

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук
(УФИЦ РАН)

Уфимский Институт химии - обособленное структурное подразделение
Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского
федерального исследовательского центра Российской академии наук
(УФИХ УФИЦ РАН)

На правах рукописи

Хазимуллина Юлия Зулькифовна

**СИНТЕЗ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ С(5)-, N(1)-, N(3)-
ЗАМЕЩЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 6-МЕТИЛУРАЦИЛА**

04.06.01 – Химические науки

02.00.03 – Органическая химия

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД

Уфа 2019

Работа выполнена в Уфимском Институте химии – обособленном структурном подразделении Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского Федерального исследовательского центра Российской академии наук

Научный руководитель: – **Гимадиева Альфия Раисовна**
кандидат химических наук,
старший научный сотрудник

Рецензенты: – **Фаттахов Альберт Ханифович**
кандидат химических наук, доцент кафедры органической и биоорганической химии химического факультета ФГБОУ ВО БашГУ;
– **Киреева Дилара Роландовна**
кандидат химических наук, старший научный сотрудник, лаборатория биоорганической химии и катализа Уфимского института химии – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского Федерального исследовательского центра РАН.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Научный и практический интерес к пиримидиновым основаниям нуклеиновых кислот не ослабевает уже на протяжении многих десятков лет. Это связано с их уникальными свойствами, а именно низкой токсичностью и ярко выраженной биологической активностью широкого спектра действия. Высокую фармакологическую активность проявляют разнообразные производные пиримидинового основания рибонуклеиновой кислоты урацила. Так, 5-фторурацил (флюороурацил) – противоопухолевый препарат из группы пиримидинов. 6-Метилурацил обладает иммуномодулирующей активностью, ускоряет процессы клеточной регенерации, стимулирует клеточные факторы защиты, оказывает противовоспалительное действие. Зидовудин, также известный как азидотимидин - 3'-азидо-3'-дезокситимидин, противовирусный препарат, нуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы вируса иммунодефицита человека. Также известны такие производные урацила, как 5-окси-6-метилурацил (препарат Иммурег), 5-амино-6-метилурацил).

Производные урацила представляют интерес не только как вещества, обладающие физиологической активностью, но и как исходные соединения для синтеза разнообразных пиримидиновых соединений. В связи с этим изучение синтеза, разработка методов введения функциональных групп в молекулу пиримидина для получения потенциальных биологически активных соединений и изучение их антиоксидантных свойств является актуальной задачей и имеет важное значение медицины.

Поскольку испытания на лабораторных животных являются дорогостоящими, есть очевидная необходимость в других методах первичного скрининга синтезируемых соединений и выявления перспективных для последующих биологических исследований веществ.

С целью поиска метода, подходящего для первичного скрининга антиоксидантной активности выбраны несколько простых в аппаратном отношении способов: по ингибированию автоокисления адреналина, по ингибированию пероксида водорода, по восстановлению ионов железа (FRAP), по способности исследуемого соединения взаимодействовать со свободным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (ДФПГ) и др.

Цель работы

-синтез новых биологически активных C(5)-, N(1)-, N(3)-производных урацила.

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

-разработать новые методы введения аминокислот в молекулы

производных урацила по положению С(5)-;

-осуществить алкилирование производных 6-метилурацила по положениям N(1)-, N(3)-;

-подобрать экспресс-метод для определения антиоксидантной активности;

-провести виртуальный скрининг производных урацила с использованием метода молекулярного докинга для выявления возможной биологической активности;

-изучить биологические свойства полученных соединений.

Научная новизна и практическая значимость. Синтезированы новые производные урацила – конъюгаты с природными аминокислотами, такими как L-глицин, аланин, метионин, валин, лейцин, фенилаланин. Получены новые биологически активные метилированные производные урацила. Проведен первичный скрининг полученных соединений молекулярным докингом, с помощью экспресс-тестаДФПГ доказана антиоксидантная активность некоторых производных урацила, изучена биологическая активность полученных соединений.

Апробация работы. Результаты исследований представлены на I, II, III, IV Всероссийских молодежных конференциях «Достижения молодых ученых: химические науки» (Уфа, 2015, 2016, 2017, 2018), X Всероссийской конференции «Химия и медицина» (Абзаково, 2015), XX Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Екатеринбург, 2016), Всероссийской молодежной конференции «Проблемы и достижения химии кислород- и азотсодержащих биологически активных соединений» (Уфа, 2016, 2017), III Междисциплинарном симпозиуме по медицинской, органической, биологической химии и фармацевтике (Севастополь, 2017), XXI Всероссийской молодежной конференции по органической химии «Пчелка» (Казань, 2017).

Публикации. По материалам ВКР опубликованы 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ, тезисы 14 докладов на Международных и Всероссийских конференциях.

Личный вклад автора состоит в проведении экспериментальных исследований, интерпретации и анализе полученных результатов, написании публикаций.

Структура и объем НКР. НКР состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка цитируемой литературы. Объем работы составляет 75 страниц компьютерного набора, которая включает 35 схем, 4 рисунка, 11 таблиц. Список литературы состоит из 60 наименований.

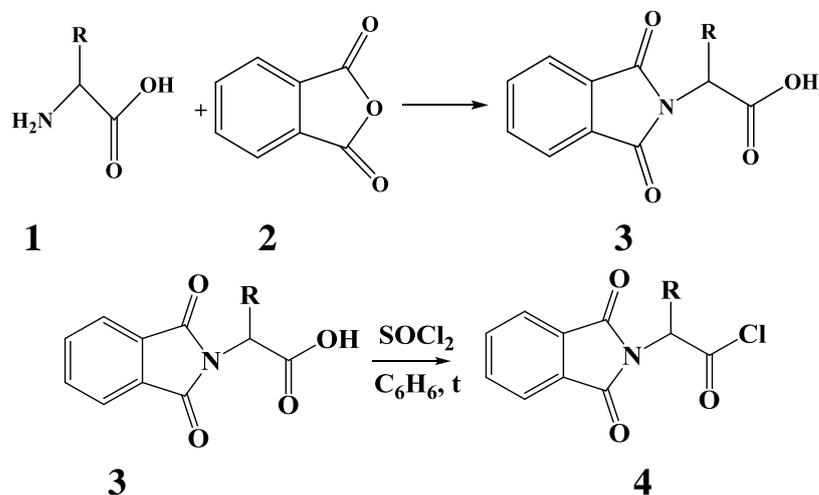
ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Синтез конъюгатов 5-гидрокси- и 5-амино-1,3,6-триметилурацила с N-защищенными аминокислотами

