

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Тольяттинский государственный университет»

Институт химии и энергетики

(наименование института полностью)

Центр медицинской химии

(наименование)

04.03.01 Химия

(код и наименование направления подготовки, специальности)

Медицинская и фармацевтическая химия

(направленность (профиль) / специализация)

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА (БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА)

на тему Синтез и флуоресцентные свойства пиразолиновых производных изоксазола

Студент

Г.И. Сивцов

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

Руководитель

к.х.н., С.А. Калинин

(ученая степень, звание, И.О. Фамилия)

Консультант

д.х.н., доцент, А.А. Голованов

(ученая степень, звание, И.О. Фамилия)

Тольятти 2022

Аннотация

Название дипломной работы - «Синтез и флуоресцентные свойства пиразолиновых производных изоксазола».

Целью данной работы является синтез нового 5-(4,5-дигидро-1H-пиразол-3-ил)изоксазола.

Дипломная работа состоит из введения, 3 глав, заключения.

Выпускная квалификационная работа изложена на 62 страницах, включает 4 рисунка, 3 таблицы, 49 схем, использовано 49 литературных источников.

Первая часть работы содержит подробную информацию о методах получения бисгетероциклических соединений. Особое внимание было уделено синтезу соединений, содержащих пятичленные циклы с атомами азота.

Вторая часть проекта включает описание нового подхода к синтезу пиразолиновых производных изоксазола с указанием данных ЯМР спектроскопии на двух ядрах: ^1H и ^{13}C , исследования флуоресценции и биологические испытания.

В третьей части работы описаны общие методы синтезов исходных и целевых веществ, исследования флуоресценции и биологических испытаний.

Abstract

The title of the graduation work is « Synthesis and fluorescent properties of pyrazoline derivatives of isoxazole ».

The aim of this work is to create new 5-(4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)isoxazole.

The graduation project consists of an introduction, 3 chapters, a conclusion, an explanatory note on 62 pages, including 4 figures, 3 table, 49 schemes, the list of 49 references.

The first part of the project provides detailed information on methods for obtaining bis heterocyclic compounds

The second part of the project includes a description of a new approach to the synthesis of various pyrazolines with the indication of NMR spectroscopy data on two nuclei: ^1H and ^{13}C .

The third part of the project is related to the description of general methods for the synthesis of starting and target substances.

Содержание

Введение	6
1 Литературный обзор.....	7
1.1 Синтез бисгетероциклических соединений, содержащих азот и серу	7
1.2 Синтез бисгетероциклических соединений, содержащих атомы азота .	12
1.3 Синтез соединений, содержащих пяти- и шестичленные гетероциклы.	24
1.4 Синтез полигетероциклических соединений	29
1.5 Синтез производных пиразола	34
2 Результаты и их обсуждение	37
2.1 Синтез исходных соединений.....	37
2.2 Синтез целевых соединений	41
2.3 Исследование флуоресценции.....	43
2.4 Биологические испытания	45
3 Экспериментальная часть	47
3.1 Реагенты и оборудование.....	47
3.2 Синтез исходных соединений.....	48
3.3 Синтез целевых соединений	51
3.4 Исследование флуоресценции	54
3.5 Биологические исследования	54
Заключение	56
Список используемой литературы	57

Принятые сокращения

Вос	<i>трет</i> -бутилоксикарбонил
CL-20	гексанитрогексаазаизовюрцитан
DMF	диметилформаид
DPPF	1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен
ET	эссенциальной тромбоцитемией
HOSA	гидроксиламиносульфоновой кислоты
LDA	диметилформаид
JAK	янус-киназа
MF	первичным миелофиброзом
MPDs	миелопролиферативными нарушениями
Ni _R	никиль ренея
PS-DIEA	<i>N,N</i> -(диизопропил)аминометилполистирол
PV	истинной полицитемией
TBAF	фторид тетрабутиламмония
TFA	трифторуксусная кислота
TFAA	трифторуксусной кислоты ангидрид
THF	тетрагидрофуран
TMS	триметилсилил
TYK2	тирозинкиназа 2

Введение

Синтез соединений, содержащих различные азотсодержащие бисгетероциклические фрагменты, является перспективным направлением изучения во многих отраслях. Производные изоксазола широко используют в синтезе лекарственных средств, например, антибиотиков циклосерина, оксациллина, клоксациллина, обладают высокой антиоксидантной активностью. Имидазо[1,2-*b*]тиазолы были исследованы в качестве ингибиторов митохондриальной дегидрогеназы, противоопухолевых, противомикробных, антидепрессантов и противококковых агентов [1-3]. Производные бипиразола используются в качестве молекулярных магнитных датчиков, ингибиторов коррозии стали [4,5]. соединения в структуре которых содержится пиразолин обладают широким спектром биологической активности. Они проявляют себя в качестве ингибиторов моноаминоксидазы млекопитающих, демонстрируют высокую цитотоксическую активность против различных линий раковых клеток, обладают различными выдающимися фармакологическими эффектами: противоопухолевой и противовоспалительной активностями [6].

Цель работы:

Разработать подход и синтезировать новую серию пиразолиновых производных изоксазолов, исследовать флуоресцентную и цитотоксическую активность соединений.

Задачи работы:

Исследовать подходы к получению бисгетероциклических соединений на основе пиразола и изоксазола.

Разработать методику для получения бисгетероциклических систем.

Синтезировать и исследовать флуоресцентную активность серии целевых соединений.

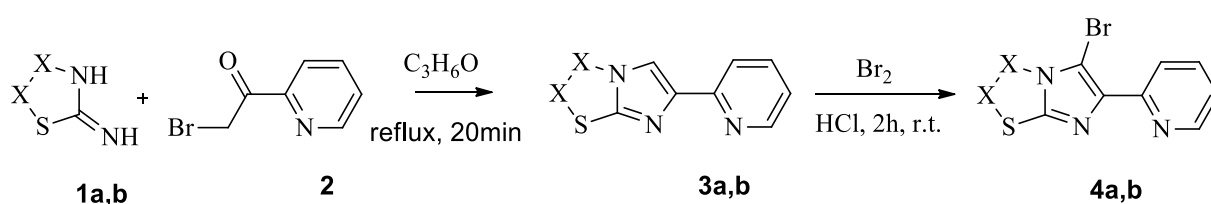
Провести проверку цитотоксических свойств, полученных пиразолилизоксазолов.

1 Литературный обзор

1.1 Синтез бисгетероциклических соединений, содержащих азот и серу

В последнее время биологическая активность имидазо[2,1-*b*]тиазолов и их производных привлекают значительное внимание ученых, поскольку производные имидазотиазола обладают активностью в отношении клеток меланомы [7]. Производные 3-(фениламино)-1-(6-фенилимидазо[2,1-*b*]тиазол-5-ил)проп-2-ен-1-онов проявляют себя в качестве ингибиторов полимеризации тубулина на фазе G₂/M [8]. Имидазо[2,1-*b*]тиазол является ключевым фрагментом известного глистогонного и иммуномодулирующего средства левамизола. Левамизол использовался для лечения паразитарных глистных инфекций и был изучен в комбинации с другими формами химиотерапии рака толстой кишки, меланомы, рака головы и шеи [9]. Имидазотиазолы проявляют противомикробную и цитотоксическую активности. В статье [10] описан синтез имидазо[2,1-*b*]тиазолов. 2-аминотиазол **1a** и 2-амино-2-тиазолин **1b** ввели в реакцию с бромацетилпиридином **2**, вследствие чего образовались соответствующие соединения **3a,b**, которые затем бромировали в хлороформе при комнатной температуре и получили соответствующие 5-бромимидазо[2,1-*b*]тиазолы **4a,b** (схема 1).

Схема 1



1a: X=CH
1b: X=CH₂

Аналогичным образом получили соединения **7a-c** при обработке исходных аминов **1a,b** замещенными галогенацетилпиридинами **5a-c** последующим бромированием, что показано на схеме 2. При этом предполагаемого имидазотиазола **6d** из амина **15** не образовалось. На схеме 3 показано, как с помощью этой же реакции получили имидазо[2,1-*b*]тиазолы **9a,b**. Затем их ввели в реакцию Вильсмейера-Хаака, что дало соответствующие альдегиды **10a,b**, которые окислили перманганатом калия до соответствующих кислот **11a,b**.

Схема 2

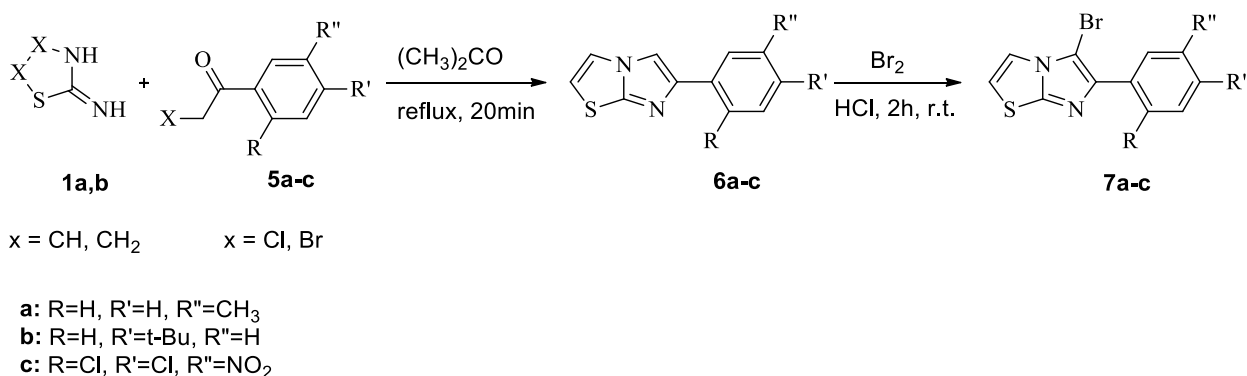
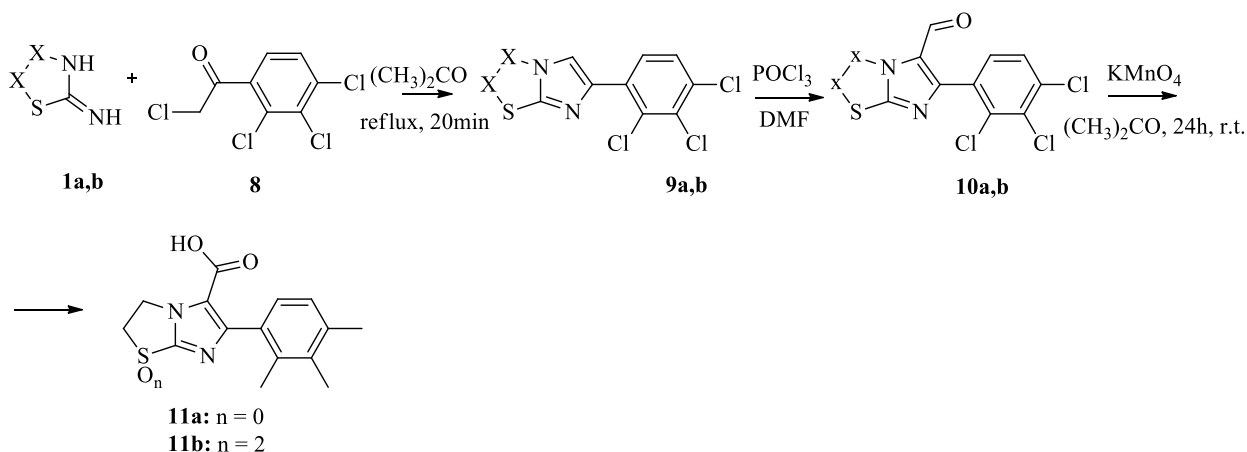
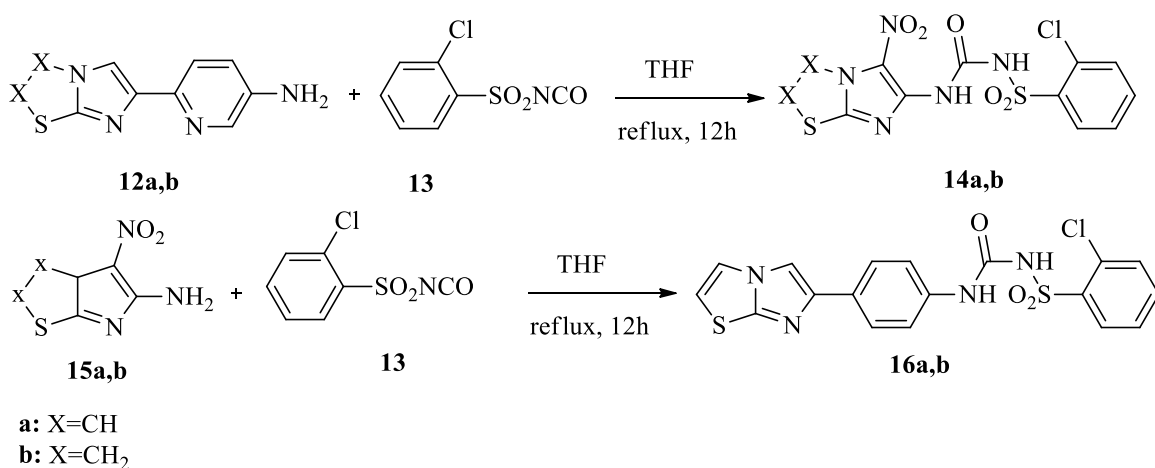


Схема 3



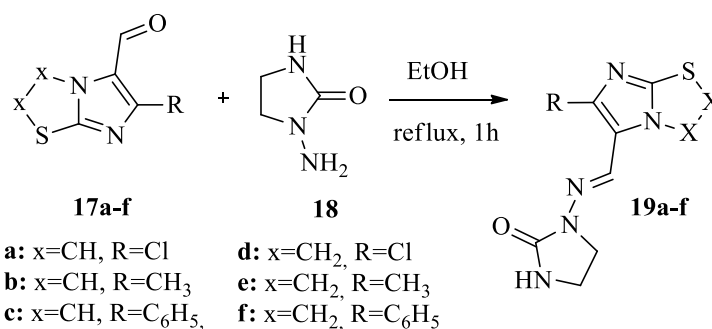
Кроме того, были изучены реакции получения производных сульфонилмочевины **14a,b** и **16a,b**, синтез которых показан на схеме 4. Исходные амины **12a,b** либо анилины **15a,b** обработали 2-хлорбензолсульфонилизотиоцианатом **13**. Реакция имидазо[2,1-*b*]тиазола **12a** и анилина **15a** давали ожидаемые соединения **14a** и **16a**. В аналогичных превращениях с гидрированными производными искомые соединения **14b** и **16b** образовались в небольших количествах.

Схема 4



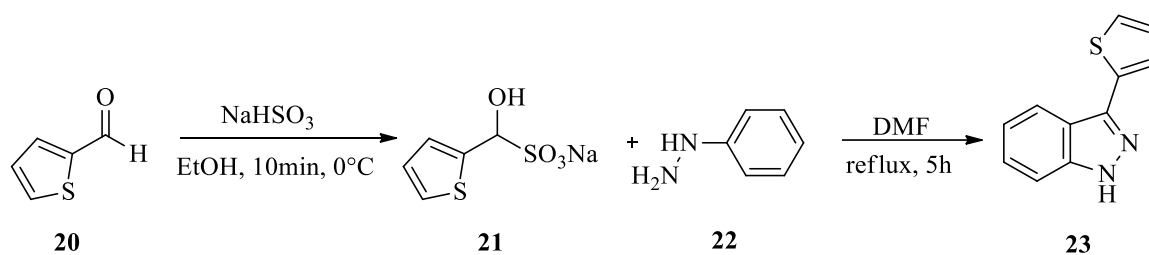
Имидазо[2,1-*b*]тиазолы **19a-f** получили путем обработки карбальдегидов **17a-f** имидазолидин-2-оном **18** в этаноле с выходами 75-80% (схема 5).

Схема 5



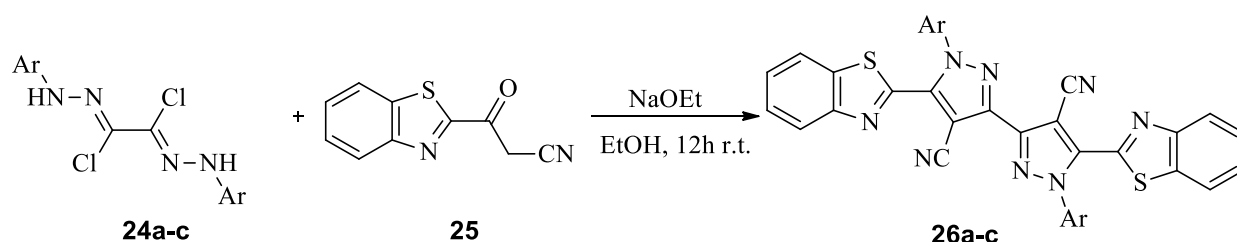
В статье [11] предложена общая и удобная методика синтеза 3-арилзамещенных индазолов. Соединение **23** было синтезировано в две стадии, что показано на схеме 6. На первой стадии альдегид **20** обработали гидросульфитом натрия с получением соответствующего производного **21**. Затем его кипятили с фенилгидразином в DMF, что привело к образованию целевого имидазола **23** с выходом 74%.

Схема 6



Производные триадиазолов используются в качестве термотропных жидких кристаллов [12]. В работе [13] бис-гидразоноилхлориды **24a-c** обработали пропонирилом **25** в этилате натрия и этаноле, что дало производные бипиразола **26a-c** с выходами 85%, 73% и 87% соответственно (схема 7).

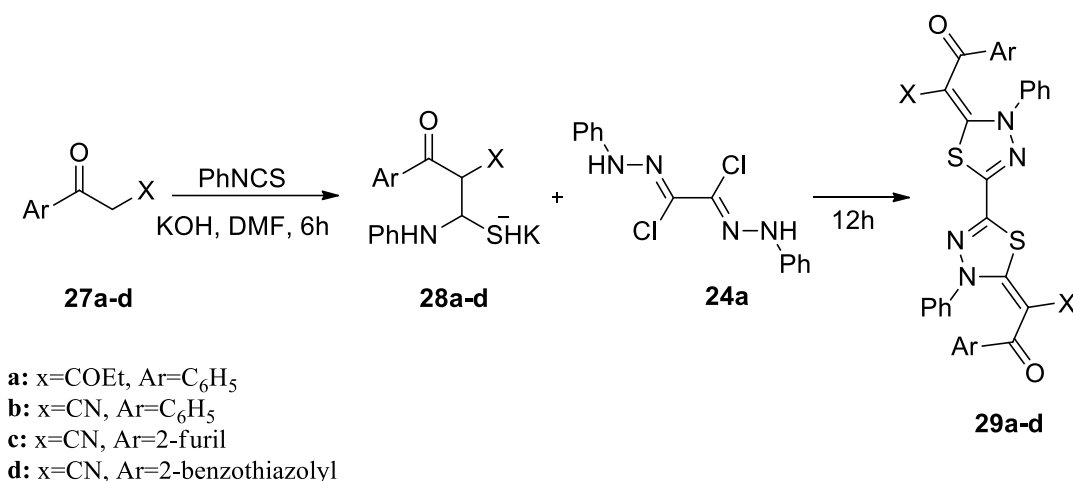
Схема 7



- a:** Ar = C₆H₅
b: Ar = 4-CH₃C₆H₄
c: Ar = 4-ClC₆H₄

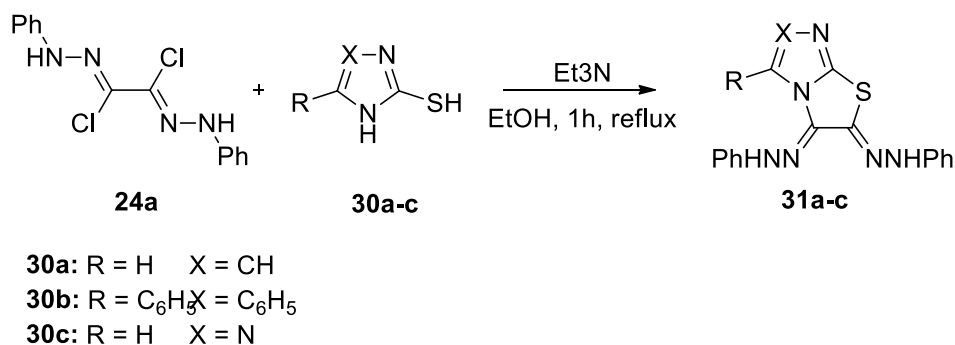
Кроме того, была исследована циклизация бис-гидразоноилхлорида **24a** с нуклеофилами **28a-d** в результате которой, образовались соответствующие тиадиазолы **29a-d** с выходами: **a** 66%, **b** 74%, **c** 62%, **d** 77%, что показано на схеме 8. Соединения **28a-d** были получены из кетонов **27a-d** при действии на них фенилизотиоцианата в присутствии гидроксида калия.

Схема 8



Наряду с этим получили серию имидазотиазолов **31a-c**. Гидразон **24a** обработали производными 2-меркаптоимидазола **30a-c** и триэтиламино в этаноле при кипячении. Элементный анализ и спектральные данные показали, что продукт реакции является следствием циклоконденсации (схема 9).

