ва бунда қиёслаш препарати, шунингдек **2d** ва **6c** моддаларининг таъсирида ушбу турдаги хужайра ўлимига 6 соат инкубациядан сўнг барча хужайраларнинг фақат 5-10% тортилади.

Худди мана шу шароитларда тетрагидроизохинолин **1b** таъсирида 50%, **2e** ва **6e** бирикмалари мавжуд бўлганида 100% саратон хужайралари апоптик бўлади.

1,2,3,4-тетрагидроизохинолинларнинг гипоосмотик стрессдаги хужайра ҳажмининг тикланиши кинетикасига таъсирини тадқиқ этиши.

Охирги йилларда ўтказилган тадқиқотлар шуни кўрсатадики, хужайра ҳажмини самарали тартибга солиш тизимининг ҳажмга боғлиқ (калий ва / ёки хлор) ион каналларини блоклашини бузилиши ёки калцийнинг хужайра ичига киришини тўхтатилиши хужайра пролиферацияси ва дифференциациясини тўсилишига, ҳамда апоптотик механизм орқали уларнинг ўлимига олиб келади. Шу нуқтаи назардан, ТГИХнинг гипоосмотик стресс пайтидаги хужайра ҳажмини тартибга солиш жараёнига таъсирини ўрганиш долзарб ва истиқболлидир.

Ушбу ишда тимоцитларнинг ҳажмини қайд қилишни ёруғлик ўтказиш катталигини ўлчаш усулидан фойдаланилди. Хужайраларнинг гипоосмотик муҳитга кириши хужайра ҳажмини тиклашга йўналтирилган ҳажмга боғлиқ каналларни фаоллашишига ёрдам берди.

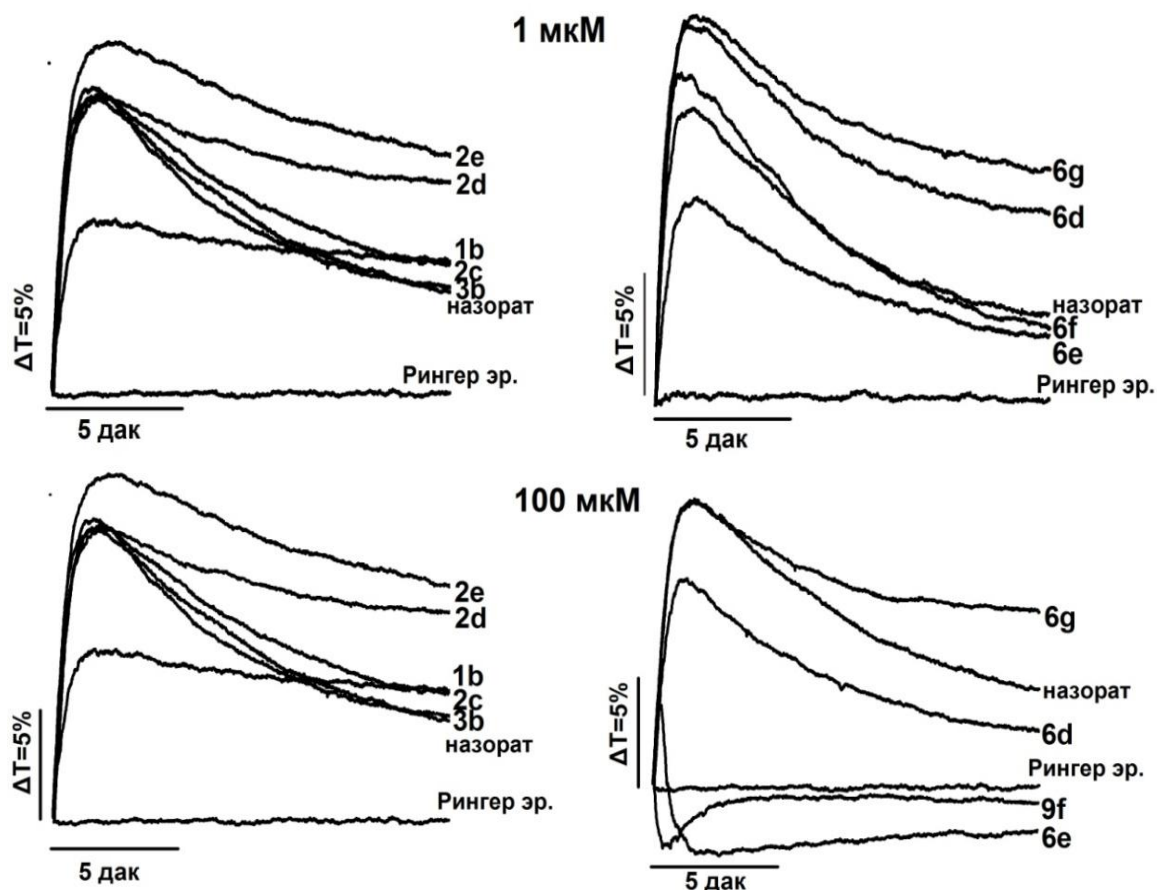
Шу билан бирга Рингер эритмасида тимоцитлар ҳажми доимий даражада сақланиб қолди (10-расм). Гипоосмотик муҳитда хужайраларни 15 дақиқа мобайнида инкубациялаш натижасида ҳажмининг регулятор камайиши (ХРК) 57% дан 68% гача, ўртача 62.1 ± 1.1 ($n=10$) га тенг бўлди.

1,2,3,4-тетрагидроизохинолинларнинг моноҳосилаларини 1 дан 100 мкМ гача концентрацияларда гипотоник эритма ичига киритилганда, ТГИХ **2c** ва **6g** текширилаётган концентрация оралиғида ХРКни дозага боғлиқ бўлмаган тарзда назорат кўрсаткичга нисбатан ўртача 10-25% га пасайтирди (10-расмга қаранг). **2d**, **2e**, **1b** ва **6f** бирикмалари концентрация ортиши билан хужайра ҳажмининг тикланиш кинетикасини тормозлашди: ушбу моддалар учун 1 мкМ концентрацияда ХРК ўртача қийматлари $48,0 \pm 2,5\%$, $58,0 \pm 3,1\%$, $46,0 \pm 2,0\%$ ва $118,5 \pm 4,5\%$ ни ташкил этгани ҳолда, 100 мкМда улар $26,9 \pm 1,7\%$, $34,9 \pm 1,5\%$, $28,0 \pm 1,8\%$ ва $49,9 \pm 2,6\%$ ни ташкил этди.

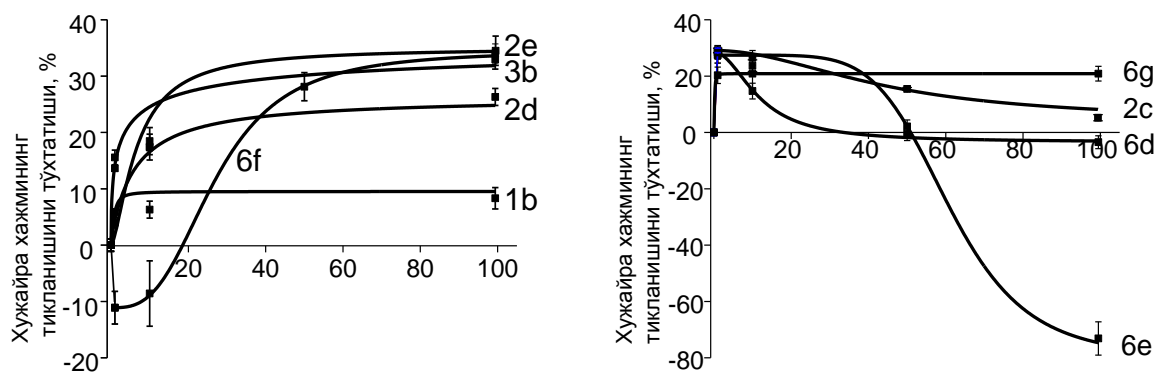
3b, **6d** ва **6e** бирикмалари 1мкМ концентрацияда хужайра ҳажмининг камайишини блоклаши назоратга нисбатан 30-50% дан кўпроқ эканлиги кузатилди, аммо ТГИХ дозаларининг ортиши хужайра тикланиш жараёнини бостириш қобилиятини деярли йўқолишига олиб келди – **3b** таъсирида $56,7 \pm 3,5\%$ ва $55,9 \pm 2,3\%$ **6e** таъсири остида. Бундай ҳолат ушбу тетрагидроизохинолинларни концентрацияга қарамлилигининг икки фазали эканлигини кўрсатади.

Шундай қилиб, биз томондан биринчи бўлиб ТГИХ ни тимоцитлар хужайра ҳажмининг гипоосмотик стресс шароитида қайта тикланишига блокловчи таъсири намойиш этилди. **1b**, **2d** ва **2e** намуналари тимоцитлар ҳажмини тартибга солинишига мўътадил ингибирловчи фаоллик намоеън этиши, **3b**, **6e** ва **6d** бирикмалари эса икки фазали эффект намоеън этиши аниқланди.

A.



B.



10-расм. 1-алмашинган тетрагидроизохинолинларнинг тимоцитлар хужайра ҳажмининг ўзгаришига таъсири: А - хужайра суспензияси нур ўтказиш ўзгаришиникайд ёзувининг асл нусхаси; В - гипотоник муҳитда шишганидан кейин хужайра ҳажмининг тикланиш кинетикаси,% назорат ($M \pm m, n = 5, P < 0,05$).

ХУЛОСАЛАР

1. Илк бор тетрагидроизохинолинлар 36 та ҳосиласининг *in vitro* цитотоксик фаоллиги 5 рак хужайраларида тадқиқ этилди ва қуйидагилар кўрсатиб берилди:

а) 1-гексил-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин ва 1-(6'-бром-3'4'-метилendioксифенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин Т-лимфобластли лейкомия ССRF-СЕМ рак хужайралари, 1-(6'-хлор-3'4'-метилendioксифенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин бачадон бўйни эпителиал карцинома HeLa, ҳалқум аденокарцинома HEp-2 ва Т-лимфобластли лейкомия ССRF-СЕМ хужайралари ўсишини ингибирлайди; бунда бирикмалар нормал гепатоцит ва фибробласт хужайраларига нисбатан кам захарлилик намоён этади.

