

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

На правах рукописи



ЕЛКИНА Наталья Андреевна

**ПОЛИФТОРАЛКИЛСОДЕРЖАЩИЕ
2-АРИЛГИДРАЗНИЛИДЕН-1,3-ДИКАРБОНИЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ
В СИНТЕЗЕ БИОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**

1.4.3. Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Екатеринбург – 2023

Работа выполнена в лаборатории медицинской химии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук

Научный руководитель: доктор химических наук, старший научный сотрудник, **БУРГАРТ Янина Валерьевна**

Официальные оппоненты: **ВЕРЕЩАГИН Анатолий Николаевич**, доктор химических наук, ФГБУН Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук, г. Москва, заведующий лабораторией углеводов и биоцидов им. академика Н.К. Кочеткова (№ 21);

ШКЛЯЕВ Юрий Владимирович, доктор химических наук, профессор, «Институт технической химии Уральского отделения Российской академии наук» – филиал федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, заведующий лабораторией синтеза активных реагентов;

УСАЧЕВ Сергей Александрович, кандидат химических наук, ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, доцент департамента фундаментальной и прикладной химии Института естественных наук и математики.

Защита состоится «23» января 2023 г. в 14:00 ч на заседании диссертационного совета УрФУ 1.4.03.09 по адресу: 620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19, ауд. И-420 (зал Ученого совета).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»:
<https://dissovet2.urfu.ru/mod/data/view.php?id=12&rid=4272>

Автореферат разослан « ___ » _____ 2022 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета

 Пospelова Татьяна Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы исследования. 1,3-Дикарбонильные соединения и их 2-функционализированные производные являются широко востребованными реагентами в органическом синтезе для получения не только разнообразных биологически активных соединений, но и лекарственных препаратов, таких как противовоспалительные и анальгетические средства (*антипирин, анальгин, пропифеназон, целебрекс*), противовирусные (*диуцифон*), противоопухолевые (*фторурацил*) и противомикробные агенты (*сульфадимидин*).

2-Арилгидразинилиден-1,3-дикарбонильные соединения (2-А-1,3-ДКС) также предоставляют богатые возможности для синтеза биоактивных веществ, поскольку в синтетическом плане они способны к разнообразным химическим модификациям благодаря сочетанию в их структуре реакционноспособных 1,3-дикарбонильного и арилгидразонного фрагментов. На основе этого скаффолда создан препарат *эльтромбопаг*, используемый для лечения тромбоцитопении и тяжелых форм анемии. Фторсодержащие аналоги 2-А-1,3-ДКС имеют значительные перспективы для исследований из-за уникальных свойств атомов фтора, модулирующих физические, химические и биологические свойства содержащих их молекул.

В лаборатории фторорганических соединений Института органического синтеза Уральского отделения Российской академии наук (ЛФОС ИОС УрО РАН) на протяжении более 20 лет разрабатывается химия полифторалкилсодержащих 2-А-1,3-ДКС¹. Среди их гетероциклических производных найдены вещества с туберкулостатической, антирадикальной, противовирусной активностями. Однако потенциал 2-арилгидразинилиден-1,3-дикарбонильного скаффолда для создания биоактивных молекул до сих пор не раскрыт. Ярким подтверждением этому является недавнее обнаружение среди полифторалкилзамещенных 2-арилгидразинилиден-3-оксоэфиров (2-А-3-ОЭ) эффективных ингибиторов карбоксилэстеразы (CES)², ключевого фермента гидролитического метаболизма многочисленных этерифицированных и амидированных лекарственных препаратов различного назначения. Ингибиторы CES, влияющие на скорость гидролиза таких лекарств, определяя скорость превращения действующего вещества в неактивный метаболит или, наоборот, пролекарства в активный агент, приобретают большое терапевтическое значение, а их разработка является важным инновационным направлением.

Целью работы является разработка методов химических трансформаций фторсодержащих 2-А-1,3-ДКС и их производных для получения биоактивных молекул.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Разработка методов модификации открытоцепного 2-арилгидразинилиден-1,3-дикарбонильного остова для создания селективных и эффективных ингибиторов карбоксилэстераз, а также функционально родственных ацетил- и бутирилхолинэстераз.
2. Развитие способов гетероциклизации 2-А-1,3-ДКС по 1,3-дикарбонильному фрагменту для получения биоактивных веществ.
3. Исследование путей преобразований 2-А-1,3-ДКС и их производных с участием арилгидразонного фрагмента.

Научная новизна и теоретическая значимость исследования.

- Разработаны методы синтеза полифторалкилсодержащих 2-арилгидразинилиден-3-оксокислот (2-А-ОК), а также их эфиров, содержащих остатки высших и природных спиртов, как новых высокоэффективных и селективных ингибиторов CES с антирадикальными свойствами. Найдено, что варьированием арильного или эфирного фрагментов можно достичь селективности создаваемых ингибиторов по отношению к изомерам CES человека (hCES1/2). Установлено, что замена сложноэфирной функции в 2-А-3-ОЭ на кетонную или сульфоновую группы приводит к снижению антикарбоксилэстеразного действия и повышению антирадикальной активности в полифторалкил-2-арилгидразинилиден-1,3-дикетонах

¹ Е.В. Щегольков и др. Успехи химии. 2010. 79. 33-64; Л.В. Политанская и др. Успехи химии. 2019. 88. 425-569

² Бургарт Я.В. и др. Патент РФ № 25742912014; Болтнева Н.П. и др. ДАН. 2015. 465. 367-371

(2-А-1,3-ДК) и 2-арилгидразинилиден-1,3-кетосульфонах. Эти свойства полученных 2-арилгидразинилиден-3-оксоамидов (2-А-3-ОА) зависят от заместителя в амидном фрагменте.

- Предложен подход к перспективным для терапии болезни Альцгеймера (БА) конъюгатам такрина с 2-арилгидразинилиден-1,3-аминоенкетонами (2-А-1,3-АК) как антихолинэстеразных агентов с антирадикальной способностью и потенциальными антиагрегатными свойствами в отношении бета-амилоида.

- Показано, что 4-арилгидразинилиден-5-полифторалкилпиразол-3-оны могут быть синтезированы в результате региоспецифичной циклизации полифторалкил-2-А-3-ОЭ с гидразинами, азосочетанием 4-незамещенных пиразололов с солями арилдиазония и найденной нами кислотнo-промотируемой самоциклизацией 2-А-3-ОЭ. Выявлен значительный потенциал полученных пиразолонов для создания ингибиторов СЕС, антигонорейных, противоопухолевых и анальгетических средств. Получены новые сульфонилодержащие 4-арилдиазенилпиразолы, обладающие противогриппозной активностью.

- Установлено, что полифторалкил-2-А-3-ОЭ реагируют с гидрохлоридом гидросиламина региоспецифично с образованием 4-арилгидразинилиден-3-полифторалкил-изоксазол-5-онов, а 2-А-1,3-ДК в аналогичных реакциях меняют направление циклообразования, давая 4-арилгидразинилиден-5-гидрокси-5-полифторалкилизоксазолины. Синтезированные изоксазолы обладают ярко выраженными антифунгальным и антирадикальным действиями.

- Найдено, что основным направлением реакции полифторалкил-2-А-3-ОЭ с 3-аминопиразолами является *N,N*-циклизация с образованием 6-голилгидразинилиденпиразоло-[1,5-*a*]пиримидинов. В случае 2-А-1,3-ДК направление циклизации зависит от строения субстратов и сопровождается как образованием изомерных пиразоло[1,5-*a*]пиримидинов за счет конкурентных *N,N*-циклизаций, так и получением пиразоло[3,4-*b*]пиридинов за счет *C,N*-циклизации. В ряду пиразолоазинов найдены анальгетически активные соединения.

- Обнаружено, что циклизация полифторалкил-2-А-1,3-ДКС с (этоксикарбонилметил)-трифенилфосфораном проходит региоспецифично по арилгидразон-полифторацильному фрагменту и приводит к функционализированным 5-полифторалкилпиридазин-3-онам.

- Показано, что 4-бром- и 4-йодфенилгидразинилиденпиразолы в реакциях кросс-сочетания Сузуки с (гет)арилбороновыми кислотами образуют 4-[4-(гет)арилфенилгидразинилиден]пиразол-3-оны с более высоким коэффициентом экстинции.

- Предложен подход к получению биоактивных 4-амино-3-СF₃-пиразолов в результате каталитического гидрирования 4-арилдиазенилпиразолов.

Практическая значимость. Предложены методики получения 2-А-3-ОК, а также их амидов и эфиров, содержащих остатки природных спиртов, азааминокетонов и их конъюгатов с такрином, а также функционализированных пиразолов, изоксазолов, пиразолоазинов, пиридазинов, которые могут быть использованы для дальнейших модификаций при создании биоактивных соединений. Разработаны новые ингибиторы СЕС и мультитаргентные агенты для лечения БА, а также анальгетические, антимикробные, противогриппозные и антирадикальные средства, перспективные для дальнейшего изучения.

Объекты исследования. Полифторалкилсодержащие 2-А-1,3-ДКС и их производные.

Методология и методы диссертационного исследования основаны на анализе литературных источников и направленном органическом синтезе. Строение полученных соединений доказано с использованием комплексных методов физико-химического анализа (элементный анализ, ИК и ЯМР ¹H, ¹⁹F, ¹³C спектроскопия, ГХ-МС, РСА). Для анализа использовано оборудование Центра коллективного пользования «Спектроскопия и анализ органических соединений» (ЦКП САОС). Для исследования механизма некоторых реакций и изучения таутомерного строения соединений привлечены квантово-химические расчеты.

Степень достоверности результатов обеспечена применением современного высокоточного оборудования и методик обработки результатов, а также воспроизводимостью экспериментов. Анализ состава, структуры и чистоты полученных соединений осуществлялся на сертифицированных и поверенных приборах ЦКП САОС.

Положения, выносимые на защиту:

- Методы модификации 2-А-1,3-ДКС для получения открытоцепных производных;
- Подходы к гетероциклизации 2-А-1,3-ДКС по 1,3-дикарбонильному фрагменту;
- Модификация 2-А-1,3-ДКС и их производных по арилгидразонному фрагменту;
- Данные по биологической активности синтезированных соединений.

Личный вклад соискателя состоит в поиске и систематизации данных литературы по синтезу и реакционной способности 2-А-1,3-ДКС. Экспериментальная часть исследований, наработка соединений для биологических испытаний. Подготовка публикаций, написание на их основе диссертационной работы.