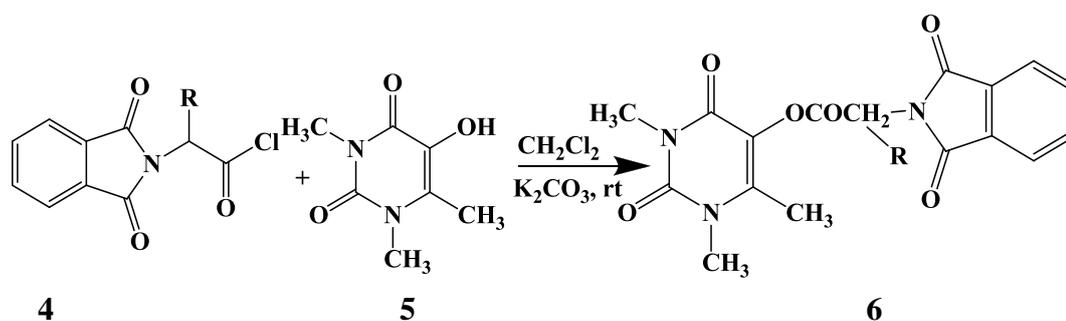
Модификацию молекулы 6-метилурацила можно осуществить введением остатков биологически активных веществ, в частности, аминокислот.

Введение аминокислотного остатка в молекулу урацила проводили двумя методами: хлорангидридным и карбодиимидным, путем взаимодействия 5-амино-1,3,6-триметилурацила и 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацила с хлорангидридами N-защищенных аминокислот, а именно, с хлорангидридами аминокислот со фталильной защитой и аминокислотами с N-BOC-защитной группой.

Хлорангидриды N-фталоил-L-аминокислот (**4**) синтезировали по следующей схеме, сначала аминокислоты (**1**) и фталевый ангидрид (**2**) растирали в ступке, смесь нагревали при 145-150°C в течение 1,5 часов, далее фталевый ангидрид аминокислоты (**3**) в бензоле кипятили до полного растворения и выделения пузырьков в тионилхлориде SOCl_2 :



Конъюгаты 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацила с аминокислотами (**6**), такими как глицин, аланин, лейцин, метионин, валин, фенилаланин были получены ацилированием 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацила (**5**) хлорангидридами соответствующих N-фталимидзащищенных аминокислот (**4**), реакцию проводили в хлористом метиле CH_2Cl_2 в присутствии K_2CO_3 при комнатной температуре:



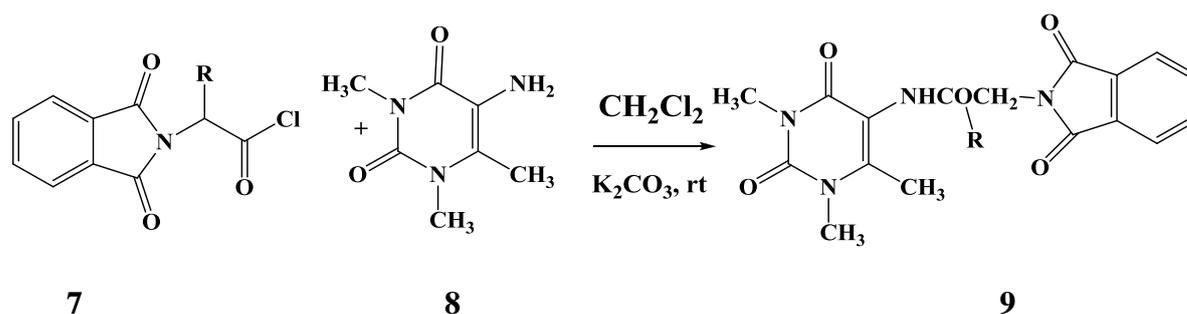
6a 71%, **6b** 98%,

6c 96%, **6d** 48%,

6e 77%, **6f** 86%,

R=H(**a**), CH₃(**b**), CH₂CH₂SCH₃(**c**), CH₂CH(CH₃)₂(**d**), CH(CH₃)₂(**e**), CH₂C₆H₅(**f**).

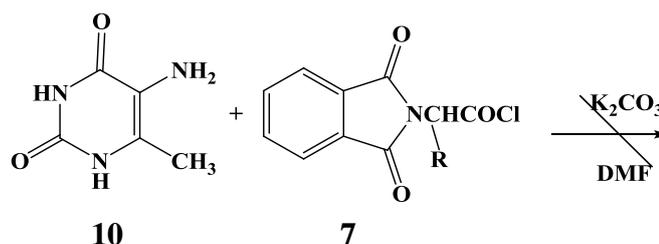
Взаимодействие 5-амино-1,3,6-триметилурацила (**8**) с хлорангидридами N-фталимидзащищенных аминокислот (**7**) проводили в хлористом метиле в присутствии K₂CO₃ при комнатной температуре. В результате с выходами 95-98% получены производные (**9(a-c)**).

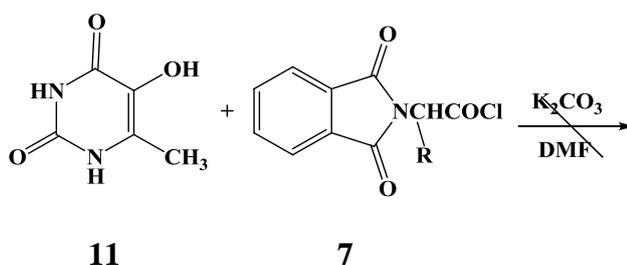


9a 56%, **9b** 65%, **9c** 68%

R=H (**a**), CH(CH₃)₂ (**b**); CH₂CH(CH₃)₂ (**c**)

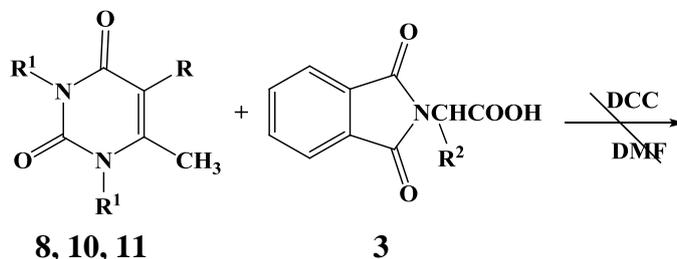
Помимо конденсации хлорангидридов N-фталоил аминокислот с 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацилом, также аминокислотный остаток в молекулу производных урацила пытались ввести взаимодействием 5-амино-6-метилурацила (**10**) и 5-гидрокси-6-метилурацила (**11**) с хлорангидридами N-фталоил-L-аминокислот (**7**). Реакцию проводили в ДМФА в присутствии K₂CO₃ при комнатной температуре, но осуществить образование конъюгата по этой схеме не удалось:





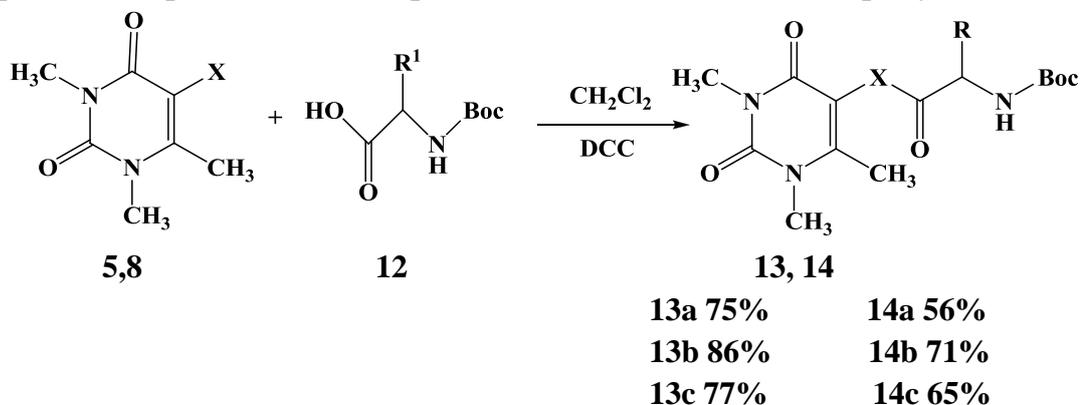
R=CH₃, CH₂CH(CH₃)₂, CH₂CH₂SCH₃, CH₂SH

Попытки построения амидной связи карбодиимидным способом, путем взаимодействия 5-амино-1,3,6-триметилурацила (**8**) 5-амино- (**10**) и 5-гидрокси-6-метилурацила (**11**) с аминокислотами с N-фталоил-защитной группой (**3**), оказались безуспешными. Во всех реакциях продукт не был обнаружен в реакционной смеси.



Построение амидной связи карбодиимидным способом осуществляли реакцией ацилирования 5-амино-1,3,6-триметилурацила и 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацила с N-BOC-защищенными аминокислотами.

Конъюгаты 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацила и 5-амино-1,3,6-триметилурацила с аминокислотами, такими как лейцин, метионин, валин, были получены конденсацией 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацила (**5**) и 5-амино-1,3,6-триметилурацила (**8**) с N-BOC-защищенными аминокислотами (**12**), реакцию проводили в хлористом метиле CH₂Cl₂ в присутствии DCC:

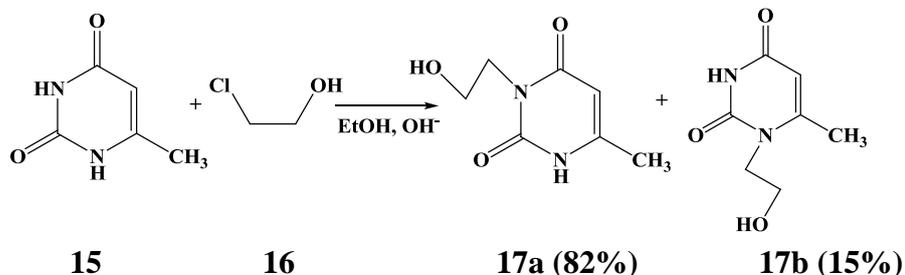


X = OH (**5,13**), NH₂ (**8,14**).

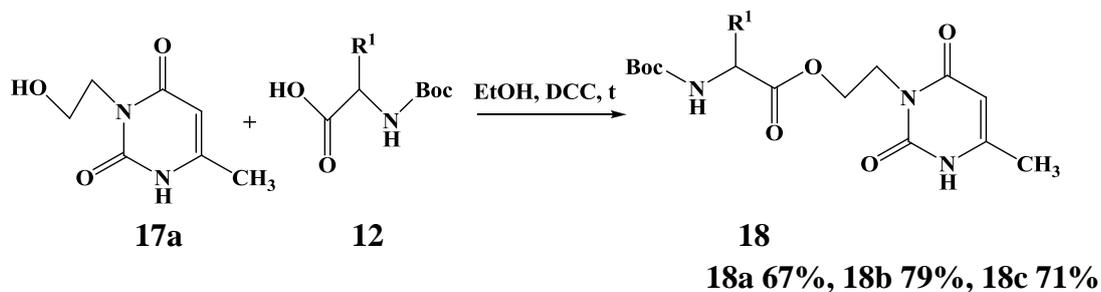
R = H (a), CH₃ (b), CH₂CH₂SCH₃ (c).

2. Конденсация N(3)-(2-гидрокси)-6-метилурацила с N-BOC-аминокислотами

В результате реакции 6-метилурацила (**15**) с этиленхлоргидрином происходит образование N(3)-(2-гидроксиэтил)-6-метилурацила (**17a**) и N(1)-(2-гидроксиэтил)-6-метилурацила (**17b**), соотношение которых после выделения составило 6:1.



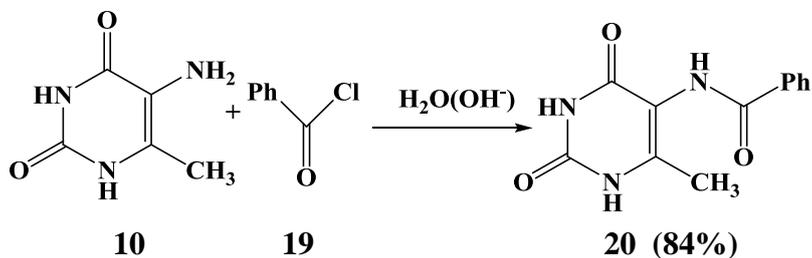
По описанной выше методике к полученному производному урацила (**17a**) провели присоединение N-BOC-защищенных аминокислот (**12**).

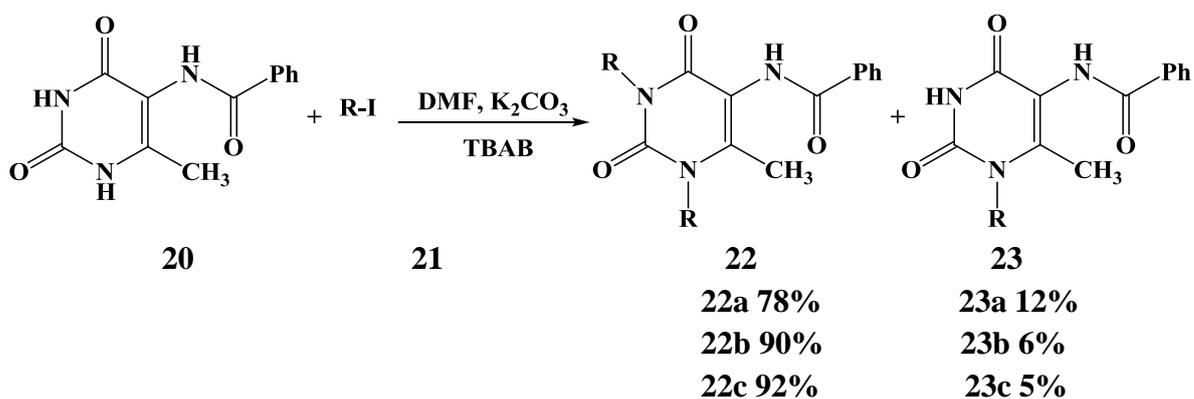


R = H (a), CH₃ (b), CH₂CH₂SCH₃ (c).