б) 1,3-бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) бензол сут беги аденокарцинома HBL-100 хужайралари ўсишини, 1,7-бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) гептан бачадон бўйни карцинома HeLa хужайралари ўсишини гепатоцит ва фибробласт хужайраларига нисбатан кам захарлилик кўрсатган ҳолда танлаб сусайтиради.

в) Тетрагидроизохинолинларни дигидроқверцетин билан кимёвий боғлаш цитотоксик хоссаларининг бутунлай йўқолишига ва рак хужайраларининг пролиферациясига олиб келади.

2. 1,11-бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) ундекан бачадон бўйни эпителиал карцинома HeLa, Т-лимфобластли лейкомия ССRF-СЕМ, ҳалқум аденокарцинома HEp-2 ва сут беги аденокарцинома HBL-100 хужайраларига нисбатан юқори цитотоксик фаоллик намоён этиб, LD₅₀ миқдори 80,5±12,5 мг/кг ни ташкил этади.

3. Цитотоксик фаол тетрагидроизохинолин ҳосилаларининг микробларга қарши фаоллиги *in vitro* тадқиқ этилди. 1,11-бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) ундекан *Candida albicans* ва *Bacillus subtilis*, шунингдек *Pseudomonas aeruginosa* бактерияларига нисбатан юқори антимикроб фаоллик намоён этиши кўрсатиб берилди.

4. Цитотоксик фаол тетрагидроизохинолин ҳосилаларининг гипоосмотик стресс ҳолатидаги хужайра ҳажми кинетикасига таъсир этиши аниқланди. Ушбу бирикмалар хужайра ҳажмининг тикланиш жараёнларини ингибирлаши аниқланди.

5. Цитотоксик фаол тетрагидроизохинолин ҳосилалари рак хужайраларида апоптозни келтириб чиқариши аниқланди; бирикмаларнинг цитотоксик фаоллиги оксидловчи стресс ва хужайра мембраналари яхлитлигининг бузилиши билан кузатилмаслиги кўрсатиб берилди.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.27.06.2017.К/В/Т.13.01 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ БИООРГАНИЧЕСКОЙ
ХИМИИ, НАЦИОНАЛЬНОМ УНИВЕРСИТЕТЕ УЗБЕКИСТАНА,
ИНСТИТУТЕ ХИМИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ**

ИНСТИТУТ ХИМИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ

ТЕРЕНТЬЕВА ЕКАТЕРИНА ОЛЕГОВНА

**ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СОЕДИНЕНИЙ
ТЕТРАГИДРОИЗОХИНОЛИНОВОГО РЯДА**

02.00.10 – Биоорганическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD)
ПО БИОЛОГИЧЕСКИМ НАУКАМ**

Ташкент – 2018

Тема диссертации доктора философии (PhD) по биологическим наукам зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2017.4. PhD /B130

Диссертация выполнена в Институте химии растительных веществ.

Автореферат диссертации на трёх языках (русском, узбекском, английском (резюме)) размещен на веб-сайте Научного Совета (www.biochem.uz) и на Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziyo.net).

Научный руководитель: **Азимова Шахноз Садыковна**
доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Далимова Сурайё Нугмановна**
доктор биологических наук, профессор

Саитмуратова Угилжан Худайбергеновна
доктор биологических наук, доцент

Ведущая организация: **Ташкентский фармацевтический институт**

Защита состоится «__» _____ 2018 г. в ____ часов на заседании Научного Совета DSc.27.06.2017.К/В/Т.37.01. при Институте биоорганической химии, Национальном Университете Узбекистана, Институте химии растительных веществ (Адрес: 100125, Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.:262-35-40, факс: (99871) 262-70-63

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института биоорганической химии (регистрационный номер № _____). Адрес: Адрес: 100125, Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.:262-35-40, факс: (99871) 262-70-63, e-mail: asrarov54@mail.ru).

Автореферат диссертации разослан: «__» _____ 2018 года.
(реестр протокола рассылки _____ от «__» _____ 2018 года).

Ш.И. Салихов
Председатель разового Научного Совета по присуждению
ученых степеней, д.б.н., академик

М.И. Асраров
Ученый секретарь разового Научного Совета по присуждению
ученых степеней, д.б.н., профессор

Ш.У. Турдикулова
Председатель Научного семинара при разовом Научном Совете
по присуждению ученых степеней, д.б.н., доцент

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность исследования. Одной из актуальных проблем мировой медицины и фармакологии является поиск новых противоопухолевых соединений. Несмотря на то, что в настоящее время экспериментальная и клиническая онкология располагает широким спектром канцеролитиков и противоопухолевых препаратов, существенным недостатком большинства из них является высокая токсичность для здоровых тканей и органов. Не менее важным является выявление веществ, обладающих антибактериальными и противогрибковыми свойствами, в связи с возрастанием устойчивости возбудителей инфекционных заболеваний к существующим лекарственным противомикробным препаратам.

В настоящее время в мире ведутся интенсивные исследования биологических эффектов алкалоидов изохинолинового ряда и их синтетических производных, которые позволили обнаружить широкий спектр их физиологической активности, включая цитотоксические и антибактериальные свойства. Так установлено, что различные производные тетрагидроизохинолинов проявляют противоопухолевую активность в отношении глиом, рака молочной железы, шейки матки и толстого кишечника, лейкозов, преодолевают множественную лекарственную резистентность опухолевых клеток. Выявлены изохинолины и с высокой антибактериальной активностью как к грам-положительным, так и грам-отрицательным штаммам бактерий.

В настоящее время в нашей стране проведены широкомасштабные меры по созданию новых импортозамещающих лекарственных средств на основе местного сырья и дальнейшему развитию фармацевтической промышленности. В этой области достигнуты определенные результаты по обеспечению населения доступными качественными лекарственными средствами. В 4 направлении Стратегии действий развития Республики Узбекистан определены важные задачи по дальнейшему развитию фармацевтической промышленности, медицинских учреждений и улучшению обеспечения населения доступными качественными лекарственными средствами и медицинскими изделиями¹. Исходя из этих задач, выявление новых соединений с цитотоксической и противомикробной активностями будут иметь важное значение в дальнейшем при создании эффективных противоопухолевых и противомикробных препаратов.

Данное диссертационное исследование служит выполнению задач, предусмотренных в Постановлении Президента Республики Узбекистан № ПП-2595 «О программе мер по дальнейшему развитию фармацевтической промышленности на 2016-2020 годы» от 16 сентября 2016 года, а также в Указе Президента Республики Узбекистан № УП-4947 «О стратегии действий

¹ Указ Президента Республики Узбекистан УП-4947 от 7 февраля 2017 года «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан».

по дальнейшему развитию Республики Узбекистан» от 7 февраля 2017 года, а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологии Республики VI «Медицина и фармакология».

Степень изученности проблемы. Исследования по изучению цитотоксической активности природных изохинолинов и их синтетических производных проводятся французскими, японскими учеными и исследователями других стран. Так, египетскими онкологами обнаружены тетрагидроизохинолины с противоопухолевыми свойствами в отношении глиобластомы – наиболее агрессивной формы опухоли мозга (Patil). Исследователями из Франции выявлено влияние изохинолиновых соединений на репарацию ДНК раковых клеток (D.J. Mabire, J.E. Guillemont). Авторы приводят большой спектр изохинолинов и дигидроизохинолинов, ингибирующих полиаденозиндифосфоррибозу-полимеразу. Подавление активности данного фермента ведёт к летальному исходу ряда раковых клеток, дефектных по репарации двухнитевых разрывов ДНК. Японские ученые, изучая опухолевую специфичность 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов на линиях клеток карциномы полости рта, обнаружили взаимосвязь между структурами изохинолинов и высочайшей цитотоксичностью соединений и их опухолевой специфичностью (Natano H.). Исследователями Китайского фармацевтического университета города Нанкин получены тетрагидроизохинолины, преодолевающие лекарственную резистентность опухолевых клеток (Fang W).

В СНГ Карцевым В.Г. с сотрудниками выявлены макролидные изохинолиновые алкалоиды, обладающие выраженными цитостатическими свойствами в отношении карциномы шейки матки, Лапа Г.Б. и др. описали высокую цитотоксическую активность производных 3-бензоиламино-6,7-диметокси-1-метилизохинолина в отношении клеток карциномы яичников CaOV. В настоящее время на основе изохинолинового производного 6,9-бис(2-аминоэтиламино)бензоизохинолин-5,10-диона создан экспериментальный противоопухолевый препарат Пиксантрон, выпускаемый под торговой маркой Pixuvri (Cell Therapeutics, США), проявляющий небольшое токсическое воздействие на ткани сердца. Механизмом цитотоксического действия Пиксантрона является ингибирование топоизомеразы II и интеркаляция ДНК (www.drugbank.ca).

Связь темы диссертации с планами научно-исследовательских работ научно-исследовательского учреждения, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в рамках научно-исследовательских работ фундаментальных проектов Института химии растительных веществ на темы ФА-Ф6-Т198 «Изучение влияния биологически активных веществ на метаболизм клеток» (2012-2016 гг.) и ВА-ФА-Ф-6-009 «Изучение цитотоксической, антибактериальной,

противогрибковой и антиоксидантной активностей природных соединений и их синтетических производных».

Целью исследования является поиск среди синтетических алкалоидов и производных 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинового ряда соединений, подавляющих рост раковых клеток и низкотоксичных для здоровых клеток, а также проявляющих противомикробную активность.

Задачи исследования:

определение цитотоксической активности моно-, бимолекулярных 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов и конъюгатов на основе изохинолинов и дигидрокверцетина *in vitro*;

установление острой токсичности тетрагидроизохинолина 1,11-бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) ундекана *in vivo*;

выявление антибактериальной и противогрибковой активности 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов *in vitro*;

исследование влияния 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов на кинетику восстановления объема клеток при гипоосмотическом стрессе;

определение типа клеточной гибели под влиянием 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов.

Объектами исследования являются перевиваемые культуры эпителиальной карциномы шейки матки (HeLa), аденокарциномы молочной железы (HBL-100), аденокарциномы гортани (HEp-2), меланомы кожи (КМЛ), Т-лимфобластной лейкемии (CCRF-CEM); первичные культуры клеток фибробластов, гепатоцитов, суспензия тимоцитов; штаммы грам-положительных (*Bacillus subtilis* и *Staphylococcus aureus*) и грам-негативных (*Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli*) бактерий и грибка *Candida albicans*; моно- и бимолекулярные 1,2,3,4-тетрагидроизохинолины, конъюгаты на основе изохинолинов и дигидрокверцетина.