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы доложены на 2-ой Международной конференции «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов» (MOSM 2018) (Екатеринбург, 2018), VIII Молодежной конференции ИОХ РАН (Москва, 2019), Международной конференции «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии» (OrgChem BioTech 2020) (Екатеринбург, 2020), Всероссийской конференции «Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней» (Сочи, 2021), Всероссийской научной конференции с международным участием «Современные проблемы органической химии» (Новосибирск, 2022).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ 20-33-90204 и в рамках соглашения № 075-15-2020-777 от 01.10.2020 г. Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано 16 научных работ, из них 11 статей опубликованы в рецензируемых научных журналах, определенных ВАК РФ и Аттестационным советом УрФУ, в том числе 6 статей в журналах, входящих в международные базы Scopus и Web of Science.

Структура и объем диссертации. Работа общим объемом 246 страниц состоит из трех основных глав: литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, а также оглавления, введения, заключения, списка литературы и условных сокращений. Работа содержит 290 ссылок на литературные источники, 33 таблицы, 68 схемы и 29 рисунков.

Благодарность. Автор выражает глубокую признательность и благодарность научным руководителям д.х.н. Бургарт Я.В. и к.х.н. Щеголькову Е.В. за руководство и поддержку, зав. лаб., член-корр. Салоутину В.И. и коллегам из ЛФОС за ценные советы по работе; ЦКП под руководством к.х.н. Кодесса М.И. за выполнение физико-химических исследований. Автор также благодарит к.х.н. Махаеву Г.Ф. (ИФАВ РАН, г. Черноголовка), д.м.н. Евстигнееву Н.П., к.б.н. Герасимову Н.А. (УрНИИДВиИ, г. Екатеринбург), к.б.н. Улитко М.В. (УрФУ, г. Екатеринбург) за проведение биологических исследований *in vitro*, к.х.н. Красных О.П. (ПНИПУ, г. Пермь) за проведение испытаний *in vivo*, к.х.н. Борисевич С.С. (УФИХ РАН, г. Уфа) за выполнение квантово-химических расчетов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении показаны актуальность, научная новизна и практическая значимость работы, сформулированы ее цели и задачи. **В литературном обзоре (глава 1)** обсуждаются синтез, строение и биологические свойства 2-А-1,3-ДКС и их производных, полученных при их взаимодействии с моно-, *N,N*-, *N,O*- и *S,N*-динуклеофильными и электрофильными реагентами. **Результаты и обсуждение** химических превращений и биологической активности синтезированных открытоцепных и гетероциклических производных 2-А-1,3-ДКС приведены в **главе 2**. **В экспериментальной части (глава 3)** описаны объекты исследования, оборудование, реактивы и материалы, методики синтеза.

Глава 1. Аналитический обзор литературы

Анализ литературных данных показал, что 2-А-1,3-ДКС являются синтетически легкодоступными реагентами, применяемыми для создания биоактивных веществ. При этом их химическая модификация может проходить по NH-группе гидразонного остатка, одной или двум карбонильным группам. Однако сведения о химической модификации открытоцепного

остова 2-А-1,3-ДКС ограничены, хотя генерируемые нециклические производные, несомненно, представляют интерес для биологического тестирования. Трансформации арилгидразонного остатка в 2-А-1,3-ДКС также до сих пор остаются малоизученными. Для разработки биоактивных соединений наиболее значимый потенциал имеют гетероциклы, синтезированные на основе 2-А-1,3-ДКС, среди которых особенно выделяются пиразольные и изоксазольные структуры, зачастую обладающие антимикробной, противоопухолевой и анальгетической активностью. Благодаря уникальным свойствам атомов фтора синтез фторсодержащих соединений особенно перспективен для задач медицинской химии.

Глава 2. Результаты и обсуждения

2.1 Синтез открытоцепных производных полифторалкил-2-А-1,3-ДКС и оценка их биологического действия

Первая задача направлена на разработку на основе 2-А-1,3-ДКС селективных ингибиторов CES, которые могут быть использованы в качестве солекарств, регулирующих метаболизм многочисленных лекарственных препаратов, гидролизующихся этим ферментом. Помимо этого, открытоцепные производные 2-А-1,3-ДКС представляют интерес для создания ингибиторов функционально родственных ацетил- и бутирилхолинэстераз (AChE, BChE).

2.1.1 Синтез полифторалкил-2-арилгидразинилиден-3-оксопропионатов и их биологическая активность

Для биологического тестирования и дальнейших химических модификаций на основе реакций азосочетания 3-оксоэфиров **2.1a-j** с солями арилдиазония **2.2a-m** получена большая серия 2-А-3-ОЭ **2.3a-aa** (схема 1), в которых широко варьировался арильный и полифторалкильный заместители. Эфиры **2.3c,f,i,k,l,n-p,r,s,u,y** синтезированы впервые. Для сравнения биологического действия получены известные нефторированные аналоги **2.3z,aa**, а также азосочетанием 1,3-дикетонатов лития **2.4a,b** с солями толилдиазония - 2-А-1,3-ДК **2.5a,b**.

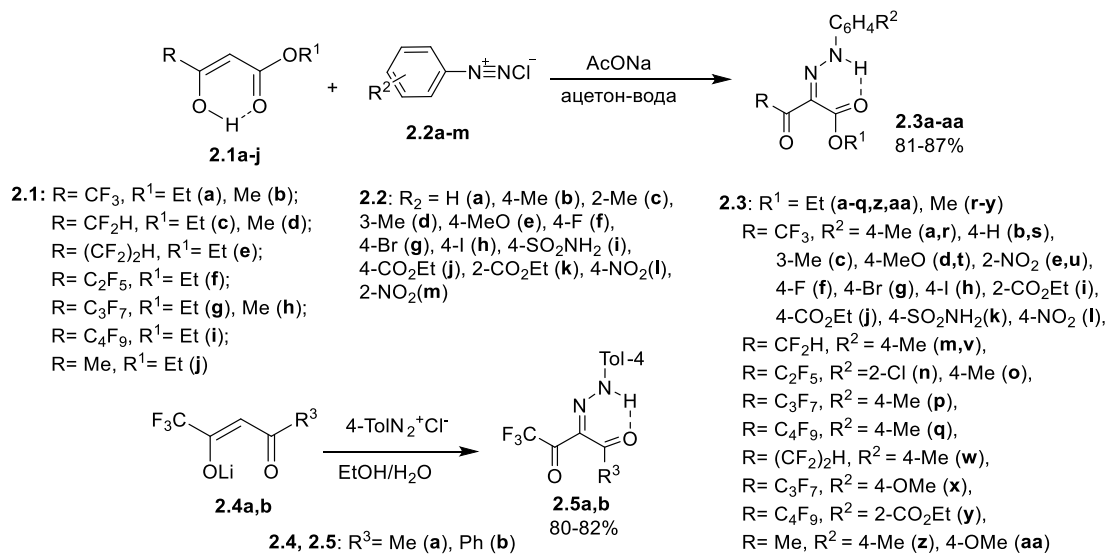


Схема 1

Анализ эстеразного профиля, включающий определение ингибиторной активности соединений по отношению к CES, а также функционально и структурно родственным AChE и BChE, показал, что все протестированные полифторалкил-2-А-3-ОЭ **2.3a,b,e-g,m,o,p,r,u** являются эффективными ингибиторами CES с IC₅₀ от 4.95 до 3230 нМ, при этом они проявляют примерно на три порядка меньшую ингибиторную активность в отношении AChE, BChE, что свидетельствует об их высокой селективности. В отличие от этого нефторированный аналог **2.3z** не проявил ингибиторную активность ни к одному из ферментов. Максимальную наномолярную активность в отношении CES показали CF₃-2-А-3-ОЭ **2.3a,b,e-g,u**. Уменьшение или увеличение количества атомов фтора во фторированном заместителе приводило к существенному снижению анти-CES активности. Этиловые эфиры **2.3a,b,e-g** были активнее метиловых аналогов **2.3r,u**; присутствие атомов галогена, метильной

или нитрогрупп в арильном фрагменте способствовало увеличению их ингибиторной активности. Кроме того, найдено, что замена сложноэфирной группы на кетонную приводит к снижению активности 2-А-1,3-ДК **2.5a,b** на три-четыре порядка. В таблице 1 представлены данные по биологическому действию самых активных CF₃-2-А-3-ОЭ **2.3a,b,e-g**, а также для сравнения сведения по активности полифторалкил-2-А-3-ОЭ **2.3m,o,p**, метиловых эфиров **2.3r,u**, нефторированного аналога **2.3z** и 2-А-1,3-ДК **2.5a,b**.

Таблица 1 – Эстеразный профиль и антирадикальная активность соединений **2.3** и **2.5**

№	Соединение			Ингибиторная активность IC ₅₀ ± SEM (М) или % ингибирования при 20 мкМ			ABTS ^{•+} - связывающая активность	
	R ¹	R ²	R ³	CES	AChE	BChE	TEAC	IC ₅₀ , мкМ
2.3a	CF ₃	OEt	4-Me	(7.41±0.58)×10 ⁻⁹ (2.92±0.23)×10 ^{-9*} (7.23±0.51)×10 ^{-8**}	(7.32± 0.58)×10 ⁻⁶	(8.34± 0.66)×10 ⁻⁶	0.95± 0.05	21.4± 0.9
2.3b	CF ₃	OEt	H	(6.14±0.55)×10 ⁻⁹ (6.10±0.48)×10 ^{-9*} (4.33±0.38)×10 ^{-9**}	(3.22± 0.28)×10 ⁻⁶	(8.42± 0.72)×10 ⁻⁶	0.80± 0.04	26.7 ±1.2
2.3e	CF ₃	OEt	2-NO ₂	(4.95±0.39)×10 ⁻⁹ (2.41±0.21)×10 ^{-8*} (4.04±0.28)×10 ^{-9**}	(7.59± 0.61)×10 ⁻⁷	(8.06± 0.64)×10 ⁻⁶	0.04± 0.01	н.о.
2.3f	CF ₃	OEt	4-F	(7.16±0.57)×10 ⁻⁹ (2.23±0.17)×10 ^{-8*} (9.84±0.78)×10 ^{-9**}	(2.67± 0.21)×10 ⁻⁷	(1.13± 0.9)×10 ⁻⁵	0.60± 0.04	35.3± 1.4
2.3g	CF ₃	OEt	4-Br	(5.14±0.41)×10 ⁻⁹ (1.53±0.11)×10 ^{-8*} (1.08±0.08)×10 ^{-8**}	(1.36± 0.11)×10 ⁻⁶	(2.02± 0.14)×10 ⁻⁶	0.53± 0.03	36.3± 1.5
2.3r	CF ₃	OMe	4-Me	(2.78±0.25)×10 ⁻⁸	(2.83± 0.22)×10 ⁻⁵	(3.30± 0.23)×10 ⁻⁵	0.98± 0.03	21.2± 0.9
2.3u	CF ₃	OMe	2-NO ₂	(7.65±0.68)×10 ⁻⁹	(2.09± 0.18)×10 ⁻⁵	(4.51± 0.41)×10 ⁻⁵	0.03± 0.01	н.о.
2.3m	CF ₂ H	OEt	4-Me	(3.23±0.28)×10 ⁻⁶	18.2± 1.4%	12.4± 1.9%	0.37± 0.02	53.3± 2.1
2.3o	C ₂ F ₅	OEt	4-Me	(1.64±0.11)×10 ⁻⁷	11.5± 1.9%	(3.11± 0.21)×10 ⁻⁵	0.36± 0.02	55.2± 2.1
2.3p	C ₃ F ₇	OEt	4-Me	(1.02±0.08)×10 ⁻⁷	23.6± 2.1%	(4.21± 0.37)×10 ⁻⁵	0.30± 0.02	62.3± 1.8
2.3z	Me	OEt	4-Me	12.1±1.8%	6.8±1.2%	н.а.	0.38± 0.03	52.4± 1.8
2.5a	CF ₃	Me	4-Me	(5.66±0.51)×10 ⁻⁵	11.0± 1.9%	13.4± 2.3%	1.33± 0.2	15.6± 0.9
2.5b	CF ₃	Ph	4-Me	(5.54±0.44)×10 ⁻⁶	9.1± 1.7%	19.4± 1.6%	1.7± 0.18	12.8± 0.5
BNPP				(1.8±0.1)×10 ⁻⁶	н.а.	н.а.	-	-
Тролокс				-	-	-	-	20.4±0.6