3. Синтез новых алкилированных производных C(5)-окси- и C(5)-аминобензоил-6-метилурацилов

Ранее была разработана схема для целевого синтеза 1,3-диалкилпроизводных 5-амино-6-метилурацила:





R=a) Me, b) Et, c) Pr

Бензоилирование 5-амино-6-метилурацила (**10**) проводили в 0,2М водном растворе NaOH добавлением по каплям хлористого бензоила (**19**) при внешнем охлаждении льдом, при этом 5-аминобензоил-6-метилурацил (**20**) получен с выходом 74%.

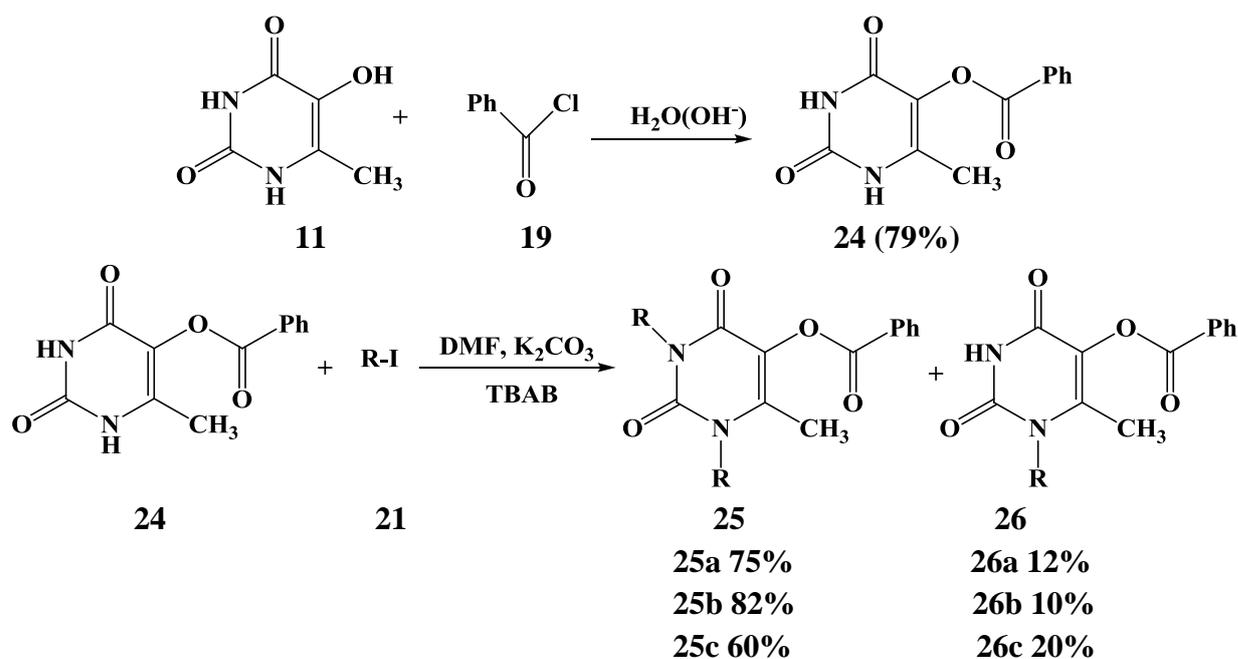
5-Аминобензоил-6-метилурацил (**20**) алкилировали в среде ДМФА избытком соответствующих алкилгалогенидов (**21**) в присутствии K_2CO_3 и ТБАБ. Установлено, что при введении в реакцию 1-7 экв алкилгалогенида во всех случаях образуется смесь моно- и диалкированных продуктов. Лучшие выходы N, N-диалкил-5-аминобензоилурацилов **22 а-с** достигнуты при взаимодействии урацила **20** с 2-х кратным избытком алкилгалогенидов **21** (таблица 1). Разделить моно- и ди-изомеры можно уже на стадии обработки реакционной смеси используя способность моноалкилированных урацилов растворяться в растворах щелочей.

Таблица 1

Зависимость выхода ди- и моно-продуктов (**22, 23 (а-с)**) от соотношения исходных реагентов

№п/п	соотношение AMBzU:EtI	время	t°	растворитель	выход		Конверсия
					моно	ди	
1	1:7	4ч	80°	DMF	39%	61%	полная
2	1:5	4ч	80°	DMF	58%	42%	полная
3	1:3	4ч	80°	DMF	15%	85%	полная
4	1:2	4ч	80°	DMF	10%	90%	полная
5	1:1	4ч	80°	DMF	12%	72%	неполная

По описанной выше методике проведены синтезы с 5-окси-6-метилурацилом:



R=a) Me, b) Et, c) Pr

Таблица 2

Зависимость выхода ди- и моно-продуктов (**25**, **26 (a-c)**) от соотношения исходных реагентов

№п/п	Соотношение OBzY:EtI	время	t°	растворитель	выход		Конверсия
					моно	ди	
1	1:7	6ч	80°	DMF	40%	60%	полная
2	1:5	6ч	80°	DMF	45%	55%	полная
3	1:3	6ч	80°	DMF	31%	69%	полная
4	1:2	6ч	80°	DMF	25%	75%	полная
5	1:1	6ч	80°	DMF	38%	62%	полная

4. Первичный скрининг синтезированных соединений молекулярным докингом¹

На первом этапе скрининговых исследований нами была изучена стерическая комплементарность и аффинность соединений **1-17** с активными центрами изоформ ЦОГ методом молекулярного докинга с использованием программы AutoDock 4.2. ЦОГ представляет собой гемсодержащий фермент, который катализирует реакцию биосинтеза простагландинов и тромбоксанов из арахидоновой кислоты. Анализ структуры синтезированных нами соединений показал, что молекулы содержат фрагменты, которые содержат и

¹ Исследования проводились на кафедре физической химии и химической экологии химического факультета БашГУ под руководством д.х.н., доцента Хайруллиной В.Р

нестероидные противовоспалительные лекарственные препараты (НПВП). В связи с этим мы предположили, что и наши соединения могут проявить противовоспалительную активность.