Схема 9

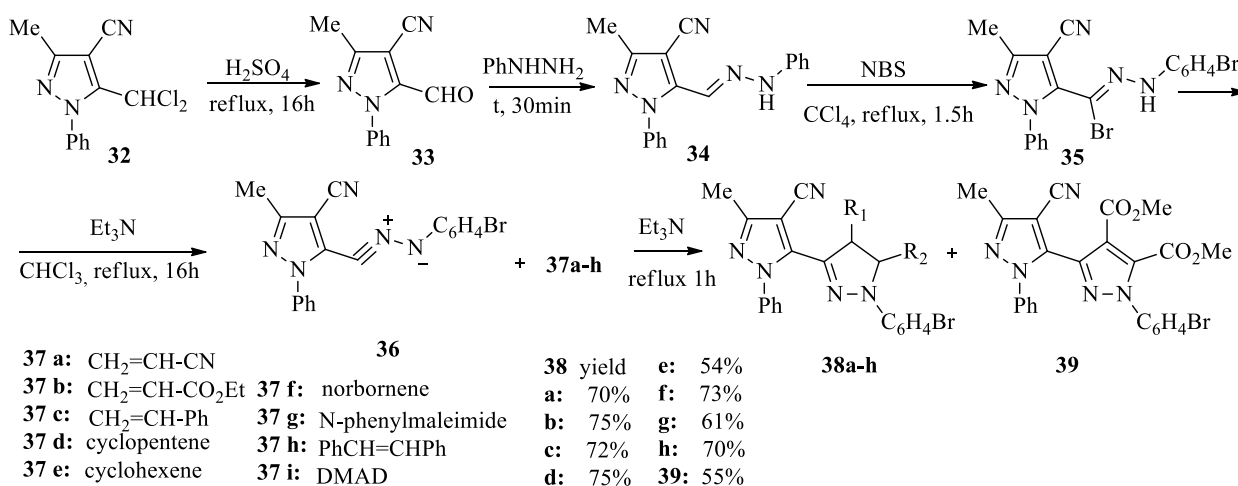


1.2 Синтез бисгетероциклических соединений, содержащих атомы азота

Производные бипиразола используются в качестве супрамолекулярных комплексов, которые являются перспективными в разработке молекулярных магнетиков [14], ингибиторов коррозии стали [15] и в качестве лигандов для образования комплексов рутения в реакциях гидрирования [16]. Сообщалось также, что бипиразолы обладают противоопухолевой [17], цитотоксической [18] активностями и являются поглотителями свободных радикалов [19].

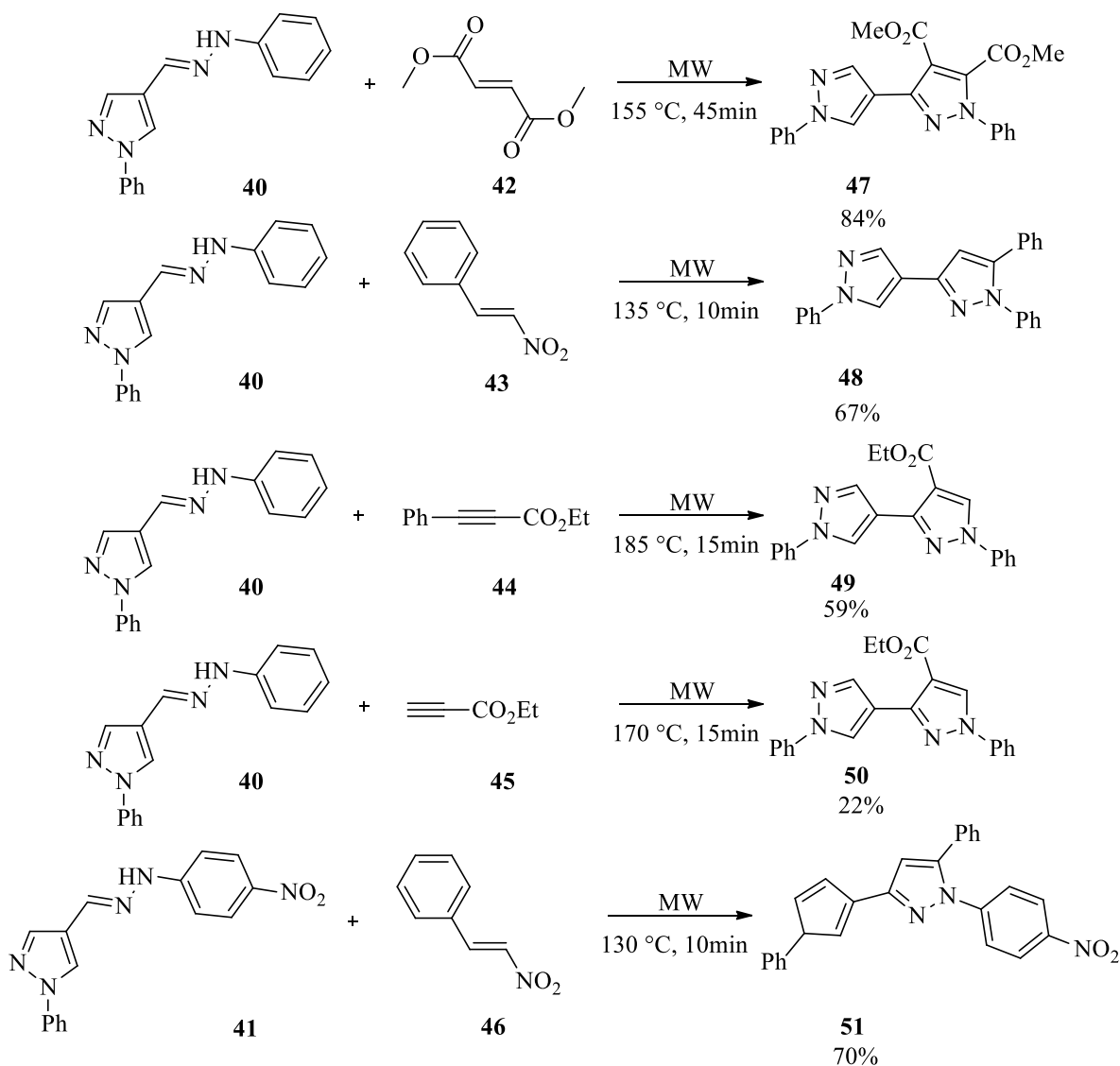
Attreyee Mukherjee и коллеги провели регио- и стереоселективный синтез замещенных пиразолил-2-пиразолинов и пиразолов [20]. На первой стадии дихлорметильный заместитель соединения **32** подвергли мягкому кислотному гидролизу, что привело к образованию 5-формилпиразола **33**. Гидразон **34** получили, обработав альдегид **33** фенилгидразином. Затем провели галогенирование что дало соединение **35**, которое обработали триэтиламином в результате чего образуется нитрилимин **36**. Затем ввели в реакцию серию диполярофилов **37a-e**, чтобы получить новый класс регио- и стереоселективных замещенных 3-пиразолил-2-пиразолинов **38a-h** и 3-пиразолилпиразола **39** (схема 10).

Схема 10



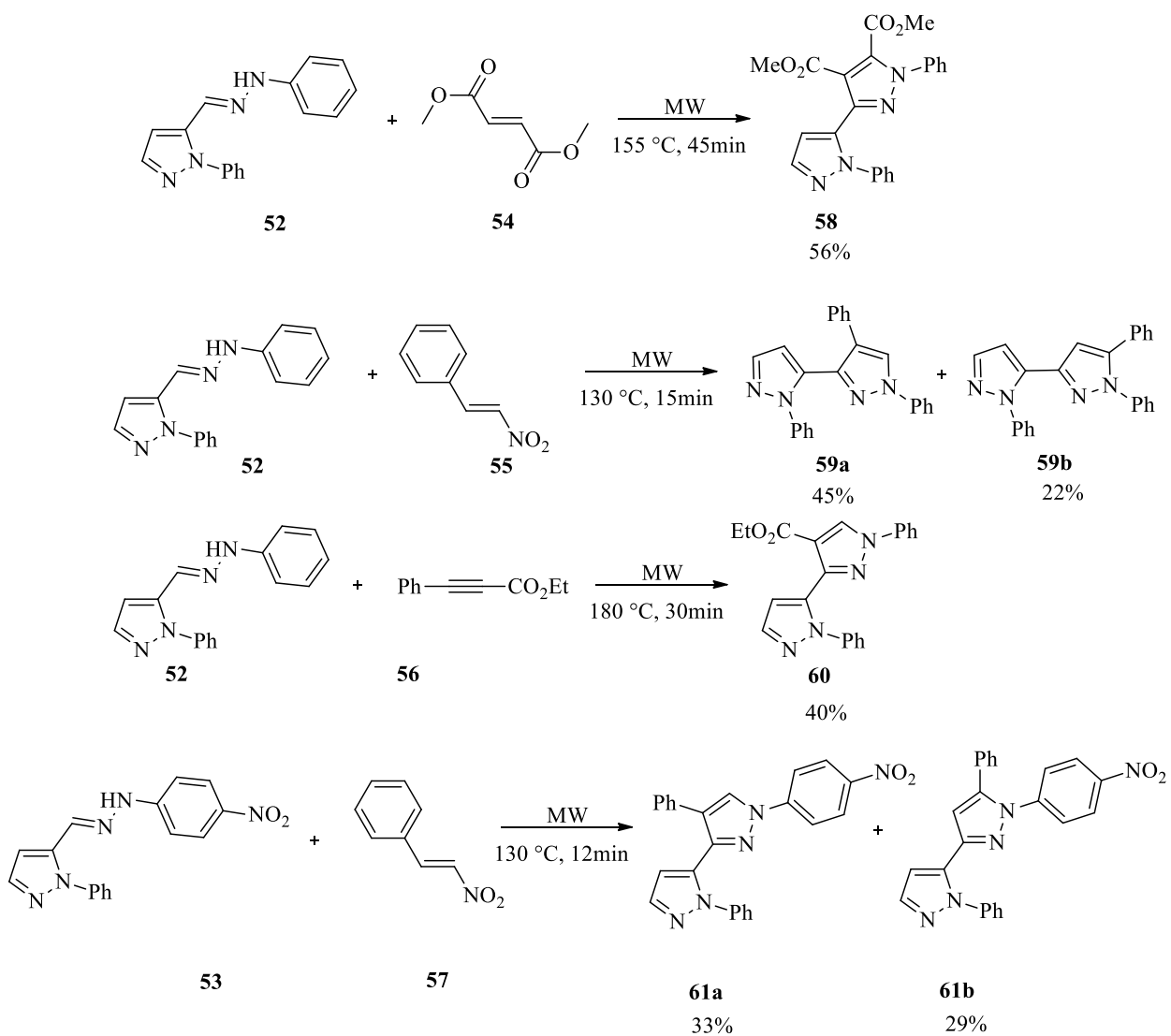
В работе [21] изучили термическую изомеризацию пиразолилгидразонов в соответствующие азометинимины под воздействием микроволнового излучения, что показано на схеме 11. Данный метод позволяет отказаться от использования кислоты в качестве катализатора циклоприсоединения. Провели реакции между 4-пиразолилгидразонами **40** или **41** и диполярфилами **42-46**, при микроволновом облучении, с образованием [4,3']-бипиразолов **47-51**.

Схема 11



Аналогичным способом получили бипиразолы **58-61** из пиразолилгидразона **52** или **53** (схема 12).

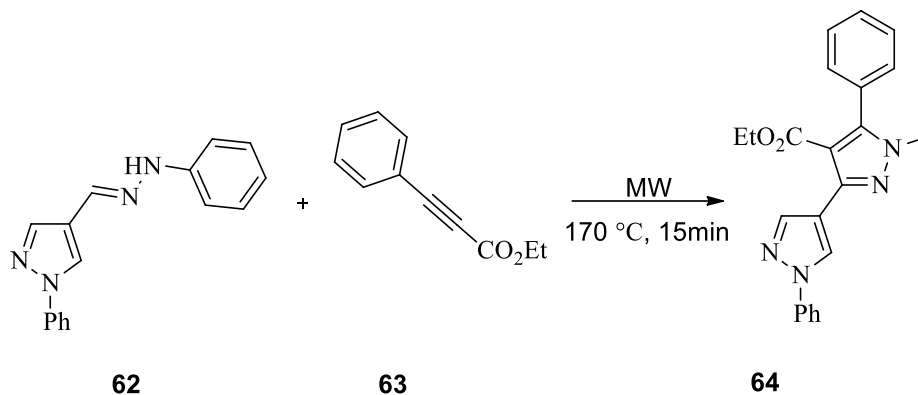
Схема 12



На схеме 13 показана реакция циклоприсоединения диметилгидразона **62**. Этот гидразон не может подвергаться термическому сдвигу водорода, с плучением азометинимина, как это происходит в случае с гидразонами **40** и **41**. При этом было обнаружено, что микроволновое облучение смеси

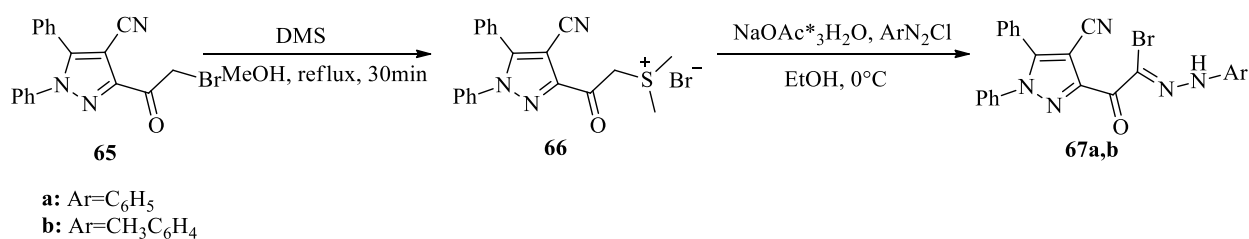
диметилгидразона **62** и этилфенилпропиолата **63** в течение 10 дней привело к образованию [4,3']-бипиразол **64** с выходом 80 %.

Схема 13



В работе [22] Kamal M. Dawood с коллегами сообщили о синтезе новых полигетероциклических соединений, содержащих пиразольные и 1,3,4-тиадиазольные фрагменты. 3-бромацетилпиразол **65** является наилучшим исходным соединением для получения искомым веществ. 3-бромацетилпиразол **65** обработали DMS в метаноле при кипячении, что позволило получить соответствующий диметилсульфониевый бромид **66**. Затем ввели хлоридами арилдиазония в этаноле и SAT, с образованием соответствующих соединений **67a,b** с хорошими выходами (схема 14).

Схема 14



Реакционная способность арилгидразонов **67a,b** по отношению к различным нуклеофилам продемонстрирована на примере циклизации с бензоилацетонитрилом **70** и ацетилацетоном **68a,b** (схема 15). Все реакции проводили в спиртовом растворе этилата натрия, в результате чего получили пиразольные производные **71** и **69a-d** соответственно. Кроме того, арилгидразон **67a** обработали гидразином в этиловом спирте с образованием бипиразола **71** (схема 16).

Схема 15

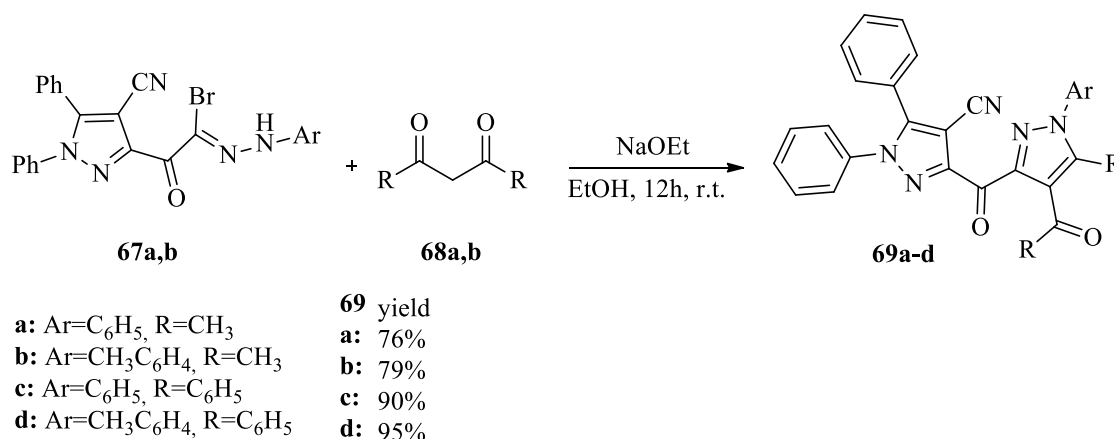
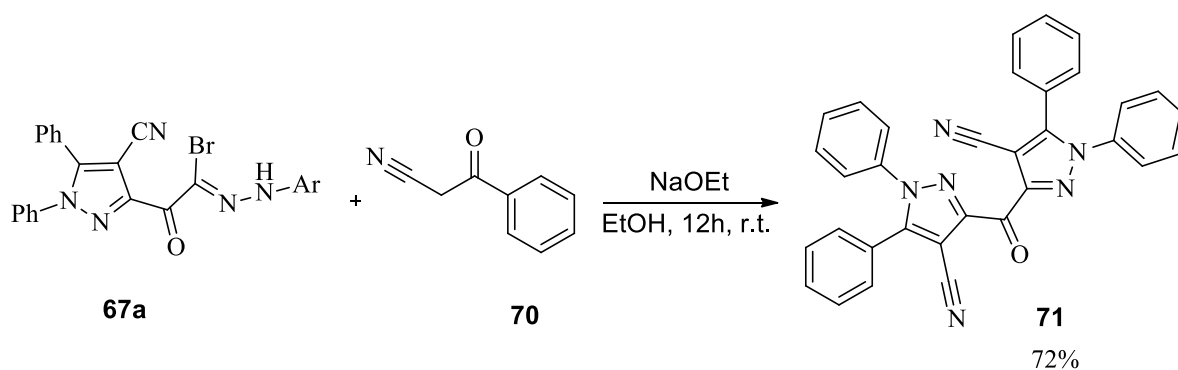


Схема 16



Провели реакцию между 3-цианоацетилпиразолом **72** и гидразоноилхлоридами **73a,b** в растворе этилата натрия с получением

соединения **74a,b** (схема 17). Также раствор пиразол **72** в DMF смешали с фенилизотиоанатом в присутствии гидроксида калия, в результате чего получили соединение **75**, затем добавили йодистый метил, что дало карбонитрил **76**, который далее обработали гидразином и получили бипиразол **77** (схема 18).

Схема 17

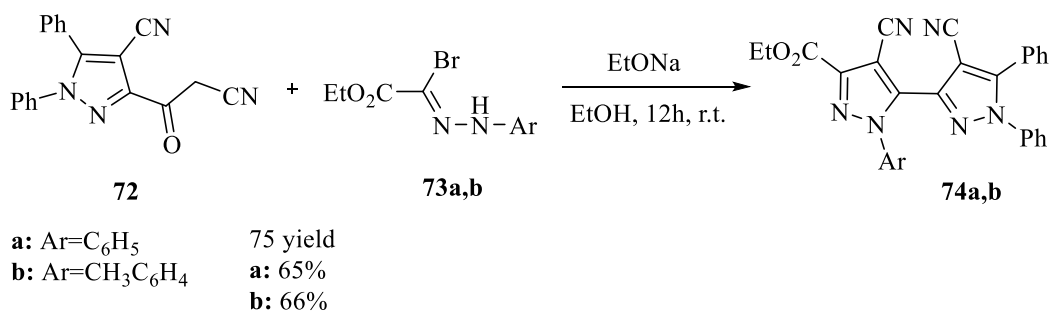
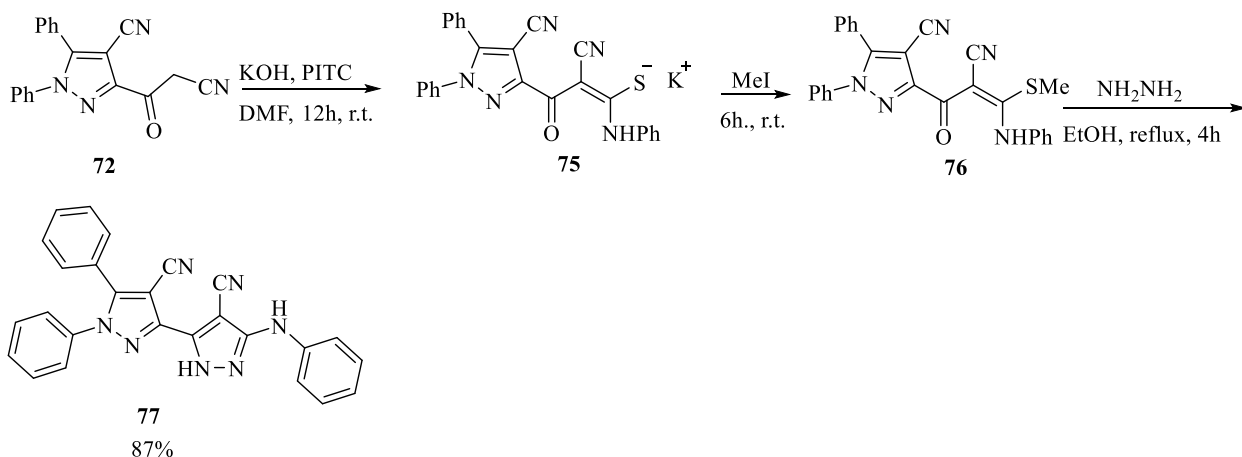


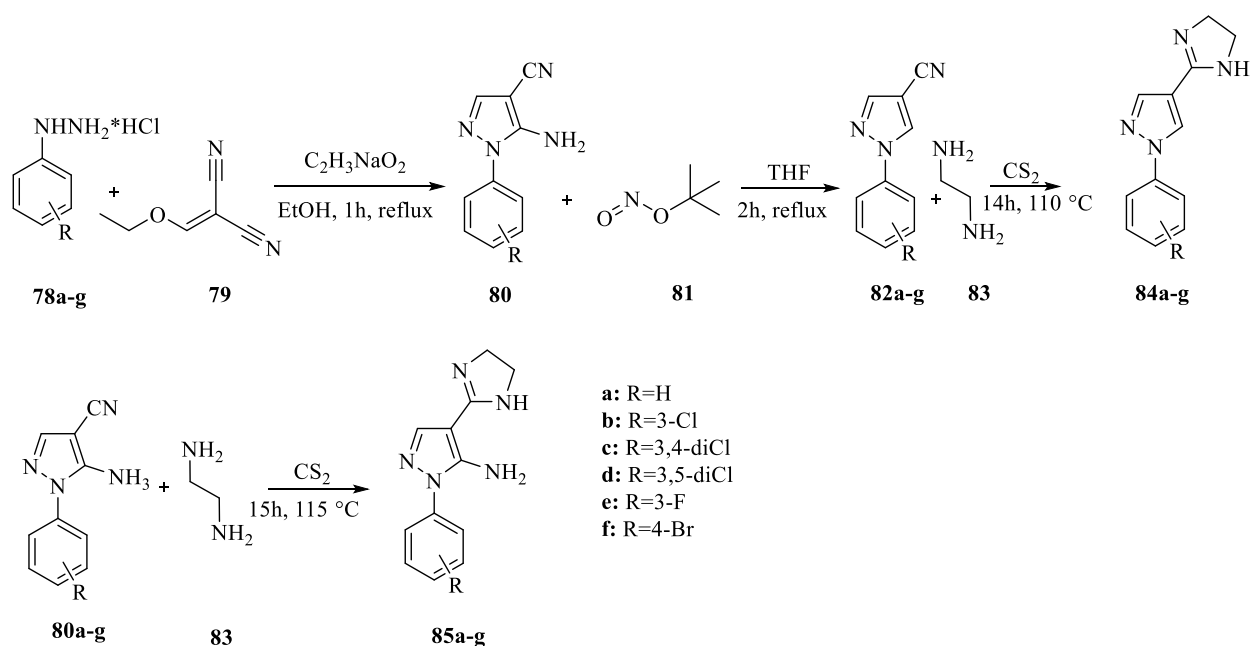
Схема 18



В статье [23] был описан синтез серии пиразолов **84a-g**, **85a-g** и проведена оценка цитотоксической активности против трех видов лейшмании *L. amazonensis*, *L. braziliensis* и *L. infantum*. Синтез пиразолов **84** продемонстрирован на схеме 19. Гидрохлориды арилгидразина **78a-g** ввели в реакцию с малононитрилом **79** и ацетатом натрия в этаноле, что привело к образованию производных пиразола **80a-g**, которые подвергли

дезаминированию под воздействием бутилнитрита **81** в THF, что дало соответствующие пиразолы **82a-g**. Целевые имидазопиразолы **84a-g** были получены в ходе реакции соединений **82a-g** с сероуглеродом и этилендиамином **83**. Аналогичным образом синтезировали аминокимидазопиразолы **85a-g** из пиразолов **80a-g**. Соединения проявили высокую активность в отношении *L. amazonensis*. Пиразол **85d** в исследовании IC₅₀ показавшее значение 15.5 было дополнительно протестировано *in vivo*. Соединения не оказало явной токсичности по отношению к почкам и печени.