CES – карбоксилэстераза печени свиньи, AChE – ацетилхолинэстераза эритроцитов человека, BChE – бутирилхолинэстераза сыворотки лошади; TEAC – антиоксидантная способность в эквиваленте тролокса; н.а. – неактивно; н.о. – не определено; BNPP – бис-(4-нитрофенил)фосфат; *активность в отношении карбоксилэстеразы-1 человека (hCES1), **активность в отношении карбоксилэстеразы-2 человека (hCES2)

Тестирование 2-А-3-ОЭ **2.3a,b,e,f,g** на способность ингибировать изомерные карбоксилэстеразы человека hCES1 и hCES2 (таблица 1) показало, что варьированием заместителя в арильном фрагменте можно добиться повышения селективного ингибиторного действия к каждой из изомерных форм.

С помощью молекулярного докинга установлено, что мощная ингибиторная активность CF₃-2-А-3-ОЭ **2.3** может быть обусловлена возможностью их взаимодействия с

активным сайтом CES двумя способами за счет связывания оксианионного центра фермента сложноэфирной или трифторацильной функциями (рисунок 1).

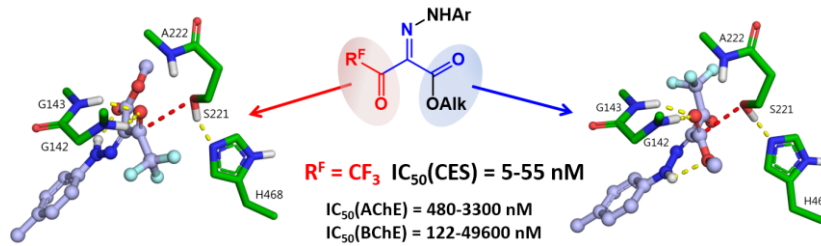


Рисунок 1 – 2-А-3-ОЭ как мощные бифункциональные ингибиторы CES

Другой особенностью ингибиторов этого класса является их высокое антирадикальное действие, которое они показали в АВТС тесте (таблица 1). При этом 2-А-3-ОЭ **2.3a-d,r,t** имели активность (ТЕАС 0.85–1.00) на уровне тролокса, а 2-А-1,3-ДК **2.5a,b** обнаружили более значимое и быстрое действие (ТЕАС 1.33 и 1.70). Кроме того, найдено, что эфиры **2.3a-c,e,g,u,v** имеют низкую цитотоксичность ($CC_{50} > 500$ мкМ) по отношению к клеткам FetMSC человека и низкую острую токсичность (выживаемость мышей в дозе 300-900 мг/кг при внутрибрюшинном введении (в/бр) составила 100% через 14 сут), что делает их перспективными для дальнейших исследований.

2.1.2 Синтез трифторметилсодержащих 2-арилгидразинилиден-3-оксоэфиров, содержащих остатки природных и высших спиртов, и их биологическое действие

Известно, что ингибиторы CES встречаются среди природных соединений, поэтому мы решили ввести в 2-А-3-ОЭ фрагмент природного спирта. Однако напрямую подвергнуть эфир **2.3a** реакции переэтерификации не удалось. Нами предложен способ получения эфиров **2.7a-n** через азосочетание солей арилдиазония с оксоэфиратами лития **2.6a-n**, уже содержащих фрагмент такого спирта. Для их синтеза использовали переэтерификацию этилтрифторацетилацетата **2.1a** под действием спирта (схема 2).

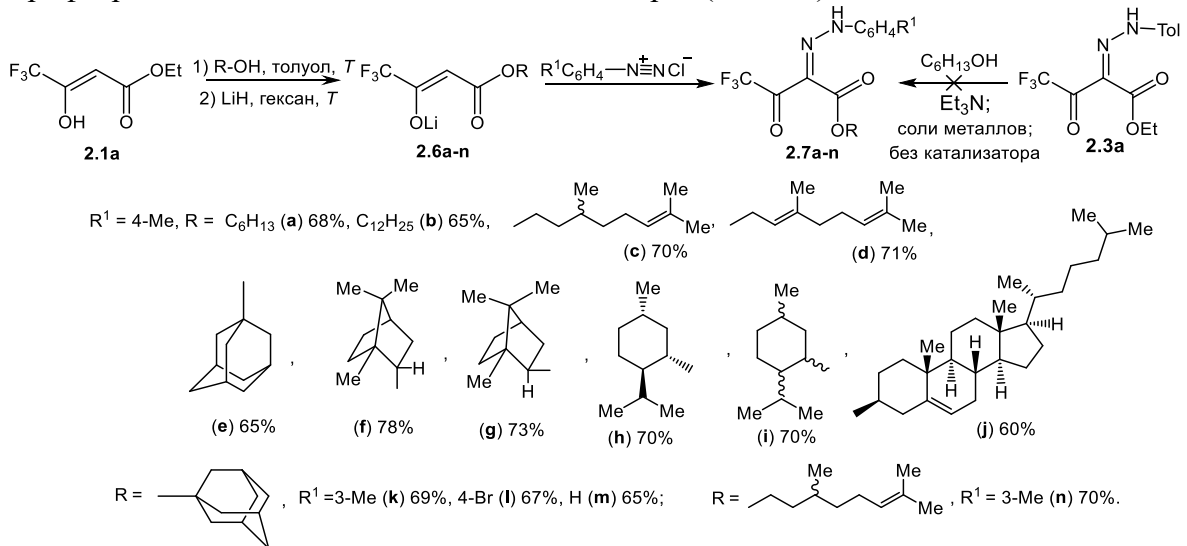


Схема 2

С помощью РСА установлено, что 2-А-3-ОЭ **2.7e** в кристаллах существует в виде *Z*-изомера, стабилизированного внутримолекулярной водородной связью (ВВС) между атомом водорода NH-группы гидразонного заместителя и атомом кислорода сложноэфирного фрагмента (рисунок 2). Идентичность ИК спектров соединения **2.7e**, измеренных для твердых состояний и для растворов в $CHCl_3$, позволяет говорить о существовании его в растворе также в виде *Z*-изомера, как и в кристаллах.

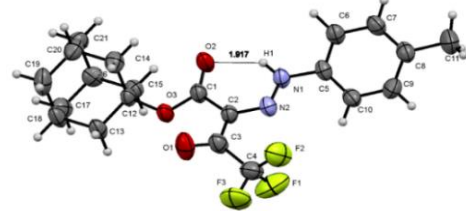


Рисунок 2 – Общий вид соединения **2.7e** по данным РСА

В ИК спектрах эфиров **2.7a-n** присутствуют полосы поглощения колебаний карбонильных групп при 1706–1717, 1665–1677 см⁻¹. Их спектры ЯМР ¹⁹F характеризуются химическими сдвигами CF₃-группы при δ(F) 93.40–93.51 м.д. (DMSO-*d*₆), а спектры ЯМР ¹H имеют сигналы протонов NH-группы при δ(H) 13.40–3.45 м.д. Очевидно, что введение объемного алкильного заместителя не влияет на строение эфиров **2.7a-n**, которые существуют в виде *Z*-изомеров аналогично эфирам **2.3a-aa** с метильным или этильным остатком.

2-А-3-ОЭ **2.7a-n** показали высокую антикарбоксилэстеразную (IC₅₀ 10.2–91.8 нМ) и АВТС-связывающую активности (ТЕАС 0.80–1.10) (таблица 2). При этом хотя они и потеряли в ингибиторной активности один порядок по сравнению с эфирами **2.3a,b,e-g,u**, их селективность значительно выросла, так как они практически неактивны по отношению к АСhЕ и ВСhЕ за исключением гексилового эфира **2.7a**. Варьирование спиртового остатка в эфирах **2.7** позволяет повысить селективность действия к изоферментам человека hCES1 и hCES2. Так, эфиры гераниола **2.7c** и адамантола **2.7e** оказались высокоактивными ингибиторами hCES2, а эфиры борнеола **2.7f** и изоборнеола **2.7g** - hCES1.

Таблица 2 – Эстеразный профиль и антирадикальная активность самых активных эфиров **2.7**

№	IC ₅₀ (М) ± SEM или % ингибирования при концентрации соединения 20 мкМ			Антирадикальная активность	
	АСhЕ	ВСhЕ	СЕС	ТЕАС	IC ₅₀ , мкМ
2.7d	н.а.	6.33±1.1%	(9.18±0.73)×10 ⁻⁸ (5.40±0.50)×10 ^{-8*} (4.96±0.39)×10^{-9**}	1.1	17.3±1.9
2.7e	н.а.	3.1±0.8%	(1.31±0.12)×10 ⁻⁸ (5.9±0.5)×10 ^{-8*} (6.48±0.50)×10^{-9**}	0.86	24.0±1.1
2.7f	н.а.	9.7±1.5%	(1.80 ± 2)×10 ⁻⁸ (9.8±0.8)×10^{-8*} (2.10±0.18)×10 ^{-6**}	н.о.	н.о.
2.7g	н.а.	8.8±1.4%	(3.04 ± 4)×10 ⁻⁸ (8.7±0.7)×10 ^{-8*} (1.32±0.12) ×10^{-7**}	н.о.	н.о.
2.7h	н.а.	н.а.	(3.91±0.35)×10 ⁻⁸	0.96	17.6±1.4
2.7i	н.а.	3.5±0.9%	(4.39±0.28)×10 ⁻⁸	0.8	18.2±1.1
BNPP	н.а.	н.а.	(0.180 ± 11)×10 ⁻⁶	-	-
Тролокс	-	-	-	1.0	20.4±0.8

* активность в отношении hCES1, ** активность в отношении hCES2

Исследование острой токсичности эфиров **2.7a,c-i** на мышах выявило их низкую токсичность (выживаемость мышей в дозе 300 мг/кг (в/бр) составила 100% через 14 сут).