Молекулярный докинг структур производных пиримидинав активные центры изоформ ЦОГ проводили с использованием программ AutoDock 4.2.

Результаты этих исследований приведены в таблицах 3, 4. Анализ данных показал, что из 17 протестированных соединений только лиганды с кодами **6(b,c)**, содержащие в качестве заместителей в положении R₃ достаточно объемный полярный 2-замещенный изоиндолин-1,3-дионовый фрагмент, характеризуются достаточно высокими численными значениями свободных энергий связывания с активными центрами изоформ ЦОГ.

Остальные лиганды, содержащие ациклические сера- и кислородсодержащие заместители в положениях R₁, R₂, R₃, вследствие того, что образуют меньшее число водородных связей по сравнению с соединениями **6 (b,c)** характеризуются низкими значениями оценочной функции. Следует ожидать, что в условиях *in vivo* они могут не обнаружить противовоспалительного действия и по этой причине в дальнейшем не рассматривались.

Таким образом, результаты оценки стерической комплементарности и аффинности соединений **6 (b,c)** с активными центрами изоформ ЦОГ свидетельствуют о том, что оба они перспективны для дальнейших исследований в условиях *in vivo*. В этой связи нами был осуществлен синтез этих соединений и проведены их биологические испытания на противовоспалительную активность в условиях *in vivo*.

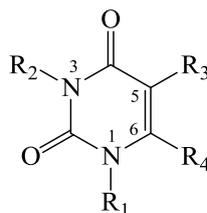


Таблица 3

Шифр соединения	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1	H	CH ₃	OH	CH ₃
2	CH ₃	CH ₃	OH	CH ₃
3	CH ₃	CH ₃	OCH ₃	CH ₃
4	-CH ₂ CH ₂ SC ₄ H ₉ -i	-CH ₂ CH ₂ SC ₄ H ₉ -i	H	CH ₃
5	-CH ₂ CH ₂ SC ₄ H ₉ -i	-CH ₂ CH ₂ SC ₄ H ₉ -i	-OCH ₂ CH ₂ SC ₄ H ₉ -i	CH ₃
6	-CH ₂ CH ₂ SC ₄ H ₉ -i	-CH ₂ CH ₂ SC ₄ H ₉ -i	OH	CH ₃

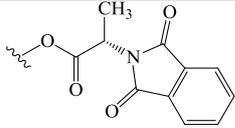
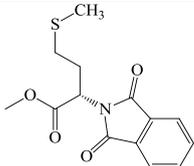
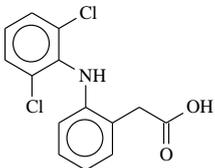
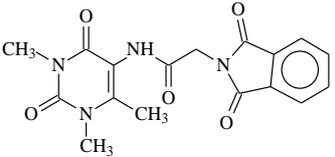
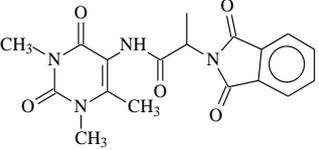
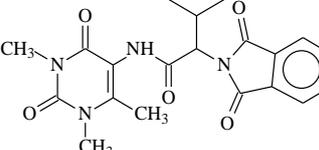
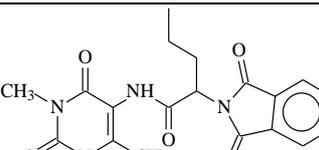
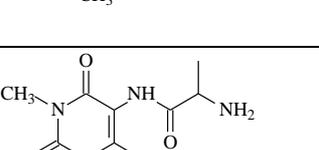
7	H	-CH ₂ CH ₂ SC ₄ H ₉ -i	H	CH ₃
8	CH ₃	CH ₃	-OCH ₂ CH ₂ SC ₄ H ₉	CH ₃
9	-CH ₂ CH ₂ SC ₄ H ₉	CH ₃	-OCH ₂ CH ₂ SC ₄ H ₉	CH ₃
10	-CH ₂ CH ₂ SOC ₄ H ₉ -i	-CH ₂ CH ₂ SOC ₄ H ₉ -i	H	CH ₃
11	H	-CH ₂ CH ₂ SOC ₄ H ₉ -i	H	CH ₃
12	-CH ₂ CH ₂ SOC ₄ H ₉ -i	-CH ₂ CH ₂ SOC ₄ H ₉ -i	OH	CH ₃
13	-CH ₂ CH ₂ SOC ₄ H ₉ -i	-CH ₂ CH ₂ SOC ₄ H ₉ -i	-OCH ₂ CH ₂ SOC ₄ H ₉ -i	CH ₃
14	-CH ₂ CH ₂ SOC ₄ H ₉	CH ₃	-OCH ₂ CH ₂ SOC ₄ H ₉	H
15	CH ₃	CH ₃	-OCH ₂ CH ₂ SOC ₄ H ₉	H
16	CH ₃	CH ₃		CH ₃
17	CH ₃	CH ₃		CH ₃

Таблица 4

Энергия и константа связывания потенциальных ингибиторов циклооксигеназы и тестового соединения – диклофенака – в активный центр молекулы 1РХХ

Структура соединения	Свободная энергия связывания, ккал/моль	Константа ингибирования, K _{inh} , мкмоль/л	Число в кластере, всего 20 решений
<p>Диклофенак</p> 	-7,46	3,39	8
	-8,65	0,46	8

	-9,08	0,22	4
	-8,92	0,29	11
	-7,32	4,29	2
	-5,94	44,51	11

5. Исследование биологической активности полученных производных урацилов

5.1. Исследование противовоспалительной активности²

Противовоспалительную активность новых веществ в сравнении с ортофеном изучали на моделях воспаления, вызванных формалином, каррагенином, лидокаином и яичным белком.

Опыты проводились на белых беспородных мышах обоего пола массой 18-20 г. Формалиновое, каррагениновое, лидокаиновое и трипсиновое воспаление вызывали у мышей субплантарным введением 0.05 мл флогогена – 2%-ного раствора формалина, 1%-ного раствора каррагенина, 2%-ного раствора лидокаина и 15%-ного раствора яичного белка. Антифлогистическую активность исследуемых соединений оценивали по угнетению отека лапок мышей, вызванного введением флогогена. Исследуемые вещества вводили за 1 час до введения флогогена, сразу после введения флогогена, через 1 час после введения флогогена, через 2 часа после введения флогогена. Контрольная группа получала физиологический

² Исследования проводились на кафедре морфологии, патологии, фармации и незаразных болезней факультета биотехнологии и ветеринарной медицины БашГАУ под руководством к.б.н. Базекина Г.В.

