

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Хазимуллиной Юлии Зулькифовны «Персульфатное окисление азотсодержащих гетеро- и карбоциклов в синтезе биологически активных соединений», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности

### 1.4.3. Органическая химия

Диссертационная работа Хазимуллиной Юлии Зулькифовны посвящена разработке эффективных методов персульфатного окисления азотсодержащих гетеро- и карбоциклов с выходом к биологически активным соединениям. Известно, что азотсодержащие гетеро- и карбоциклические соединения, включающие в свой состав гидроксильную группу, проявляют высокую фармакологическую активность. Удобным методом введения -ОН группы является реакция персульфатного окисления, используемая в получении производных класса фенола, ароматических аминов, пиридина и урацила. Основания рибонуклеиновой кислоты представляют собой биологически активные соединения с широким спектром активности (5-фторурацил – противоопухолевый препарат; 6-метилурацил – иммуномодулятор, ускоряющий процессы клеточной регенерации, стимулирующий клеточные факторы защиты и оказывающий противовоспалительное действие; 3'-азидо-3'-дезокситимидин и 2',3'-дидезокси-2',3'-дидегидротимидин – противовирусные препараты, нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы ВИЧ и др.). Введение гидроксильной группы в молекулу урацила в большинстве случаев приводит к образованию 5-гидрокси-6-метилурацила, который проявляет более широкий спектр фармакологической активности в сравнении с 6-метилурацилом. В ряду карбоциклов известен лекарственный препарат – парацетамол (производное анилина). Таким образом, синтез и разработка эффективных методов введения гидроксильных групп в гетеро- и карбоциклы и изучение их биологических свойств, являются **актуальными задачами**.

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 Хазимуллиной Ю.З. имеет классическую структуру и состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов диссертанта, экспериментальной

части, выводов по работе, списка литературы, содержащего 155 наименований, и списка сокращений. Диссертация изложена на 155 страницах, включает в себя 35 таблиц, 85 схем, 6 рисунков. Представленная автором диссертационная работа оформлена в соответствии с требованиями ВАК РФ.

Первая глава представляет собой обзор современной литературы по окислению урацила и его производных, в частности персульфатному окислению, а также способам модификации урацила (N-алкилирование, N-аллилирование, получение феноксикалпроизводных, алкоксикалпроизводных, 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 методам получения 5-гидрокси-6-метилурацила и 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацила, разработке персульфатного окисления гетероциклов (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 C<sup>5</sup>-гидрокси- и C<sup>5</sup>-аминобензоил-6-метилурацилов, описанию подбора первичного скрининга 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. Третий способ оказался самым эффективным, однако диссертантом фиксировался низкий выход промежуточного соединения 6-метилурацил-5-аммонийсульфата (~20%), что потребовало дальнейшего поиска условий окисления.

Модификацию условий окисления 6-метилурацила проводили путем добавления в реакционную массу фталоцианиновых катализаторов Co, Fe(II), Fe(III), Mn, Ni и Zn в различных концентрациях. Из всех исследованных катализаторов наибольшую активность проявили фталоцианины на основе Fe(II), Co и Fe(III) (0,01-0,05 мас.%): выход 5-гидрокси-6-метилурацила достигал 82-95%, наименьшая активность наблюдалась при использовании фталоцианина Zn (0,05 мас.%), и целевой продукт был получен с выходом до 72%. Хазимуллиной Ю.З. 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 Хазимуллиной Ю.З. был предложен еще один эффективный способ персульфатного окисления, предполагающий использование двух окисляющих агентов – персульфата аммония и пероксида водорода при интенсивном перемешивании. 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 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 – при каталитическом варианте персульфатного окисления наибольшая активность наблюдалась при введении фталоцианинов Fe(II), Co и Fe(III) (0,01-0,05 мас.%) с выходом целевого продукта 81-85%. Наименее активным в изученных условиях оказался фталоцианин Zn (0,05 мас.%) с выходом целевого продукта до 63%. Представлен ряд уменьшения активности катализаторов:  $\Phi_{ц} Fe(II) > \Phi_{ц} Co > \Phi_{ц} Fe(III) > \Phi_{ц} Mn > \Phi_{ц} Ni > \Phi_{ц} Zn$ . В условиях персульфатного окисления 1,3,6-триметилурацила с бинарной смесью окислителей персульфат аммония – пероксид водорода 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%.