2.1.3 Синтез 3-полифторалкил-2-арилгидразинилиден-3-оксопропионовых кислот и их биологическая активность

Для оценки значимости сложноэфирного фрагмента на анти-СЕС свойства разработаны методы синтеза 2-А-3-ОК **2.8a-q**, для получения которых результативным оказалось деалкилирование их алкиловых эфиров **2.3a,b,d,g,i,j,l,m,o-q,w-aa** под действием AlBr₃ (схема 3). Попытки применить кислотный или щелочной катализ были безуспешны. Следует отдельно отметить, что из реакции эфира **2.3d**, содержащего метоксигруппу, с небольшим выходом выделена кислота **2.8o** в результате деалкилирования не только этоксикарбонильного заместителя, но и метоксигруппы арилгидразонного фрагмента. В работе опровергнуты данные относительно циклизации арилгидразинилиден-замещенных ацетоуксусных эфиров **2.3z,aa** под действием AlBr₃ в хлорбензоле в 3-ацил-4-гидроксицинолины³. При нагревании эфиров **2.3z,aa** с AlCl₃ в CH₂Cl₂ или с AlBr₃ в хлорбензоле нами получены 2-А-3-ОК **2.8p,q**.

³ Mohamed S.K. et al. Coll. Czech. Chem. Commun. 1991. 56. 1768-1775.

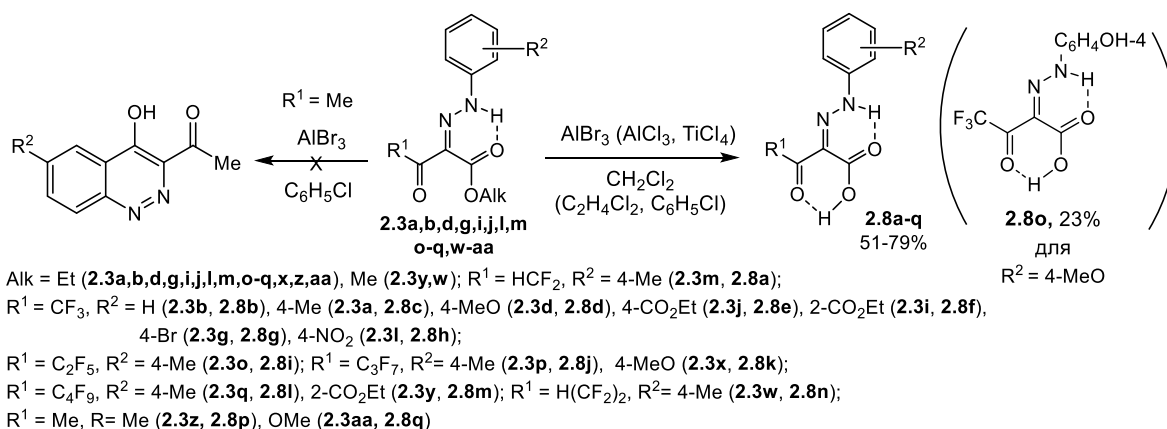


Схема 3

Для кислоты **2.8a** с помощью РСА установлено ее существование в кристаллах в виде *Z*-изомера (рисунок 3), стабилизированного двумя ВВС. Аналогичное строение 2-А-3-ОК **2.8a-q** подтверждено с помощью ИК и ЯМР спектроскопии. Так, их ИК спектры имели сходный характер полос поглощения колебаний карбонильных групп в области ν 1694–1725 см⁻¹, а спектры ЯМР ¹H (CDCl₃) уширенные синглетные сигналы протонов OH и NH групп в области δ 12.3–15.8 м.д.

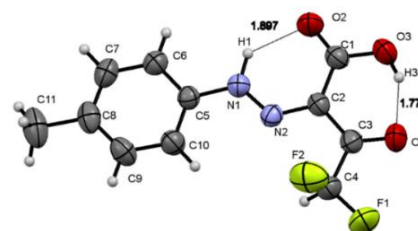


Рисунок 3 – Общий вид молекулы кислоты **2.8a**

Тестирование эстеразного профиля фторсодержащих 2-А-3-ОК **2.8a-f,h-n,p,q** показало, что для них также характерна значимая анти-CES активность, но в отличие от эфиров в ряду 2-А-3-ОК **2.8** наибольшую активность показали полифторалкиламещенные кислоты **2.8i-m** (IC₅₀ 42–140 нМ). При этом все же 2-А-3-ОЭ **2.3a-g,u** на один-три порядка были активнее кислот **2.8b-f,h-n**. Большинство 2-А-3-ОК проявило высокую антирадикальную активность, превышающую активность тролокса. Для кислот **2.8l,k** это превышение достигало почти двухкратных величин (TEAC 1.6–2.1).

2.1.4 Синтез амидов 2-арилгидразинилден-3-оксо-4,4,4-трифторбутановых кислот и их биологическая активность

Далее мы изучили влияние на эстеразный профиль замены сложноэфирной группы в 2-А-3-ОЭ **2.3** или кислотной функции в 2-А-3-ОК **2.8** на структурно родственный амидный фрагмент, для чего были получены 2-А-3-ОА **2.9**. Найдено, что эфир **2.3a** реагирует с 30%-водным раствором аммиака или метиламина по сложноэфирной группе, образуя амиды **2.9a,b** (схема 4). Получить ариламины **2.9c-h** реакцией 2-А-3-ОЭ **2.3a** с менее основными ароматическими аминами **2.10a-f** нам не удалось, поэтому их синтез реализован альтернативным путем реакцией азосочетания предварительно полученных 3-оксобутанамидов **2.11a-f** с хлоридом толилдидазония (схема 5).

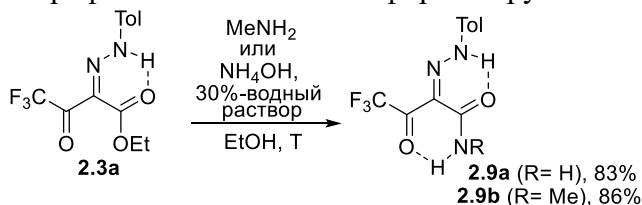


Схема 4

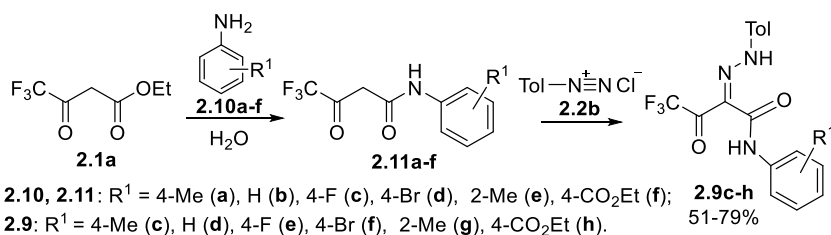


Схема 5

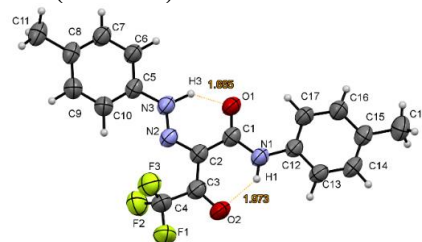


Рисунок 4 – Общий вид молекулы амида **2.9c**

Согласно РСА амид **2.9c** в кристаллах существует в виде *Z*-изомера, стабилизированного двумя ВВС (рисунок 4). ИК спектры амидов **2.9a-h** имели сходный характер колебаний

карбонильных групп в виде одной полосы поглощений при 1660–1709 см^{-1} . В спектрах ЯМР ^1H (CDCl_3) присутствуют два слабополярных синглетных сигнала протонов $=\text{NNH}$ при δ 15.1–15.3 м.д. и $-\text{NHCO}$ -групп при 10.5–10.9 м.д. (для **2.9c-h**) или 8.5–8.6 м.д. (для **2.9a,b**).

Исследование эстеразного профиля выявило микромолярную анти-CES активность оксобутанамидов **2.11a-d** (IC_{50} 3.2–13.9 μM). В ряду 2-А-3-ОА **2.9** только метиламид **2.9b** проявил умеренную активность (IC_{50} 15.7 μM), тогда как амиды **2.9a,c-h** оказались неактивными в отношении всех изучаемых ферментов. Очевидно, что введение в молекулу ариламинов **2.11** арилгидразонного фрагмента приводит к потере антикарбоксилэстеразного действия амидов **2.9**. Антирадикальные свойства ариламинов **2.9a-d,f,g** и **2.11a-d** имели обратную зависимость: 3-оксоамиды **2.11** были не способны связывать свободные радикалы в тесте АВТС, тогда как их арилгидразонные производные **2.9** обладали антирадикальным действием (ТЕАС 0.6–0.75, IC_{50} 25.2–29.8 μM).

2.1.5 Синтез 3-(бензолсульфонил)-1,1,1-трифтор-3-[2-(арил)гидразинилиден]пропан-2-онов и их биологическая активность

Затем исследовано влияние на анти-CES активность замены карбонильной группы при фенильном заместителе 2-А-1,3-ДК **2.5b** на сульфонильный фрагмент. Для этого мы получили 3-(бензолсульфонил)-1,1,1-трифтор-3-[2-(арил)гидразинилиден]пропан-2-оны **2.12**. Сначала конденсацией Кляйзена этилтрифторацетата **2.1a** с (метилсульфонил)бензолом синтезирован (бензолсульфонил)трифторпропанонат натрия **2.12**, который при азосочетании с хлоридами арилдиазония дал целевые арилгидразинилиденсульфонилпропан-2-оны **2.13a,b** (схема 6).

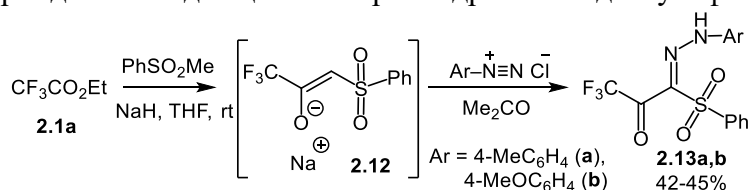


Схема 6

Эти соединения показали микромолярную активность (IC_{50} 1.24–11.8 μM) и высокую селективность в отношении CES, а также сильное антирадикальное действие (ТЕАС = 1.2–1.8).