Предметом исследования является цитотоксическая, антибактериальная, противогрибковая и метаболическая активности 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов, острая токсичность.

Методы исследования. При выполнении работы использовали методы биоорганической химии (количественное определение белков, спектрофотометрический метод), методы клеточной биологии и инженерии (получение первичных культур клеток), методы биохимии (МТТ-тест, окраска трипановым синим, аннексином V, пропидием йодида, ЛДГ-тест, определение количества МДА), биофизические методы (РУО).

Научная новизна исследования:

впервые обнаружены цитотоксическая, антибактериальная, противогрибковая активности моно- и бимолекулярных 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов *in vitro*;

выявлены функционально-значимые группировки для проявления цитотоксической активности соединений;

обнаружено влияние соединений на кинетику регуляторного уменьшения объема клеток;

доказано, что 1,2,3,4-тетрагидроизохинолины вызывают гибель клеток посредством запуска апоптоза, при этом цитотоксичность не сопровождается окислительным стрессом и нарушением целостности клеточных мембран.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:
выявлены соединения с ингибиторными свойствами к раковым клеткам и сравнительно небольшой токсичностью к здоровым клеткам;
определены средне-токсические дозы соединений;
установлены соединения с выраженным противомикробным эффектом в отношении как грам-положительных, так и грам-отрицательных бактерий и грибов.

Достоверность результатов исследования обосновывается использованием современных биохимических и молекулярно-биологических методов. Научные результаты анализировали современными аналитическими и статистическими методами. Подтверждением полученных результатов служат экспертные оценки специалистов, обсуждение результатов исследований на республиканских и международных научных конференциях, публикации результатов исследований в рецензируемых научных изданиях и получение патентов.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов данного исследования заключается в том, что установленная взаимосвязь между структурой 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов и их цитотоксическими свойствами, выявленная в процессе исследования, позволит в дальнейшем прогнозировать биологическую активность и выявлять механизм канцеролитического действия.

Практическая значимость результатов данного исследования заключается в том, что выявленная цитотоксическая активность тетрагидроизохинолинов с невысокой токсичностью по отношению к здоровым клеткам позволит использовать данные соединения в качестве активных компонентов противоопухолевых средств.

Внедрение результатов исследования. На основании полученных данных по цитотоксичности 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов

на 1,11-бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) ундекан, обладающий избирательной цитотоксической активностью, получен патент на изобретение Агентства интеллектуальной собственности РУз (№ IAP 05683, 2018 г.). В результате создается возможность использования данного соединения в медицине качестве противоопухолевого средства;

на 1-(3',4'-метилendioксифенил)-2-метил-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин, обладающий избирательной цитотоксической активностью, получен патент на изобретение Агентства интеллектуальной собственности РУз (№ IAP 05664, 2018). В результате создается возможность его использования в медицине качестве противоопухолевого средства.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований по теме диссертации изложены в виде докладов и прошли апробацию на 6

международных и республиканских научно-исследовательских конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано всего 16 научных работ, из них 8 научных статей, в том числе 5 в республиканских и 3 в международных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, трёх глав, заключения, списка использованной литературы. Объём диссертации составляет 108 страниц компьютерного текста.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновываются актуальность и востребованность, цель и задачи темы диссертации, характеризуются объект и предмет проведенного исследования, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, излагаются научная новизна и практические результаты исследования, раскрываются научная и практическая значимость полученных результатов, внедрение в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации «**Изучение цитотоксической активности соединений тетрагидроизохинолинового ряда**» подробно изложен обзор зарубежной и отечественной литературы, который включает поиск канцеролитиков среди продуктов растительного, животного и микробного происхождения, механизмы их поражающего действия, а также экспериментальные модели для изучения цитотоксической активности веществ.

Во второй главе диссертации «**Материалы, условия и методы биоорганической химии и клеточной биологии**» приведена экспериментальная часть, в которой даны характеристики использованных реактивов и методики по определению различных видов биологической активности.

Третья глава диссертации посвящена «**Изучению цитотоксической активности соединений тетрагидроизохинолинового ряда**». В главе представлены результаты собственных исследований по цитотоксической, антибактериальной, противогрибковой и антиоксидантной активностям моно- и бимолекулярных 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов; выявлении их структурно - функциональной взаимосвязи.

В работе были использованы перевиваемые культуры эпителиальной карциномы шейки матки (HeLa), аденокарциномы молочной железы (HBL-100), аденокарциномы гортани (HEp-2) из банка клеточных культур Института цитологии РАН; меланомы кожи (КМЛ) из Института биоорганической химии АН РУз; Т-лимфобластная лейкемия (CCRF-CEM) из

Гайдельбергского Университета (Германия), а также первичные культуры здоровых клеток кожи – фибробласты, и печени – гепатоциты.

Для изучения цитотоксической активности использованы МТТ-тест и окрашивание трипановым синим. В качестве эталона сравнения использовали противоопухолевый препарат цисплатин (Fresenius Kabi, Индия).

Изучение цитотоксической активности синтетических производных алкалоидов криптостилинов и сальсолидина.

Монопроизводные тетрагидроизохинолина (ТГИХ) синтезированы сотрудниками лаборатории алкалоидов ИХРВ АН РУз – Журакуловым Ш.Н. под руководством к.х.н. Виноградовой В.И. (см.рис.1).

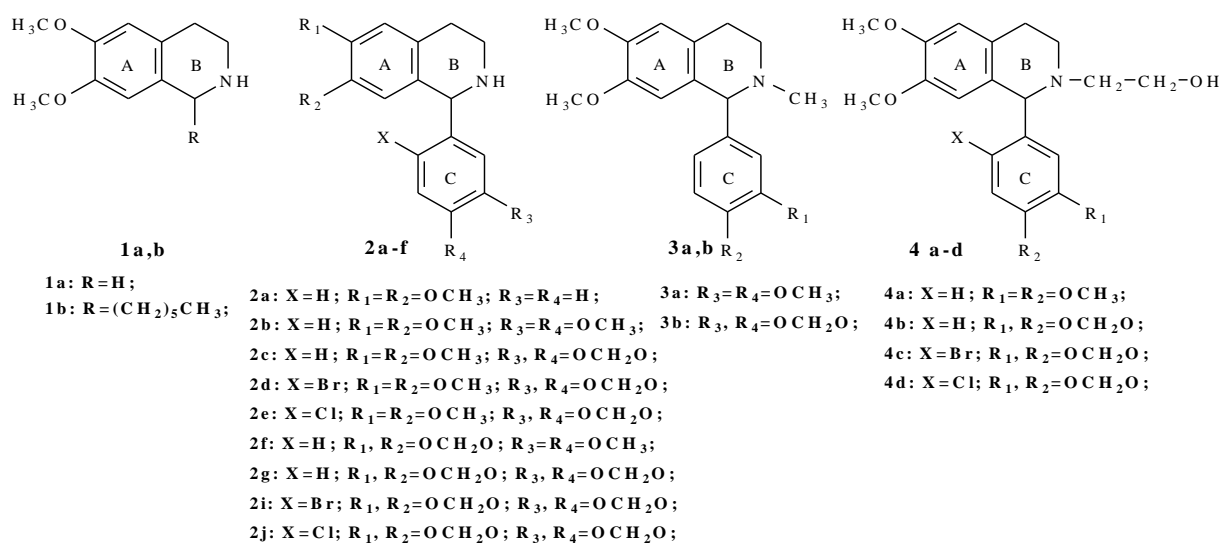


Рис.1. Химическая структура тетрагидроизохинолинов (ТГИХ).

При изучении связи между структурой исследованных веществ и их способностью подавлять рост раковых клеток нами было выявлено, что при отсутствии в молекуле изохинолина заместителей в положении С-1 (**1a**) наблюдается небольшая ингибирующую активность соединения (см.рис.1). Введение в структуру изохинолина (CH₂)₅CH₃- группы у С-1 (**1b**) приводит к резкому возрастанию цитотоксичности ко всем изучаемым культурам раковых клеток. Замена (CH₂)₅CH₃- группы на бензольное кольцо (**2a**) приводит к подавляющему эффекту, сходному с активностью исходной молекулы (**1a**).

Введение метилendioкси- группы в бензольное кольцо С в сочетании с галогенами усиливает цитотоксические свойства ТГИХ (**2e**, **2d**). Важное значение имеет и природа галогена. Так, наиболее чувствительной к действию соединений **2d**, **2e**, а также к ТГИХ **1b** оказалась линия Т-лимфоцитарной лейкемии: в 1 мкг/мл подавление роста клеток ССRF-СЕМ данными ТГИХ составило 70,5±2,3%, 57,1±2,3% и 68,1±2,0% соответственно, что оказалось практически на уровне препарата сравнения – здесь наблюдалась гибель 63,0±2,4% клеток (см.рис.2). В тех же условиях ТГИХ **1b**

и **2e** проявили в 2-3 раза меньший подавляющий эффект на фибробластах по сравнению с цисплатином, а производное **2d** оказалось абсолютно нетоксичным к здоровым клеткам кожи.