Далее используя эффективную модификацию реакции Эльбса, диссертант успешно распространил ее на ряд других гетероциклов. Так, на примере незамещенного пиридина была продемонстрирована применимость реакции персульфатного окисления и в отсутствие катализаторов, при комнатной температуре, посредством образования промежуточного соединения 2-пиридинилсульфата, был получен 2-гидроксипиридин с выходом 25%. Затем, условия реакции Хазимуллиной Ю.З. были усовершенствованы и в условиях окислением персульфатом аммония при 45 °С, окислением в аналогичных условиях с добавлением фталоцианиновых катализаторов на основе Co, Fe(II), Fe(III), Mn, Zn, Ni, а также окислением бинарной смесью персульфат аммония–пероксид водорода при интенсивном

перемешивании, во втором случае наблюдался максимально высокий выход 2-гидроксипиридина (81%). Продемонстрирована применимость дальнейшего персульфатного окисления 2-гидроксипиридина для получения 2,5-дигидроксипиридина. Максимальный выход (72%) наблюдался при использовании фталоцианина Со (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 реализованы впервые.

Хазимуллиной Ю.З. показано, что применение персульфатного окисления к хинолину привело к образованию 3-гидроксихинолина при оптимальных условиях в присутствии фталоцианина Со (0,02 мас.%) при 45 °С или под действием бинарной смеси персульфат аммония (ПСА) – пероксид водорода (мольное соотношение хинолин:NaOH:ПСА:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1:3:1.5:2) выходами 8%, 49% и 53% соответственно.

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

Ввиду высокой практической важности разработки способов получения *para*-аминофенолов, Хазимуллиной Ю.З. было исследовано персульфатное окисление анилина. Согласно имеющимся литературным данным, данная реакция в стандартных условиях протекает с низким выходом (9%) и 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 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. Хазимуллиной Ю.З. были получены максимальные выходы как промежуточных продуктов (до 93%), так и продуктов гидролиза (до 85%). При этом увеличение дополнительного окислителя приводило к глубокому окислению и понижению выхода целевых продуктов.

Синтез гибридных молекул производных урацила аминокислотами является перспективным путем для конструирования новых соединений с улучшенными фармакологическими свойствами. В связи с этим Хазимуллиной Ю.З. были модифицированы некоторые синтезированные производные урацила посредством хлорангидридного и карбодиимидного подхода. На первом этапе диссертантом было осуществлено введение в 5-гидрокси- и 5-амино-1,3,6-триметилурацил хлорангидридов

аминокислот с N-фталильной защитной группой с образованием соответствующих эфиров или амидов аминокислот с выходами 48-96% и 56-87%, соответственно. Выбранный диссертантом подход для создания биоактивных производных урацила 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*.

Хазимуллиной Ю.З. 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.

Диссертантом была рассмотрена возможность получения соединений на основе производных аминокислот, присоединенных к 6-метилурацилу посредством линкеров в положениях N<sup>1</sup>, N<sup>3</sup>. Для этого было осуществлено взаимодействие 6-метилурацила с этиленхлоргидрином, приводящее в соотношении 1:6 к образованию N<sup>1</sup>-(2-гидроксиэтил)- и N<sup>3</sup>-(2-гидроксиэтил)-6-метилурацила, последний продукт путем ранее описанного карбодиимидного подхода превращали в конъюгаты N-Вос-защищенных аминокислот с выходом 67-79%.

В заключение диссертантом был получен ряд N<sup>1</sup>, N<sup>3</sup>-диалкил-5-гидрокси- и 5-аминобензоилурацилов посредством N-алкилирования 5-гидрокси-, 5-амино-6-метилурацилов с предварительно защищенными посредством бензоилирования функциональными группами в положении C<sup>5</sup>, обладающих гепатопротекторной активностью *in vitro*. Несмотря на то, что алкилирование вышеописанных урацилов в среде ДМФА в присутствии K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 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.

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 R<sup>3</sup> 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 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%.

Полученные результаты подтверждают высокую практическую значимость исследования.

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 тетрахлорметаном гепатоцитов мышей, под действием соединения **37a (38a)** – 90%, **38 c (39c)** – 78%.