2.1.6 Синтез 2-арилаза-1,3-аминоенкетонов и их биологическая активность

Мы также проверили влияние на эстеразный профиль замены одной из карбонильных групп в 2-А-1,3-ДК **2.5** на алкиламинную функцию на примере их реакций с гексиламином. Найдено, что CF_3 -2-А-1,3-ДК **2.5a,b** реагируют с гексиламином неселективно с образованием смеси, состав которой анализировали методом ГХ-МС (схема 7). Ме-замещенный CF_3 -2-А-1,3-ДК **2.5a** реагировал с амином по двум карбонильным группам, однако устойчивым оказался только 2-А-1,3-АК **2.14a**, образующийся за счет конденсации амина по ацетильной группе, а изомер А претерпевал кислотное расщепление. Для фенильного аналога **2.5b** этот путь стал основным. Нефторированные 2-А-1,3-ДК **2.5c,d** с гексиламином легко образовывали 2-А-1,3-АК **2.14b,c**, причем Ph-дикетон **2.5d** тоже реагировал по ацетильной группе.

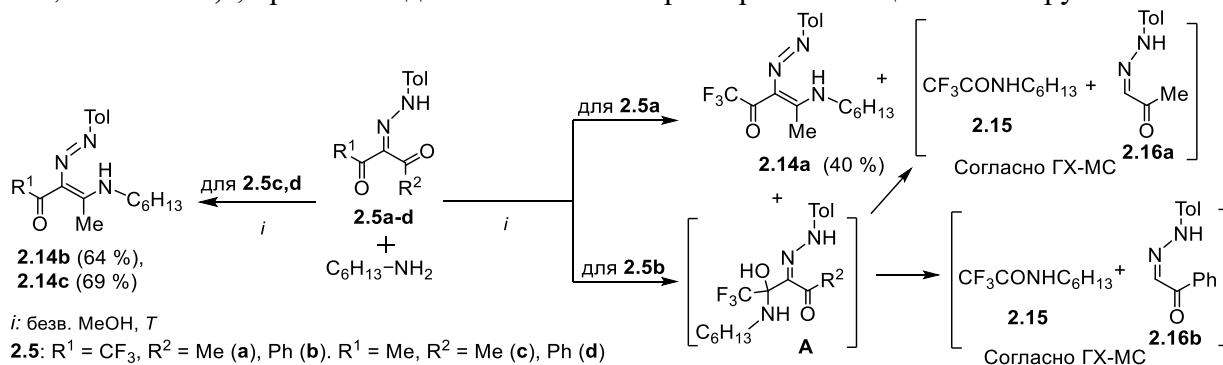


Схема 7

Исследование эстеразного профиля 2-А-1,3-АК **2.14a-c** показало потерю анти-CES активности даже для CF_3 -производного **2.14a**. Однако для них было найдено увеличение способности ингибировать ВChE. При этом наиболее активным оказался аминокетон **2.14b** (IC_{50} 18.1 μM). Дополнительным полезным свойством 2-А-1,3-АК **2.14a-c** была их антиоксидантная активность в тестах АВТС (ТЕАС 0.94–1.00) и FRAP (TE 0.52–0.57).

2.1.7 Синтез конъюгатов такрина с 2-арилгидразинилиден-1,3-аминоенкетонами и их биологическая активность

Мы использовали склонность к ингибированию ВChE и антиоксидантные свойства 2-А-1,3-АК **2.14** для создания на их основе мультитаргетных средств, перспективных для лечения болезни Альцгеймера (БА). Для этого 2-А-1,3-ДК **2.5a,c,d** ввели в реакции с аминополиметилен-производными такрина **2.17a-c** (схема 8). Выбор такрина для модификаций обусловлен его сильным антихолинэстеразным действием. В результате получены конъюгаты **2.18a-c**, **2.19a-c**, **2.20a-c**, в которых варьировался заместитель дикетонного фрагмента и длина метиленового линкера. Во всех случаях реакции проходили региоспецифично по ацетильному фрагменту. Региоизомерное и таутомерное строение конъюгатов установлено на основании спектров ЯМР и РСА (рисунок 5), согласно которым они существуют в *Z*-азоаминенкетонной форме.

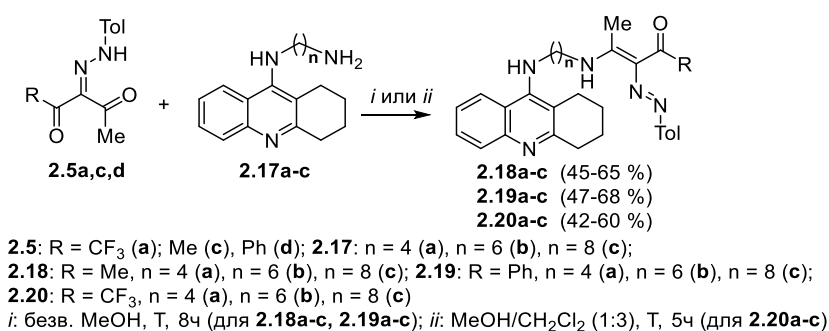
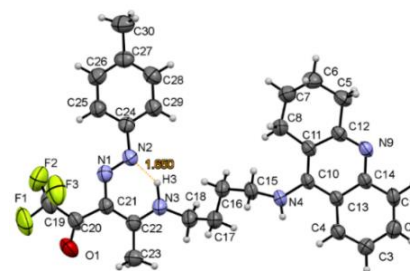


Схема 8

Рисунок 5 – Общий вид молекулы соединения **2.20a** по данным РСА

Оценка эстеразного профиля показала, что конъюгаты **2.18-2.20** проявляют высокую ингибиторную активность в отношении холинэстераз с преимущественным ингибированием ВChE при слабом ингибировании CES (таблица 3).

Таблица 3 – Эстеразный профиль соединений **2.18-2.20a-c** и их способность вытеснять пропидий из периферического анионного сайта *Electrophorus electricus* AChE

№	Соединение	Ингибиторная активность IC ₅₀ ± SEM (M) или % ингибирования при 20 мкМ			% вытеснения пропидия
		AChE	BChE	CES	
2.18a	n=4, R=Me	(1.39±0.04)×10 ⁻⁶	(1.39±0.17)×10 ⁻⁷	23.3±0.4%	17.8±1.4
2.18b	n=6, R=Me	(3.42±0.15)×10 ⁻⁷	(1.38±0.02)×10 ⁻⁷	29.0±0.1%	19.0±1.3
2.18c	n=8, R=Me	(2.72±0.17)×10 ⁻⁷	(5.43±0.37)×10 ⁻⁸	30.1±1.2%	15.6±1.2
2.19a	n=4, R=Ph	(8.89±0.07)×10 ⁻⁷	(3.59±0.20)×10 ⁻⁸	31.2±2.9%	11.9±0.8
2.19b	n=6, R=Ph	(3.80±0.03)×10 ⁻⁷	(4.70±0.38)×10 ⁻⁸	33.2±1.7%	15.5±1.3
2.19c	n=8, R=Ph	(2.49±0.20)×10 ⁻⁷	(7.45±0.60)×10 ⁻⁸	23.4±2.2%	14.1±1.1
2.20a	n=4, R=CF ₃	(1.69±0.05)×10 ⁻⁶	(2.46±0.16)×10 ⁻⁷	28.6±4.0%	13.7±1.2
2.20b	n=6, R=CF ₃	(2.76±0.20)×10 ⁻⁷	(1.25±0.06)×10 ⁻⁷	19.9±2.9%	13.9±1.1
2.20c	n=8, R=CF ₃	(2.41±0.14)×10 ⁻⁷	(9.85±0.13)×10 ⁻⁸	12.2±1.7%	16.2±1.4
Такрин		(6.01±0.47)×10 ⁻⁷	(2.95±0.02)×10 ⁻⁸	н.а.	4.4±0.6
Донепезил		(4.00±0.37)×10 ⁻⁸	(1.92±0.20)×10 ⁻⁵	н.а.	11.9±0.9

Они также оказались способны вытеснять пропидий на уровне или выше донепезила, что указывает на их потенциальную способность блокировать агрегацию β-амилоида – процесса, играющего большую роль в развитии БА. Варьирование заместителя R при карбонильном углероде и длины спейсера в конъюгатах не влияло на их радикалсвязывающую активность (TEAC 0.80–1.13) в ABTS-тесте, то же самое можно сказать и про их активность в тесте FRAP (TE 0.48–0.58), за исключением CF₃-производных **2.20a-c**.

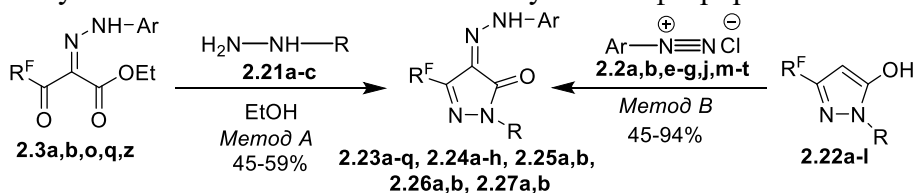
2.2 Гетероциклизация 2-А-1,3-ДКС как подход к получению биоактивных соединений

В рамках второй задачи нами развиты подходы к гетероциклизации 2-А-1,3-ДКС для получения новых биоактивных соединений, при этом задействован синтетический потенциал 1,3-дикарбонильного фрагмента.

2.2.1 Синтез 4-арилгидразинилиден-5-полифторалкилпиразол-3-онов и 4-арилдiazенил-3-полифторалкилпиразолов, оценка их биологического действия

Для дизайна биоактивных молекул большие перспективы имеет пиразолоновый остов, так как на его основе созданы различные физиологически активные вещества, включая лекарственные препараты, например, анальгетики-антипиретики пиразолонового ряда.

Для синтеза 4-арилгидразинилиденпиразолонов **2.23-2.27** нами предложено использовать два подхода. Первый способ основан на циклизации 2-А-3-ОЭ **2.3a,b,o,q,z** с гидразинами **2.21a-c** (схема 9), а второй метод - на азосочетании 3- R^F -пиразол-3-олов **2.22a-l** с хлоридами арилдiazения **2.2a,b,e-g,j,m-t**. В результате получена большая серия 4-арилгидразинилиденпиразолонов **2.23a-q**, **2.24a-h**, **2.25a,b**, **2.26a,b**, в которых варьировались полифторалкильная и арилгидразонная группы, а также заместитель при атоме азота. Для сравнительного изучения биологических свойств получены нефторированные аналоги **2.27a,b**.