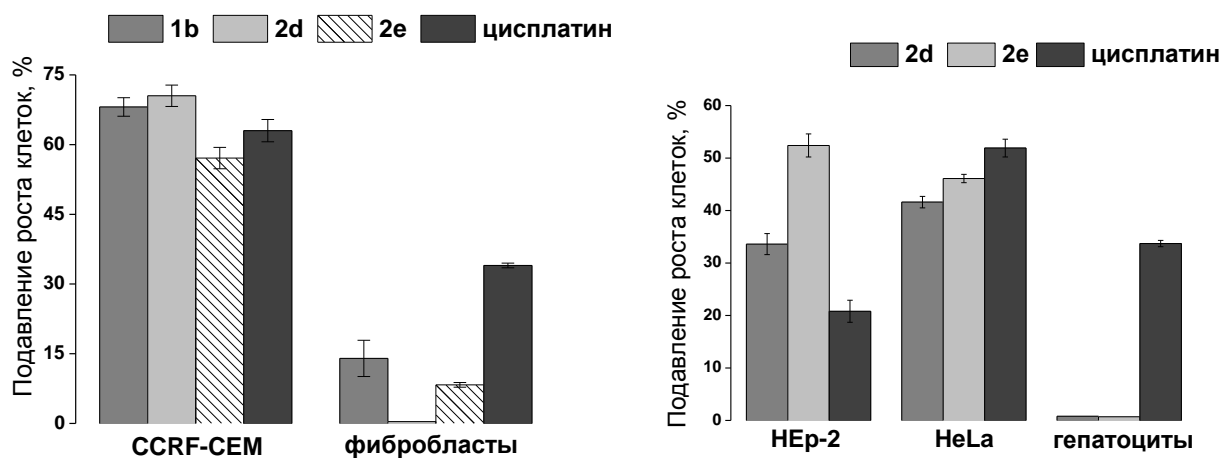


Рис.2. Сравнительная оценка цитотоксической активности монопроизводных 1,2,3,4-тетрагидроизохинолина при 1 мкг/мл, $M \pm m$, $n = 9$, $P < 0,05$

Выраженную цитотоксическую активность производных **2d** и **2e** наблюдали и на клетках эпителиальной карциномы шейки матки HeLa ($41,6 \pm 1,1$ и $46,1 \pm 0,8\%$ подавления клеточного роста) и аденокарциномы гортани Hep-2 ($33,6 \pm 2,0\%$ и $52,4 \pm 2,2\%$ подавления клеточного роста, соответственно). При этом на гепатоцитах ингибирующий эффект соединений отсутствовал (рис.2), в то время как под действием референс-контроля цисплатина наблюдалась гибель $33,7 \pm 0,6\%$ здоровых клеток печени.

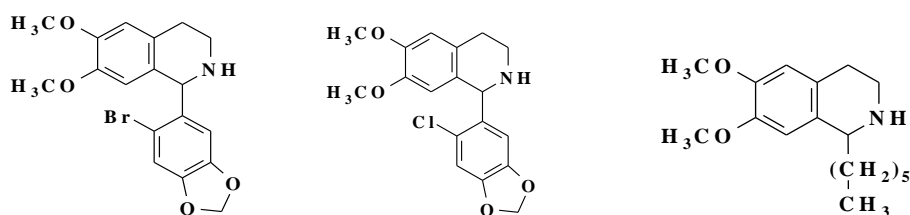
Дальнейшая модификация структуры, в частности, замещение двух метоксильных радикалов на метилendioкси- группу в кольце А (**2g-2j**) приводит к полной утрате цитотоксических свойств ТГИХ независимо от присутствия метилendioксильного заместителя и галогенов в бензольном кольце С. Ингибирующий эффект не проявляется и при переносе пиперанила в кольцо А, а диметокси- группы – в кольцо С (**2f**) (рис.1).

Интересный результат получился при N-алкилировании молекулы. В присутствии CH_3 -радикала диметокси-группы лишают ТГИХ цитотоксической активности (**3a**), в то время как пиперанильный заместитель при сохранении двух метоксильных групп в кольце А (**3b**) приводит к появлению избирательности вещества по отношению к клеткам карциномы гортани.

В присутствии у атома $\text{NCH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$ - заместителя (**4a-4d**) ингибирующих свойств не наблюдалось вне зависимости от присутствия галогенов и других функциональных радикалов.

Таким образом, необходимыми условиями для проявления цитотоксической активности являются: наличие 2 метоксильных заместителей в кольце А, свободный атом N, присутствие бензольного кольца

с метилendioкси- группами и галогенами либо гидрофобной группы в положении С-1.



Изучение цитотоксической активности синтетических комплексов с дигидрокверцетином

Конъюгаты на основе 1-арилтетрагидроизохинолинов и их аминов, а также алкалоидов сальсолидина и псевдоэфедрина и дигидрокверцетина (ДГК) получены в лаборатории алкалоидов ИХРВ АН РУз Журакуловым Ш.Н. и Виноградовой В.И.

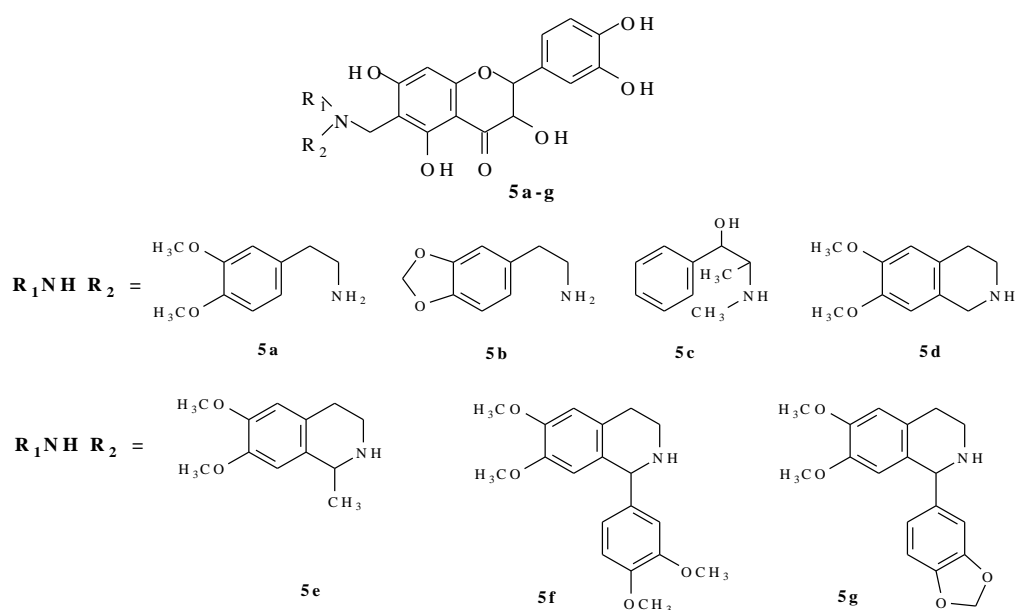


Рис.3. Химическая структура конъюгатов на основе изохинолинов и ДГК.

При изучении действия синтетических комплексов с ДГК на раковых клетках было показано, что ни одно из представленных соединений не обладало цитотоксической активностью, наоборот, некоторые из них проявили выраженную пролиферацию раковых клеток (см.рис.4).

Так, наибольшую пролиферативную активность показал образец **5b**, полученный конъюгированием гомопиперанила с ДГК, на клетках НEr-2: 184,1 и 148,7% при 10 и 1 мкг/мл соответственно.

В то же время было установлено, что смесь отдельных компонентов не вызывает ни пролиферации, ни подавления роста раковых клеток в отличие от их синтетических комплексов.

Таким образом, химическая сшивка алкалоидов и аминов с дигидрокверцетином влечет за собой полное исчезновение цитотоксических свойств веществ (**2b** и **2c**), а в ряде случаев приводит к высокой пролиферативной активности раковых клеток.

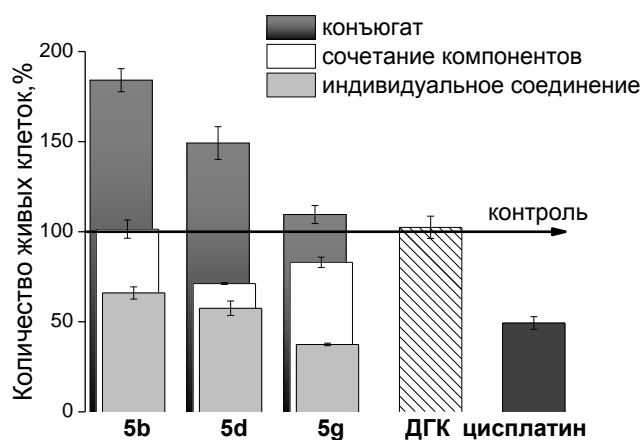


Рис.4. Активность конъюгатов и сочетанного действия компонентов, входящих в состав конъюгатов, на раковые клетки (живые клетки HEp-2, %, $M \pm m$, $n = 9$).

Изучение цитотоксической активности 1,4-бис(6,7-диметокси- и 1,4-бис(6,7-метилендиокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил)алканов.

Результаты по цитотоксической активности бимолекулярных тетрагидроизохинолинов (Саидов А.Ш., Виноградова В.И.) представлены на рисунках 6 и 7.

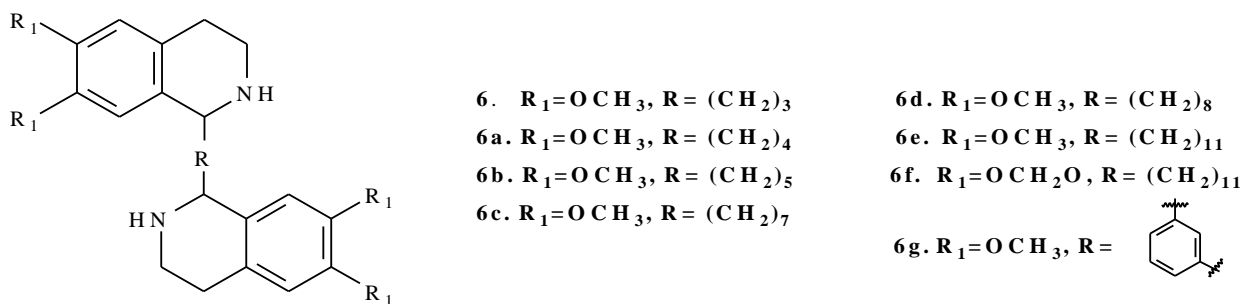


Рис.5. Химическая структура 1,4-бис(6,7-диметокси- и 1,4-бис(6,7-метилендиокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил)алканов.

Бис-соединения проявляли больший цитотоксический эффект, нежели монопроизводные тетрагидроизохинолина (см.рис.6). Наибольшую цитотоксическую активность проявили образцы **6e** и **6f**: в концентрации 10 мкг/мл вещества вызвали гибель 95-100% всех культур раковых клеток. Примечательно, что при снижении концентрации в 10 раз данные производные сохраняли высокую ингибирующую активность на клетках Т-лимфоцитарной лейкемии ССRF-СЕМ в $83,0 \pm 1,6$ и $93,1 \pm 2,4\%$, при том что

их токсичность на нормальных клетках оказалась в разы ниже контрольного значения и в среднем в 2 раза ниже цисплатина (см.рис.6).