раствор. Величину отека измеряли через 3 часа после введения флогогена. Результаты приведены в таблице 5.

Противовоспалительную активность рассчитывали по формуле:

$$\% \text{ угнетения воспаления} = \frac{V_k - V_0}{V_0} \times 100, \text{ где}$$

V_k – среднее увеличение объема лапки в контрольной группе;

V_0 – среднее увеличение объема лапки в опытной группе

Таблица 5

Противовоспалительная активность конъюгатов **6(b,c)** на 4 видах модели воспаления

Вещ-во/ вид воспалени я	Карраген. модель		Лидокаиновая модель		Белковая модель		Формалиновая модель	
	% увел-я отека	% угнет-я воспал ения	% увел-я отека	% угнет- я воспа ления	% увел- я отека	% угнет- я воспал ения	% увел- я отека	% угнет- я воспал ения
6b	37.90±3	29.02	36.9±3	32.29	43.4±2	36.3	37.2±2	35.0
6c	38.50±5	27.9	38.2±1	29.9	44.2±4	35.1	38.6±3	32.6
Ортофен	36.80±1	31.08	38.1±1	30.09	40.2±4	41.0	33.3±2	42.0
Контроль	53.40±4	-	54.5±5	-	68.2±5	-	57.3±3	-

Исследования *in vivo* показали, что соединения **6b,c**, предварительно показавшие самые высокие численные значения при первичном скрининге их методом молекулярного докинга на противовоспалительную активность, обладают противовоспалительной активностью в сравнении с известным нестероидным противовоспалительным препаратом, что дает основания для дальнейших испытаний на данный вид биологической активности.

5.2. Исследование гепатопротекторной активности³

Также синтезированные соединения прошли испытания на гепатопротекторную активность на клеточном уровне, исследования

³ Исследования проводились в «Уфимском научно-исследовательском институте медицины труда и экологии человека» под руководством к.б.н. Каримова Д.О.

проводились на клетках гепатоцитов мышей, затравленных тетрахлорметаном. Результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6

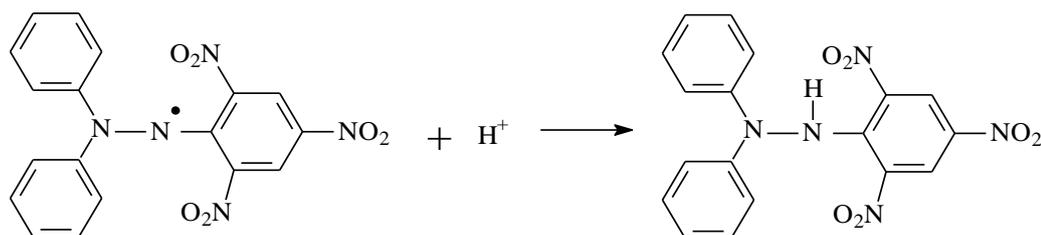
Выживаемость клеток, %							
Соединение Группы	19a	19f	19e	22a	22b	25a	25c
400 мМ без ТХМ	66,21	78,32	59,82	74,84	90,49	59,82	78,74
ТХМ+12,5 мМ	84,32	72,93	55,26	65,31	40,71	55,26	52,80
ТХМ+25 мМ	72,63	74,14	44,78	47,95	74,42	44,78	62,67
ТХМ+50 мМ	67,51	64,31	53,72	44,71	56,82	53,72	68,21
ТХМ+100 мМ	62,70	71,12	50,00	45,86	70,65	50,00	52,49
ТХМ+200 мМ	56,36	52,79	30,85	37,44	31,71	30,85	77,93
ТХМ+400 мМ	45,57	42,93	34,81	34,72	38,52	34,81	51,67
ТХМ+800 мМ	17,34	13,48	8,89	-0,33	0,14	8,89	2,10
ТХМ	71,12	59,97	59,97	33,26	31,61	59,97	33,26

Исследования *in vitro* показали, что 3 соединения (**6a,e,f**) из синтезированных конъюгатов 5-окси-1,3,6-триметилурацила с аминокислотами показали наиболее высокие значения исследований на гепатопротекторную активность, также высокие значения у соединений алкилированных производных 5-окси-, 5-аминобензоил-6-метилурацила (**22a,b, 22a,c**). В связи с этим в дальнейшем для указанных соединений запланированы исследования *in vivo*.

5.3. Исследование антиоксидантной активности

Одним из способов оценки АОА является колориметрия свободных радикалов, основанная на реакции DPPH (ДФПГ, 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил). Молекула ДФПГ[•] представляет собой свободный радикал, характеризующийся стабильностью в различных средах и в широком интервале температур, что объясняется максимальной делокализацией свободного электрона по всей молекуле, и является причиной интенсивной фиолетовой окраски этого радикала в водно-спиртовых средах ($\lambda_{\text{макс}} = 520$ нм). При взаимодействии с антиоксидантом, способным отдавать протон,

происходит восстановление этого радикала, в результате чего его фиолетовая окраска способна обесцветиться:



Антиоксидантную активность урацила и ряда его производных (6-метилурацил, 5-амино-6-метилурацил, 5-окси-6-метилурацил, 5-нитро-6-метилурацил, 5-фторурацил, 5-бром-6-метилурацил, 5-амино-1,3,6-триметилурацил, 3,6-диметилурацил, 6-метил-2-тиоурацил, 5-аминоурацил, 5-N,N-диметиламино-6-метилурацил, 5-окси-1,3,6-три-метилурацил, 5-аллиламиноурацил, 5-метиламино-6-метилурацил, 5-этиламино-6-метилурацил, 5-пиперидинил-6-метилурацил, 5-морфолинометил-6-метилурацил) и референтных препаратов (аскорбиновая кислота, L-цистеин, метионин, N-ацетил-L-цистеин) определяли по способности исследуемого соединения взаимодействовать со свободным радикалом DPPH.

Эффективную концентрацию, при которой происходит ингибирование DPPH радикала на 50%, определяли по показаниям оптической плотности при различных концентрациях от 1 мкг/мл до 8 мг/мл. Чем меньше IC_{50} , тем выше ингибирующая способность соединения (рис. 1).

Полученные результаты сравнили с ранее проведенными исследованиями АОА на модели ингибированного окисления изопропилового спирта и 1,4-диоксана (табл. 7).