На заключительном этапе Хазимуллиной Ю.З. была оценена антиоксидантная активность производных урацила. Наиболее подходящим оказался метод, основанный на ингибировании свободного радикала 2,2'-дифенил-пикрилгидразида (ДФПГ). С использованием данного подхода был исследован ряд синтезированных производных урацила. По результатам расчета  $IC_{50}$  была проведена оценка взаимосвязи «структура – активность» и было показано влияние протонодонорной группы в положении  $C^5$  урацила на повышение антиоксидантной активности соединения. Путем сравнения результатов, изученных моделями окисления с помощью 1,4-диоксана и изопропилового спирта, 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 работы**

Разработаны две модификации реакции персульфатного окисления ароматических азотсодержащих карбо- и гетероциклов по Эльбсу и Бойленду-Симсу: внесением катализаторов окисления фталоцианинов различных металлов, а также использованием бинарной смеси окислителей 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 работы**

Разработан эффективный метод синтеза 5-гидрокси-6-метилурацила, 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацила, *para*-аминофенола, 2-гидроксипиридина, 3-гидроксихинолина и 2-гидрокси-3-метилиндола. Предложен вероятный механизм персульфатного окисления азотсодержащих гетероциклов в присутствии фталоцианиновых катализаторов, а также выявлено 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 экспресс-тестирования антиоксидантной активности производных урацила – метод ингибирования свободного радикала 2,2'-дифенилшикрилгидразида, позволяющий отбирать перспективные для дальнейших исследований соединения, симбатный с результатами известных моделей изучения данного вида активности.

## **Степень обоснованности выводов и достоверность полученных результатов**

Сделанные в результате диссертационного исследования научные выводы и положения, выносимые на защиту, обоснованы наличием огромного количества экспериментальных данных. Диссертантом проделана большая синтетическая работа, которая логично структурирована. Состав и строение новых синтезированных соединений надежно доказаны с применением современных физико-химических методов идентификаций органических молекул, что не вызывает сомнений о достоверности полученных результатов.

Диссертационный материал полностью отражен в автореферате, а также в 5 опубликованных статьях по тематике диссертации, 11 патентах РФ и в 25 тезисах докладов российских и международных конференций.

По диссертационной работе имеются следующие **вопросы и замечания**:

- Проводился ли диссертантом поиск лучших условий для процесса окисления 3-метилиндола в присутствии бинарной смеси окислителей? Каковы результаты?
- В чем причина изменения направления окисления в случае хинолина?
- Наблюдались ли продукты эпоксидирования урацила при обработке пероксидом водорода?
- Проводились ли попытки введения дипептидов в молекулы производных урацила?
- В тексте диссертации в схеме 1.39 у соединения 117 отсутствует двойная связь.

- Глава 1 (литературный обзор) не имеет названия.
- 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.
- 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.
- В схеме 2.16 отсутствует нумерация соединений.
- В тексте диссертации встречаются ненаучные термины, например, на стр. 7, строка 8 сверху (с. 4 в автореферате) «Химия урацилов разработана...» (правильнее писать «Химические превращения урацилов исследованы ...»), стр. 111, строка 2 снизу, стр 112, строка 14 сверху, стр. 116 стр. строка 4 снизу, стр. 117, строка 12 сверху и т.д. диссертации «бутаноловые фракции» (правильнее писать «фракции на основе бутанола»).

Указанные замечания не являются принципиальными и не снижают качества и значимости работы.

С содержанием данной диссертации следует ознакомить Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН (г. Москва), химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, химический факультет Санкт-Петербургского государственного университета, 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.

### **Заключение**

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. 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



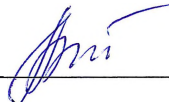
Хазимуллиной Юлии Зулькифовны «Персульфатное окисление азотсодержащих гетеро- и карбоциклов в синтезе биологически активных соединений» полностью соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (в действующей 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.

Оппонент Раскильдина Гульнара Зинуровна

д-р хим. наук, (02.00.03 – Органическая химия, 02.00.13 – Нефтехимия), доцент, профессор кафедры общей, аналитической и прикладной химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Уфимский государственный нефтяной технический университет» (ФГБОУ ВО УГНТУ)

E-mail: graskildina444@mail.ru,

тел.: +7 (347) 242-08-54.

 «14» 05 2024 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уфимский государственный нефтяной технический университет» (ФГБОУ ВО УГНТУ)

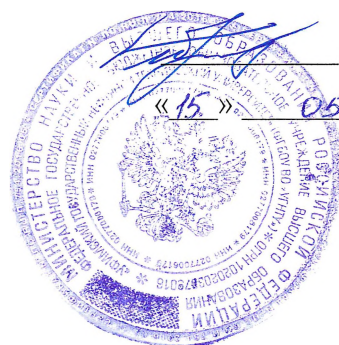
Адрес организации: Российская Федерация, 450064, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1

E-mail: info@rusoil.net; тел.: +7 (347) 242-03-70.

Сайт организации: www.rusoil.net

Подпись Раскильдиной Гульнары Зинуровны заверяю:

Проректор по научной и инновационной  
работе УГНТУ



/ И.Г. Ибрагимов

«15» 05 2024 г.