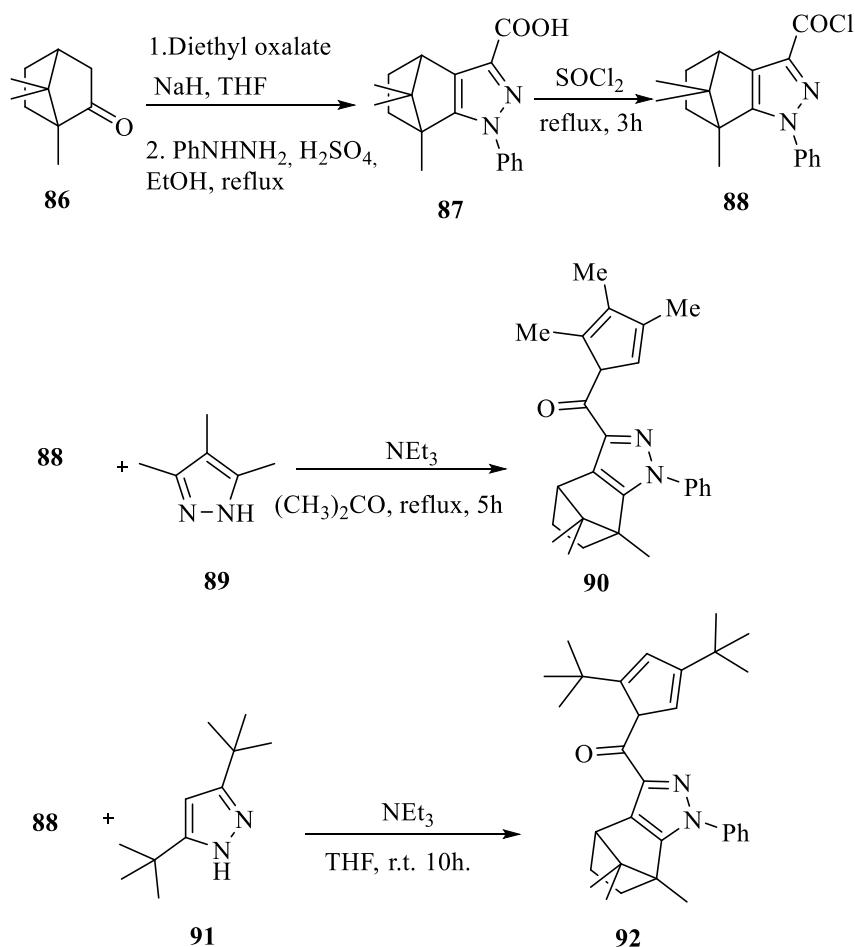
Схема 19



Синтез новых хиральных лигандов является важным направлением изучения для развития асимметричного катализа [24]. В статье [25] Alberto Herrera с коллегами предложили синтез *N,N*-лигандов и *P-N*-лиганда содержащих камфопиразол. Исходным веществом для всех реакций является камфора **86**. В случае получения соединений **90** и **92**, на первом этапе камфору **86** последовательно обработали диэтилоксалатом и гидридом натрия в THF, затем гидроксидом калия в этаноле и фенилгидразином с серной кислотой в

этаноле, что привело к образованию пиразол **87** с выходом 70%. Хлорангидрид **89** получили в результате кипячения соединения **87** в тионилхлориде и последующей перекристаллизации из гептана с выходом 85%. Далее в первом случае к соединению **88** добавили пиразол **89** в триэтиламин, что привело к образованию лиганда **90** с выходом 61%, а во втором сначала синтезировали пиразолат натрия **91** *in situ* для повышения реакционной способности вещества, затем им обработали хлорангидрид **88**, что обеспечило выход лиганда **92** до 66% (схема 20).

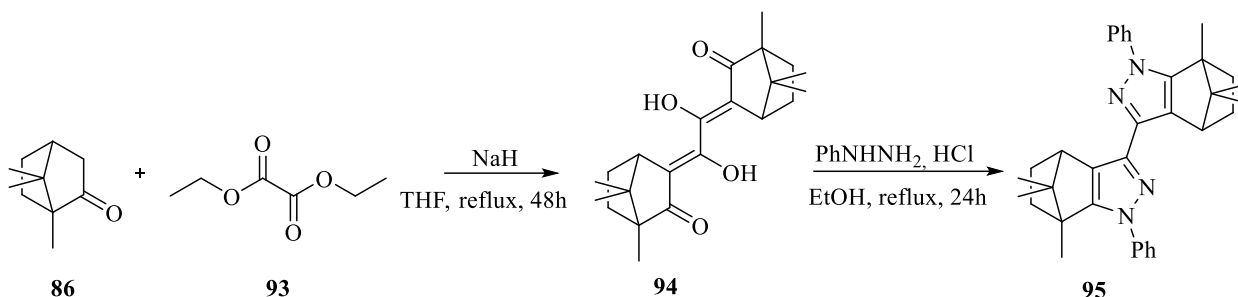
Схема 20



Синтез бипиразола **95** провели в два этапа. На первой стадии получили соединение **94**, с помощью введения гидроксида натрия в смесь камфоры **86** и диэтилоксалата **93** в THF. Затем соединение **94** подвергли кислотной

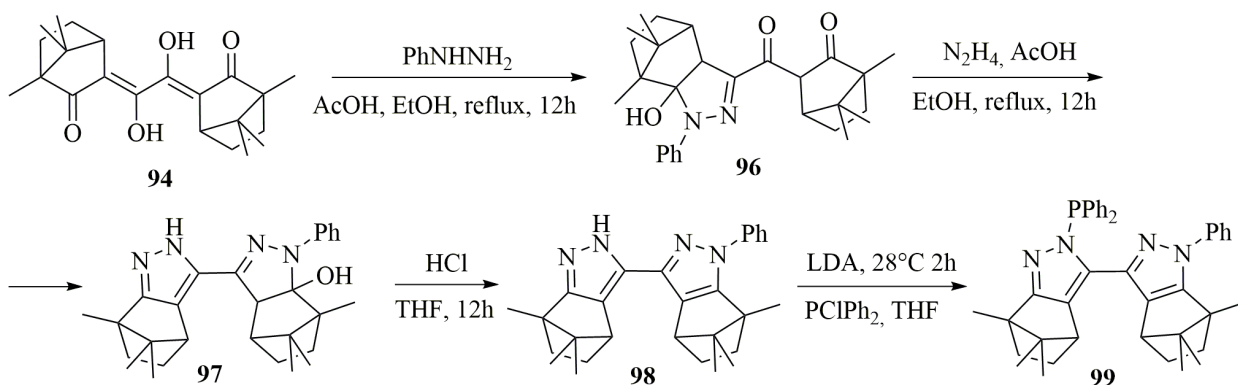
конденсации с фенилгидразином в этаноле при кипячении, что привело к лиганду **95** с выходом 89% (схема 21).

Схема 21



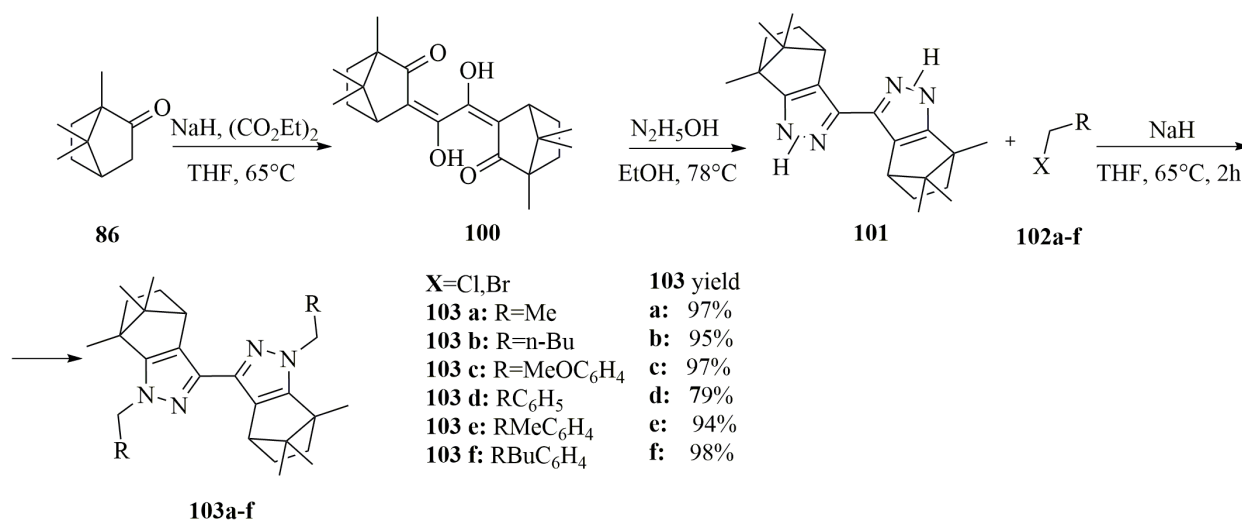
Пиразолин **96** получают с помощью обработки фенилгидразином раствора соединения **94** с уксусной кислотой в спиртовой среде. Дальнейшая конденсация пиразолина **96** с гидразином в спиртово-кислой среде дала соединение **97**, которое подвергли дегидратации и получили соединение **98**, содержащее пиразольный фрагмент. *P-N*-лиганд **99** образовался в результате депротонирования под воздействием диизопропиламида лития и последующей реакцией с хлордифенилфосфином с выходом 89% (схема 22).

Схема 22

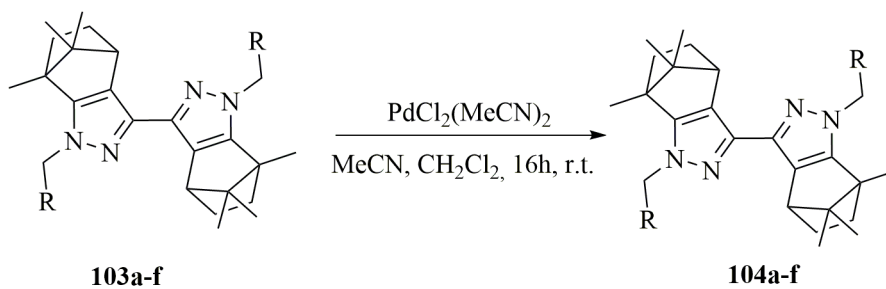


В работе [26] синтезировали и исследовали свойства нового класса бидентатных лигандов, содержащих 3,3-бипиразольный фрагмент. Получение лигандов **104a-f** показано на схеме 23. На первой стадии камфору **86** превратили в дикетон **100** с помощью конденсации Клайзена в диэтилоксалате. Далее получили пиразол **102** под воздействием гидразингидрата с выходом 91%, после чего ввели алифатические и ароматические галогены **103a-f** в гидриде натрия и THF. Преимуществом данного метода является исключение процедуры хроматографического разделения на стадии диалкилирования, так как наблюдается региоспецифичность в 1,1-положении пиразола.

Схема 23

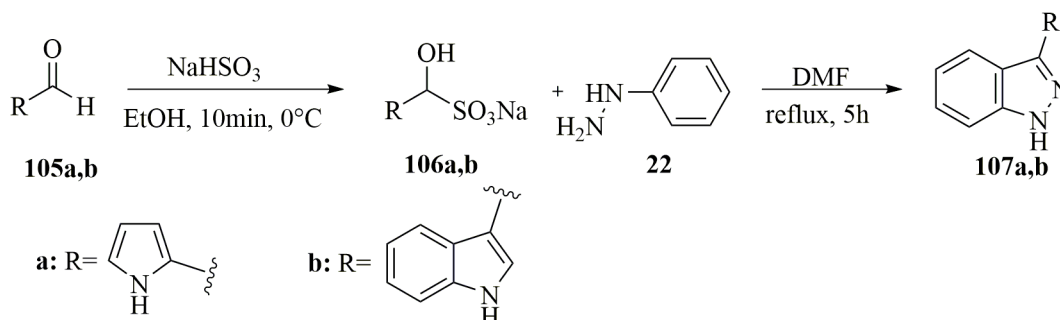


Комплексы палладия лигандов **104a-f** были получены конверсией дихлорида палладия в ацетонитриле при комнатной температуре с хорошими выходами (схема 24).



104 a: R=Me	104 yield
104 b: R=n-Bu	a: 98%
104 c: R=MeOC ₆ H ₄	b: 95%
104 d: RC ₆ H ₅	c: 91%
104 e: RMeC ₆ H ₄	d: 97%
104 f: RBuC ₆ H ₄	e: 96%
	f: 98%

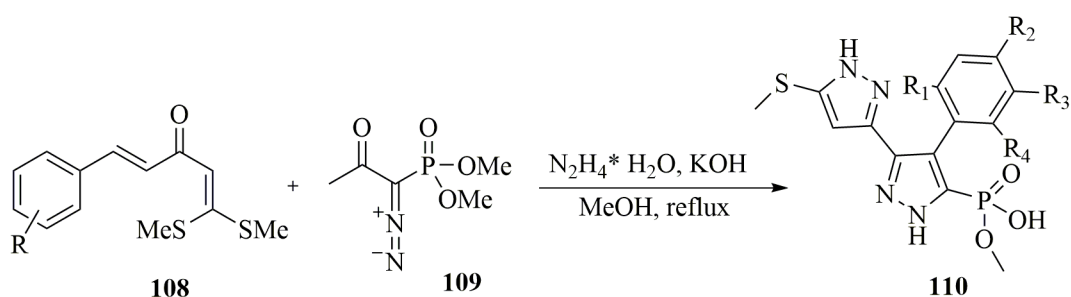
Su Ieyman Servi с коллегами разработали общую и очень удобную методику синтеза 3-арилзамещенных индазолов [27], что показано на схеме 26. Соединения **107a,b** были синтезированы в две стадии. На первой стадии альдегиды **105a,b** обработали гидросульфитом натрия с получением соответствующих гидросульфитных производных **106a,b**. Затем их кипятили с фенилгидразином **22** в DMF, что привело к образованию целевых **107a,b** с выходами 76% и 73% соответственно (схема 25).



В работе [28] предложен трехкомпонентный синтез бипиразолов **110a-l** путем реакции ацеталей **108a-l**, реагента Бестманна-Охиры **109** и

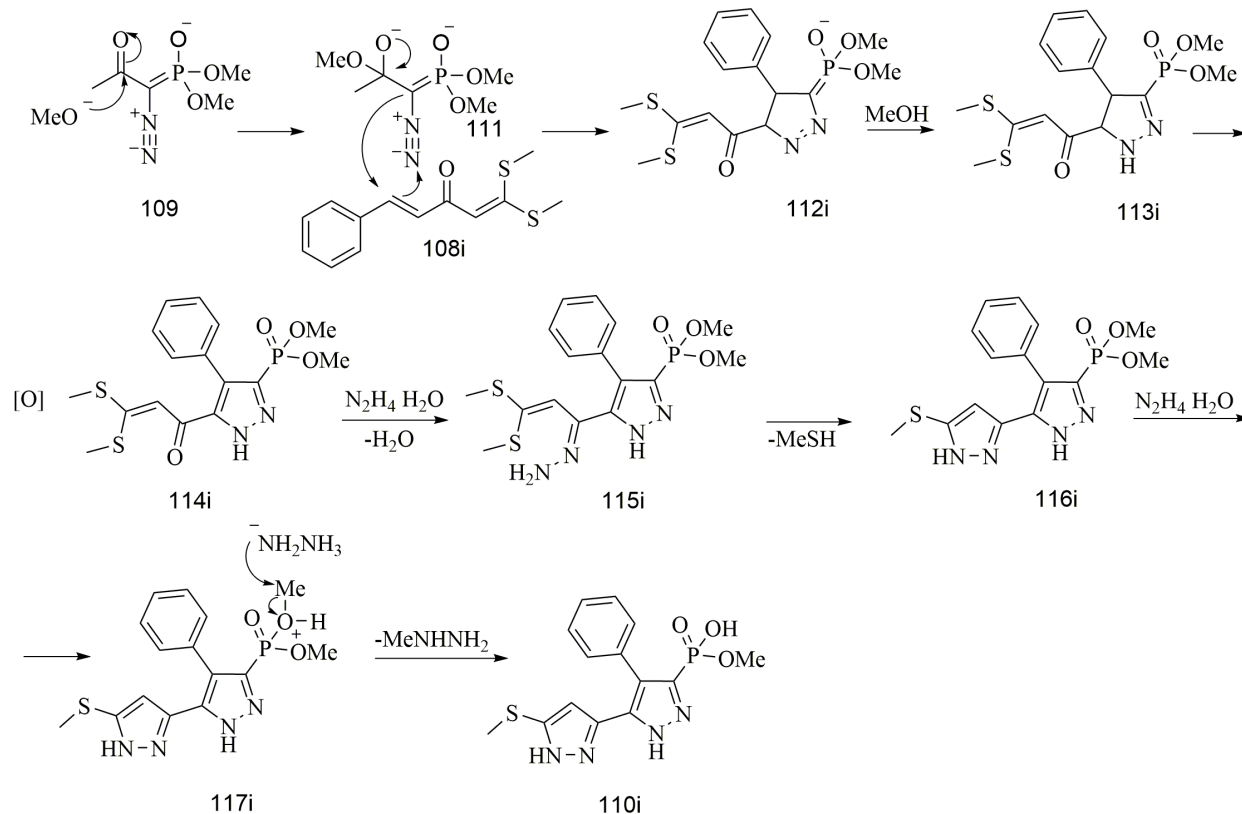
гидразингидрата. В результате оптимизации наиболее подходящими условиями реакции получения бипиразолов **110a-l**, являются KOH в качестве основания и MeOH в качестве растворителя, а также было установлено, что положение и природа заместителя в бензольном кольце соединений **108a-l** не оказывают существенного влияния на общий выход продукта (схема 26). Вероятный механизм реакции образования бипиразола **110i** показан на схеме 27. Реагент Бестманна-Охиры **109** первоначально подвергли окислению в метаноле с образованием соединения **111**, после чего провели региоселективную 1,3-дипольную реакцию циклоприсоединения с **108i** в результате чего образовался пиразолин **112i**, который протонировали и окислили воздухом, получив при этом пиразол **113i**. Далее его ввели в реакцию с гидразином, что дало гидразон **115i**, который затем подвергли внутримолекулярной циклизации с образованием бипиразола **117i**. Соединение **117i** было превращено в бипиразол **110i** избытком гидразингидрата по пути реакции S_N2 посредством деметилирования.

