

В свою очередь это отвечает основным направлениям стратегии НТР РФ, в частности разделам: в) (переход к персонализированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровьесбережения ...), а также разделу з) (исследования в области понимания процессов, происходящих в обществе и природе, развития природоподобных технологий ...).

Структура диссертации

Диссертация построена классически и состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов диссертанта, экспериментальной части, выводов по работе и библиографического списка, содержащего 155 библиографических наименований, а также списка сокращений. Диссертация изложена на 155 страницах, включает в себя 35 таблиц, 85 схем, 6 рисунков.

Первая глава представляет собой обзор современной литературы по окислению урацила и его производных, в частности персульфатному окислению, по N-алкилированию и N-аллилированию урацилов, а также методам получения феноксиалкилпроизводных, алкоксиалкилпроизводных, аминопроизводных, аминометилпроизводных и галогенпроизводных урацила и содержит 92 библиографические ссылки. На основании данных литературного обзора диссертантом сделано обоснование актуальности работы, а также сформулированы основные направления развития диссертационного исследования.

Вторая глава диссертации посвящена собственным результатам диссертанта и посвящена синтезу 5-гидрокси-6-метил- и 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацилов, персульфатного окисления других азаетероциклов: пиридина, хинолина и 3-метилиндола, персульфатного окисления анилина, синтезу конъюгатов 5-гидрокси- и 5-амино-1,3,6-триметилурацилов с N-защищенными аминокислотами, синтезу новых алкилированных производных C5-гидрокси- и C5-аминобензоил-6-метилурацилов, описанию экспериментов по первичному скринингу соединений методом молекулярного докинга и исследованию антиоксидантной активности полученных соединений.

Исходя из высокого биологического потенциала 5-гидрокси-6-метилурацила диссертантом на начальном этапе были исследованы пути его промышленного синтеза: 1) щелочным гидролизом 5-бром-6-метилурацила; 2) гидролизом сложного эфира 6-метилурацил-5-ацетата; 3) окислением 6-метилурацила персульфатом аммония (окисление по Эльбсу) с последующим гидролизом 6-метилурацил-5-аммонийсульфата. В первом случае диссертантом наблюдалось образование целевого продукта с низким выходом, из-за присутствия 6-метилурацила и сложности дальнейшего разделения продуктов. Во втором случае диссертантом не обнаруживалось протекания реакции, и в реакционной массе фиксировался лишь исходный гетероцикл. Способ 3) оказался более эффективным, однако диссертантом фиксировался низкий выход 6-метилурацил-5-аммонийсульфата (~20%), что потребовало дальнейшей оптимизации условий реакции. На начальном этапе модификацию реакции окисления 6-метилурацила проводили путем добавления в

реакционную массу фталоцианиновых катализаторов на основе Co, Fe(II), Fe(III), Mn, Ni и Zn и использования разных источников персульфат-аниона. Из всех исследованных катализаторов наименее активным оказался фталоцианин Zn (0,05 мас.%) и целевой продукт был получен с выходом до 72%, а наибольшая активность наблюдалась для фталоцианинов Fe(II), Co и Fe(III) (0,01-0,05 мас.%): выход 5-гидрокси-6-метилурацила достигал 82-95%. Диссертантом представлен ряд уменьшения активности фталоцианиновых катализаторов на основе металлов Fe(II) > Co > Fe(III) > Mn > Ni > Zn. В ряду персульфатов аммония, натрия и калия наиболее активным оказался персульфат аммония. Диссертантом был предложен возможный механизм реакции, предполагающий образование высокоактивной частицы $[Pc-Me-O^{\delta-}-O^{\delta+}-SO^3-]$ (Pc-Me – фталоцианин металла), подобной описанной в литературе.