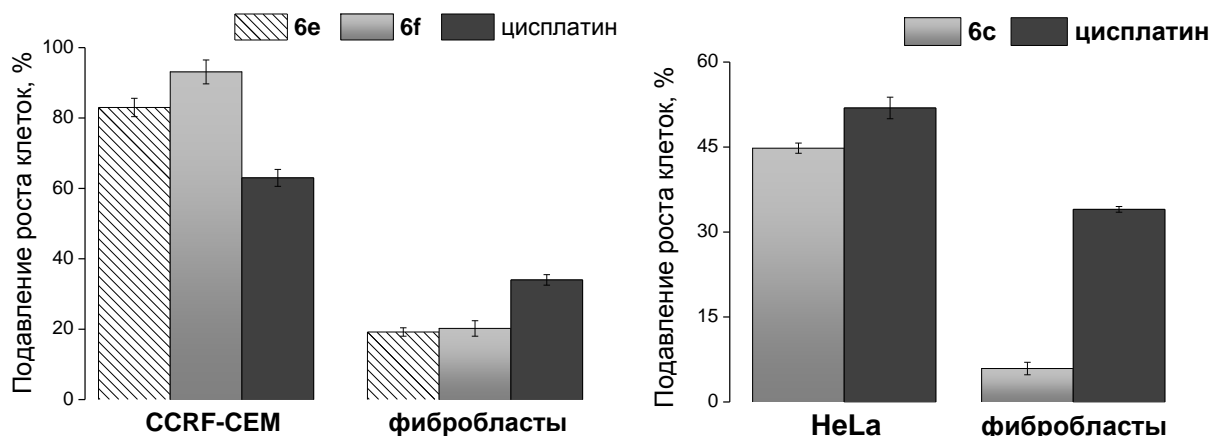


Рис.6. Цитотоксическая активность бимолекулярных 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов при 1 мкг/мл, $M \pm m$, $n=9$, $P<0,05$

Избирательный ингибирующий эффект был проявлен изохинолином **6c** в отношении клеток карциномы шейки матки ($44,8 \pm 0,9\%$ гибели клеток HeLa). В той же концентрации действие исследуемого производного на здоровых клетках кожи было в 6 раз слабее референс-контроля (рис.6).

Интересно отметить, что единственными тетрагидроизохинолинами, способными подавлять рост более 50% клеток карциномы молочной железы HBL-100 при 1 мкг/мл, при меньшей токсичности к фибробластам, чем препарат сравнения, оказались образцы **6d** и **6g** (рис.7).

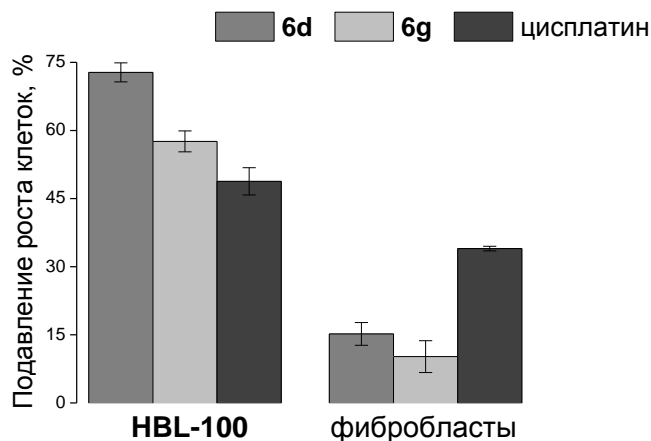
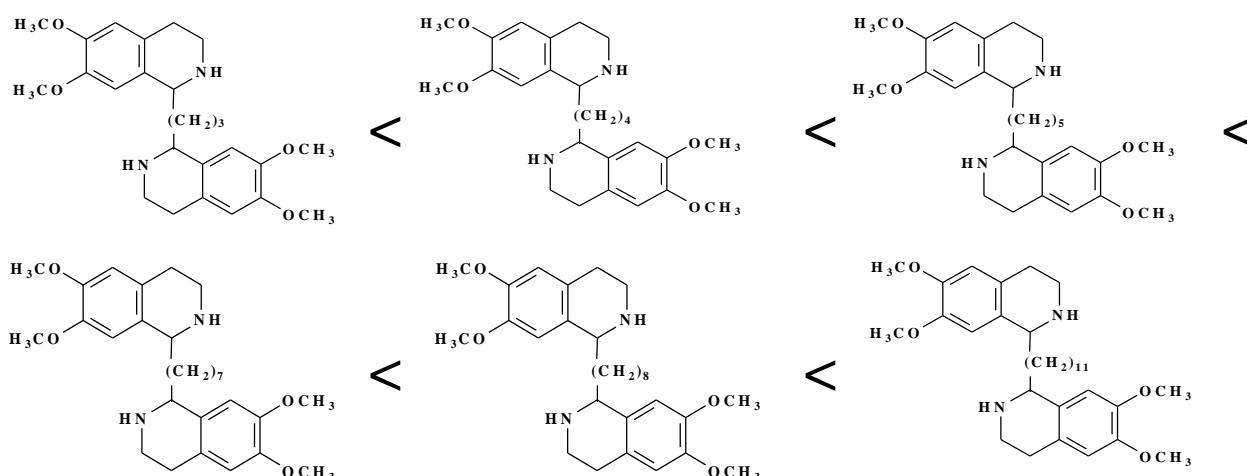


Рис.7. Ингибирующий эффект бимолекулярных 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов при 1 мкг/мл, $M \pm m$, $n=9$, $P<0,05$

Таким образом, введение в структуру тетрагидроизохинолина второй молекулы приводит к резкому усилению цитостатического эффекта вещества и снижению его избирательности к культурам раковых клеток. Важное значение для проявления цитотоксической активности имеет длина метиленовой цепи между молекулами. Последовательное добавление

фрагмента $-CH_2-$ как усиливает процент подавления, так и уменьшает специфичность веществ к клеточным линиям:



Вероятно, длинная цепь способствует взаимодействию изохинолиновыми молекулами специфических рецепторов, что ведет к подавлению роста клеток. Существенной разницы в проявлении цитотоксической активности не дает и замена диметокси- группы на метоксильный радикал (**6f**). Введение бензольного кольца вместо $(-CH_2-)_{11}$ способствует проявлению селективности действия соединения (**6g**) и отсутствию восприимчивости к линиям клеток КМЛ и HeLa (см.рис.5).

Для соединений, проявивших выраженный цитотоксический эффект, нами была изучена доза IC_{50} – концентрация, при которой гибнет 50% клеток.

Таблица 1.

Концентрация IC_{50} для 1,2,3,4- тетрагидроизохинолинов, мкМ

соединение	HeLa	HEp-2	HBL-100	CCRF-CEM	гепатоциты
1b	288.8±4,1	54.2±2,9	43.3±1,5	1.8±0,0	252.7±12,9
2d	51.0±2,1	210.6±15,6	255.0±15,9	0.2±0,0	76.5±3,3
2e	2.3±0,5	5.2±0,2	230.5±11,6	2.3±0,4	240.1±9,8
6c	6.2±0,3	103.7±4,9	10.4±1,1	41.5±2,6	207.4±10,0
6d	14.1±1,0	83.0±6,0	1.0±0,2	18.1±0,7	16.1±2,0
6e	3.1±0,0	3.5±0,4	4.0±1,0	0.2±0,0	10.9±0,0
6f	5.2±0,5	5.5±0,7	6.2±0,3	0.16±0,0	12.6±0,4
6g	173.9±7,9	10.9±0,8	2.1±0,0	11.2±1,2	43.5±1,6

Полученные результаты (см.табл.1) демонстрируют высокую избирательную цитотоксическую активность ТГИХ **1b**, **2e**, **2d**, **6c** и **6g** в отношении раковых клеток и меньшую токсичность к здоровым клеткам. Культура клеток Т-лимфобластной лейкемии CCRF-CEM оказалась более

восприимчивой к подавляющему действию тетрагидроизохинолинов, что, по-видимому, объясняется их химической структурой.

Таким образом, данные соединения являются перспективными для дальнейших исследований *in vivo* в качестве противоопухолевых средств.

Определение острой токсичности *in vivo*.

Поскольку 1,11-бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил)ундекан (**6e**) проявил самую высокую цитотоксическую активность по отношению ко всем исследуемым линиям клеток, включая фибробласты и гепатоциты, нами была изучена его острая токсичность *in vivo*.

Эксперименты проводили на белых беспородных мышах обоего пола массой 18-20 г. Животных делили на группы по 6 мышей в каждой. Соединение вводили внутрибрюшинно в диапазоне доз от 5,0 до 200,0 мг/кг. Наблюдения за животными вели в течение недели.

Так, при внутрибрюшинном введении доза LD₅₀ составила 80,5±12,5 мг/кг, что относит ТГИХ **6e** к III классу токсичности (умеренно токсичные). Таким образом, образец **6e** также может быть рекомендован для дальнейшего углубленного изучения.

Влияние 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов на процессы ПОЛ.

Цитотоксичность веществ часто сопряжена с интенсивным образованием свободно-радикальных соединений, приводящих к нарушению метаболических процессов в клетках и их последующей гибели. Учитывая, что ТГИХ проявляли наименьшую цитотоксическую активность по отношению к клеткам гепатоцитам, мы исследовали их влияние на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ). Об интенсификации ПОЛ судили по нарастанию малонового диальдегида в гомогенате печени крысы *in vitro*. Препаратом сравнения служил флавоноид дигидрокверцетин (ДГК). Данные представлены на рис. 8.