Схема 26



108 a: R ₁ =H, R ₂ =Br, R ₃ =H, R ₄ =H	110 yield
108 b: R ₁ =H, R ₂ =Me, R ₃ =H, R ₄ =H	a: 81%
108 c: R ₁ =Me, R ₂ =H, R ₃ =H, R ₄ =H	b: 87%
108 d: R ₁ =H, R ₂ =OMe, R ₃ =H, R ₄ =H	c: 84%
108 e: R ₁ =H, R ₂ =OEt, R ₃ =H, R ₄ =H	d: 83%
108 f: R ₁ =H, R ₂ =H, R ₃ =H, R ₄ =OMe	e: 85%
108 g: R ₁ =H, R ₂ =F, R ₃ =H, R ₄ =H	f: 83%
108 h: R ₁ =H, R ₂ =Cl, R ₃ =H, R ₄ =H	g: 80%
108 i: R ₁ =H, R ₂ =H, R ₃ =H, R ₄ =H	h: 82%
108 j: R ₁ =F, R ₂ =H, R ₃ =H, R ₄ =H	i: 81%
108 k: R ₁ =H, R ₂ =Cl, R ₃ =H, R ₄ =Cl	j: 84%
108 l: R ₁ =H, R ₂ =F, R ₃ =Br, R ₄ =H	k: 78%
	l: 72%

Схема 27

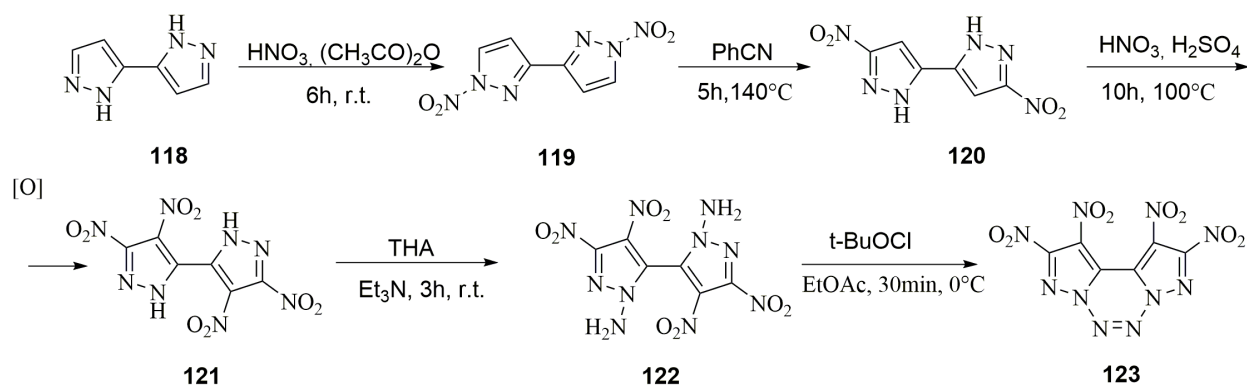


1.3 Синтез соединений, содержащих пяти- и шестичленные гетероциклы

Конденсированные гетероциклические соединения содержащие атомы азота представляют интерес для химии высокоэнергетических материалов. В статье [30] предложили синтез тетразина **123**, привлекательного в качестве взрывчатого вещества, обладающего высокой плотностью $1,955 \text{ г/см}^3$ и термостойкостью 233°C . Рассчитанные характеристики детонации сравнимы с CL-20. Кроме того тетразин проявляет большую стойкость к механическому воздействию по отношению к CL-20. Получение тетразина **123** представлено на схеме 28. Биไพразол **118** синтезировали в три стадии. Затем соединение **118** нитровали с помощью азотной кислоты в уксусном ангидриде, что дало ди-нитрозамещенный продукт **119**, его нагревание в бензонитриле дало перегруппировку с образованием ди-нитрозамещенного соединения **120**.

Далее провели нитрование смесью азотной и серной кислот при 100°C, что позволило получить бипиразол **121**, который подвергли *N*-аминированию с помощью ТНА либо НОСА. В обоих случаях образовался амин **122**, при обработке ТНА выход составил 66%, при НОСА – 35%. Образование тетразинового кольца в соединении **123** достигли путем воздействия трет-бутилгипохлорита на соединение **122**. Целевой тетразин **123** выделили с помощью колоночной хроматографии. Выход составил 45%.

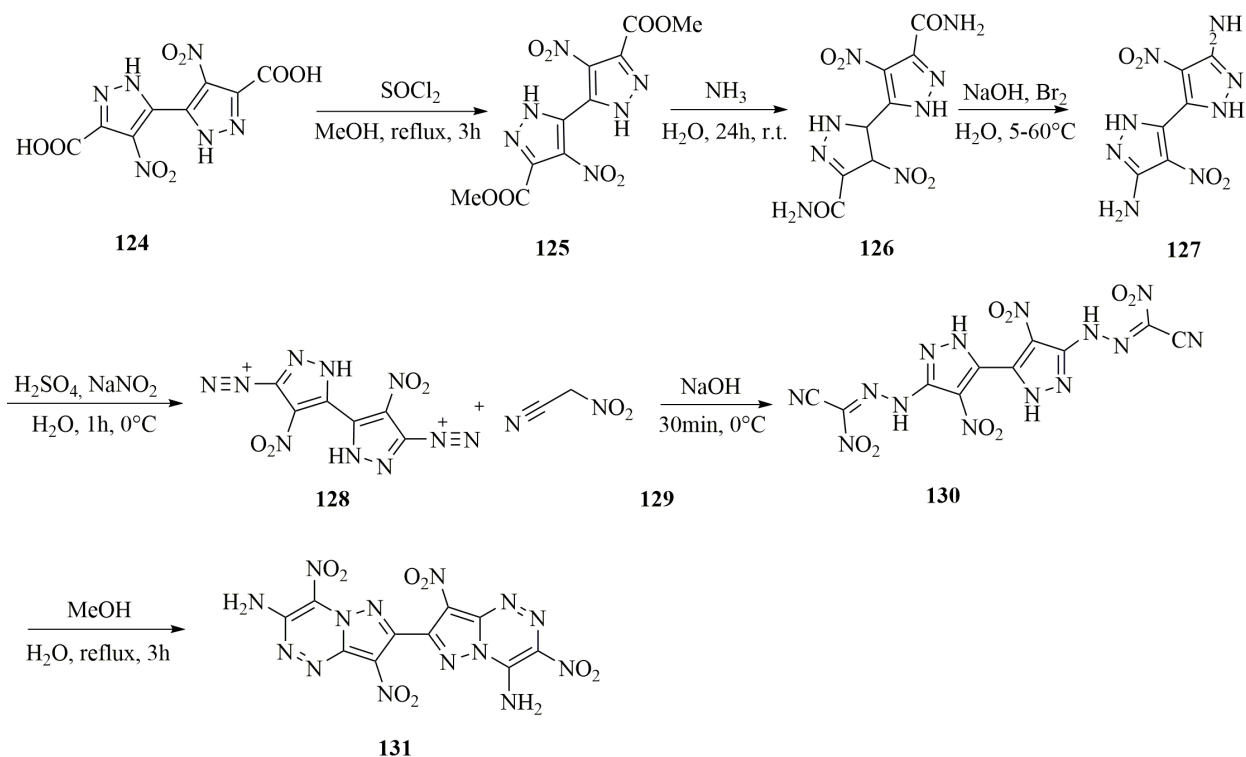
Схема 28



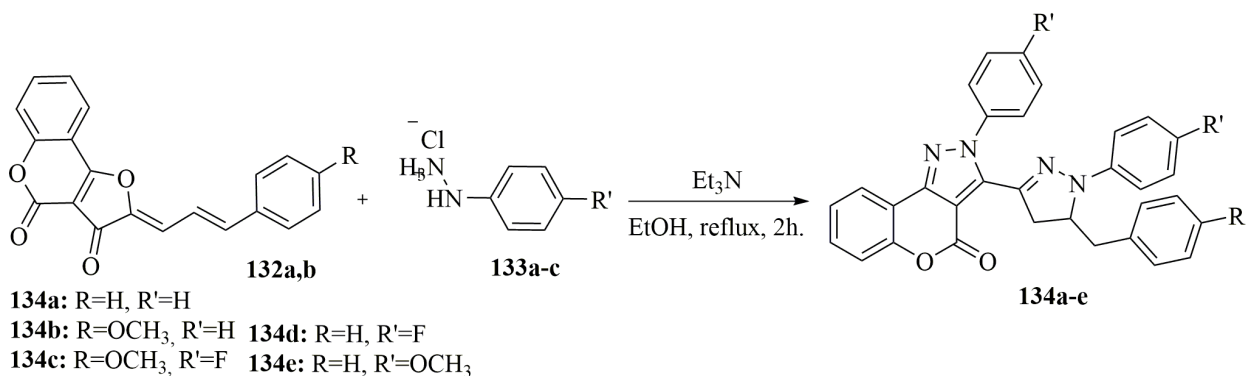
Кроме того, в работе [31] предложен синтез бипиразола **131**, который рассматривается в качестве перспективного высокоэнергетического вещества (схема 29). Соединение обладает высокой плотностью 1,85 г/см³, отличной термостойкостью 315°C, низкой чувствительностью к ударам и хорошими детонационными характеристиками. Исходный бипиразол **124** был получен в соответствии с методикой [32]. Соединение **124** обработали тионилхлоридом в метаноле и получили сложный эфир **125**. Его обработка водным раствором аммиака при комнатной температуре привела к образованию амида **126**. Далее провели реакцию Гоффмана, которая привела к образованию соединения **137**. Затем амин **137** обработали нитритом натрия в разбавленной серной кислоте с последующим добавлением нитроацетонитрила натрия в растворе гидроксида

натрия. Образовавшийся гидразон **130** выделяли с высоким выходом 70%.
 Наконец, бипиразол **131** получали циклизацией соединения **130**.

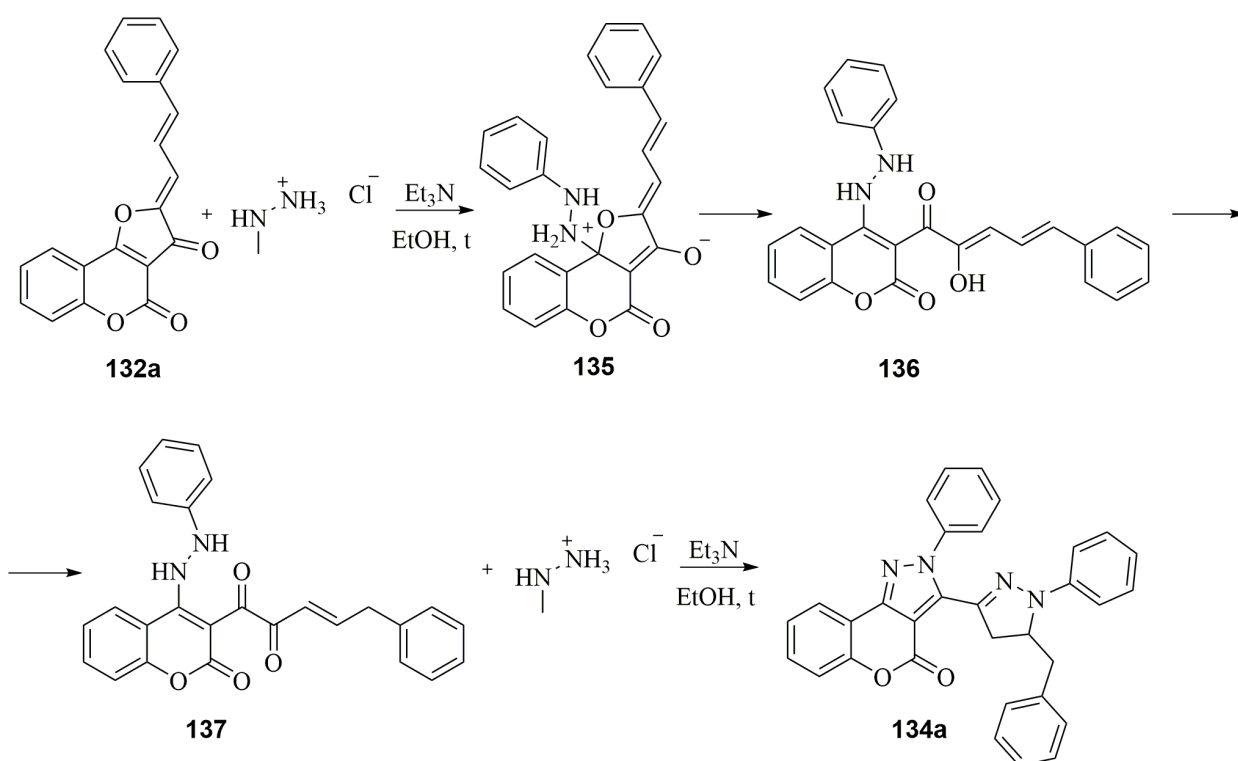
Схема 29



Valerii F. Traven с коллегами сообщили о новом способе синтеза эффективных кислотных фотогенераторов [33]. Производные кумарина **132a,b** ввели в реакцию с хлоргидратами **133a-c** арилгидразина в триэтилаmine и этаноле, что дало соответствующие бипиразолы **134a-e** с выходами до 53% (схема 30).

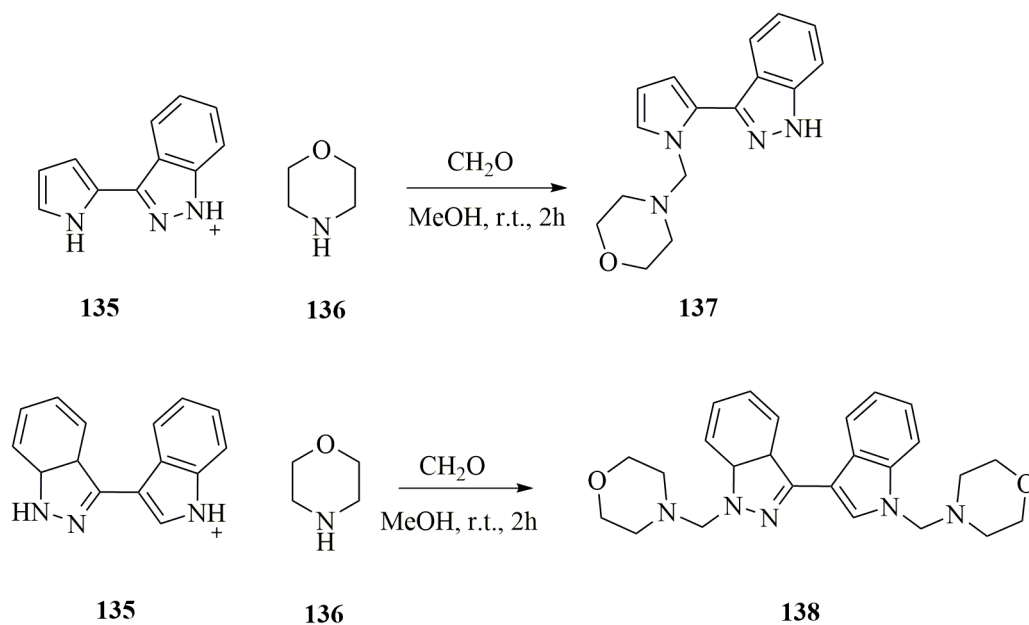


Также был предложен механизм реакции на примере соединения **134a**, показанный на схеме 31. На первой стадии к фенилгидразину добавили кумарин **132a**. В результате такого присоединения по Михаэлю происходит раскрытие фуранового цикла и образуется кетон **137**. Далее в следствии внутримолекулярной циклизации и взаимодействию со вторым молекул фенилгидразона образуются пиразольные циклы в соединении **134a**.



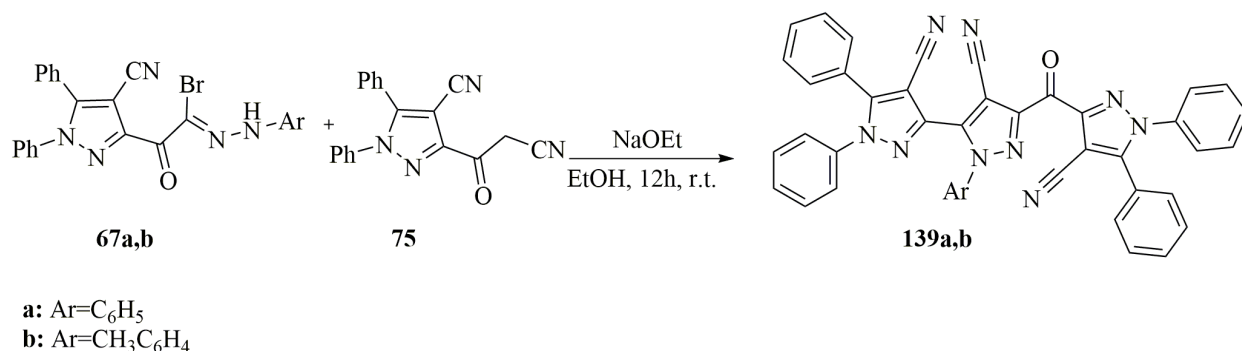
Соединения **134a-e** обладают фотохимической активностью и ведут себя как фотогенераторы кислотности. Они изменяют спектры как поглощения, так и излучения в перхлорметане или в толуоле при освещении. Благодаря фототрансформации бипиразола **134a**, излучение его раствора исчезает при освещении, поскольку продукт обладает флуоресценцией. При освещении в тех же растворах в присутствии кислотно-основных индикаторов, соединения **134a-e** обеспечивают окрашивание, связанное с повышением кислотности раствора. Бипиразолы **134a-e** активируют интенсивную флуоресценцию родамина В, при освещении. Электронное поглощение **134a** смещено в область более коротких длин волн по сравнению с излучением открытой формы родамина В. Были проведены исследования пленок из полиметилметакрилата и полистирола, гексахлорэтан и родамин В, в лактоновой форме, облучении которых обеспечивает окрашивание и активацию флуоресценции полимерных пленок. Также происходят фотодегидрирование производного пиразолина **134a** и открытие лактонового кольца родамина В, которые инициируют окрашивание пленки РММА. Новые арил- гетарилпиразолины более эффективны при изготовлении двухфотонных объемных оптических запоминающих материалов по сравнению с 4-гидрокси-3-пиразолинилкумаринами.

Гетероциклические системы на основе замещенных индазолов проявляют слабую антагонистическую активность 5-НТ₃ рецептора. Исходя из этого в статье [35] описали синтез на основе морфолина **149** и пиролловые производные индазолов **110a,b**, которые проявляют большую активность (схема 32). Морфолиновые производные индазола **150** и **151** получили в результате реакции Манниха между морфолином **149**, формальдегидом и соединениями **110a,b** с выходами 63% и 53% соответственно. Структуры всех полученных соединений были проверены с помощью ИК-спектроскопии.

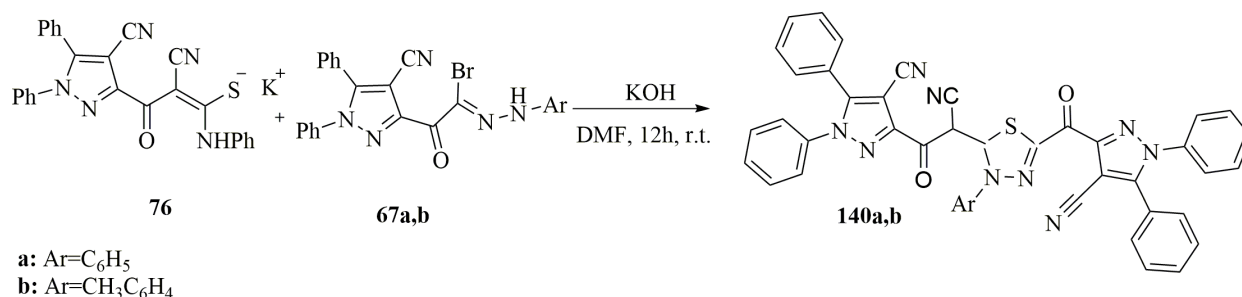


1.4 Синтез полигетероциклических соединений

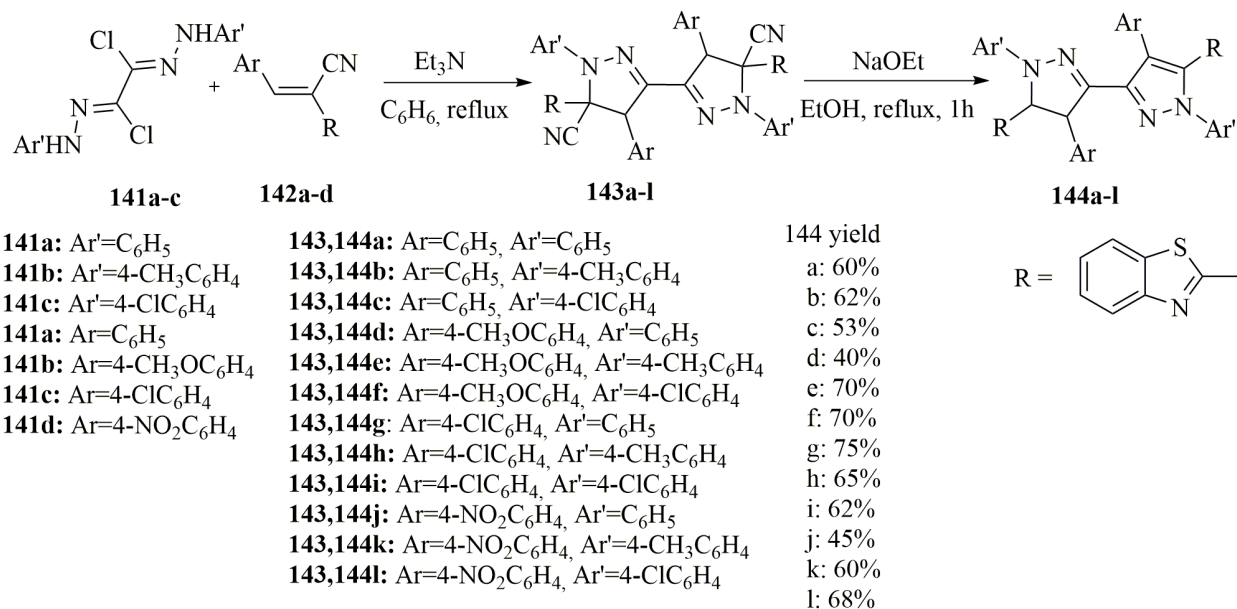
Производные пиразола используются в качестве лигандов эстрогенового рецептора [36] проявляют противовоспалительную и обезболивающую активность [37]. Производные бис-пиразола используются обладают жаропонижающей [38] цитотоксической [39] и другими активностями. Тиadiaзолы также считаются сильными противовоспалительными [40], противосудорожными [41] и противомикробными [42] агентами. Синтез соединений, содержащих описанных выше гетероциклических системы, представлен в работе [22] (схема 33). Пиразолы **67a,b** и цианоацетилпиразол **75** смешали в спиртовом растворе этилата натрия, в результате чего образовалось производные пиразола **139a,b** с выходами 72% и 71% соответственно.