Во избежание присутствия следов тяжелых металлов в субстанции 5-гидрокси-6-метилурацила диссертантом был предложен еще один способ синтеза персульфатного окисления, предполагающий использование двух окисляющих агентов – персульфата аммония и пероксида водорода при перемешивании. Подбор условий реакции показал, что оптимальным является время реакции 8 ч и температура 60 °С. Дальнейший подбор условий гидролиза промежуточного продукта позволил диссертанту осуществить практически количественный (98%) гидролиз до целевого 5-гидрокси-6-метилурацила.

Далее диссертантом был осуществлен синтез 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацила с использованием двух подходов. Так, при алкилировании диметилсульфатом в щелочной среде 6-метилурацил-5-аммонийсульфата, промежуточного продукта персульфатного окисления 6-метилурацила, наряду с образованием целевого 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацила диссертантом наблюдалось образование 5-гидрокси-3,6-диметилурацила, который также проявлял фармакологическую активность и обладал мембраностабилизирующим и антирадикальным действием.

Второй подход основан на персульфатном окислении 1,3,6-триметилурацила двумя способами. Согласно диссертанту, наименее активен фталоцианин Zn (0,05 мас.%), и диссертантом фиксировался выход целевого продукта до 63%. А наибольшая активность наблюдалась для фталоцианинов Fe(II), Co и Fe(III) (0,01-0,05 мас.%) – выход целевого продукта достигал 81-85%. Диссертантом представлен ряд уменьшения активности катализаторов как $\Phi_{ц} Fe(II) > \Phi_{ц} Co > \Phi_{ц} Fe(III) > \Phi_{ц} Mn > \Phi_{ц} Ni > \Phi_{ц} Zn$. В условиях персульфатного окисления 1,3,6-триметилурацила с дополнительным окисляющим агентом – пероксидом водорода диссертантом наблюдалась прямая зависимость выхода промежуточного 1,3,6-триметилурацил-5-аммонийсульфата от содержания пероксида от 34 (1 экв) до 71% (3 экв.). Суммарный выход 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацила по двум стадиям составлял 65–67%.

Используя в дальнейшем данную эффективную модификацию реакции Эльбса диссертант успешно распространил ее на другие гетероциклические соединения. Так, на примере незамещенного пиридина была продемонстрирована применимость персульфатного окисления (действием персульфата аммония в присутствии NaOH) и

в отсутствие катализаторов при комнатной температуре посредством образования промежуточного 2-пиридинилсульфата с выходом 25% был получен 2-гидроксипиридин. Далее условия реакции диссертантом были усовершенствованы и в условиях окислением персульфатом аммония при 45 °С, окислением в аналогичных условиях с добавлением фталоцианиновых комплексов Co(II), Fe(II), Fe(III), Mn(II), Zn(II), Ni(II), а также окислением бинарной смесью персульфат аммония–пероксид водорода при интенсивном перемешивании. Максимальный выход 2-гидроксипиридина (81%) наблюдался диссертантом при использовании бинарной смеси окислителей персульфат аммония – пероксид водорода. Также была продемонстрирована применимость персульфатного окисления 2-гидроксипиридина для получения 2,5-дигидроксипиридина. Максимальный выход (72%) наблюдался при использовании фталоцианина Co (II), тогда как при использовании бинарной смеси персульфат аммония – пероксид водорода (2 экв) был достигнут близкий выход (69%). Следует отметить, что впервые осуществлено персульфатное окисление пиридина с образованием единственного продукта, 2-гидроксипиридина, а также персульфатное окисление последнего до 2,5-дигидроксипиридина были осуществлены впервые.

Далее диссертантом показано, что аннелирование бензольного кольца к пиридиновому фрагменту в случае хинолина, подобно введению α -гидроксигруппы, изменяет направление функционализации, и в условиях персульфатного окисления без катализатора, и в присутствии фталоцианинового комплекса Co (0,02 мас.%) при 45 °С или под действием бинарной смеси персульфат аммония (ПСА) – пероксид водорода (H_2O_2) (мольное соотношение хинолин:NaOH:ПСА: H_2O_2 1:3:1.5:2) был получен 3-гидроксихинолин с выходами 8%, 49% и 53% соответственно.