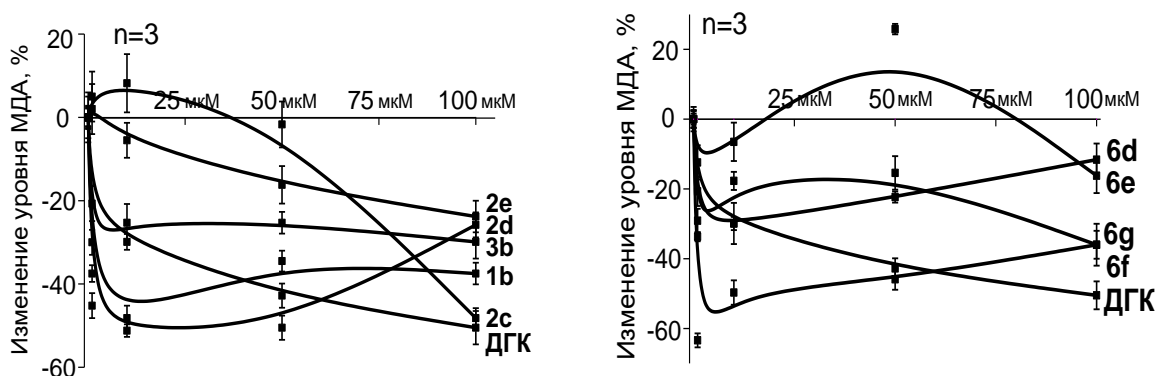


Рис.8 Влияние цитотоксически-активных тетрагидроизохинолинов на изменение количества малонового диальдегида (МДА) $M \pm m$, $n=3$, $P<0,05$.

Полученные результаты показали, что 1,2,3,4-тетрагидроизохинолины, снижая содержание ТБК-активного продукта, проявляют определенные антиоксидантные свойства. Установлено, что 1,2,3,4-тетрагидроизохинолины способствуют защите гепатоцитов от гибели посредством проявления антиоксидантной активности.

Изучение антибактериальной и противогрибковой активностей.

Противомикробная активность 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов, проявивших высокий цитотоксический эффект, была изучена на грам-положительных (*B.subtilis* и *St.aureus*) и грам-отрицательных (*Ps.aeruginosa* и *E.coli*) бактерий и грибка *Candida albicans*. Исследования проводили согласно протоколам Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI, Германия) агар-диффузионным методом.

Таблица 2.

Противомикробная активность тетрагидроизохинолиновых производных (диаметр зоны ингибирования, мм), $M \pm m$, $n = 3$, $P < 0,05$

	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
1b	8,1±0,1	7,1±0,1	0,0±0,0	12,3±0,4	7,1±0,1
2c	0,0±0,0	7,0±0,3	6,1±0,2	0,0±0,0	0,0±0,0
2d	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
2e	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
3b	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
6c	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
6d	6,0±0,1	0,0±0,0	0,1±0,0	0,0±0,0	7,1±0,0
6e	24,1±0,5	18,3±0,1	25,0±0,3	14,2±0,3	20,0±0,2
6f	19,3±0,2	13,8±0,1	13,3±0,4	13,1±0,2	12,9±0,1
6g	0,0±0,0	0,0±0,0	0,1±0,0	0,0±0,0	7,2±0,2
Ампицилин	25,9±0,5	27,1±0,0	0,0±0,0	25,1±0,6	nt
Гетрациклин	34,1±1,0	23,2±0,4	26,1±0,5	20,2±0,1	nt
Цефтриаксон	nt	nt	27,0±0,0	27,0±0,0	nt
Флюконазол	nt	nt	nt	nt	30,0±0,3

Среди цитотоксически-активных ТГИХ выраженную антибактериальную и противогрибковую активность проявили образцы **6e** и **6f**. Так, 1,11-бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) ундекан показал высокие противогрибковые свойства в отношении *C.albicans* – зона ингибирования составила 20 мм, в то время как у флюконазола – 30 мм. Диаметры зон задержки роста *P.aeruginosa* и *B.subtilis*, обработанных **6e**, хотя и были более 19 мм, но оказались меньше зон от тетрациклина и цефтриаксона. Для ТГИХ **6e** была получена МИС – минимальная

ингибирующая концентрация. Так, для *B. Subtilis* и грибка *C. albicans* она составила $\leq 2,5$ мкг (4,9 мкМ), для *S. Aureus* ≤ 3 мкг (5,9 мкМ), для *E. Coli* ≤ 5 мкг (9,9 мкМ), *P. aeruginosa*: МІС ≤ 10 мкг (19,7 мкМ).

Поскольку МІС соединения **6e** оказалась сопоставимой с минимальной ингибирующей концентрацией клинических противомикробных препаратов, полученные результаты позволяют рекомендовать 1,11-бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил)ундекан для дальнейшего изучения в качестве возможного комбинированного противомикробного средства.

Определение типа клеточной гибели под влиянием 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов

Способность ТГИХ вызывать некроз раковых клеток была оценена с помощью метода определения активности ЛДГ, регистрирующего повреждение клеточных мембран. Выход цитозольного фермента лактатдегидрогеназы из клеток в культуральную среду происходит вследствие нарушения их целостности. Появление в среде культивирования ЛДГ наблюдали на культуре НEr-2, которую предварительно инкубировали с ТГИХ в течение 24 часов.

Цитотоксически-активные тетрагидроизохинолины не способствовали выходу ЛДГ, следовательно, целостность плазматических мембран не нарушалась. Таким образом, установлено, что 1,2,3,4-тетрагидроизохинолины не повреждают плазматические мембраны и не вызывают гибель клеток посредством некроза.

Способность ТГИХ вызывать запуск апоптоза в раковых клетках оценивали по результатам двойного флуоресцентного окрашивания клеток Аннексином V Alexa Fluor 488 и пропидием йодида (PI).

Аннексин V специфично и с высокой афинностью связывается с фосфатидилсеринном, появляющимся на поверхности апоптотических клеток; PI проникает только в погибшие клетки и связывается с ДНК. Клетки, находящиеся на поздней стадии апоптоза или уже погибшие, будут позитивны по обоим маркерам (AnnV+PI+). Это происходит в связи с тем, что асимметрия мембран уже нарушена, начиная с ранних стадий апоптоза, а на поздних стадиях апоптоза клеточная и ядерная мембраны становятся проницаемыми для ДНК-связывающих красителей.

В наших условиях клеточную культуру НEr-2 инкубировали в течение 6 часов с ТГИХ **1b-6e**, проявившими высокий цитотоксический эффект, в концентрациях IC₅₀ для индукции раннего апоптоза, после чего окрашивали Alexa fluor 488 и PI. Состояние клеток оценивали через 15 мин с помощью флуоресцентного микроскопа в светлом поле и при флуоресценции в зеленом (488 нм) и красном (535 нм) свете (рис.9).

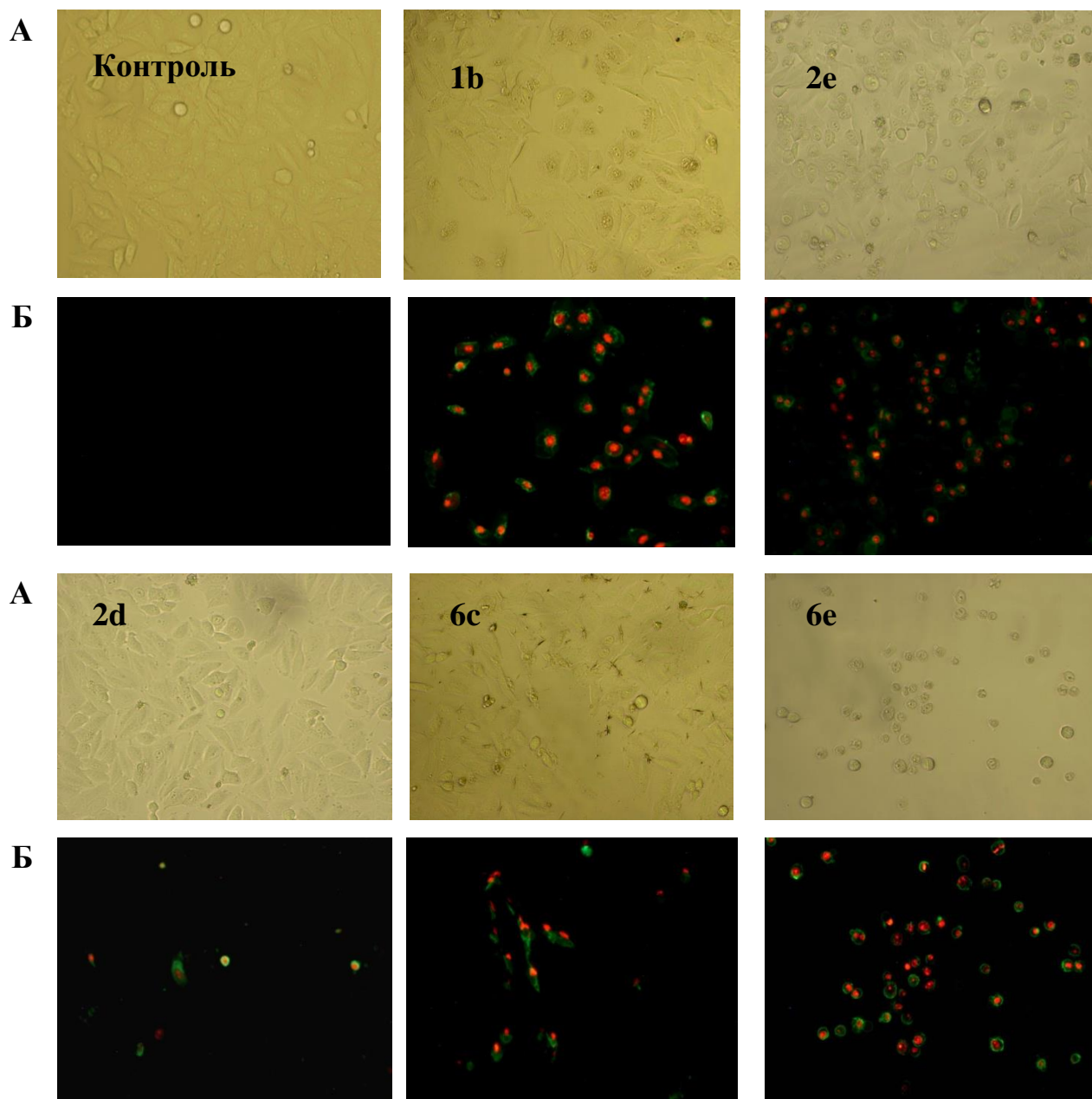


Рис. 9 Окрашенные AnnV Alexa fluor 488 и PI клетки HEp-2, инкубированные в течение 6 ч в среде RPMI-1640 (контроль) и в присутствии ТГИХ (концентрация IC_{50}); 20X. А – видимый свет; Б – наложение GFP и RFP.