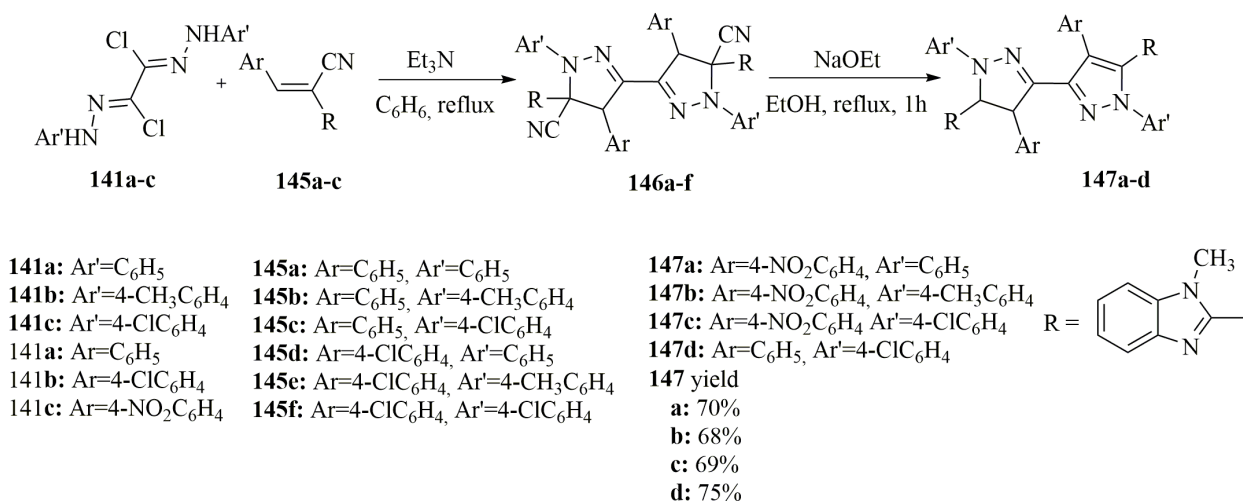
Синтез 1,3,4-тиадиазола **140a,b** представлен на схеме 34. К полученному ранее раствору производного пиразола **76** в DMF и KOH, добавили эквимольное количество пиразола **67a,b** что дало, в результате циклизации, соответствующие продукты **140a,b** с выходами 75% и 79% соответственно (схема 34).



В работе [43] изучили получение бипиразолов с помощью реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения имидов биснитрила **141a-c** и производных циннамонитрила **142a-d**. К гидразонам **141a-c** добавили циннамонитрилы **142a-d** в бензоле, в результате чего образовался лишь один из двух возможных региоизомеров тетрагидробипиразолы **143a-l**. После чего произвели термическое удаление цианистого водорода в основных условиях с получением соответствующих производных бипиразола **144a-l** (схема 35).



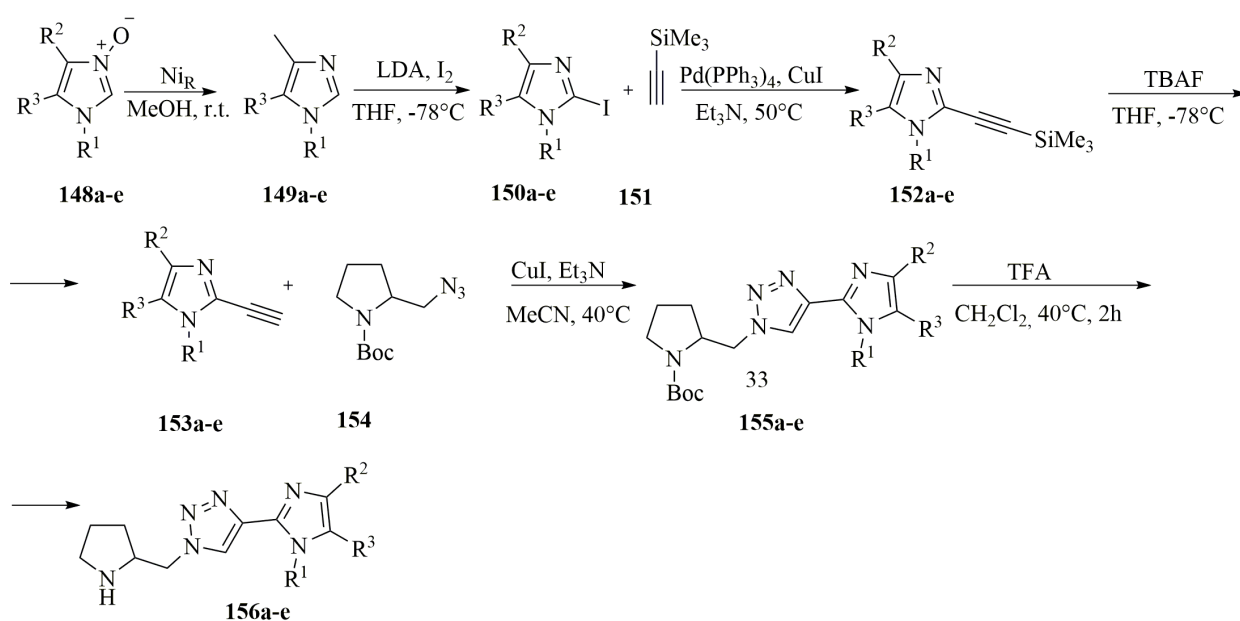
По аналогии с вышеописанной процедурой провели синтез производных пиразолов **147a-d**. На первой стадии к имидам биснитрила **141a-c** добавили циннамонитрилы **145a-c**, что дало соответствующие соединения **146a-f**. Затем в реакцию ввели этилат натрия, образовались биспиразолы **147a-f** (схема 36).



В работе [44] получили триазолы **156a-e**. Исходные N-оксиды имидазола **148a-e** дезоксигенировали с помощью Ni_R в спиртовой среде при комнатной

температуре. Полученные имидазолы **149a-e** обработали LDA и йодом в THF при -78°C с получением 2-йодпроизводных **150a-e**. Далее обработали триметилсилил ацетиленом **151** в присутствии $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ и CuI в триэтиламинe при 50°C и десилилировали с помощью фторида тетрабутиламмония, что дало терминальный алкин **153a-e**. Из полученных ацетиленовых производных синтезировали имидазотриазолы **156a-e** при помощи реакции [3+2] циклоприсоединения с азидом **154** катализируемой йодидом меди и дальнейшем снятии защитной группы Boc с использованием TFA (схема 37).

Схема 37

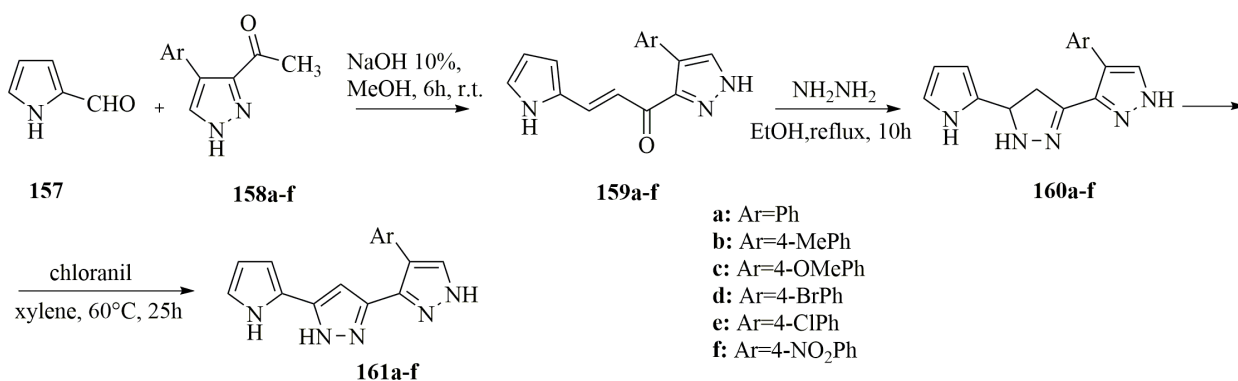


- a: $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{Me}$
b: $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{Me}$, $\text{R}^3=\text{Ph}$
c: $\text{R}^1=\text{Me}$, $\text{R}^2=\text{R}^3=\text{Ph}$
d: $\text{R}^1=\text{Bu}$, $\text{R}^2=\text{R}^3=\text{Me}$
e: $\text{R}^1=\text{Bu}$, $\text{R}^2=\text{Me}$, $\text{R}^3=\text{Ph}$

Ummadi Nagarjuna вместе с коллегами сообщили о синтезе и антиоксидантной активности новых производных пиразола и изоксазола [45], что показано на схеме 38. Соединения **159a-f** были получены путем реакции Клайзена–Шмидта между пиррол-2-карбоксальдегидом **157** и 1-(4-арил-1H-пиразол-3-ил)этан-1-ононами **158a-f** в гидроксиде натрия. Далее провели

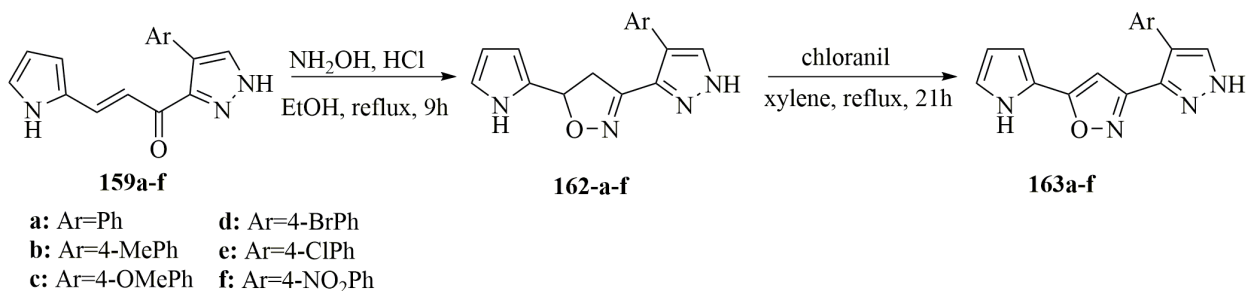
циклоконденсацию соединений **159a-f** с гидразингидратом в этаноле с получением дигидропиразолов **160a-f**, которые затем обработали хлоранилом в ксилоле, что дало целевые пиразолы **161a-f**.

Схема 38



Производные пиразола **159a-f** ввели в реакцию с хлоридом гидроксилamina в этаноле, что дало соответствующие дигидроизоксазолы **162a-f**. Целевые изоксазолы **163a-f** получали окислением соединений **162a-f** хлоранилом в ксилоле. Структура всех соединений была подтверждена ИК-спектроскопией, и масс-спектрометрией (схема 39).

Схема 39

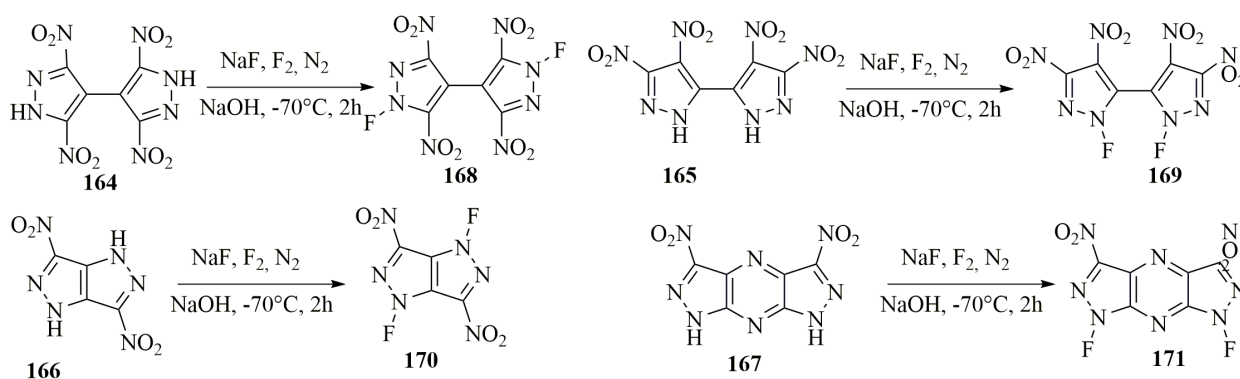


Соединения анализировали на их антиоксидантную активность *in vitro* с помощью инактивации DPPH, H₂O₂ и NO. По результатам исследования было выявлено, что ароматические соединения и соединения с электронодонорными заместителями проявляют более высокую активность по удалению радикалов. Соединения **161с** и **163с** наиболее хорошо показали себя во всех трех исследованиях по сравнению со стандартным лекарственным средством.

1.5 Синтез производных пиразола

В работе [46] предложили синтез полициклических N-фторпиразолов. Исходные бипиразолы **164**, **165** и конденсированные пиразолы **166**, **167** превратили в соответствующие натриевые соли посредством обработки фторидом натрия в гидроксиде натрия и метаноле. После чего провели реакцию фторирования смесью фтора и азота при охлаждении и получили фторпиразолы **168-171**. Для подтверждения структур выделенных соединений выполнили исследования ЯМР и ИК спектров, по результатам которых была подтверждена региоспецифичность проведенных реакций (схема 40).

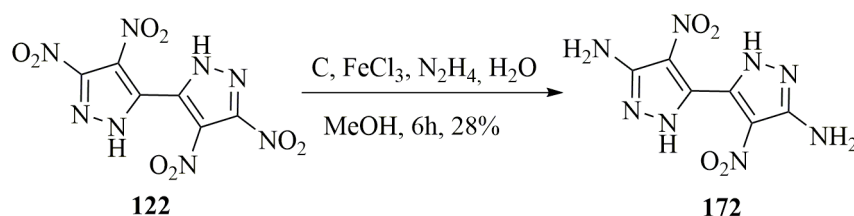
Схема 40



В работе [47] получили тетранитробипиразол **123** с более высоким выходом. Кроме того, нитрогруппы в пятом положении соединения **122**

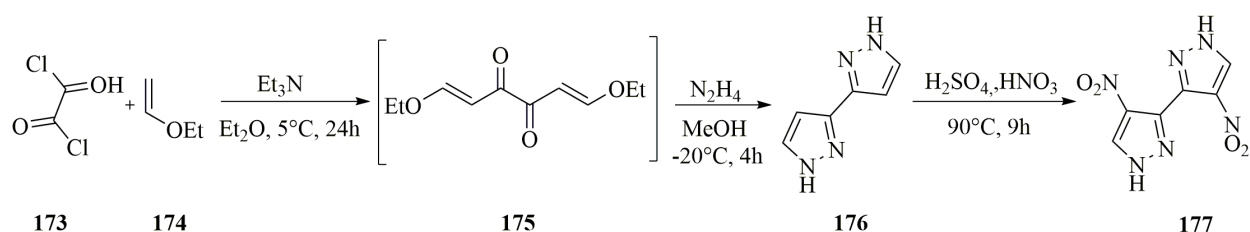
подвергли селективному восстановлению с помощью активированного угля и трихлорида железа, в результате чего образовался **172** выходом 28% (схема 41).

Схема 41



Кроме того, предложен путь к получению бипиразолил-5,5'-диамина. Исходный бипиразол **176** получили из оксалилхлорида **173** и этилвинилового эфира **174**, путем последовательной обработки триэтиламинем в диэтиловом эфире, а после 24 часов гидразином в спиртовой среде. Далее его нитровали азотной и серной кислотой при нагревании с образованием соответствующего нитросоединения **177** (схема 42).

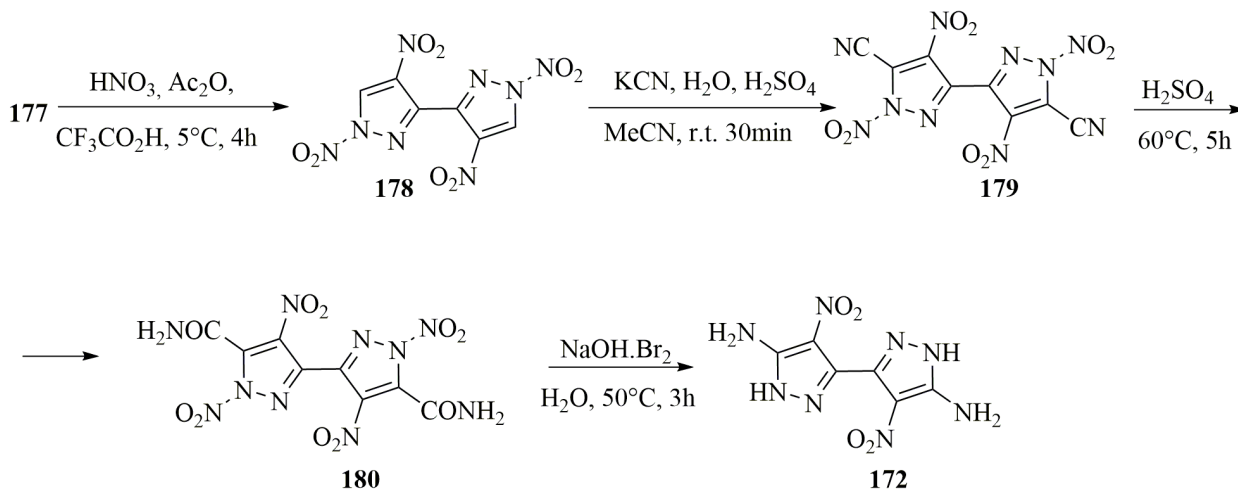
Схема 42



Получение *N*-нитробипиразола **178** произвели при помощи обработки соединения **177** ацетилнитратом в трифторуксусной кислоте с выходом 96%. Далее при действии на *N*-нитробипиразол **178** анионными нуклеофилами происходит кинезамещение с образованием нитрила **179** с выходом 96% в обоих случаях. Полученное соединение **179** подвергли гидролизу в

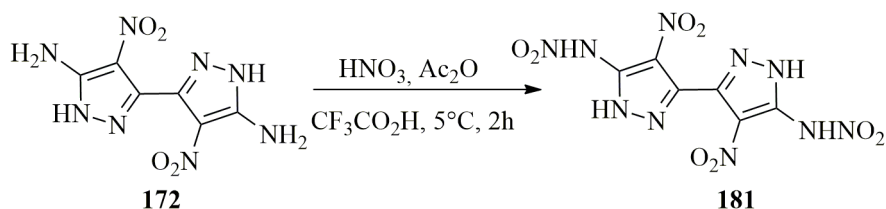
концентрированной серной кислоте при нагревании, что дало амид **180**, с которым провели перегруппировку Гофмана под действием гидроксида натрия и брома с образованием целевого амина **172** (Схема 43), выход составил 30%.

Схема 43



Кроме того, было проведено *N*-нитрование соединения **72** с помощью азотной кислоты в трифторуксусной кислоте с образованием тетранитродиамина **181** (схема 44).

Схема 44



2 Результаты и их обсуждение

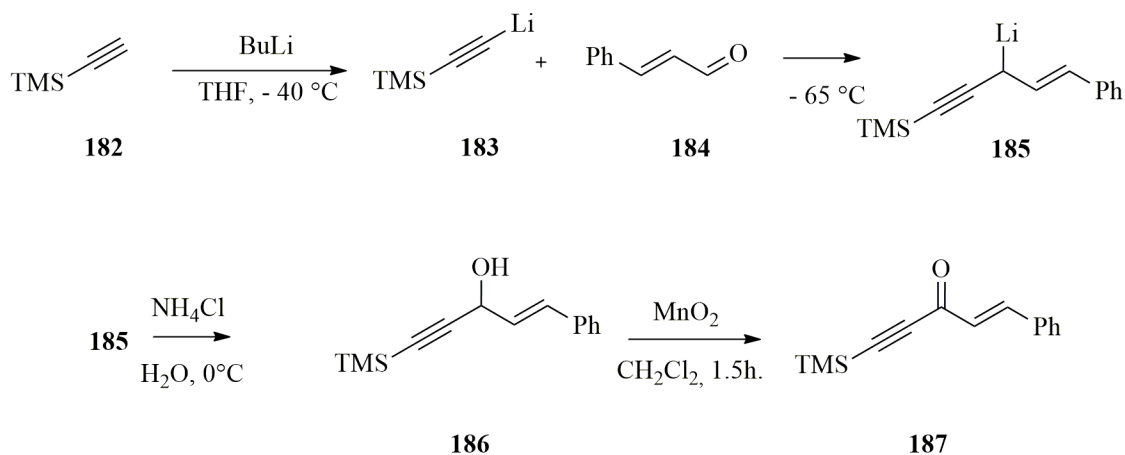
Исходя из результатов приведенной выше литературы, было решено синтезировать новую серию перспективных бисгетероциклических соединений, содержащих как пиразолиновый так и изоксазольный фрагменты с помощью реакции между этинилпиразолинами и имидилхлоридами. Целесообразно получать пиразолилизоксазолы на основе кросс сопряженных енинонов, потому как они содержат необходимые реакционные центры. Литературные данные свидетельствуют о том, что циклоконденсация енинонов с арилгидразинами не обязательно может происходить по тройной связи, могут образовываться и производные пиразолина, поэтому нужно подробно исследовать соответствующую реакцию.