- 2.2:** Ar = Ph (a), 4-Tol (b), 4-MeOC₆H₄ (e), 4-FC₆H₄ (f), 4-BrC₆H₄ (g), 4-CO₂EtC₆H₄ (j), 2-ClC₆H₄ (m), 3-ClC₆H₄ (n), 2,6-Cl₂C₆H₃ (o), 2,4-Cl₂C₆H₃ (p), 4-SO₂MeC₆H₄ (q), 4-SO₂NH₂C₆H₄ (r), 4-SO₃HC₆H₄ (s), 4-IC₆H₄ (t);
2.3: Ar = Ph, R^F = CF₃ (b); Ar = 4-Tol, R^F = CF₃ (a), C₂F₅ (o), C₄F₉ (q), Me (z); **2.21:** R = H (a), Me (b), Ph (c);
2.22: R^F = CF₃, R = H (a), Me (b), Ph (c), 4-SO₂NH₂C₆H₄ (d), 4-SO₂MeC₆H₄ (e); R^F = C₂F₅, R = H (f), Ph (g); R^F = C₃F₇, R = Ph (h); R^F = C₄F₉, R = H (i), Ph (j); R^F = Me, R = H (k), Ph (l);
2.23: R^F = CF₃, R = H, Ar = Ph (a), 4-Tol (b), 4-BrC₆H₄ (c), R = Me, Ar = 4-Tol (d), R = Ph, Ar = Ph (e), 4-Tol (f), 4-MeOC₆H₄ (g), 4-FC₆H₄ (h), 2-ClC₆H₄ (i), 2,6-Cl₂C₆H₃ (j), 4-BrC₆H₄ (k), 4-CO₂EtC₆H₄ (l), 4-SO₂MeC₆H₄ (m), 4-SO₂NH₂C₆H₄ (n), 4-SO₃HC₆H₄ (o), Ar = 4-Tol, R = 4-SO₂NH₂C₆H₄ (p), 4-SO₂MeC₆H₄ (q);
2.24: R^F = C₂F₅, R = H, Ar = 4-Tol (a), R = Ph, Ar = 4-Tol (b), 2-ClC₆H₄ (c), 3-ClC₆H₄ (d), 2,6-Cl₂C₆H₃ (e), 2,4-Cl₂C₆H₃ (f), 4-CO₂EtC₆H₄ (g), 4-SO₂MeC₆H₄ (h); **2.25:** R^F = C₃F₇, Ar = 4-Tol, R = H (a), Ph (b);
2.26: R^F = C₄F₉, Ar = 4-Tol, R = H (a), Ph (b); **2.27:** R^F = Me, Ar = 4-Tol, R = H (a), Ph (b)

Схема 9

В реакции 2-А-3-ОЭ **2.3a** с сульфатом метилгидразина в кипящем этаноле, помимо целевого пиразола **2.23d**, был выделен *N*-толил-замещенный пиразол **2.23r** (схема 10), который мог образоваться только при циклизации двух молекул 3-оксоэфира **2.3a**, сопровождающейся распадом второй молекулы. И нами при кипячении эфира **2.3a** в этаноле в присутствии HCl образовывался пиразол **2.23r** с выходом 49% в течении 24 ч при неполной конверсии исходного эфира. Самым эффективным оказалось проведение реакции в кипящем *n*-BuOH при катализе HCl. Самоциклизацией 2-А-3-ОЭ **2.3o,z** в этих условиях получены пиразолы **2.24i,2.27c**.

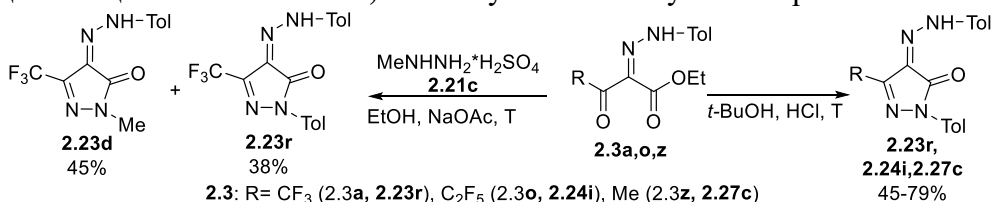


Схема 10

Реакции 2-А-3-ОЭ **2.3** с гидразинами протекают региоспецифично с образованием 3- R^F -изомеров, так как мониторинг синтеза с помощью ГХ-МС не выявил формирование других продуктов. Для соединения **2.23b** выполнен РСА (рисунок б), который не только подтвердил 5- R^F -изомерное строение, но и показал его существование в виде *Z*-изомера, стабилизированного ВВС. Данные спектров ЯМР ¹H, ¹⁹F и ¹³C пиразолонов **2.23-2.27** указывают на схожесть их строения.

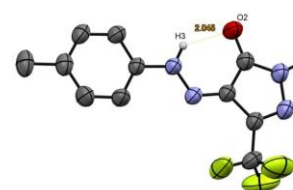


Рисунок 6 – Общий вид молекулы **2.23b** по данным РСА

Пиразолы **2.23-2.27** сочетают в своей структуре 1,2-оксоарилгидразонный и полифторалкильный фрагменты, поэтому нами исследован их эстеразный профиль. Найдено,

что многим из них свойственно селективное анти-CES действие, но в меньшей степени, чем для исходных эфиров **2.3**. Выделим пиразолоны **2.23a,e,l, 2.24b**, активные при IC₅₀ от 0.25 до 0.95 мкМ. Нефторированные гетероциклы **2.27a,b** проявили высокое ABTS-связывающее действие (TEAC 0.80–0.86), тогда как в ряду фторпроизводных заметную активность обнаружили только NH-пиразолоны **2.23a,b,c, 2.24a, 2.25a, 2.26a** (TEAC 0.40–0.54).

Изучение цитотоксического действия соединений **2.23b,f,m,p,q, 2.24a,b, 2.25a, 2.26b, 2.27a,b** показало, что NH-пиразолоны **2.23b, 2.24a** и **2.27a** подавляют рост опухолевых клеток линии HeLa на уровне и выше доксорубина при IC₅₀ 1.47–4.49 мкМ, причем фторсодержащие производные **2.23b** и **2.24a** были активнее нефторированного аналога **2.27a**. В отношении клеток нормальных фибробластов человека цитотоксические свойства проявили только пиразолоны **2.23b, 2.24a** и **2.27a,b**, но все они оказались менее токсичны по сравнению с доксорубином.

В экспериментах *in vivo* изучена анальгетическая активность пиразолонов (таблица 4). Сначала мы оценили острую токсичность соединений **2.23-2.27** при в/бр введении в дозе 300-600 мг/кг на минимально рекомендованном количестве мышей линии CD-1 (три животных). Во всех случаях наблюдали 100% выживаемость животных в течение 14-дневного наблюдения. Анальгетическая активность пиразолонов оценена в тесте «горячая пластина», в результате чего найдены эффективные анальгетики с низкой острой токсичностью. Самые активные соединения, представленные в таблице 4, превосходят по действию препараты диклофенак и анальгин. При анализе «структура – активность» найдено, что введение сульфонового фрагмента в пиразолоны способствует повышению обезболивающего эффекта. В качестве соединения-лидера, перспективного для более глубокого изучения, можно выделить пиразолон **2.23m**, имеющий сульфонилметильную группу.

Таблица 4 – Анальгетическая активность 4-арилгидразинилиденпиразол-5-онов **2.23-2.27**

№	Соединение (в дозе 15 мг/кг)			Увеличение латентного периода, %		Острая токсичность	
	R ^F	R ¹	R ²	1 ч	2 ч	Доза, мг/кг	Выживаемость мышей, %
2.23e	CF ₃	Ph	H	100***	129**	300	100
2.23l	CF ₃	Ph	4-CO ₂ Et	68.1**	107.2**	300	100
2.23m	CF ₃	Ph	4-SO ₂ Me	116**	144***	300	100
2.23o	CF ₃	Ph	4-SO ₃ H	109**	54*	300	100
2.23q	CF ₃	4-SO ₂ MeC ₆ H ₄	4-Me	103.8***	110.3**	300	100
2.24b	C ₂ F ₅	Ph	4-Me	158.5***	74.3***	600	100
2.24h	C ₂ F ₅	Ph	4-SO ₂ Me	80**	98**	300	100
2.25a	C ₃ F ₇	Ph	4-Me	144****	82.3**	600	100
2.25b	C ₄ F ₉	Ph	4-Me	95.2**	124.8***	300	100
2.27b	Me	Ph	4-Me	н.а.	140.2**	300	100
Диклофенак, 10 мг/кг				44.0–70.9		LD ₅₀ 74, в/б	
Анальгин, 15 мг/кг				59.8–93.8		LD ₅₀ 2160-3340, в/б	
Латентный период (в сек) в экспериментальной группе по сравнению с данными в контрольной группе: p = 0.05; *- p < 0.05; ** - p < 0.01; ***- p < 0.001, **** - p < 0.0001							

Учитывая высокую перспективность сульфонилсодержащих пиразолонов, нами получены их пиразольные аналоги **2.28**. Для этого сначала азосочетанием солей арилдиазония с 1,3-дикетонатами лития **2.4b,c** синтезированы новые 2-А-1,3-ДК **2.5e-j**, содержащие сульфонильную группу в арилдиазенильном фрагменте (схема 11). Затем циклизацией с гидразингидратом и гидрохлоридом гидразинилбензолсульфонамида получены 4-арилазопиразолы **2.28a-f**. Отметим, что пиразол **2.28g** является 4-арилдиазенилзамещенным аналогом *целекоксиба*. Региоизомерное строение полученных пиразолов **2.28a-g** подтверждено методами ИК и ЯМР спектроскопии. Их спектры ЯМР характеризуются одинаковым характером сигналов атомов фтора (синглет при δ(CF₃) 101–102 м.д.) и атомов углерода C-CF₃ (квартет при δ(C) 121.2 м.д., ¹J_{C,F} = 267–268 Гц), что согласно литературным данным характерно для 3-CF₃-пиразолов.