Таблица 7

АОА производных урацила, измеренная разными методами

Соединение	АОА			
	Метод DPPH		Окисление изопропилового спирта ⁴ , 10^{-3} моль/л (k_7 10^{-3} л·моль ⁻¹ ·с ⁻¹)	Окисление 1,4-диоксана ⁵ , 10^{-3} моль/л (k_7 10^{-3} л·моль ⁻¹ ·с ⁻¹)
	50 мкг/мл	100 мкг/мл		
урацил	10,0	12,0	3×10^2	-
5-фторурацил	10,0	16,0	1×10^2	-
6-метилурацил	5,0	4,0	4.2×10^3	4.4×10^2

⁴ Изучено на кафедре ФХ и ХЭ БашГУ под руководством Сафаровой И.В.

⁵ Изучено в лаборатории химической кинетики УФИХ УНЦ РАН под руководством Якуповой Л.Р.

5-нитро-6-метилурацил	38,0	35,0	6.3×10^3	-
5-амино-6-метилурацил	84,0	85,0	$(1.0 \pm 0.2) \times 10^4$	$(1.44 \pm 0.14) \times 10^5$
5-амино-1,3,6-триметилурацил	73,0	79,0	-	$(2.23 \pm 0.25) \times 10^5$
5-окси-6-метилурацил	85,0	86,0	$(6.2 \pm 0.8) \times 10^4$	$(5.2 \pm 0.1) \times 10^4$
5-аминоурацил	81,0	80,0	-	-
5-аллиламино-урацил	77,0	74,0	-	-
5-метиламино-6-метилурацил	77,0	77,0	-	$(3.8 \pm 0.4) \times 10^3$
5-этиламино-6-метилурацил	84,0	86,0	-	$(4.6 \pm 0.1) \times 10^3$
5-пиперидинил-6-метилурацил	12,0	16,0	-	$(5.3 \pm 0.3) \times 10^3$
5-морфолино-метил-6-метилурацил	17,0	15,0	$(3.3 \pm 0.5) \times 10^4$	-

Результаты показывают, что разные по своей природе методы дают схожие результаты по изменению АОА производных урацила. В ряду изученных урацилов наблюдается определённая симбатность в изменении АОА, установленной нами с помощью IC_{50} (ДФПГ-теста) с помощью $fk7$. На основании данного факта можно утверждать, что ДФПГ-тест можно использовать для экспресс-оценки АОА производных урацила.

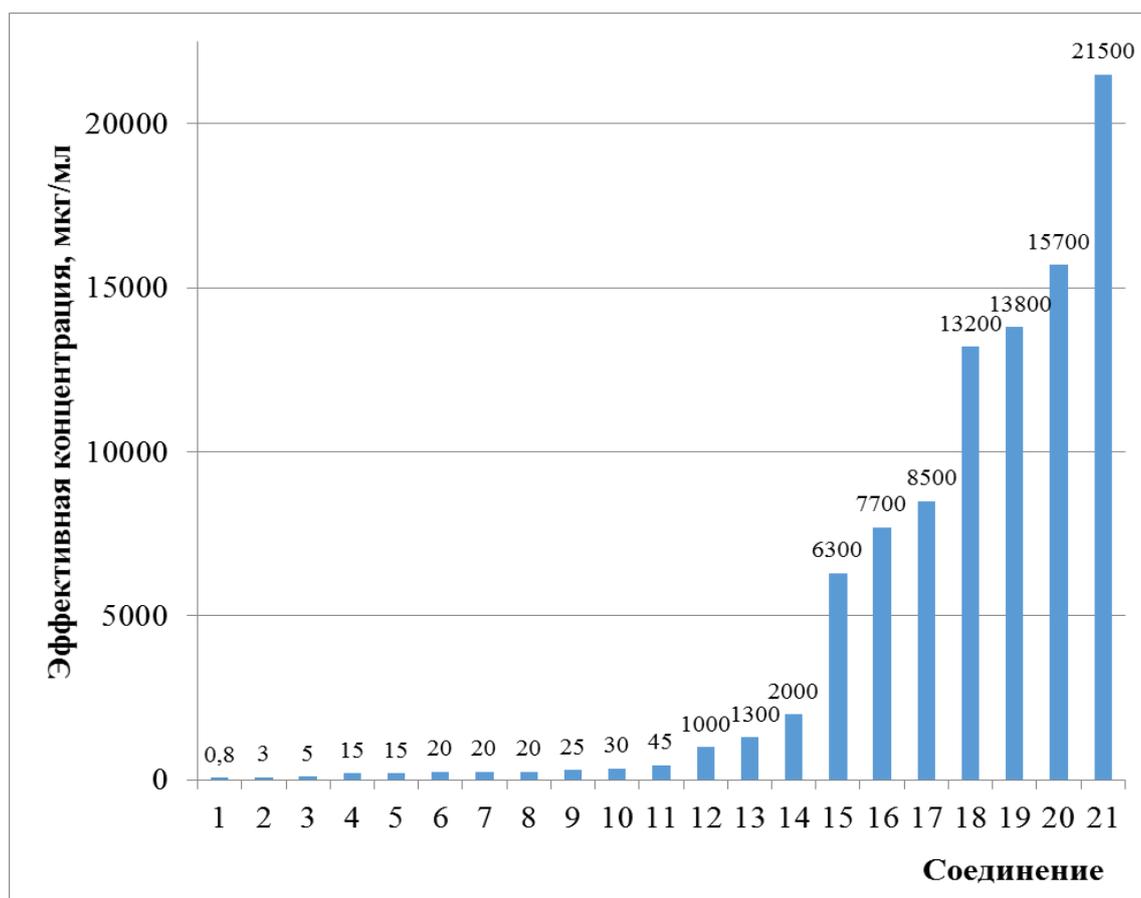


Рис.1. Значения IC_{50} исследуемых соединений: 1) аскорбиновая кислота, 2) 5-амино-урацил, 3) 5-амино-6-метилурацил, 4) 5-окси-6-метилурацил, 5) 5-окси-1,3,6-триметилурацил, 6) 5-этиламино-6-метилурацил, 7) 5-метиламино-6-метилурацил, 8) 5-аллиламиноурацил, 9) 5-амино-1,3,6-триметилурацил, 10) ионол, 11) α -нафтиламин, 12) 5-нитро-6-метилурацил, 13) 5-бром-1,3,6-триметилурацил, 14) 5-йод-6-метилурацил, 15) 5-бромурасил, 16) 5-морфолинометил-6-метилурацил, 17) 1,3,6-триметилурацил, 18) 5-пиперидинил-6-метилурацил, 19) 5-фторурацил, 20) урацил, 21) 6-метилурацил.

Полученные результаты показывают, что АОА зависит от структуры пиримидинового основания. Наибольшую АОА показали производные урацила **12-19**, имеющие в положении С-5 протондонорную группу – свободную или алкилированную аминогруппу, а также гидроксильный заместитель.