2.1 Синтез исходных соединений

2.1.1 Получение сопряженных енинонов

Исходным соединением для получения 4-этинилпиразолина **190** является тририметилсилил ацетилен **182**, который обработали производным акролеина **184**, что дало соответствующий TMS енинол **186**. Затем спирт **186** окислили до кетона **187** с помощью диоксида марганца (схема 45).

Схема 45



2.1.2 Исследование реакции енинона с фенилгидразином

Нагревание енинона **187** с фенилгидразином **22** в спирте привело к образованию кремний содержащего пиразолина **188** и аддукта арилгидразина **189**. Наша задача заключалась в том, чтобы направить реакцию в сторону преимущественного образования пиразолина **188**. Для достижения такого результата мы испытали несколько растворителей в реакции между ениноном **187** и фенилгидразином **22**, изучив влияние изменения растворителя на концентрацию веществ в реакционной смеси методом газовой хроматографии после двух часов от начала реакций, что показано в таблице 1.

Таблица 1 – Концентрация веществ в реакции образования пиразолина при различных растворителях

Соединение	DMF	CF ₃ CH ₂ OH	MeOH	AcOH	MePh	CH ₃ CN
187	49 %	89 %	1 %	35 %	80 %	41 %
22	9 %	9 %	3 %	6 %	15 %	32 %
188	37 %	1 %	24 %	26%	4 %	22 %
189	5 %	1 %	72%	33%	1 %	0 %

Для нас оптимальным с точки зрения синтеза пиразолина **204** оказалось использование ацетонитрила в качестве растворителя, на рисунке 1 указана зависимость концентрации исходных веществ и продуктов от времени, которая подтверждает селективное образование желаемого производного пиразолина. Данные ЯМР ¹³C показали наличие сигналов химического сдвига атомов пиразолона в структуре полученных соединений 143.5 м.д. (C=N), 64.2 м.д., 46.5 м.д. Кроме того, присутствуют два сигнала соответствующих этильной группы 97.9 м.д. и 100.9 м.д. (C≡C) и сигнал свойствующий триметилсилильной группе -0.25 м.д. На спектрах ЯМР ¹H аналогично наблюдаются характерные сигналы для 1,5-дифенил-3-((триметилсилил)этинил)-4,5-дигидро-1H-пиразола **204**.

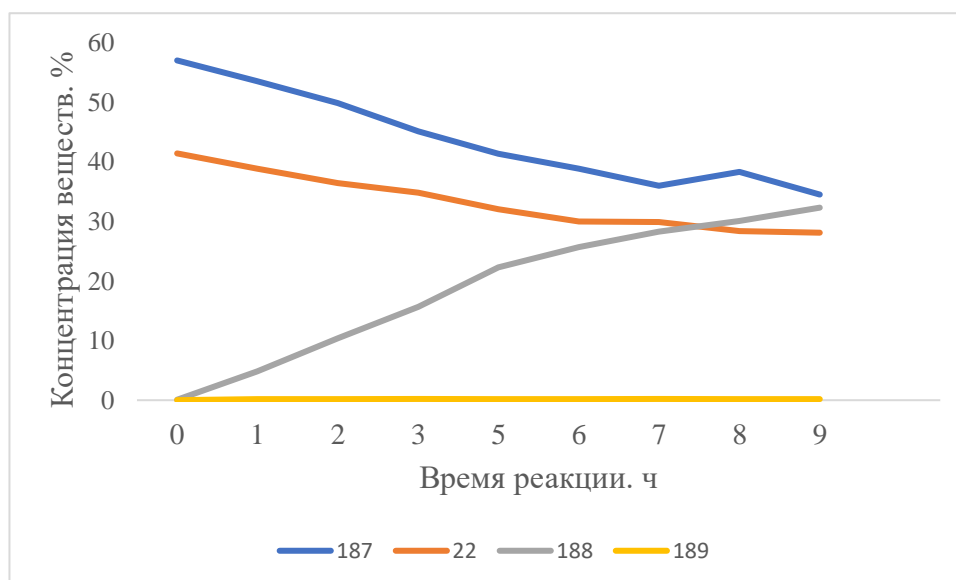
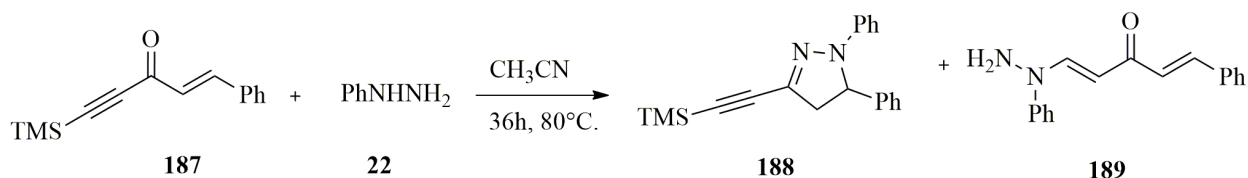


Рисунок 1 – зависимость концентрации веществ относительно времени реакции

Совокупность этих данных подтверждает структуру желаемого соединения. В ходе дальнейших исследований мы определили, что реакция идет наилучшим образом в условиях атмосферы аргона, 80 °С в течение 36 часов (схема 46).

Схема 46

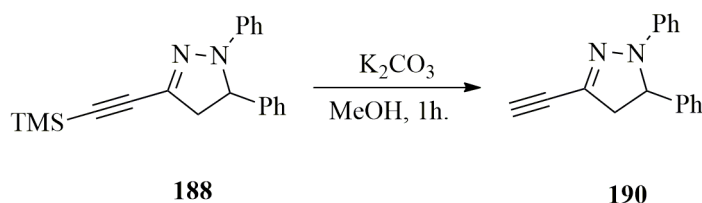


2.1.4 Десилилирование пиразолинов

В литературе существуют различные методики снятия кремнийсодержащей защитной группы с ацетиленовых соединений, мы решили проверить действие карбоната калия в метаноле при перемешивании, что дает ожидаемый 4-этинилпиразолин **190** (схема 47). Исходя из данных

полученных в ходе проведения ямр ^1H и ^{13}C спектроскопии можно сделать вывод о том, что присутствуют сигналы характерные для пиразолина и отсутствуют сигналы свойственные триметилсилильной группы, что подтверждает успешность проведенной реакции.

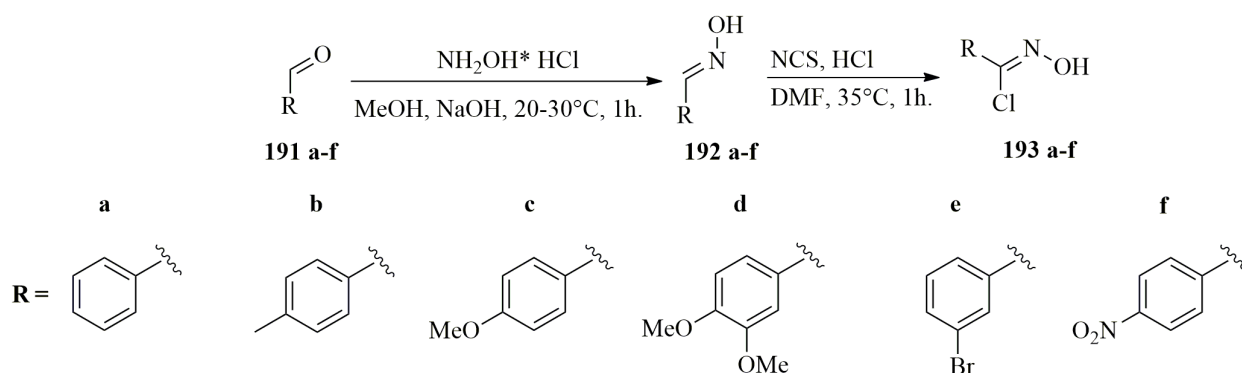
Схема 47



2.1.5 Получение гидроксимидоилхлоридов

Оксимы **192 a-f** получили действием гидроксилламин гидрохлорида на альдегиды **191 a-f**. Далее их подвергли реакции хлорирования под действием *N*-хлорсукцинимид в результате чего образовались имидоилхлориды **193 a-f**, что показано на схеме 48.

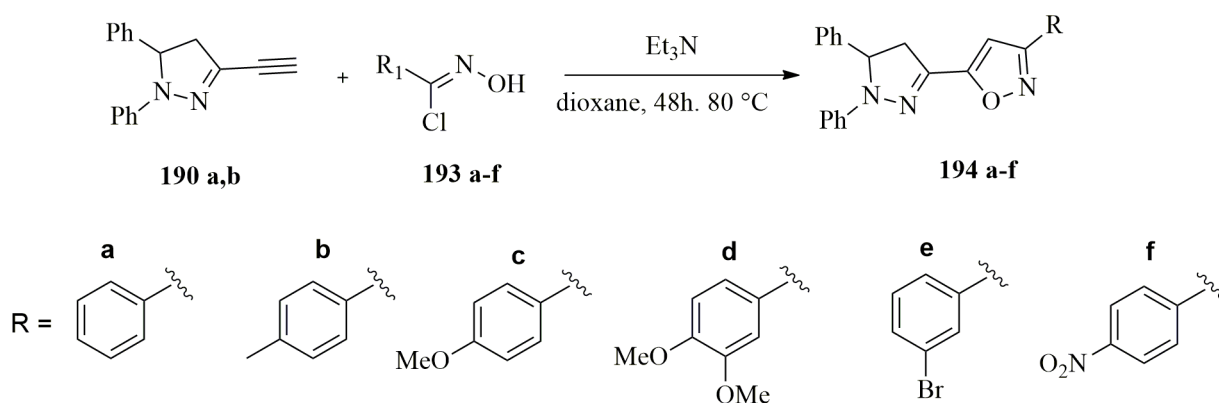
Схема 48



2.2 Синтез целевых соединений

Целевые пиразолиноксазолы **194a-f** получили в результате циклоконденсации пиразолина **190** и гидроксимидоилхлоридов **193a-f** под действием триэтиламина в диоксане в течение 48 часов. Продукт выделили 50% раствором MeOH (схема 49). Строение всех полученных соединений подтверждено ЯМР спектроскопией на ядрах ^1H и ^{13}C , что показано на рисунках 2 и 3.

Схема 49



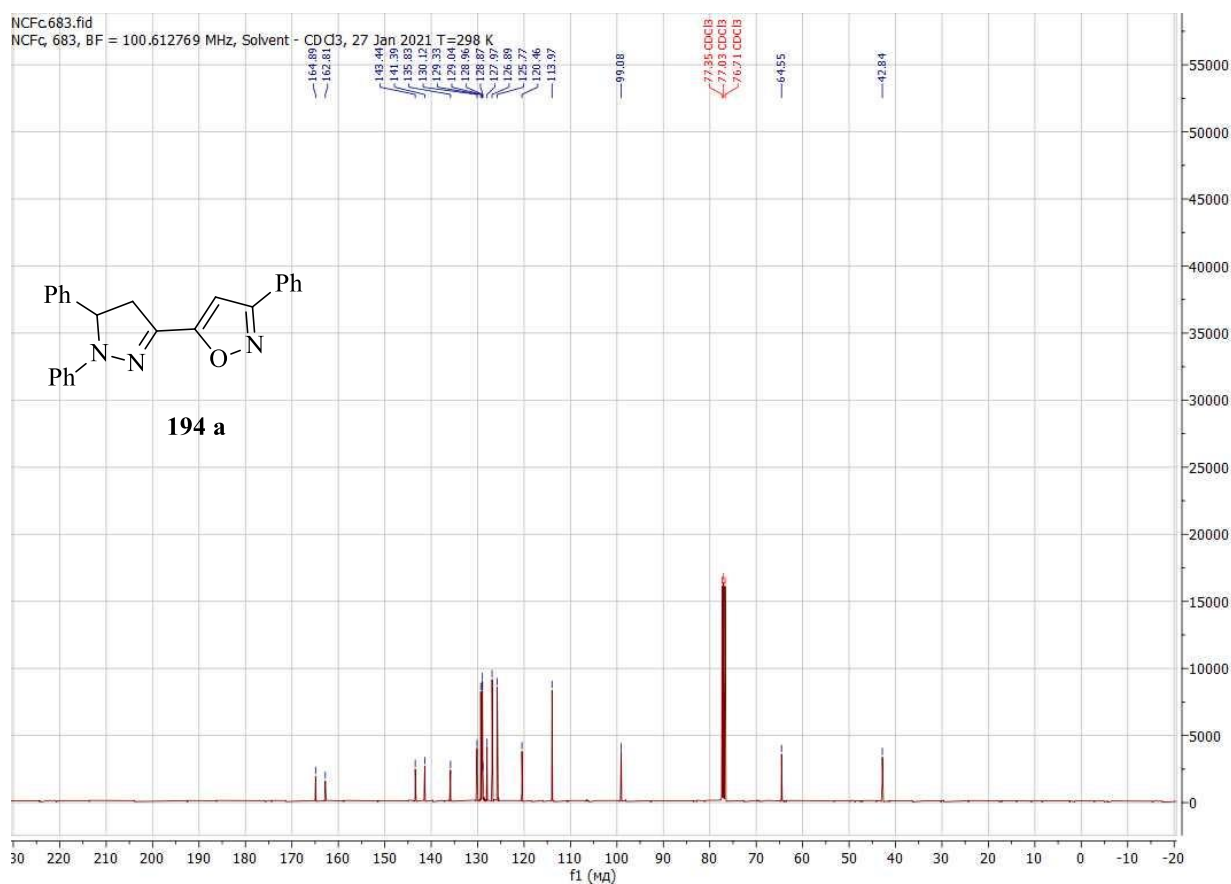


Рисунок 2 - ЯМР ¹³C соединения **194a**

Анализ спектров ЯМР ¹³C соединения **194a** показал два характерных сигнала химического сдвига, отвечающих алкильным атомам углерода пиразолинового ядра при 42.8 м.д. и 64.6 м.д. Углеродный атом группы C=N гетероциклического кольца дает сигнал 143.4 м.д. Кроме того присутствуют характерные сигналы, отвечающие химическим сдвигам ядер углерода изоксазола 99.1, 162.8 и 164.9.

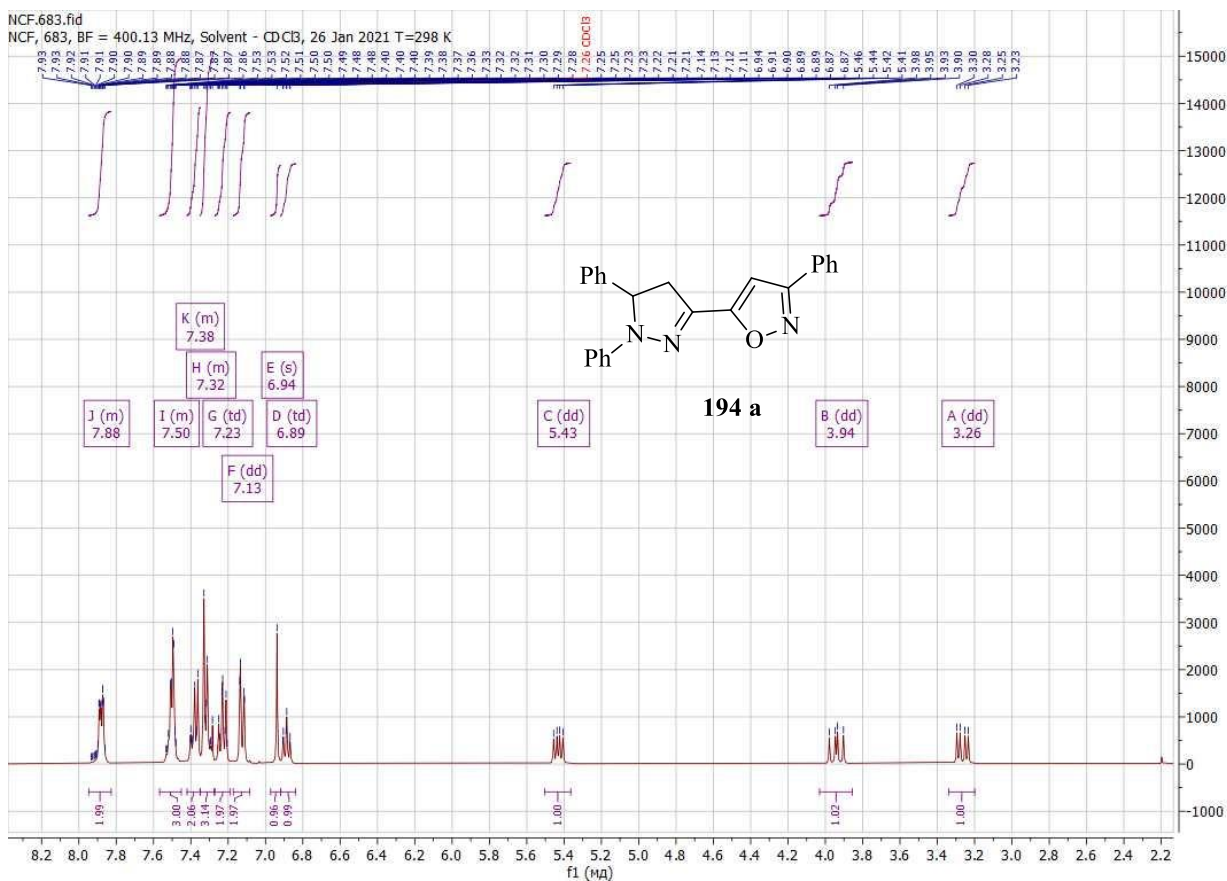


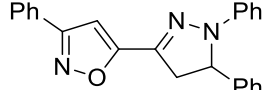
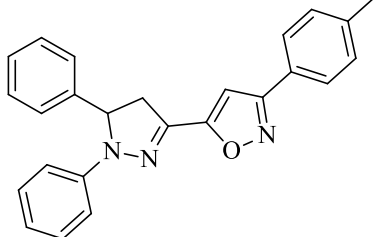
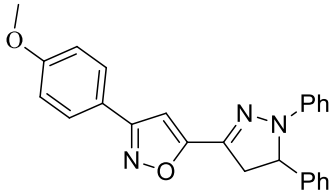
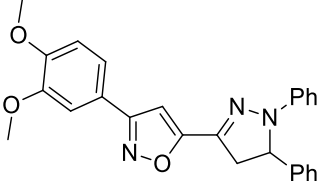
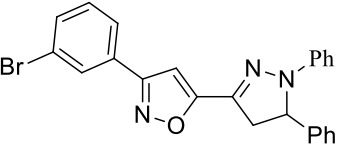
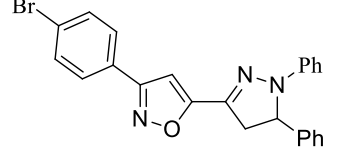
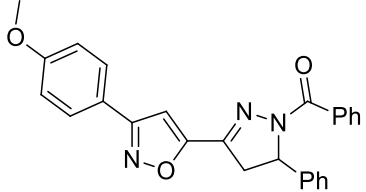
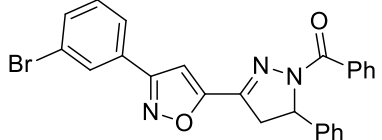
Рисунок 3 - ЯМР ^1H соединения **194a**

На ЯМР спектрах ^1H полученного соединения **194a** наблюдаются характерные сигналы протонов для фенильных групп в интервале 7.21–7.93 м.д. метиленовые протоны пиразолинового цикла, проявляющиеся в виде двух плохо разрешенных дублет дублетных сигналов при 3.26–3.94 м. д.

2.3 Исследование флуоресценции

Исходя из данных полученных в ходе исследования флуоресценции целевых соединений и соединений, полученных ранее в лаборатории, было выявлено, что наибольшее значение квантового выхода соответствует пиразолилзоксазолу **194d**, что указано в таблице 2. Эффективность флуоресценции сложно зависит от структуры полученных соединений.

Таблица 2 – Результаты исследования флуоресценции.

Соединение	Структура соединения	ϵ_{ex} , нМ	ϵ_{em} , нМ	ν_{s} , нМ	QY %
194 a		417	459	42	15
194 b		417	535	118	15
194 c		431	459	28	10
194 d		448	519	71	23
194 e		448	515	67	18
195		340	480	140	16
196		375	414	39	15
197		357	388	31	19

2.4 Биологические испытания

Синтезировав серию целевых соединений, было решено исследовать цитотоксическую активность части из них на клетках рака легкого NCI-H460 вместе с пиразолилзоксазолами, полученными ранее в нашей лаборатории. Исходя из полученных данных IC_{50} , что показано в таблице 3, можно сделать вывод о значительном влиянии заместителей на цитотоксические свойства соединений, что показано на рисунке 4. Наиболее активным оказалось соединение **197**, имеющие бромфенильный заместитель при атоме углерода изоксазола, что делает это соединение и подобные ему наиболее интересными для дальнейшего изучения. Стоит отметить, что из соединений **194с**, **196** и **198**, отличающихся только радикалами при пиразолиновом кольце, наиболее цитотоксичным оказалось соединение **194с** с фенильными заместителями.