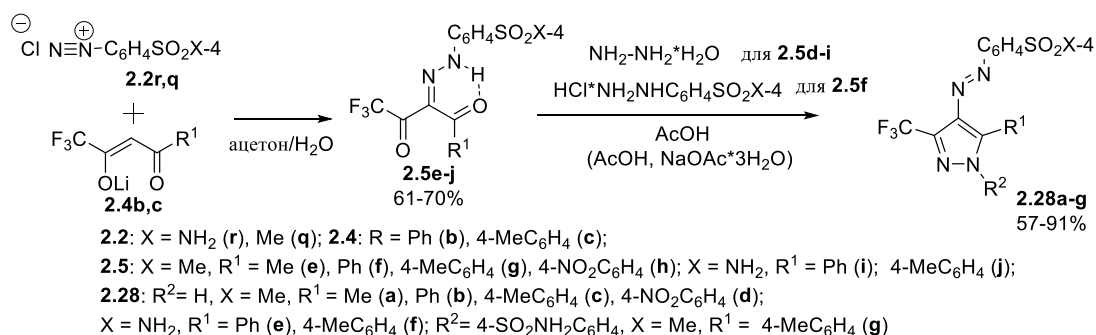


Схема 11

Оценка анальгетической активности 4-арилдiazенилпиразолов **2.28a,c,d,f,k** в тесте «горячая пластина» показала, что только NH-производное **2.28a**, имеющее Me-заместитель при C5, обладает активностью на уровне диклофенака. Введение же объемного толильного заместителя в это положение приводит к потере обезболивающего действия на 1 ч после введения для соединений **2.28c,f**, а производное *целекоксиба* **2.28g** и пиразол **2.28d** неактивны. Оценка острой токсичности тестируемых пиразолов показала их безопасность в дозе 300 мг/кг.

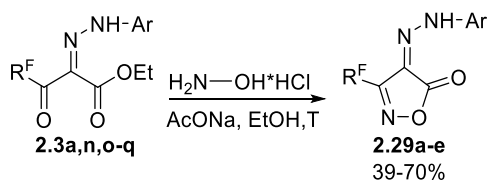
Исследование антимикробных свойств пиразолов **2.28a-g** обнаружило, что NH-пиразол **2.28a** обладает высокой антимикотической активностью (МИК 6.25–12.5 мкг/мл) в отношении 3 штаммов дерматофитов *T. interdigitale*, *T. mentagraphites*, *E. floccosum*.

Мы изучили также активность пиразолов **2.28a-g** в отношении вируса гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1). При исследовании их цитотоксичности на клетках MDCK установлено, что все пиразолы **2.28a-g** являются малотоксичными (CC₅₀ 532–903 мкМ). Ингибирующая активность большинства пиразолов **2.28** значительна (IC₅₀ 6.8–75.8 мкМ) за исключением пиразолов **2.28b,f** (IC₅₀ 105–487 мкМ), вследствие чего для малотоксичных соединений **2.28a,c-e,g** индекс селективности (SI) находится в диапазоне 10–100. Наилучшее соотношение цитотоксических и ингибирующих свойств (SI = 100) показал NH-пиразол **2.28d**, содержащий 4-нитрофенильную группу при C5 (для сравнения SI рибавирина = 59).

2.2.2 Синтез 4-арилгидразинилиден-3-полифторалкилизоксазол-5-онов и 4-арилдiazенил-5-полифторалкилизоксазолов, оценка их биологического действия

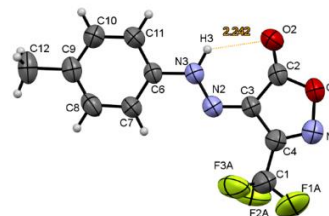
Изоксазолный скаффолд присутствует в антибактериальных (*сульфаметоксазол*), противовоспалительных (*валдекоксиб*) и противоревматических (*лефлюномид*) препаратах, поэтому синтез его новых производных представляет интерес для медицинской химии.

Показано, что для получения 4-арилгидразинилиден-3-R^F-изоксазол-5-онов **2.29a-e** удобно использовать региоспецифичную циклизацию 2-A-3-OЭ **2.3a,n,o-q** с гидрохлоридом гидроксиламина в кипящем этаноле в присутствии ацетата натрия (схема 12). Региоизомерное строение изоксазолон **2.29a** установлено с привлечением РСА (рисунок 7).



Ar = 4-Tol, R^F = CF₃ (**2.3a**, **2.29a**), C₂F₅ (**2.3o**, **2.29b**), C₃F₇ (**2.3p**, **2.29c**), C₄F₉ (**2.3q**, **2.29d**); Ar = 2-ClC₆H₄, R^F = C₂F₅ (**2.3n**, **2.29e**).

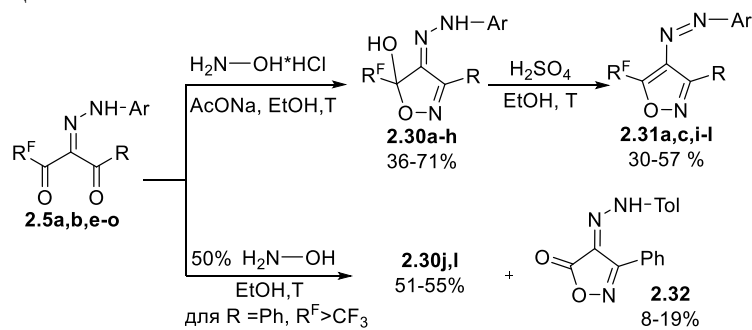
Схема 12

Рисунок 7 – Структура изоксазолон **2.29a** по данным РСА

ИК спектры соединений **2.29a-e**, зарегистрированные в твердом виде, а для гетероцикла **2.29a** и в растворе CHCl₃, содержат полосу поглощения колебаний карбонильной группы при ν 1720–1730 см⁻¹. В их спектрах ЯМР ¹³C сигнал атома углерода карбонильной группы наблюдается при $\delta \sim 164$ м.д. На основании этого сделан вывод о существовании изоксазолон **2.29a-e** в растворах и в твердом состоянии в виде Z-гидразокетонного изомера.

Аналогичной циклизацией 2-A-1,3-ДК **2.5a,b,e-o** с гидрохлоридом гидроксиламина получены 5-R^F-изоксазолины **2.30a-h**. Показана возможность их дегидратации на примере

превращений соединений **2.30a,b,i-l** в изоксазолы **2.31a,b,i-l** (схема 13). Отметим, что в этих реакциях были использованы как полученные в этой работе 2-А-1,3-ДК **2.5e-j,l,m**, так и ранее синтезированные 2-А-1,3-ДК **2.5a,b,k,n,o**. Необходимо также сказать, что в отличие от превращений 2-А-3-ОЭ **2.3** в реакциях 2-А-1,3-ДК **2.5a** мы фиксировали образование небольших количеств изомерных 3- R^F -пиразолинов с помощью ГХ-МС анализа. При взаимодействии фенилзамещенных полифторалкил-2-А-1,3-ДК **2.5m,o** с 50%-ным водным раствором гидроксилamina наблюдалось побочное образование продукта галоформного расщепления – изоксазолон **2.32**.



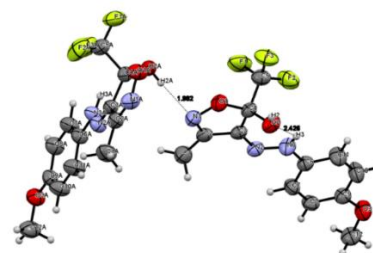
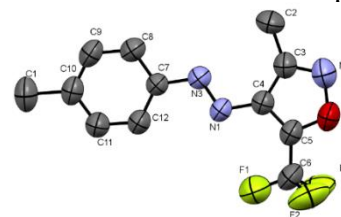
- 2.5:** $R^F = CF_3$, Ar = 4-Tol, R = Me (a), R = Ph (b); Ar = 4-SO₂MeC₆H₄, R = Me (e), Ph (f), 4-Tol (g), 4-NO₂C₆H₄ (h); Ar = 4-SO₂NH₂C₆H₄, R = Ph (i), 4-Tol (j); Ar = 4-MeOC₆H₄, R = Me (k), $R^F = C_2F_5$, Ar = 4-Tol, R = Me (l), Ph (m), $R^F = C_3F_7$, R = Me, Ar = 4-MeOC₆H₄ (n), R = Ph, Ar = 4-Tol (o)
- 2.30, 2.31:** $R^F = CF_3$, R = Me, Ar = 4-Tol (a), 4-MeOC₆H₄ (b), R = Ph, Ar = 4-Tol (c); Ar = 4-SO₂MeC₆H₄, R = Ph (d), 4-Tol (e), 4-NO₂C₆H₄ (f); Ar = 4-SO₂NH₂C₆H₄, R = Ph (g), 4-Tol (h); $R^F = C_2F_5$, Ar = 4-Tol, R = Me (i), Ph (j), $R^F = C_3F_7$, R = Me, Ar = 4-MeOC₆H₄ (k), R = Ph, Ar = 4-Tol (l)

Схема 13

5- CF_3 -региоизомерное строение изоксазолина **2.30b** подтверждено данными РСА (рисунок 8). Спектры ЯМР CF_3 -изоксазолинов **2.30a-c** (CDCl₃) характеризуются одинаковым характером сигналов атомов фтора (синглет при $\delta(CF_3) \sim 82$ м.д.) и атомов углерода $\underline{C}-CF_3$ (квартет при $\delta_C 121.9$ м.д., $J_{C,F} = 287-288$ Гц). То же самое можно сказать и для C_2F_5 - и C_3F_7 -изоксазолинов **2.30i-l**. Отсюда можно сделать вывод об их одинаковом 5- R^F -изомерном строении.

Структура изоксазола **2.31a** подтверждена РСА (рисунок 9), согласно которому в кристаллах он существует в виде *s-транс*-изомера, поскольку азо-группа и C=C связь изоксазольного цикла находятся в *транс*-положении относительно друг друга, в результате чего азо-группа располагается по одну сторону с метильным остатком. В спектрах ЯМР изоксазолов **2.31a-i,k** в CDCl₃ присутствует один набор сигналов, тогда как для 3-Ph-изоксазолов **2.31j,l** с $R^F = C_2F_5$ и C_3F_7 наблюдаются сигналы смеси двух изомеров с соотношением 83:17 и 88:12, соответственно. По-видимому, в растворе CDCl₃ происходит частичная изомеризация термодинамически более устойчивой *s-транс*-формы в *s-цис*-изомер.

Очевидно, что 2-А-1,3-ДК **2.5** с гидроксиламином преимущественно образуют 5- R^F -изоксазолины **2.30** за счет первоначальной атаки аминогруппы динуклеофила по карбонильной группе при нефторированном заместителе. При этом наблюдается смена направления циклообразования по отношению к полифторацильному заместителю по сравнению с аналогичными превращениями 2-А-3-ОЭ **2.3**, для которых характерно первичное присоединение по полифторацильной группе с образованием 3- R^F -изоксазол-5-онов **2.29**. Для выяснения причин избирательной региональности этих реакций выполнены квантово-химические расчеты, которые показали, что региоспецифичность образования 3- R^F -изоксазол-5-онов **2.29** определяется как электронными, так и термодинамическими факторами, а хемоселективность формирования 5- R^F -изоксазолинов **2.30** только термодинамическими.