ВЫВОДЫ

1. Впервые синтезированы конъюгаты производных урацила с природными аминокислотами хлорангидридным и карбодиимидным методами.
2. Осуществлено алкилирование производных 5-окси-, 5-аминобензоилб-метилурацила по положениям N(1)-, N(3)-. Установлено, что при введении в реакцию 2 эквивалентов алкилирующих агентов выход целевого продукта достигает 90%.
3. Проведен виртуальный скрининг противовоспалительной активности синтезированных соединений методом молекулярного докинга. Выявлены вещества, перспективные для дальнейших исследований. Результаты скрининга подтверждены исследованиями *in vivo* на 4 моделях воспаления. Изучена гепатопротекторная активность полученных соединений.
4. Подобран удобный метод для первичного скрининга антиоксидантной активности производных урацила – восстановление свободного радикала DPPH. Установлена корреляция результатов данного метода с результатами, полученными кинетическими методами.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. Гимадиева А.Р., **Хазимуллина Ю.З.**, Белая Е.А., Зимин Ю.С., Абдрахманов И.Б., Мустафин А.Г. Экспресс-оценка антиоксидантной активности производных урацила // Биомедицинская химия. – 2015. – Т.61, №6. – С.765–769.
2. Хайруллина В.Р., **Хазимуллина Ю.З.**, Абдуллаева С.С., Гимадиева А.Р., Мустафин А.Г. Стерическая комплементарность некоторых конъюгатов 5-аминоурацила с орто-, мета- и паразамещенной бензойной кислотой с изоформами циклооксигеназ // Вестник Башкирского Университета. – 2017. – Т.22, N 4. – С.953–958.
3. **Хазимуллина Ю.З.**, Хаматханова Г.Д., Гимадиева А.Р., Абдрахманов И.Б. Определение антиоксидантной и восстанавливающей активности производных урацила фотометрическими методами // Материалы II Всероссийской молодежной конференции-школы с международным участием «Достижения химии в агропромышленном комплексе». – Уфа, (апрель 2015г.) – С.43–47.
4. **Хазимуллина Ю.З.**, Гимадиева А.Р., Сабитова Г.Р. Синтез и изучение антиоксидантной активности новых производных урацила //Тезисы докладов I Всероссийской молодежной конференции «Достижения молодых ученых: химические науки» – Уфа, (май 2015 г.) – С.238–240.
5. Гимадиева А.Р., **Хазимуллина Ю.З.**, Абдрахманов И.Б., Мустафин А.Г. Синтез биологически активных производных урацилов //Тезисы докладов X Всероссийской конференции «Химия и медицина» с молодежной научной школой – Уфа-Абзаково,(июнь 2015г.) – С.121.
6. **Хазимуллина Ю.З.**, Гимадиева А.Р., Абдрахманов И.Б., Мустафин А.Г. Конденсация 5-амино- и 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацила с хлорангидами N-фталилзащищенных аминокислот // Материалы IX Всероссийской научной интернет-конференции «Интеграция науки и высшего образования в области био- и органической химии и биотехнологии» – Уфа, (ноябрь 2015г.) – С.70.
7. Нурисламова Р.И., **Хазимуллина Ю.З.**, Гимадиева А.Р., Мустафин А.Г., Абдрахманов А.Б. Синтез конъюгатов 5-амино и 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацила с хлорангидами N-фталилзащищенных аминокислот // Материалы II Всероссийской молодежной конференции «Достижения молодых ученых: химические науки» – Уфа, (май 2016г.) – С.102-103.
8. **Хазимуллина Ю.З.**, Гимадиева А.Р., Абдрахманов И.Б. Синтез биологически активных соединений на основе производных урацила и природных аминокислот // Материалы II Всероссийской молодежной

конференции-школы с международным участием «Достижения химии в агропромышленном комплексе» – Уфа, (июнь 2016г.) – С.68-71.

9. Гимадиева А.Р., **Хазимуллина Ю.З.**, Хайруллина В.Р., Абдрахманов И.Б., Мустафин А.Г. Конъюгаты природных аминокислот с урацилами //Материалы XX Менделеевского съезда по общей и прикладной химии – Екатеринбург, (сентябрь 2016г.) – Т.4. – С.474.

10. Калинович Д.К., **Хазимуллина Ю.З.**, Гимадиева А.Р., Абдрахманов И.Б. Синтез ди- и моноалкилированных 5-бензоилокси-6-метилурацилов// Материалы Всероссийской молодежной конференции «Проблемы и достижения химии кислород- и азотсодержащих биологически активных соединений» – Уфа, (ноябрь 2016г.) – С.100.

11. Гардеева Э.А., **Хазимуллина Ю.З.**, Гимадиева А.Р., Абдрахманов И.Б. Синтез и противовоспалительная активность конъюгатов природных аминокислот с производными урацила // Материалы Всероссийской молодежной конференции «Проблемы и достижения химии кислород- и азотсодержащих биологически активных соединений» – Уфа, (ноябрь 2016г.) – С.93.

12. **Хазимуллина Ю.З.**, Гимадиева А.Р., Гардеева Э.А., Калинович Д.К., Мустафин А.Г., Абдрахманов И.Б. Синтез 1,3-диалкилпроизводных 5-амино-6-метилурацила // Материалы Всероссийской молодежной конференции-школы с международным участием «Достижения химии в агропромышленном комплексе» – Уфа, (май 2017г.) – С.61–65.

13. Хайруллина В.Р., Гимадиева А.Р., **Хазимуллина Ю.З.**, Мустафин А.Г. Новые потенциальные лекарственные средства с выраженной противоопухолевой, противовоспалительной, противовирусной активностью среди производных урацила // Материалы III Междисциплинарного симпозиума по медицинской, органической, биологической химии и фармацевтике – Севастополь, (май 2017г.) – С.73.

14. **Хазимуллина Ю.З.**, Гимадиева А.Р., Хайруллина В.Р., Абдрахманов И.Б., Мустафин А.Г. Синтез N-алкилпроизводных 5-амино- и 5-окси-6-метилурацила // Материалы XXI Всероссийской молодежной конференции по органической химии «Пчелка» – Казань, (сентябрь 2017г.) – С.71.

15. **Хазимуллина Ю.З.**, Гардеева Э.А., Гимадиева А.Р. Синтез конъюгатов природных аминокислот с производными урацила // Тезисы докладов IV Всероссийской молодежной конференции «Достижения молодых ученых: химические науки» – Уфа, (май 2018г.) – С.103-105.

16. **Хазимуллина Ю.З.**, Шамсиева Р.И., Гимадиева А.Р. Влияние катализаторов на выход продуктов в реакции Биджинелли // Тезисы докладов

IV Всероссийской молодежной конференции «Достижения молодых ученых: химические науки» – Уфа, (май 2018г.) – С.220-222.