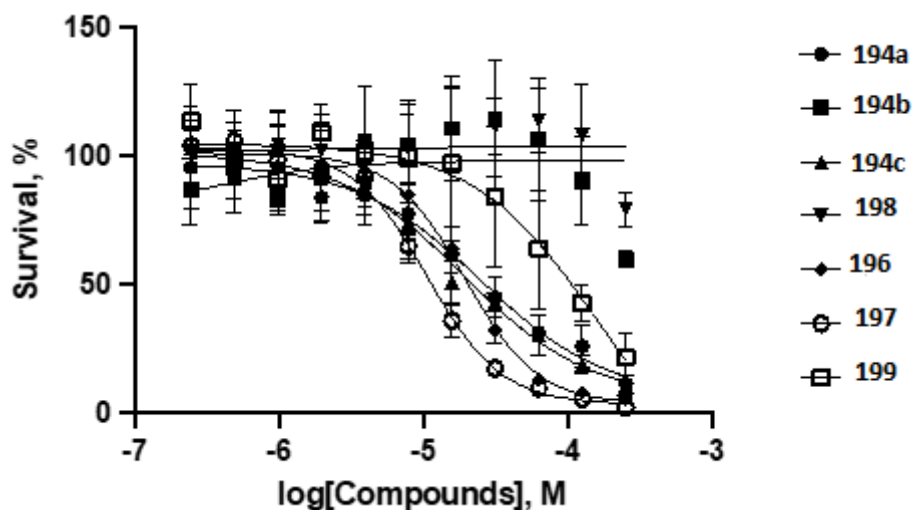
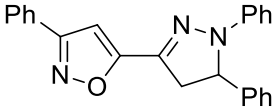
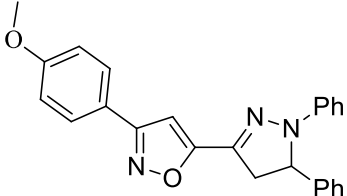
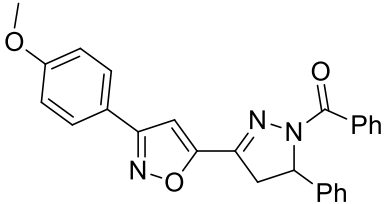
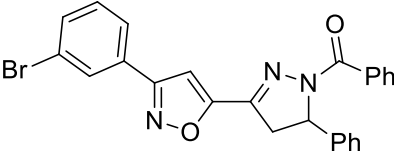
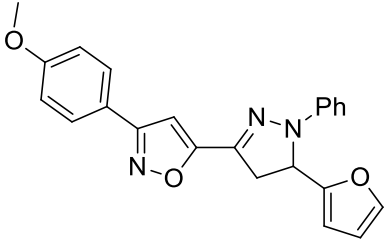
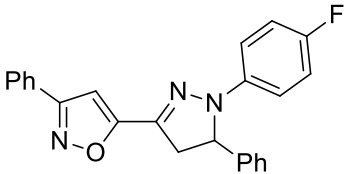


Рисунок 4 – Кривая доза-эффект

Таблица 3 – Результаты исследования цитотоксичности.

Номер соединения	Структура соединения	IC ₅₀ , μM
194a		>100
194c		27±15
196		35±14
197		13±3
198		>100
199		>100

3 Экспериментальная часть

3.1 Реагенты и оборудование

Ход реакций синтеза исходных соединений оценивали посредством тонкослойной хроматографии с применением пластинок с закрепленным слоем силикагеля. В качестве элюентов применялась смесь растворителей следующего состава: гексан:этилацетат 1:5. Обнаружение веществ (проявление пятен) проводили в парах йода и при УФ-облучении.

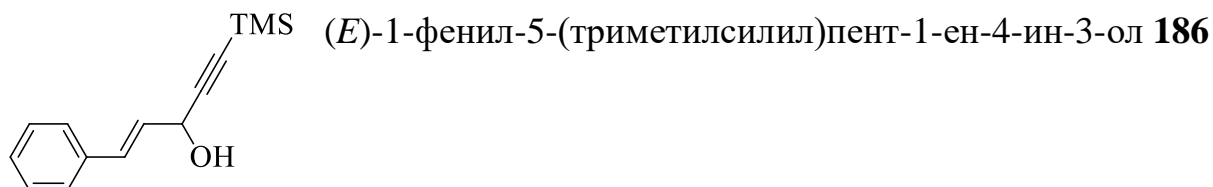
Данные ЯМР спектроскопии получены на приборе Bruker Avance III 400 МГц (400.00 и 101.00 МГц), при комнатной температуре в дейтерированном диметилсульфоксиде (DMSO-d₆) и дейтерированном хлороформе (CDCl₃).

Для проведения биологических испытаний использовались: ламинарный бокс (SafeFAST Elite), автоматическая раскапывающая станция (epMotion 5070), CO₂ -инкубатор (BINDER), инвертированный микроскоп (ZEISS), автоматический счетчик клеток (TC20 Bio-Rad), планшетный ридер (Promega), вакуумный насос, автоматический дозатор (Eppendorf), микродозатор (Eppendorf). Полная питательная среда RPMI-1640 + 10% FBS, TrypLE, PBS, МТТ, трипановый синий, DMSO. Культуральный флакон с обработанной поверхностью Eppendorf T75, 96-ти луночные планшеты Eppendorf для адгезивных культур, наконечники для микродозаторов (30 μl), наконечники для автоматической раскапывающей станции (1000 μl), серологические пипетки Eppendorf (5, 10, 50 ml), центрифужные пробирки Eppendorf (15 мл), резервуар Eppendorf (100 мл), слайд для автоматического счетчика клеток Bio-Rad.

3.2 Синтез исходных соединений

Общая методика получения TMS енинола **186**

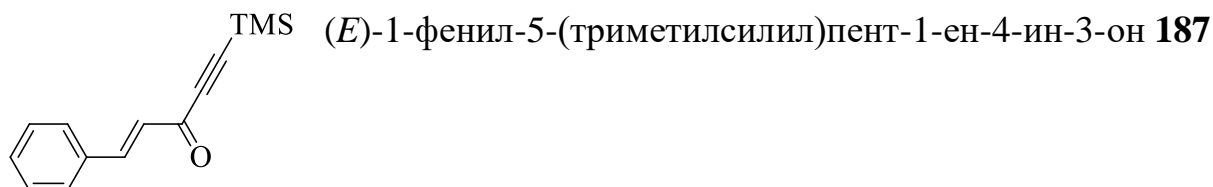
В четырехгорлую колбу с термометром, трубкой для подвода аргона и мембранным устройством, установленной на магнитной мешалке, внесли 11,47 г (117 ммоль) триметилсилил ацетилена и 65 мл THF. Раствор охлаждали до температуры – 55 °С, одновременно с этим продували колбу аргоном. Добавили 44 мл (111 ммоль) BuLi в гексане, поддерживая температуру не выше 4,5 °С. После чего, раствор оставили нагреваться до 5 °С при перемешивании на холодной водяной бане. Затем снизили температуру до – 70 °С и прикапали 6,38г (114 ммоль) акролеина. Затем нагрели до 0 °С и добавили раствор 40г NH₄Cl в 130мл воды. Водный слой отделяли 4 раза, а органический слой и экстракт объединили.



ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃) δ 7.47 – 7.42 (м, 2H), 7.38 – 7.33 (м, 2H), 7.31 – 7.27 (м, 1H), 6.82 – 6.78 (м, 1H), 6.32 (д, J = 15.7, 6.0 Гц, 1H), 5.09 – 5.07 (м, 1H), 0.24 (с 9H). ЯМР ¹³C (101 МГц, CDCl₃) δ 136.0, 132.0, 129.0, 128.0, 128.0, 127.0, 104.0, 91.0, 63.0, -0.14. Найдено, % : С: 72,99; Н: 7,88; Si: 12,19. Вычислено, %: С: 72,68;Н: 8,03; Si: 11,88.

Общая методика получения TMS енинона **187**

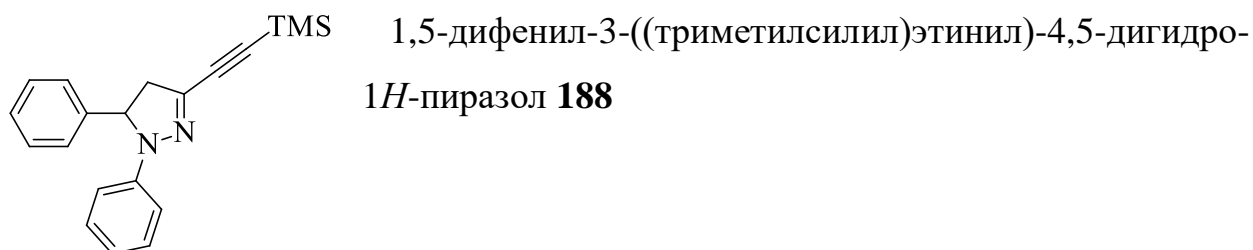
В коническую колбу внесли 29,5 г (111 ммоль) енинола, прилили 650 мл CH₂Cl₂ и добавили 232 г (2680 ммоль) MnO₂. Оставили на 1,5 ч. MnO₂ отфильтровали на воронке Бюхнера и промыли 1,5 л CH₂Cl₂. Затем органический слой повторно профильтровали через складчатый фильтр. Перегоняли при атмосферном давлении.



ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3) δ 7.86 (д, $J = 16.0$ Гц, 1H), 7.62-7.58 (м, 2H), 7.47-7.43 (м, 3H), 6.81 (д, $J = 16.0$ Гц, 1H), 0.34 (с, 9H). ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3) δ 178.0, 149.0, 134.0, 131.0, 129.0, 129.0, 128.0, 100.0, 99.0, 0.63.

Общая методика получения TMS пиразолина 188

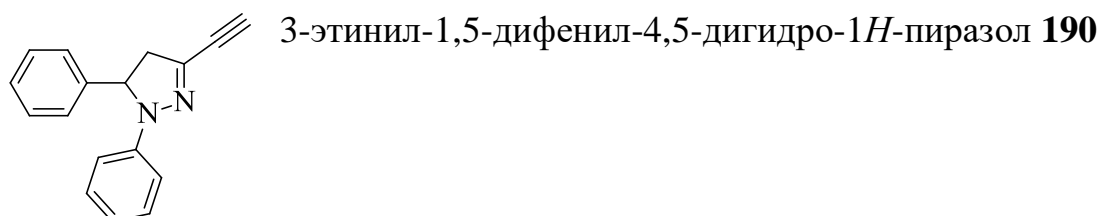
Раствор 465 мг (2 ммоль) енинона и 366 мг (3 ммоль) гидразина в 10 мл ацетонитрила влили в продутую аргоном ампулу и оставили при t 80 °С на 36 часов. После охлаждения и вскрытия ампулы выпадает кристаллический продукт.



Выход: 90% т. пл. 177-178 °С ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3) δ 7.38 – 7.34 (м, 2H), 7.31 – 7.26 (м, 3H), 7.19 – 7.15 (м, 2H), 7.04 – 7.01 (м, 2H), 6.84 – 6.81 (м, 1H), 5.27 (д, $J = 12.8$, 7.1 Гц, 1H), 3.61 (д, $J = 17.4$, 12.8 Гц, 1H), 2.92 (д, $J = 17.4$, 7.1 Гц, 1H), 0.27 (с, 9H). ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3) δ 144.0, 141.0, 131.0, 129.0, 129.0, 128.0, 126.0, 120.0, 114.0, 101.0, 98.0, 64.0, 47.0, 0.25. Найдено, % : С: 75,42; Н: 6,96; Si: 8,82. Вычислено, %: С: 75,64;Н: 7,24; Si: 8,47.

Общая методика получения производных пиразолина 190

В колбу внесли 344 г (1080 ммоль) пиразолина, растворили в 6 мл MeOH, добавили 16мг K_2CO_3 и перемешивали 1 час, после чего добавили воду.



Выход: 98% т. пл. 177-178 °С ЯМР ¹H (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 7.37 – 7.33 (м, 2H), 7.28 – 7.23 (м, 3H), 7.16 – 7.13 (м, 2H), 6.93 (д, J = 7.9 Гц, 2H), 6.78 – 6.74 (м, 1H), 5.47 (д, J = 12.5, 6.5 Гц, 1H), 4.51 (с, 1H), 3.68 (д, J = 17.6, 12.5 Гц, 1H), 2.77 (д, J = 17.6, 6.5 Гц, 1H). ЯМР ¹³C (101 МГц, ДМСО) δ 144.0, 142.0, 131.0, 130.0, 129.0, 128.0, 126.0, 120.0, 114.0, 87.0, 78.0, 64.0, 46.0 Найдено, % : С: 82,90; Н: 5,73; Вычислено, %: С: 82,71;Н: 5,86.

Общая методика получения оксимов 192a-f

Синтез проводили в соответствии с методикой [48], полученные соединения описаны в работе [49]. В коническую колбу на 100 мл внесли 5,369 г (50,1 ммоль) альдегида, 12,5 мл воды, 12,5 мл спирта, 13 г льда и 3,849 г (55 ммоль) гидроксиламин гидрохлорида. Затем при перемешивании добавили 5,01 г (125 ммоль) 50% NaOH, температуру поддерживали 20-30 °С в течение часа, для охлаждения добавляли лед. После чего проэкстрагировали эфиром для удаления нейтральных примесей. Водный слой подкислили HCl до pH 6. выпавший осадок отфильтровали.

Общая методика получения имидазихлоридов 193a-f

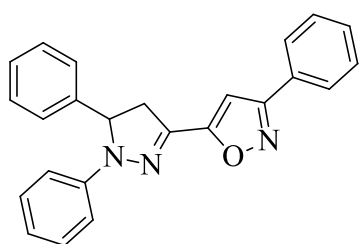
Синтез проводили в соответствии с методикой [48], полученные соединения описаны в работе [49]. В коническую колбу внесли 4,149г (34 ммоль) оксима. Растворили его в 28,3 мл DMF. Добавили 1/5 от 4,540г (34 ммоль) NCS и внесли следы HCl с помощью шприца. Остатки NCS внесли порциями, чтобы температура держалась в интервале 30-35 °С для соединений с электронодонорными заместителями и 40-50 °С для соединений с электроноакцепторными заместителями. При необходимости охлаждали на водяной бане. Об окончании реакции свидетельствует исчезновение черного кольца на крахмальной бумаге смоченной водой.

3.3 Синтез целевых соединений

Общая методика получения (дигидро-1*H*-пиразол-3-ил)-3-изоксазолов.

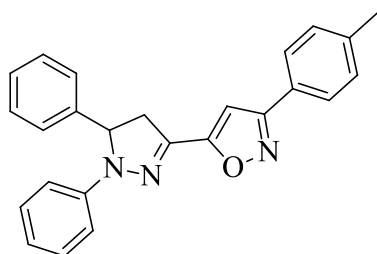
194 a-f.

В каплевидную колбу внесли 1 моль пиразолина и эквимолярное количество гидроксид хлорида, растворили в диоксане (2 мл), затем внесли 1,5 моля триэтиламина. Выпал осадок соль $\text{Et}_3\text{N}+\text{HCl}$, перемешивали двое суток. Для выделения продукта в колбу внесли 50% MeOH .



5-(1,5-дифенил-4,5-дигидро-1*H*-пиразол-3-ил)-3-фенилизоксазол **194a**

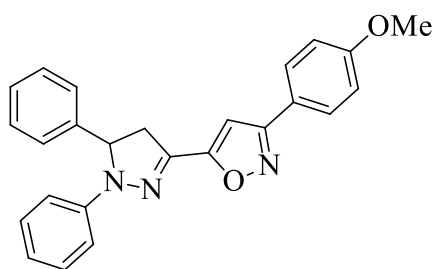
Выход: 63% т. пл. 177-178 °С ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3) δ 7.93 – 7.86 (м, 2H), 7.53 – 7.48 (м, 3H), 7.40 – 7.36 (м, 2H), 7.33 – 7.28 (м, 3H), 7.25 – 7.21 (м, 2H), 7.14 – 7.11 (м, 2H), 6.94 (с, 1H), 6.91– 6.87 (м, 2H), 5.43 (дд, $J = 12.8, 7.2$ Гц, 1H), 3.94 (д, $J = 17.5, 12.8$ Гц, 1H), 3.26 (д, $J = 17.5, 7.2$ Гц, 1H). ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3) δ 165.0, 163.0, 143.0, 141.0, 136.0, 130.0, 129.0, 129.0, 129.0, 129.0, 128.0, 127.0, 126.0, 121.0, 114.0, 99.0, 65.0, 43.0 Найдено, % : С: 78,88; Н: 5,24; Вычислено, %: С: 79,05;Н: 5,51.



5-(1,5-дифенил-4,5-дигидро-1*H*-пиразол-3-ил)-3-(*p*-толил)изоксазол **194b**

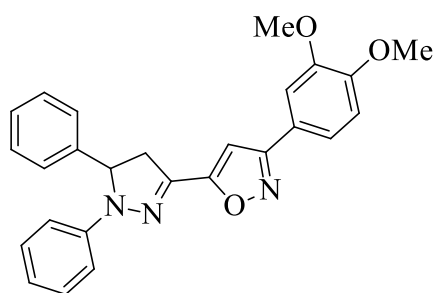
Выход: 85% т. пл. 176,5-177,7 °С ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3) δ 7.78 – 7.75 (м, 2H), 7.40 – 7.36 (м, 2H), 7.33 – 7.28 (м, 5H), 7.25 – 7.20 (м, 2H), 7.13 – 7.10 (м, 2H), 6.92 – 6.86 (м, 2H), 5.42 (м, $J = 12.7, 7.1$ Гц, 1H), 3.93 (м, $J = 17.5, 12.7$ Гц, 1H), 3.25 (м, $J = 17.5, 7.1$ Гц, 1H), 2.44 (с, 3H). ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3) δ

165.0, 163.0, 144.0, 141.0, 140.0, 136.0, 130.0, 129.0, 129.0, 128.0, 127.0, 126.0, 126.0, 120.0, 114.0, 99.0, 65.0, 43.0, 21.0. Найдено, % : С: 79,13; Н: 5,58; Вычислено, %: С: 78,99;Н: 5,44.



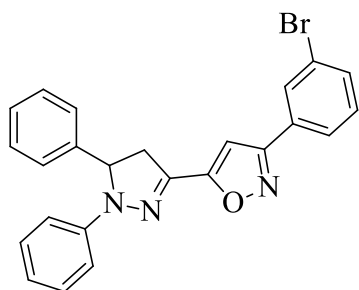
5-(1,5-дифенил-4,5-дигидро-1*H*-пиразол-3-ил)-3-(4-метоксифенил) изоксазол **194c**

Выход: 85% т. пл. 189,7-190 °С ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃) δ 7.83 – 7.79 (м, 2H), 7.40 – 7.28 (м, 5H), 7.25 – 7.21 (м, 2H), 7.13 – 7.10 (м, 2H), 7.03 – 7.00 (м, 2H), 6.90 – 6.86 (м 2H), 5.42 (м, *J* = 12.7, 7.1 Гц, 1H), 3.96 – 3.89 (м, 4H), 3.25 (м, *J* = 17.5, 7.1 Гц, 1H). ЯМР ¹³C (101 МГц, CDCl₃) δ 165.0, 162.0, 161.0, 144.0, 141.0, 136.0, 129.0, 129.0, 128.0, 128.0, 126.0, 121.0, 120.0, 114.0, 114.0, 99.0, 65.0, 55.0, 43.0. Найдено, % : С: 75,93; Н: 5,35; Вычислено, %: С: 75,79;Н: 5,47.



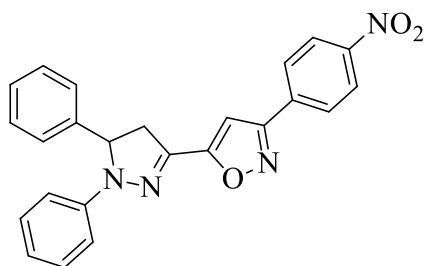
3-(3,4-диметоксифенил)-5-(1,5-дифенил-4,5-дигидро-1*H*-пиразол-3-ил)изоксазол **194d**

Выход: 67% т. пл. 156-157 °С ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃) δ 7.47 (д, *J* = 1.8 Гц, 1H), 7.41 – 7.28 (м, 6H), 7.25 – 7.20 (м, 2H), 7.13– 7.10 (м, 2H), 6.96 (д, *J* = 8.3 Гц, 1H), 6.90 – 6.86 (м, 2H), 5.41 (м, *J* = 12.7, 7.1 Гц, 1H), 3.99 – 3.88 (м, 7H), 3.24 (м, *J* = 17.5, 7.1 Гц, 1H). ЯМР ¹³C (101 МГц, CDCl₃) δ 165.0, 163.0, 151.0, 149.0, 143.0, 141.0, 136.0, 129.0, 129.0, 120.0, 126.0, 122.0, 120.0, 120.0, 114.0, 111.0, 109.0, 99.0, 65.0, 56.0, 56.0, 43.0 Найдено, % : С: 73,39; Н: 5,45; Вычислено, %: С: 73,20;Н: 5,59.