Наконец, диссертантом было успешно осуществлено персульфатное окисление 3-метилиндола в присутствии фталоцианина Co (0,02 мас.%) с образованием 2-гидрокси-3-метилиндола с выходом до 62%.

Исходя из высокой практической важности разработки эффективных методов синтеза *para*-аминофенолов, диссертантом далее было исследовано персульфатное окисление анилина. Согласно имеющимся литературным данным, такая реакция в стандартных условиях протекает с низким выходом с преимущественным образованием *ortho*-аминофенола. Диссертантом были исследованы ранее примененные в работе методы и было найдено, что при персульфатном окислении анилина бинарной смесью ПСА– H_2O_2 , несмотря на то, что в начале реакции преимущественно образуется промежуточный продукт, *ortho*-аммонийсульфат, с течением времени реакции он расходуется, и после гидролиза наблюдается лишь целевой *para*-аминофенол. Диссертантом были получены максимальные выходы как промежуточных продуктов (до 93%), так и продуктов гидролиза (до 85%). При этом увеличение дополнительного окислителя приводит к глубокому окислению и понижению выхода целевых продуктов.

Химическая модификация производных урацила аминокислотами является перспективным путем для конструирования новых биологически активных

соединений с улучшенными фармакологическими свойствами. В связи с этим диссертантом были подвергнуты модификации фрагментами аминокислот посредством хлорангидридного и карбодиимидного подхода некоторые синтезированные в рамках работы производные урацила, а также полученные ранее. На первом этапе диссертантом было осуществлено введение в 5-гидрокси- и 5-амино-1,3,6-триметилурацил хлорангидридов аминокислот с N-фтальильной защитной группой с образованием соответствующих эфиров или амидов аминокислот с выходами 48-96% и 56-87% соответственно. Выбранный диссертантом подход для создания биоактивных производных в рядах урациалов подтвердил свою эффективность, так как в ряду полученных эфиров были обнаружены производные **28b** (**26b** в автореферате) и **28c** (**26c** в автореферате) обладающие высокой противовоспалительной активностью *in vitro* и *in vivo*.

Также диссертантом были синтезированы производные аминокислот путем взаимодействия 5-гидрокси- и 5-амино-1,3,6-триметилурацилов и N-Вос-защищенных аминокислот в присутствии дициклогексилкарбодиимида с образованием целевых эфиров или амидов N-Вос-аминокислот с выходами 75-86% и 56-71% соответственно.

Дополнительно, диссертантом была рассмотрена возможность получения производных аминокислот, присоединенных к 6-метилурацилу посредством линкеров в положениях N1, N3. Для этого было осуществлено взаимодействие 6-метилурацила с 2-хлорэтанолом, приводящее в соотношении 1:6 к образованию N1-(2-гидроксиэтил)- и N3-(2-гидроксиэтил)-6-метилурацила, а последний основной продукт путем вышеописанного карбодиимидного подхода превращали в эфиры N-Вос-защищенных аминокислот с выходом 67-79%.

На заключительном этапе синтетической части диссертантом был получен ряд N1, N3-диалкил-5-гидрокси- и 5-аминобензоилурацилов, обладающих гепатопротекторной активностью *in vitro*, посредством N-алкилирования 5-гидрокси-, 5-амино-6-метилурацилов с предварительно защищенными посредством бензоилирования функциональными группами в положении C5. Несмотря на то, что алкилирование вышеописанных урацилов в среде ДМФА в присутствии K₂CO₃ и ТБАБ в независимости от количества алкилирующего агента (от 1 до 7 экв.) алкилгалогенида дает смесь моно- и диалкированных продуктов, диссертантом были подобраны условия для разделения продуктов, а именно действием 2-х кратного избытка алкилгалогенидов с последующим разделением полученных продуктов за счет их разной растворимости.