Как видно из рис.9, ТГИХ вызывают гибель клеток посредством апоптоза, причем под влиянием как препарата сравнения, так и при действии образцов **2d** и **6c** в данный тип клеточной гибели по истечению 6 часов инкубации было вовлечено лишь 5-10% всех клеток. В этих же условиях под действием тетрагидроизохинолина **1b** апоптотическими оказалось 50%, а в присутствии соединений **2e** и **6e** – 100% раковых клеток.

Влияние 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов на кинетику клеточного объема при гипоосмотическом стрессе.

Работы последних лет показывают, что нарушение эффективной системы регуляции клеточного объема путем блокирования объем-зависимых (калиевых и/или хлорных) ионных каналов или подавления входа кальция внутрь клетки приводит к подавлению пролиферации и дифференцировки клеток, а также их смерти по апоптотическому механизму. В связи с этим изучение влияния ТГИХ на регуляцию клеточного объема при гипоосмотическом стрессе представлялось актуальным и перспективным.

В работе использовали метод регистрации объема тимоцитов по величине светопропускания.

Попадание клеток в гипоосмотическую среду способствовало активации объем-зависимых каналов, направленных на восстановление клеточного объема. При этом в растворе Рингера объем тимоцитов оставался на постоянном уровне (рис.10).

При 15-минутной инкубации клеток в гипоосмотической среде регуляторное уменьшение объема (РУО) варьировало от 57 до 68% и, в среднем, было равно $62,1 \pm 1,1$ ($n=10$).

При внесении в гипотонический раствор монопроизводных 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов в концентрациях от 1 до 100 мкМ выявлено, что ТГИХ **2c** и **6g** в исследуемом концентрационном диапазоне дозозависимо подавляли РУО в среднем на 10-25% по сравнению с контрольным значением (см.рис.10). Соединения **2d**, **2e**, **1b** и **6f** с повышением концентрации тормозили кинетику восстановления клеточного объема: средние значения РУО в концентрации 1 мкМ у данных веществ эти значения составляли $48,0 \pm 2,5\%$, $58,0 \pm 3,1\%$, $46,0 \pm 2,0\%$ и $118,5 \pm 4,5\%$, в то время как при 100 мкМ они равнялись $26,9 \pm 1,7\%$, $34,9 \pm 1,5\%$, $28,0 \pm 1,8\%$ и $49,9 \pm 2,6\%$ соответственно.

Что же касается соединений **3b**, **6d** и **6e**, то при 1 мкМ наблюдалось блокирование уменьшения клеточного объема более чем на 30-50% от контроля, однако с увеличением дозы ТГИХ их способность подавлять процесс восстановления практически исчезла – $56,7 \pm 3,5\%$ под действием **3b** $55,9 \pm 2,3\%$ и при влиянии **6e**. Подобная картина говорит о двухфазности концентрационной зависимости данных тетрагидроизохинолинов.

Таким образом, нами впервые продемонстрировано блокирующее действие ТГИХ на восстановление клеточного объема тимоцитов в условиях гипоосмотического стресса. Установлено, что образцы **1b**, **2d** и **2e** проявляют умеренную ингибирующую активность на регуляцию объема тимоцитов, а соединения **3b**, **6e** и **6d** проявляют двухфазовый эффект.

Автор выражает глубокую благодарность д.б.н. Хашимовой З.С., к.х.н. Сасмакову С.А. и акад. Сабирову Р.З. за содействие в работе.

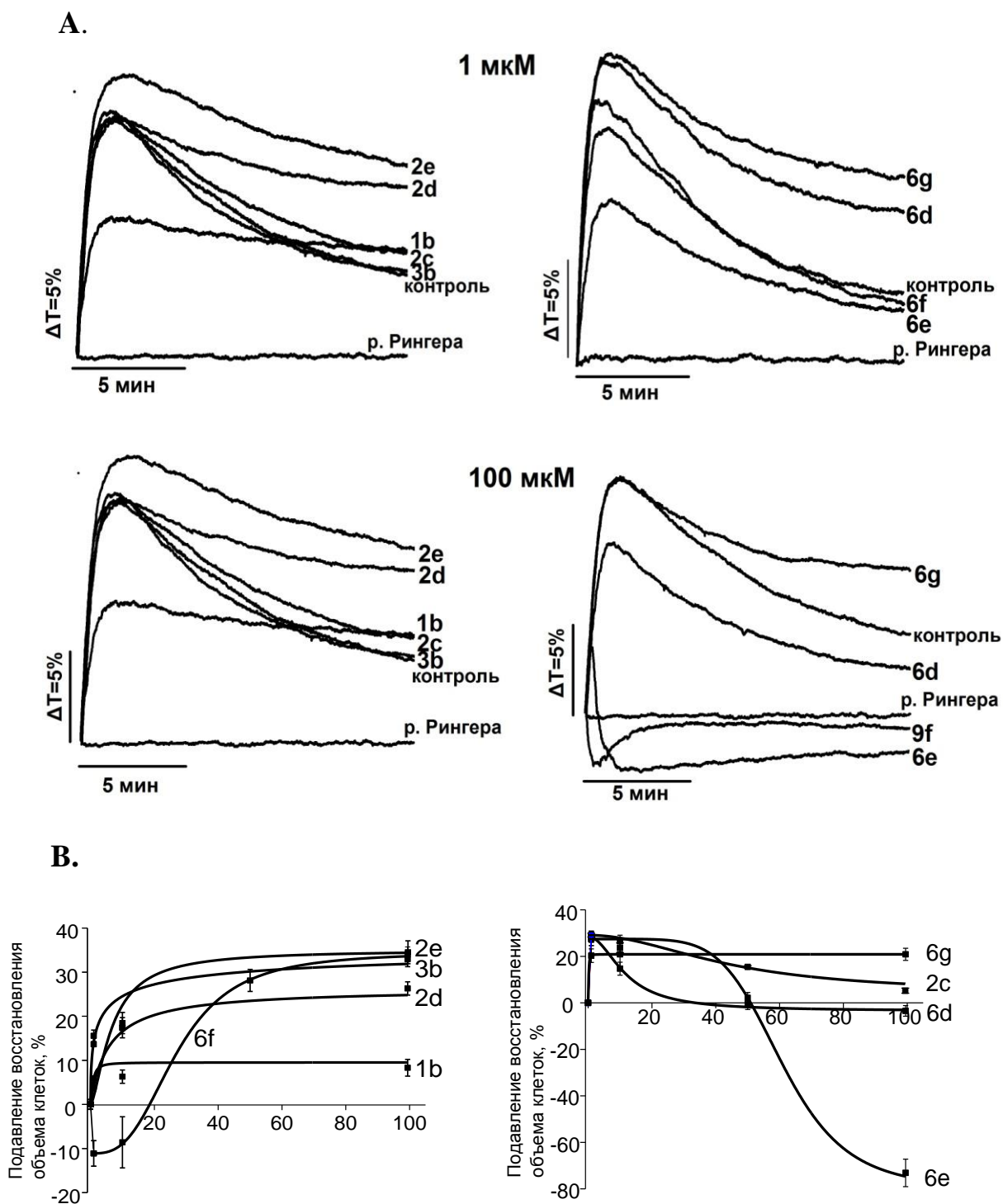


Рис.10 Влияние 1-замещенных тетрагидроизохинолинов на изменение клеточного объема тимоцитов: А - оригиналы записей регистрации изменения светопропускания клеточной суспензии; В – кинетика восстановления клеточного объема после набухания в гипотонической среде, % от контроля ($M \pm m$, $n = 5$, $P < 0,05$).

ВЫВОДЫ

1. Впервые исследована цитотоксическая активность 36 производных тетрагидроизохинолинов на 5 линиях раковых клеток *in vitro*; показано, что а) 1-гексил-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин и 1-(6'-бром-3',4'-метилendioксифенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин подавляют рост раковых клеток Т-лимфобластной лейкемии CCRF-CEM, а 1-(6'-хлор-3',4'-метилendioксифенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин ингибирует рост клеток карциномы шейки матки HeLa, аденокарциномы гортани HEp-2 и Т-лимфобластной лейкемии CCRF-CEM; при этом соединения низкотоксичны для нормальных клеток гепатоцитов и фибробластов;

б) 1,3-бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил)бензол избирательно подавляет рост клеток аденокарциномы молочной железы HBL-100, 1,7-бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) гептан подавляет рост клеток карциномы шейки матки HeLa при низкой токсичности к клеткам гепатоцитов и фибробластов;

в) химическая сшивка тетрагидроизохинолинов с дигидрокверцетином приводит к полному исчезновению цитотоксических свойств и появлению пролиферации раковых клеток;

2. 1,11-бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) ундекан обладает наибольшей цитотоксической активностью в отношении карциномы шейки матки HeLa, Т-лимфобластной лейкемии CCRF-CEM, аденокарциномы гортани HEp-2, аденокарциномы молочной железы HBL-100, LD₅₀ которого составляет 80,5±12,5 мг/кг;

3. Исследована противомикробная активность цитотоксически-активных производных тетрагидроизохинолинов *in vitro*. Показано, что 1,11-бис-(6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил)ундекан проявляет высокую противомикробную активность в отношении гриба *Candida albicans* и бактерий *Bacillus subtilis* и *Pseudomonas aeruginosa*.

4. Обнаружено влияние цитотоксически-активных производных тетрагидроизохинолинов на кинетику клеточного объема при гипоосмотическом стрессе. Выявлено, что эти соединения ингибируют процессы восстановления клеточного объема.

5. Установлено, что цитотоксически-активные производные тетрагидроизохинолинов вызывают апоптоз раковых клеток; при этом их действие не сопровождается окислительным стрессом и нарушением целостности клеточных мембран.

**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARDING SCIENTIFIC DEGREES
DSc.27.06.2017.K/B/T.13.01 AT THE INSTITUTE OF THE BIOORGANIC
CHEMISTRY, THE NATIONAL UNIVERSITY OF UZBEKISTAN AND
THE INSTITUTE OF THE CHEMISTRY OF PLANT SUBSTANCES**

INSTITUTE OF THE CHEMISTRY OF PLANT SUBSTANCES

TERENTEVA EKATERINA OLEGOVNA

**STUDY OF CYTOTOXIC ACTIVITY OF TETRAHYDROISOQUINOLINE
COMPOUNDS**

02.00.10 – Bioorganic chemistry

**DISSERTATION ABSTRACT
FOR THE DOCTOR OF PHILOSOPHY ON BIOLOGICAL SCIENCES
(PhD)**

Tashkent – 2018

The title of the dissertation of doctor of philosophy (PhD) has been registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan with registration numbers of B2017.4. PhD /B130

The dissertation has been carried out at the Institute of the Chemistry of Plant Substances.