3-(3-бромфенил)-5-(1,5-дифенил-4,5-дигидро-1*H*-
пиразол-3-ил)изоксазол **194e**

Выход: 79% т. пл. 162-163 °С ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3) δ 8.03 (т, $J = 1.6$ Гц, 1H), 7.81 – 7.79 (м, 1H), 7.63 – 7.60 (м, 1H), 7.40 – 7.28 (м, 6H), 7.26 – 7.21 (м, 2H), 7.14 – 7.10 (м, 2H), 6.91 – 6.87 (м, 2H), 5.43 (м, $J = 12.8, 7.1$ Гц, 1H), 3.93 (м, $J = 17.5, 12.8$ Гц, 1H), 3.25 (м, $J = 17.5, 7.1$ Гц, 1H). ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3) δ 165.0, 162.0, 143.0, 141.0, 136.0, 133.0, 131.0, 131.0, 129.0, 129.0, 129.0, 128.0, 126.0, 125.0, 123.0, 121.0, 114.0, 99.0, 65.0, 43.0 Найдено, % : С: 64,88; Н: 4,08; Br: 17,58. Вычислено, %: С: 64,52;Н: 4,35; Br: 17,89.



5-(1,5-дифенил-4,5-дигидро-1*H*-пиразол-3-ил)-3-
(4-нитрофенил)изоксазол **194f**

Выход: 84 % т. пл. 179-180 °С ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3) δ 8.38 – 8.35 (м, 2H), 8.07 – 8.04 (м, 2H), 7.40 – 7.36 (м, 2H), 7.34 – 7.30 (м, 3H), 7.26 – 7.21 (м, 2H), 7.14 – 7.10 (м, 2H), 7.00 (с 1H), 6.92 – 6.88 (м, 1H), 5.47 (д, $J = 12.8, 7.0$ Гц, 1H), 3.96 (д, $J = 17.5, 12.8$ Гц, 1H), 3.28 (д, $J = 17.5, 7.0$ Гц, 1H). ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3) δ 166.0, 161.0, 149.0, 143.0, 141.0, 135.0, 135.0, 129.0, 129.0, 128.0, 128.0, 126.0, 124.0, 121.0, 114.0, 99.0, 65.0, 43.0

3.4 Исследование флуоресценции

Спектрофлуориметрические измерения выполнены на приборе Shimadzu RF-6000 в диапазоне λ 300–90 нм с использованием кварцевых кювет с толщиной поглощающего слоя 1 см при спектральной ширине щели монохроматора 5 нм. Регистрация спектров флуоресценции проводилась под углом 90° к падающему на кювету возбуждающему лучу. Измерения проводились минимум для трех растворов с оптической плотностью не более 0.25. Растворители для спектрофлуориметрических измерений перед использованием перегоняли и контролировали их чистоту по спектрам флуоресценции.

3.5 Биологические исследования

Для изучения биологической оценки исследуемых соединений использовалась клеточная линия NCI-H460. При МТТ-тесте следует использовать культуры без признаков старения и контаминации.

Клетки снимали с флакона T75 см² с помощью реагента TrypLE. После открепления клеток от субстрата добавили полную питательную среду RPMI-1640 + 10% FBS для нейтрализации действия TrypLE и сбора всех клеток в пробирку. Открутив клетки на центрифуге, удалили супернатант, клеточный осадок растворили в свежей питательной среде. Отобрали одинаковый объем клеточной суспензии и красителя трипанового синего, перемешали, нанесли на слайд для подсчета на автоматическом счетчике клеток. После полученных данных о количестве жизнеспособных клеток, добавили необходимый объем клеточной суспензии и перенесли в резервуар Eppendorf (100 мл), довели суммарный объем до 50 мл в резервуаре полной питательной средой RPMI-1640 + 10% FBS.

При помощи роботизированной автоматической станции с данного резервуара внесли в каждую лунку по 200 μ l клеточной суспензии в два 96-ти

луночных планшета, где количество клеток в каждой лунке составило 5000 клеток. Затем планшеты убрали в CO₂ -инкубатор BINDER при 37°C и 5% содержанием CO₂ на ночь, для адгезии клеток. На следующий день приготовили первичные стоки исследуемых соединений, растворив их в ДМСО. Далее разбавили тестируемые соединения в полной питательной среде, и добавили в лунки В1-Н1, строка А при исследовании является положительным контролем. После внесения соединений инкубировали 48 ч в CO₂ -инкубаторе BINDER при 37°C и 5% содержанием CO₂. Спустя 48 ч добавили 40 µl красителя МТТ в каждую лунку и проинкубировали 4 ч. Затем удалили все содержимое лунок и с помощью автоматической роботизированной станции добавили 150 µl ДМСО для растворения продукта восстановления МТТ- формазана.

Используя планшетный ридер Promega, сняли оптическую плотность при длине волны 560 nm. Полученные данные оптических плотностей импортировали в Excel и рассчитали процент жизнеспособных клеток. Затем при помощи программного обеспечения GraphPad Prism рассчитали значения IC₅₀ и построили дозозависимый график.

Заключение

В литературном обзоре данной работы описаны различные подходы к получению бис- и полигетероциклических систем на основе пиразолона и имидазола, кроме того установлено, что многие соединения обладают высокими флуоресцентной и биологической активностями.

По результатам проведенной экспериментальной работы можно сделать следующие выводы:

Нами был разработан подход к получению серии ранее не описанных пиразолиновых производных изоксазола с хорошими выходами 63 – 85 %.

В ходе оптимизации реакции получения исходного кремний содержащего пиразолина мы подобрали наиболее подходящий растворитель: ацетонитрил, при использовании которого преимущественно образовывался желаемый кремний содержащий пиразолин **188**, а не побочный аддукт арилгидразина **189**. Анализ реакционной смеси провели при помощи метода газовой хроматографии, спустя 2 часа от начала реакции. Кроме того, при дальнейшем изучении реакции были подобраны условия, при которых выход пиразолона был наилучшим: атмосфера аргона, 80 °С, 36 часов.

Синтезировав серию целевых соединений, провели исследование их флуоресцентной активности, было определено, что пиразолилизоксазол **194d** имеет наибольший квантовый выход 23%, эффективность флуоресценции сложным образом зависит от структуры полученных соединений.

Кроме того, провели биологическое испытание цитотоксичности целевых соединений по отношению к клеткам рака легкого NCI-H460. Было определено, что природа заместителей оказывает существенное влияние на активность полученных пиразолилизаксозолов. Соединение **197** проявляет наибольшую цитотоксическую активностью $IC_{50} = 13 \pm 3 \mu M$. Стоит отметить, что из ряда соединений **194c**, **196** и **198**, различие которые заключается только в радикалах при пиррольном атоме пиразолина, наиболее цитотоксичным оказалось соединение **194c** с фенильным заместителем.

Список используемой литературы

- 1 Synthesis and biological activity of anticoccidial agents: 5,6-diarylimidazo[2,1-*b*][1,3]thiazoles / A. Scribner, S. Meitz, M. Fisher et al. // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2008. – Vol. 18, № 19. – P. 5263–5267.
- 2 New antitumor imidazo[2,1-*b*]thiazole guanylhydrazones and analogues. / A. Andreani, S. Burnelli, M. Granaiola et al. // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2008. – Vol. 51, № 4. – P. 809–816.
- 3 Šačkus, A. Synthesis of heterocyclic analogs of α -amino adipic acid and its esters based on imidazo[2,1-*b*][1,3]thiazole / A. Šačkus, A. Thiazole, D. Bričkutė, O. Paliulis, F. Slok // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. – 2014. – Vol. 52, № 4. – P. 1032–1036.
- 4 A Facile Synthesis of Some New 1-Benzothiazolyl-3-aryl/Hetaryl-5-(3-aryl-1-phenyl-4-pyrazolyl) Pyrazoles and Their Antimicrobial Activity / S. Singh, V. Punia, C. Sharma et al. // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. – 2014. – Vol. 52, № 6. – P. 1817–1822.
- 5 Abdel-Aziz, M. Synthesis of novel pyrazole derivatives and evaluation of their antidepressant and anticonvulsant activities / M. Abdel-Aziz, G.A. Abu-Rahma, A.A. Hassan // *Eur J Med Chem*. – 2009. – Vol. 44, № 9. – P. 3480–3487.
- 6 Amir, M. Synthesis and pharmacological evaluation of pyrazoline derivatives as new anti-inflammatory and analgesic agents / M. Amir, H. Kumar, S.A. Khan // *Bioorg Med Chem Lett*. – 2008. – Vol. 18, № 3. – P. 918–922.
- 7 Imidazothiazole-based potent inhibitors of V600EB-RAF kinase with promising anti-melanoma activity: biological and computational studies / H.S. Anbar, M.I. El-Gamal, H. Tarazi et al. // *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. – 2020. – Vol. 35, № 1. – P. 1712–1726.
- 8 G et al. // *Medicinal Chemistry & Drug Discovery*. – 2017. – Vol. 2, № 22. – P. 6480–6487.

9 Synthesis and potential coanthracyclinic activity of imidazo[2,1-*b*]thiazole guanylhydrazones / A. Andreani, A. Leoni, A. Locatelli, et al. // *Bioorg Med Chem.* – 2000. – Vol. 8, № 9. – P. 2359–2366.

10 Synthesis of imidazo[2,1-*b*]thiazoles as herbicides / A. Andreani, M. Rambaldi, Al. Leoni et al. // *Pharmaceutics Acta Helvetiae.* – 1996. – Vol. 72 – P. 247–252.

11 Servi, S. A novel and efficient synthesis of 3-aryl and 3-heteroaryl substituted-1*H*-indazoles and their Mannich derivatives /S. Servi, Z.R. Akgun // *Synthetic communications.* – 2002. – Vol. 32, № 22. – P. 3399–3405.

12 Cuadro, A.M. Binuclear pyrazoles. I. Synthesis and cytotoxic activity of 1,1'-dibenzyl and 1,1'-dihydroxymethyl 4,4'-bispyrazoles / A.M/ Cuadro, J. Elguero, P. Navarro // *Chem Pharm Bull.* – 1985. – Vol. 33, № 6. – P. 2535–2540.

13 Dawood, K.M. Synthesis of 3,3'-bipyrazole, 5,5'-bi-1,3,4-thiadiazole and fused azole systems via bishydrazonoyl chlorides / K.M. Dawood, N.M. Elwan // *Journal of chemical research.* – 2004. – Vol. 2004, № 4. – P. 264–266.

14 Hoe, L. Porous Metal-Organic Framework Based on μ_4 -oxo Tetrazinc Clusters: Sorption and Guest-Dependent Luminescent Properties / L. Hou, Y. Lin, Xiao-M. Chen // *Inorganic Chemistry.* – 2007. – Vol. 47, № 4. – P. 1346–1351.

15 The effect of 1,3,5,5-tetramethyl-1*H*-1,3-bipyrazole on the corrosion of steel in 1.0 M hydrochloric acid / K. Tebbji, H. Oudda, B. Hammouti et al. // *Research on Chemical Intermediates.* – 2011. – Vol. 37, № 8. – P. 985–1007.

16 Bakr F. Synthesis and applications of bipyrazole systems / F. Bakr, A. Wahaba, K.M. Dawood // *ARKIVOC.* – 2012. – Vol. 2012, № 1. – P. 491 - 545.

17 Rostom, S. A. F. Polysubstituted pyrazoles, part 6. Synthesis of some 1-(4-chlorophenyl)-4-hydroxy-1*H*-pyrazol-3-carbonyl derivatives linked to nitrogenous heterocyclic ring systems as potential antitumor agents / S.A.F. Rostom // *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* – 2010. – Vol. 18, № 7. – P. 2767 - 2776.

18 New pyrazolic compounds as cytotoxic agents / I. Bouabdallah, L.M'barek, A. Zyad et al. // *Natural Product Research.* – 2007. – Vol. 21, № 4. – P. 298–302.

19 Lunagariya, M. V. Evolution of 1,3,5-trisubstituted bipyrazole scaffold based platinum(II) complexes as a biological active agent / M.V. Lunagariya, K.P. Thakor, B.H. Pursuwani, M.N. Patel // *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*. – 2018. – Vol. 37, № 8. – P. 455 - 483.

20 Mukherjee, A. Preparation of 4-cyano-3-methyl-1-phenyl-1h-pyrazole5-(4-bromophenyl)-nitrile imine: regio- and stereoselective synthesis of a new class of substituted 3-pyrazolyl-2-pyrazolines and pyrazoles / A. Mukherjee, K.K. Mahalanabis // *Heterocycles*. – 2009. – Vol. 78, № 4. – P. 911–922.

21 Efficient tautomerization hydrazone-azomethine imine under microwave irradiation. Synthesis of [4,3'] and [5,3']Bipyrazoles / A. Arrieta, J.R. Carrillo, F.P. Cossio et al. // *Tetrahedron*. – 1998. – Vol. 54, № 43. – P. 13167–13180.

22 Dawood, K.M. Synthesis of bipyrazole and 1,3,4-thiadiazole derivatives / K.M. Dawood, E.A. Ragab, A.M. Farag // *Journal of chemical research*. – 2009. – Vol. 2009, № 10. – P. 630–634.

23 Synthesis and antileishmanial evaluation of 1-aryl-4-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-1H-pyrazole derivatives / M.S. Santos, M.V. Oliveira, A.M. Bernardino et al. // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2011. – Vol. 21, № 24. – P. 7451–7454.

24 Pastrán, A. Camphorpyrazolium-based chiral functional ionic liquids / J. Pastrán, G. Agrifoglio, T. González, A. Briceño, R. Dorta // *Tetrahedron: Asymmetry*. – 2014. – Vol. 25, № 18. – P. 1280 – 1285.

25 Camphopyrazole-based *N,N*- and *N,P*-ligands and chiral complexes of Ni, Pd, and Rh: P–N bond activation upon Rh(I) complexation / A. Herrera, A. Briceño, T. Gonzalez et al. // *Tetrahedron*. – 2016. – Vol. 27, № 16. – P. 759–767.

26 Bulky and modular 3,3'-bipyrazoles as ligands: synthesis, characterization, and catalytic activity of Pd complexes / M. J. Spallek, S. Stockinger, R. Goddard et al. // *European Journal of Inorganic Chemistry*. – 2011. – Vol. 2011, № 32. – P. 5014–5024.

27 Servi, S. A novel and efficient synthesis of 3-aryl and 3-heteroaryl substituted-1*H*-indazoles and their Mannich derivatives / S. Servi, Z.R. Akgun // Synthetic communications. – 2002. – Vol. 32, № 22. – P. 3399–3405.

28 Mahendran, V. An easy access to bipyrazoles and unusual demethylation of methyl phosphorous ester: Exploring the synthetic utility of Bestmann-Ohira reagent / V. Mahendran, K. Pasumpon, S. Shanmugam // ChemistrySelect. – 2017. – Vol. 2, № 9. – P. 2866–2869.

29 Singh, R.P. Energetic Nitrogen-Rich Salts and Ionic Liquids / R.P. Singh, R.D. Verma, D.T. Meshri, J.M. Shreeve // Angewandte Chemie International Edition. – 2006. – Vol. 45, № 22. – P. 3584–3601.

30 Tang, Y. Balancing excellent performance and high thermal stability in a dinitropyrazole fused 1,2,3,4-tetrazine / Y. Tang, D. Kumar, J. M. Shreeve // Journal of the American Chemical Society. – 2017. – Vol. 139, № 39. – P. 13684–13687.

31 Shreeve, J. M. A C-C bonded 5,6-fused bicyclic energetic molecule: exploring an advanced energetic compound with improved performance / J. M. Shreeve, Y. Tang, C. He et al. // Chemical Communications. – 2018. – Vol. 2018, № 54. – P. 10566–10569.

32 Camphopyrazole-based *N,N*- and *N,P*-ligands and chiral complexes of Ni, Pd, and Rh: *P-N* bond activation upon Rh(I) complexation / A. Herrera, A. Briceno, T. Gonzalez et al. // Tetrahedron. – 2016. – Vol. 27, № 16. – P. 759–767.

33 One-pot synthesis of new acid photogenerators for rhodamine laser dyes fluorescence activation / V.F. Traven, N.A. Pozharskaya, N.P. Solovjova et al. // Dyes and Pigments. – 2017. – Vol. 201, № 136. – P. 612–618.

34 Sun, J.H. Efficient Synthesis of 5-(Bromomethyl)- and 5-(Aminomethyl)-1-THP-Indazole / J.H. Sun, C. A. Teleha, J.S. Yan, J. D. Rodgers, D.A. Nugiel // J. Org. Chem. – 1997. – Vol. 62, № 16. – P. 5627–5629.

35 Servi, S. A novel and efficient synthesis of 3-aryl and 3-heteroaryl substituted-1*H*-indazoles and their Mannich derivatives / S. Servi, Z.R. Akgun // Synthetic communications. – 2002. – Vol. 32, № 22. – P. 3399–3405.

36 Pyrazole Ligands: Structure–Affinity/Activity Relationships and Estrogen Receptor- α -Selective Agonists / S.R. Stauffer, C.J. Coletta, R. Tedesco // J. Med. Chem. – 2000. – Vol. 43, № 26. – P. 4934–4947.

37 Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic *N*-acetyl- Δ^2 -pyrazolines and dihydrothienocoumarines // F. Manna, F. Chimenti, A. Bolasco et al. // Eur. J. Med. Chem. – 1992. – Vol. 27, № 6. – P. 633–639.

38 3,5-diphenyl-1H-pyrazole derivatives. XI. *N*-aryl-5(3)-phenyl-4-(3,5-diphenyl-1-pyrazolyl)-3(5)-pyrazole amines, 5-substituted 4,5-dihydro-3-phenyl-4-(3,5-diphenyl-1-pyrazolyl)-1H-pyrazoles and 2,6-disubstituted 1,6-dihydro-4-phenyl-5-(3,5-diphenyl-1-pyrazolyl)pyrimidines with antipyretic, antiinflammatory and other activities / O. Bruno, A. Ranise, F. Bondavalli et al. // Farmaco. – 1993. – Vol. 48, № 7. – P. 949 – 966.

39 Cuadro, A. Binuclear pyrazoles. I. Synthesis and cytotoxic activity of 1,1'-dibenzyl and 1,1'-dihydroxymethyl 4,4'-bispyrazoles /A.M. Cuadro, J. Elguero, P. Navarro // Chem. Pharm. Bull. – 1985. – Vol. 36, № 6. – P. 2535 – 2540.

40 3-Arylsulphonyl-5-arylamino-1,3,4-thiadiazol-2(3H)ones as anti-inflammatory and analgesic agents / S. Schenone, O. Bruno, A. Ranise et al. // Bioorganic & Medicinal Chemistry. – 2001. – Vol. 9, № 8. – P.2149 – 2153

41 Dawood, K. M. Synthesis, anticonvulsant, and anti-inflammatory evaluation of some new benzotriazole and benzofuran-based heterocycles / K.M. Dawood, H. Abdel-Gawad, E.A. Rageb, M. Ellithey, H.A. Mohamed // Bioorganic Medicinal Chemistry. – 2006. – Vol. 14, № 11. – P. 3672–3680

42 Synthesis of new 2,5-Disubstituted-1,3,4-thiadiazoles and preliminary evaluation of anticonvulsant and antimicrobial activities / H.N. Dogan, A Duran, S. Rollas et al. // Bioorganic & Medicinal Chemistry. – 2002. – Vol. 10, № 9. – P.2893 – 2898.

43 Farag, A.M. Regioselective synthesis of polysubstituted 3,3'-bi-1H-pyrazole derivatives via 1,3-dipolar cycloaddition reactions / A.M. Farag, N.A. Kheder, M. Budesinsky // Tetrahedron. – 1997. – Vol. 53, № 27. – P. 9293–9300.

44 Wroblewska, A. Synthesis of optically active polyheterocycles containing pyrrolidine, imidazole, and 1,2,3-triazole rings / A. Wroblewska, G. Mloston, H. Heimgartner // *Tetrahedron*. – 2015. – Vol. 26, № 24. – P. 1448–1452.

45 Nagarjuna, U. Synthesis of some new pyrrolyl dipyrazoles and pyrrolyl pyrazolyl isoxazoles and biological evaluation as antioxidants / U. Nagarjuna, T. Rekha, T. Sreenivasulu, V. Padmavathi, A. Padmaja // *Res. Chem. Intermed.* – 2015. – Vol. 44, № 7. – P. 4375–4396.

46 Dalinger, I.L. N-fluoro derivatives of nitrated pyrazole-containing fused heterocycles / I.L. Dalinger, T.K. Shkineva, I.A. Vatsadze, G.P. Popova, S.A. Shevelev // *Mendeleev Communications*. – 2011. – Vol. 21, № 1. – P. 48–49.

47 Шкинева, Т.К. Синтез 4,4'-динитро-1H,1'H-3,3'-бипиразолил-5,5'-диамина / Т.К. Шкинева, А.В. Корманов, В.Н. Болдинова, И.А. Вацадзе, И.Л. Далингер // *Химия гетероциклических соединений*. – 2018. – Vol. 54, № 7. – P. 703–709.

48 Liu, K. A Particularly Convenient Preparation of Benzohydroximinoyl Chlorides (Nitrile Oxide Precursors) / K. Liu, B. R. Shelton, R.K. Howe // *The Journal of Organic Chemistry*. – 1980. – Vol. 45, № 19. – P. 3916–3918.

49 Bhat, S.V. Synthesis of 1,2,4 oxadiazol-5-imine, 1,2,4-triazol-3-imine and derivatives: A Substituted Cyanamide-based Strategy for Heterocycle Synthesis / S.V. Bhat, D. Robinson, J.E. Moses, P. Sharma // *Organic Letters*. – 2016. – Vol. 18, № 5. – P. 1100 – 1103.