На следующем этапе с использованием молекулярного докинга диссертантом была оценена биологическая активность полученных соединений, в частности противовоспалительная активность. Анализу были подвергнуты 17 протестированных соединений из которых соединения **28b** (**26b** в автореферате), **28c** (**26c** в автореферате), 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, сопоставимыми с аналогичными

характеристиками для референсных ингибиторов данных ферментов: препаратами «Диклофенак», «Флурбипрофен», «Целекоксиб». Сходимость данных молекулярного докинга далее была диссертантом подтверждена экспериментами по выявлению противовоспалительной активности на моделях воспаления, вызванных формалином, каррагинаном, лидокаином и яичным белком. В частности, в отношении 4 моделей воспаления лапок белых мышей способность соединения **26b (27b)** угнетать % воспаления варьируется в интервале 29-36%, а для соединения **26c (27c)** – 27-35%.

Все это подтверждает высокую практическую значимость исследования, так как по итогам работы были выявлены реальные кандидаты для создания эффективных противовоспалительных препаратов.

Также были проведены исследования новых производных урацила в отношении гепатопротекторной активности на клетках гепатоцитов мышей, затравленных тетрахлорметаном. Соединения **37a (38a)**, **38c (39c)** показали высокую гепатопротекторную активность и выживаемость отравленных тетрачлорметаном гепатоцитов мышей, под действием соединения **37a (38a)** составляла 90%, **38 c (39c)** – 78%.

На заключительном этапе диссертантом была оценена антиоксидантная активность производных урацила. Наиболее подходящим оказался метод, основанный на ингибировании свободного радикала 2,2'-дифенил-пикрилгидразида (ДФПГ), и с использованием данного подхода был исследован ряд синтезированных производных урацила. По результатам расчета IC_{50} диссертантом была проведена оценка взаимосвязи «структура – активность» и было показано, что введение электронодонорной группы в положение С5 урацила повышает антиоксидантную активность соединения. Путем сравнения результатов, изученных известными методами, а именно моделями окисления с помощью 1,4-диоксана и изопропилового спирта, диссертантом была обнаружена высокая сопоставимость результатов, что позволяет использовать метод ингибирования свободного радикала 2,2'-дифенил-пикрилгидразида производными урацила, как экспресс-тест для выявления антиоксидантной активности.

Научная новизна и теоретическая значимость проведенного исследования заключается в следующем:

Разработаны две модификации реакции персульфатного окисления ароматических азотсодержащих карбо- и гетероциклов по Эльбсу и Бойленду-Симсу: внесением фталоцианиновых катализаторов окисления, а также использованием бинарной смеси персульфат аммония-пероксид водорода, позволяющие значительно увеличить выходы промежуточных и целевых продуктов. Предложен механизм каталитического варианта персульфатного окисления. Найдены оптимальные условия получения некоторых практически полезных соединений – 5-гидрокси-6-метилурацила, 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацила, пара-аминофенола, 2-гидроксипиридина, 3-гидроксихинолина, 2-гидрокси-3-метилиндола. Обнаружена зависимость образования орто- и пара-аминофенолов от продолжительности реакции окисления анилина. Предложена роль пероксида водорода, заключающаяся в

генерации кислорода, а также способствующего рекомбинации сульфат-ионов в персульфат для возобновления процесса окисления.

Практическая значимость Разработан эффективный синтез 5-гидрокси-6-метилурацила, 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацила, пара-аминофенола, 2-гидроксипиридина, 3-гидроксихинолина и 2-гидрокси-3-метилиндола. Предложен вероятный механизм персульфатного окисления азотсодержащих гетероциклов в присутствии фталоцианиновых катализаторов, а также влияние бинарной окислительной смеси (персульфат аммония – пероксид водорода) на выход целевых продуктов.

Разработан лабораторный регламент получения 5-гидрокси-6-метилурацила.

Используя синтетический потенциал 5-амино- и 5-гидрокси-6-метилурацила, разработан ряд синтезов фармакологически активных производных урацила – конъюгатов с аминокислотами и алкилзамещенных соединений.