The abstract of the dissertation is posted in three (Uzbek, Russian, English (resume)) languages on the website of the Scientific Council (www.biochem.uz) and on the website of «ZiyoNet» information and educational portal (www.ziynet.uz).

Scientific supervisor: **Azimova Shakhnoz Sadikovna**
doctor of sciences in biology, professor

Official opponents: **Dalimova Surayyo Nugmanovna**
doctor of sciences in biology, professor

Saitmuratova Ugiljan Khudaybergenovna
doctor of sciences in biology, docent

Leading organization: **Tashkent Pharmaceutical Institute**

Defense will take place on «__» _____ 2018 year ___ at the meeting of the Scientific Council DSc.27.06.2017.K/B/T.37.01. of the Institute of the Bioorganic Chemistry, the National University of Uzbekistan and the Institute of the Chemistry of Plant Substances at the following address: 100125, Tashkent, 83, M. Ulugbek street. Phone: 262-35-40, Fax: (99871) 262-70-63

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of the Institute of the Bioorganic Chemistry (registration number № _____). Address: 100125, Tashkent, 83, M. Ulugbek street. Phone: 262-35-40, Fax: (99871) 262-70-63, e-mail: asrarov54@mail.ru.

Abstract of the dissertation is distributed on «__» _____ 2018 y.
(protocol at the register No _____ dated «__» _____ 2018 y).

Sh.I. Salikhov
Chairman of scientific council on award of
scientific degrees, D.B.Sc., academician

M.I. Asrarov
Scientific secretary of scientific council on award of
scientific degrees, D.B.Sc., professor

Sh.U. Turdikulova
Chairman of scientific seminar under scientific council
on award of scientific degrees, D.B.Sc., docent

INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

The aim of research work is the search among 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline alkaloids and derivatives compounds having cytotoxic activity against cancer cells with low toxicity to cultures of healthy cells, as well as compounds exhibiting antimicrobial activity.

The objects of the research work are HeLa cell line (cervical cancer), HEP-2 cell line (larynx cancer), HBL-100 cell line (breast cancer), KML cell line (skin cancer), CCRF-CEM cell line (T-lymphoblast leukemia); primary cell lines of fibroblasts, hepatocytes, thymocytes' suspension; gram-positive (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) and gram-negative (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) bacteria and fungus *Candida albicans*; mono- and bimolecular 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines, conjugates of isoquinolines and dihydroquercetin.

Scientific novelty of the research work:

The cytotoxic, antibacterial, antifungal activities of mono- and bimolecular 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines in vitro were first studied;

Functional-significant groups of the compounds for the exhibition of the cytotoxic activity were identified;

The effect of compounds on the regulatory volume decrease in cells was observed.

It was found that 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines cause the death of cancer cells by apoptosis; cytotoxicity is not accompanied by oxidative stress and violation of the integrity of cell membranes;

Implementation of the results based on the results obtained in the study of cytotoxic activity of tetrahydroisoquinoline compounds:

the patent for the invention of the Agency of Intellectual Property of the Republic of Uzbekistan on the cytotoxic activity of 1,11-Bis-(6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline -1-il) undecane (№ IAP 05683, 2018 y.). As a result, it is possible to use this derivative of tetrahydroisoquinoline in medicine as an anticancer agent;

the patent for the invention of the Agency of Intellectual Property of the Republic of Uzbekistan on the cytotoxic activity of 1-(3',4'-methylendioxyphenyl)-2-methyl-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (№ IAP 05664, 2018 y.). As a result, it is possible to use this derivative of tetrahydroisoquinoline in medicine as an anticancer agent;

The structure and volume of the thesis. The dissertation consists of the introduction, three chapters, conclusion and list of references. The volume of the thesis is 108 pages.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

Эълон қилинган ишлар рўйхати

List of published works

I часть (I бўлим, I part)

1. Терентьева Е.О., Хашимова З.С., Цеомашко Н.Е., Саидов А.Ш., Виноградова В.И., Азимова Ш.С. Цитотоксическая активность бис-тетрагидроизохинолинов// Журнал теоретической и клинической медицины, 2015. - №5. – С.20-23.(14.00.00, №3)
2. Е.О.Терентьева, Ш.Н. Журакулов, З.С. Хашимова, Н.Е. Цеомашко, В.И. Виноградова, Ш.С. Азимова. Синтез 1-арилтетрагидроизохинолинов и их биологическая активность// Фармацевтический журнал, 2015. - №3. – С. 29-34.(03.00.00, №2)
3. Е.О. Терентьева, О.Ж. Хамидова, Ш.Н. Журакулов, В.И. Виноградова, Р.З. Сабилов, Ш.С. Азимова. Влияние 1-замещенных тетрагидроизохинолинов на регуляцию объема тимоцитов при гипоосмотическом стрессе// ДАН РУз, 2016. - №4. – С. 58-61.(03.00.00, №6)
4. Е.О. Терентьева, З.С. Хашимова, Н.Е. Цеомашко, А.Ш. Саидов, Ш.Н. Журакулов, В.И. Виноградова, Ш.С. Азимова. Исследование цитотоксической активности синтетических производных 1-замещенных тетрагидроизохинолинов// Вестник НУУз, 2016. - 3/2. – С. 102-105.(03.00.00, №9)
5. Е.О. Терентьева, З.С. Хашимова, Н.Е. Цеомашко, Н.А. Тошева, Ш.Н. Журакулов, А.Ш. Саидов, В.И. Виноградова, Ш.С. Азимова. Изучение 1-замещенных тетрагидроизохинолинов на различных типах клеточных культур// Узбекский биол.журнал,2016. - №3.- С. 3-6.(03.00.00, №5)
6. Е.О. Терентьева, А. Ш. Саидов, З.С. Хашимова, Н.Е. Цеомашко, В.И. Виноградова, Ш.С. Азимова. Синтез и биологическая активность 1,11-бис-(6,7-метилендиокси и 6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-1-ил) ундеканов// Химия природных соединений, 2017.- №2.- С.277-280. (03.00.00, №1)
7. Терентьева Е.О., Сасмаков С.А., Хашимова З.С., Абдурахманов Д.М., Саидов А.Ш., Виноградова В.И., Азимова Ш.С. Противомикробная активность и токсичность алкилтетрагидроизохинолинов// Вестник Киев.НУУк, 2017. - № 2(74), - С. 51-55.(03.00.00, №10)
8. Terenteva E.O., Khashimova Z.S., Tsay E.A., Jurakulov Sh.N., Saidov A.Sh., Vinogradova V.I., Azimova Sh.S. Chemical modification of tetrahydroisoquinolines and their cytotoxic activity// Asian journal of pharmacy and pharmacology, 2017. -3(3). - P. 66-78. (№17 OAJI, IF 0.101)

II часть (II бўлим, II part)

9. Терентьева Е.О., Сасмаков С.А., Цеомашко Н.Е., Абдурахманов Ж.М., Аширов О.Н., Азимова Ш.С. Изучение биологической активности алкалоидов и их производных // Матер.науч. – практ. конф.V съезд физиологов СНГ, V съезд биохимиков России. – Сочи-Дагомыс, 4-8 октября, 2016. – С.98.
10. Terenteva E.O., Khashimova Z.S., Teomashko N.E., Jurakulov Sh.N., Vinogradova V.I., Azimova Sh.S. Cytotoxic activity of the 1-aryltetrahydroisoquinoline derivatives//11th Internat.Symp.on the Chem. of Nat. Comp. – Turkey, Antalya. October 1-4, 2015. – P. 180.
11. Е.О. Терентьева, А.Ш. Саидов, Ш.С. Азимова. Антиоксидантная активность 1-арилтетрагидроизохинолинов// Матер. конф.молод.ученых, посвящ. памяти акад. С.Ю. Юнусова. – Ташкент, 12 марта, 2015. – С. 102.
12. Е.О. Терентьева, З.С. Хашимова, Н.Е. Цеомашко, А.Ш. Саидов, В.И. Виноградова, Ш.С. Азимова. Изучение цитотоксической активности синтетических бис-тетрагидроизохинолинов// стат. Респ. науч.-практич. конф. “Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации”. – Ташкент, 2015. – С.422-423.
13. Azimova Sh.S., Khashimova Z.S., Terenteva E.O. Cytotoxic activity of biological activity substances// 11th Internat.Symp.on the Chem. of Nat. Comp., Turkey, Antalya. October 1-4, 2015. – P. 15.
14. У.Б. Хамидова, Е.А. Цай, Е.О. Терентьева, Ш.С. Азимова. Тетрагидроизохинолин каторига мансуб баъзи алкалоидларнинг антиоксидант фаоллигини ўрганиш // «XXI аср – интеллектуал ешлар асри» мавзусидаги республика илмий ва илмий-техник анжуман - Тошкент, 30 март, 2018. – Б.165.
15. Е.О. Терентьева, Ш.Н. Журакулов, З.С. Хашимова, В.И. Виноградова, Ш.С. Азимова. Изучение биологической активности синтетических комплексов тетрагидроизохинолинов с дигидрокверцетином // «XXI аср – интеллектуал ёшлар асри» мавзусидаги республика илмий ва илмий-техник анжуман - Ташкент, 30 март, 2018. – Б.146.
16. Терентьева Е.О., Хашимова З.С., Цай Е.А., Хамидова У.Б., Абдурахманов Ж.М., Сасмаков С.А., Виноградова В.И., Азимова Ш.С. Изучение биологической активности синтетических 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов // сб. тезисов международ. конф. «Лекарственные препараты на основе природных соединений» - Ташкент, 18-19 сентября, 2018. – С.69.

Автореферат «Ўзбекистон Биология журналы» таҳририятида
таҳрирдан ўтказилди (7.11.2018)

Босишга рухсат этилди 23.11.2018 й.
қоғоз бичими 60x84 1/16. Адади 60 нусха.
Буюртма 34/18. ЎзР ФА ўМКИ
матбаа бўлимида чоп этилди.
Тошкент ш., Мирзо Улугбек кўчаси, 77 й.