Предложен доступный метод первичного скрининга антиоксидантной активности производных урацила - метод ингибирования свободного радикала 2,2'-дифенилпикрилгидразида, позволяющий отбирать перспективные для дальнейших исследований соединения.

Публикации

Диссертационный материал полностью отражен в автореферате, а также в 5 опубликованных статьях по тематике диссертации, 11 патентов РФ и в виде 25 тезисов докладов на российских и международных конференциях.

В целом диссертационное исследование изложено хорошо, но при прочтении диссертации возник **ряд замечаний и вопросов.**

1. По оформлению диссертации и автореферата:

- Глава 1 (литературный обзор) не имеет названия
- В диссертации присутствует одна и та же нумерация в главах 1 и 2, что вводит читателя в заблуждение. По нашему мнению, было удобно при нумерации соединений использовать, например, номер главы.
- В тексте диссертации в схеме 1.39 у продукта дегидратации **117** отсутствует двойная связь.
- Отсутствуют условия реакций в литературном обзоре в диссертации в схемах 1.1, 1.3-1.13, 1.15-1.19, 1.22-1.27 и т.д.
- Для поднумерации соединений использован латинский алфавит.
- В разделе 1.2.7. изложение материала по галогенированию урацилов построен достаточно сумбурно без четкого деления материала по природе введенного галогена.
- В разделе «Публикации» автореферата и диссертации упомянуты 42 публикации, в которых изложено содержание работы, тогда как в автореферате приведена 41 публикация.

2. По содержанию диссертации:

– В обсуждении результатов вместо распространенного и понятного названия 2-хлорэтанол (2-хлорэтиловый спирт) диссертантом использован менее употребимое и малопонятный термин этиленхлоргидрин.

- В таблице 2.35 диссертации (таблица 4 автореферат) результаты оценки антиоксидантной активности методом ДФПГ и моделями окисления с помощью 1,4-диоксана и изопропилового спирта приведены в разной размерности и малоинформативны.

- Присутствуют несогласованные предложения в тексте диссертации: стр. 36, вторая строка сверху; стр. 37, третья строка снизу после схемы 1.41; а также в тексте автореферата:

- Используются ненаучные термины, например стр. 7 диссертации, 8 строка сверху (с. 4 автореферат) «Химия урацилов разработана...» (правильнее писать «Химические превращения урацилов исследованы...»), стр. 111, 2 строка снизу, стр. 112, 14 строка сверху, стр. 116 стр. 4 строка снизу, стр. 117, 12 строка сверху и т.д. диссертации «бутаноловые фракции» (правильнее писать «фракции на основе бутанола»).

- В экспериментальной части отсутствуют данные элементного анализа для соединений **8, 21, 28a-f, 30a-f, 32a-c, 33a-c, 35a-b, 36-a-c** и т.д.

- В экспериментальной части к разделам 3.7-3.10 нет данных элементного анализа и масс-спектрометрии синтезированных соединений.

- В схеме 2.16 отсутствует нумерация соединений.

- Для наглядности в разделе 2 для ключевых продуктов желательно было привести картинки ЯМР ¹H спектров, либо добавить таковые в приложение.

3. Вопросы по существу:

1. Для введения гидроксиэтильного фрагмента в урацилы диссертантом исследовался 2-хлорэтанол и продукты N3- и N1-алкилирования были выделены в соотношении 6:1. Почему диссертантом не исследовались влияние других производных 2-галогенэтанола, которые могут быть легко получены *in situ* путем реакции Финкельштейна (взаимодействием 2-хлорэтанола с галогенидами натрия или калия) на соотношение продуктов алкилирования?

2. Изучались ли диссертантом возможности введению в урацилы более длинных линкеров для последующей конъюгации с аминокислотами, а также, например, фрагментов многоядерных спиртов, сахаров с целью получения т.н. аномальных нуклеозидов?

3. Каковы по мнению диссертанта перспективы промышленного внедрения предложенных в работе методов персульфатного окисления урацилов?

Необходимо отметить, что замечания и вопросы носят лишь частный и/или дискуссионный характер и нисколько не умаляют очевидных достоинств настоящей диссертационной работы.

С содержанием данной диссертации следует ознакомить Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН (г. Москва), Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, Санкт-Петербургский государственный университет, химический факультет, Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН (г. Екатеринбург), Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН (г. Иркутск), Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН (г. Новосибирск) и т.д.

Диссертационная работа Хазимуллиной Юлии Зулькифовны «ПЕРСУЛЬФАТНОЕ ОКИСЛЕНИЕ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРО- И КАРБОЦИКЛОВ В СИНТЕЗЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ» является законченной научно-квалификационной работой, которая отличается научной новизной, выполнена на хорошем теоретическом и экспериментальном уровне с привлечением всех необходимых современных физико-химических методов анализа. Достоверность полученных диссертантом данных и научных результатов не вызывает сомнений. Автореферат полноценно отражает содержание диссертации и проведенного исследования. Результаты исследования в 38 публикациях, из них 25 тезисов докладов, 11 патентов РФ и 5 статей в рецензируемых журналах, соответствующих требованиям ВАК РФ, предъявляемым к журналам, в которых должны быть опубликованы основные результаты работ. Тема и содержание диссертационной работы Хазимуллиной Ю.З. соответствуют паспорту специальности 1.4.3. Органическая химия: п.1 «...выделение и очистка новых соединений», п.3 «...развитие рациональных путей синтеза сложных молекул».

По актуальности темы, объему выполненных исследований, новизне полученных результатов, методам исследования и практической значимости диссертационная работа Хазимуллиной Юлии Зулькифовны «ПЕРСУЛЬФАТНОЕ ОКИСЛЕНИЕ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРО- И КАРБОЦИКЛОВ В СИНТЕЗЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ» полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям. В диссертационной работе содержится решение актуальной задачи, связанной с разработкой эффективных методов окисления азотсодержащих гетеро- и карбоциклов для синтеза биологически активных соединений, что имеет существенное значение для развития органической химии, диссертант, Хазимуллина Юлия Зулькифовна, заслуживает присуждения ей

ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. Органическая химия.

Настоящий отзыв рассмотрен и утвержден на семинаре кафедры органической и биомолекулярной химии ХТИ УрФУ и Научно-образовательного и инновационного центра химико-фармацевтических технологий ХТИ УрФУ. Протокол № 3 от 10.04.2024 г.

16.04.2024 г.

Утепова Ирина Александровна

Доктор химических наук (02.00.03 – Органическая химия)

Должность: Профессор кафедры органической и биомолекулярной химии ХТИ УрФУ

Адрес: 620002, Свердловская область, город Екатеринбург, улица Мира, дом 19

Телефон: +7(343) 3754501

Адрес электронной почты: i.a.utepova@urfu.ru

Русинов Владимир Леонидович

Доктор химических наук (02.00.03 – Органическая химия)

Должность: Заведующий кафедрой органической и биомолекулярной химии ХТИ УрФУ

Адрес: 620002, Свердловская область, город Екатеринбург, улица Мира, дом 19

Телефон: +7(343) 3754501

Адрес электронной почты: v.l.rusinov@urfu.ru

Наименование организации:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина».

Адрес: 620002, Свердловская область, город Екатеринбург, улица Мира, дом 19

Телефон+ 7 (343) 375-45-07

Адрес электронной почты организации: rector@urfu.ru

Адрес официального сайта организации: <https://urfu.ru>

Мы, Утепова Ирина Александровна и Русинов Владимир Леонидович, согласны на включение наших персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета 24.2.312.03, и их дальнейшую обработку.

Подпись Утеповой И.А. и Русинова В.Л. заверяю:

УЧЁНЫЙ СЕКРЕТАРЬ
УРФУ
МОРОЗОВА В.А.