Рисунок 8 – Структура соединения **2.30b** по данным РСАРисунок 9 – Структура изоксазола **2.31a** по данным РСА

Высокая анти-CES активность пиразолонов **2.23a,e,f,l**, **2.24b**, сочетающих 1,2-оксоарилгидразонный фрагмент и полифторакильный заместитель, побудила нас изучить эстеразный профиль изоксазолов **2.29-2.31**. Однако, они слабо или совсем не ингибировали AChE и BChE. В отношении CES невысокая активность (28–35%) наблюдалась для соединений **2.29a**, **2.30a-c**, **2.31j** в концентрации 20 мкМ. Изоксазолины **2.26a-c,i,j,l** показали высокую антиоксидантную активность в тестах ABTS (TEAC до 2.0) и FRAP (TE до 1.91).

Учитывая большой потенциал изоксазольного остова для создания антимикробных агентов, нами исследована антифунгальная и антигонорейная активность изоксазолов **2.29**, **2.30**, **2.31** (препараты сравнения флуконазол и спектиномицин). Найдено, что вся серия изоксазол-5-онов **2.29a-e** подавляет рост грибов штаммов *E. floccosum* и *T. interdigitale* при МИК от 0.78 до 25 мкг/мл. По отношению к *M. canis* высокоактивными микостатиками оказались C₂F₅- и CF₃-соединения **2.29a,b** (МИК 1.56 до 6.25 мкг/мл). CF₃-изоксазолон **2.29a** выявил широкий спектр активности по отношению к исследуемым штаммам *Trichophyton* при МИК 0.78–25 мкг/мл. Хотя наибольшее ингибирующее действие против штаммов *T. gypseum* (МИК 1.56 мкг/мл) и *T. tonsurans* (МИК 3.12 мкг/мл) показал C₂F₅-изоксазолон **2.29b**. В целом, изоксазолон **2.29** выявил тенденцию к падению антифунгальной активности с удлинением полифторалкильной группы. Серия изоксазолинов **2.30a-c,f,g,i,j,l** также была активна в отношении исследуемых штаммов грибов, особенно, в отношении к *E. floccosum* (МИК 0.78–25 мкг/мл). При этом самую высокую активность обнаружили C₂F₅- и CF₃-соединения **2.30c,i,j,l** (МИК от 0.78–3.25 мкг/мл). 4-Арилазо-5-полифторалкилизоксазолы **2.31** были не активны. Кроме того, найдено умеренное действие изоксазолонов **2.29b,d,e** и изоксазолинов **2.30b,c,f,i,l** против *N. gonorrhoeae* при МИК 31.2–62.5 мкг/мл.

2.2.3 Взаимодействие 2-А-1,3-ДКС с 3-аминопиразолами: синтез пиразоло[1,5-а]пиримидинов и пиразоло[3,4-б]пиридинов и их биологическая активность

Пиразоло[1,5-а]пиримидиновый и пиразоло[3,4-б]пиридиновый фрагменты являются перспективными скаффолдами при разработке лекарственных средств из-за их структурного сходства с пурином. На их основе созданы снотворные и анксиолитические средства, противораковые и антидиабетические агенты (*залеплон*, *динацициб*, *пресатовир*). Данных о получении таких циклов на основе 2-А-1,3-ДКС не обнаружено, хотя циклизации 1,3- дикарбонильных реагентов с 3-аминопиразолами являются удобным методом их синтеза.

Найдено, что реакции CF₃- и Me-содержащих 2-А-3-ОЭ **2.3a,z** с аминопиразолами **2.33a,b** приводят к образованию пиразоло[1,5-а]пиримидин-7-онов **2.34a-e**, формирующихся за счет первоначальной атаки NH₂-группы динуклеофила по кетогруппе эфира **2.3** и последующей циклизации по сложноэфирному заместителю. Однако для 2-А-3-ОЭ **2.3o,q** с длинными фторированными заместителями возможен конкурентный путь *N,N*-циклизации, поскольку помимо гетероциклов **2.34f-h**, образуются изомерные 7-гидроксидигидропиразоло [1,5-а]пиримидин-5-оны **2.35a-c** (схема 14). Наиболее эффективно циклизации проходили при кипячении в толуоле с отгонкой образующихся этанола и воды. 5-CF₃-региоизомерное строение соединения **2.34c** установлено с помощью РСА (рисунок 10).

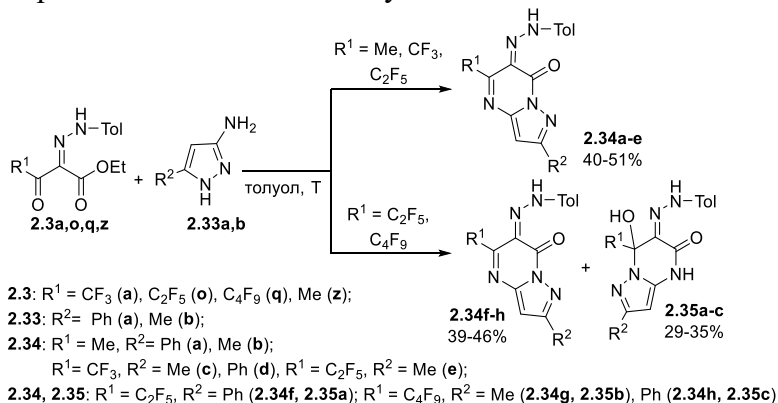


Схема 14

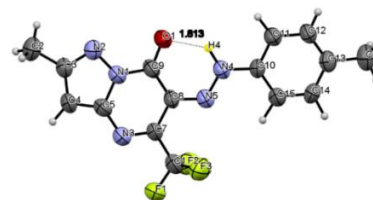


Рисунок 10 – Общий вид молекулы **2.34c** по данным РСА

Превращения 3-аминопиразолов **2.33a,b** с 2-А-1,3-ДК **2.5a-c,l,m,o,p** носят более сложный характер, зависящий от строения обоих реагентов. Так, в реакции 1,3-ДК **2.5a**, имеющего CF₃- и Me-заместители, с аминопиразолами **2.33a,b** основными продуктами были пиразоло[1,5-*a*]пиримидины **2.36a,b**, формирующиеся в результате *N,N*-циклизации с первоначальной конденсацией аминогруппы по ацетильному фрагменту (схема 15). Однако из реакции с Ph-аминопиразолом **2.33a** был выделен также 7-*R*^F-7-гидроксидигидропиразоло[1,5-*a*]пиримидин **2.37a** изомерного строения, а из аналогичной реакции с Me-аминопиразолом **2.33b** – пиразоло[3,4-*b*]пиримидин **2.38a** как продукт *C,N*-циклизации. Бицикл **2.38b** аналогичного строения выделен также из реакции с MeN-замещенным аминопиразолом **2.33c**, имеющим только *C,N*-центры (схема 15).

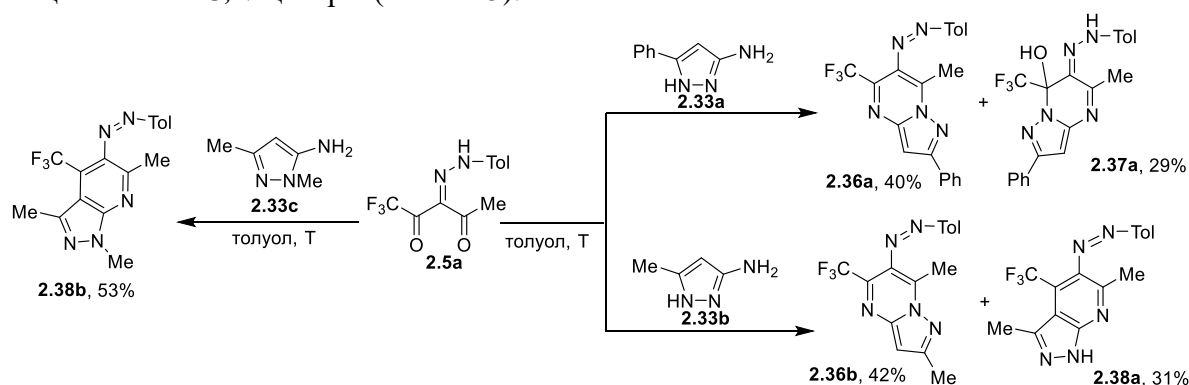


Схема 15

Структуры гетероциклов **2.36b**, **2.37a** и **2.38a** были подтверждены РСА (рисунок 11).

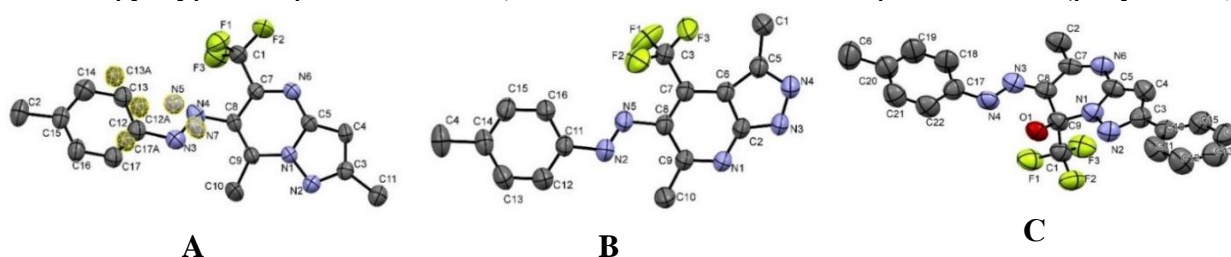


Рисунок 11 – Общий вид молекул соединений **2.36b** (A), **2.38a** (B) и **2.37a** (C) по данным РСА

Основным направлением в реакциях полифторалкил-2-А-1,3-ДК **2.5l,p** с аминопиразолами **2.33a,b** является *N,N*-циклизация. При этом в реакциях Ph-аминопиразола **2.33a** в обоих случаях был выделен пиразоло[1,5-*a*]пиримидин **2.34a**, образующийся за счет галоформного расщепления промежуточных гидроксидигидро-пиразоло[1,5-*a*]пиримидинов **2.37b,c**. В отличие от этого, в реакциях с Me-аминопиразолом **2.33b**, помимо продуктов расщепления **2.34b**, формировались пиразоло[3,4-*b*]пиримидины **2.38c,d**, в результате альтернативной циклизации с участием *C*-нуклеофильного центра пиразола (схема 16). Во всех этих реакциях первоначальная атака амина проходила по ацетильному фрагменту.

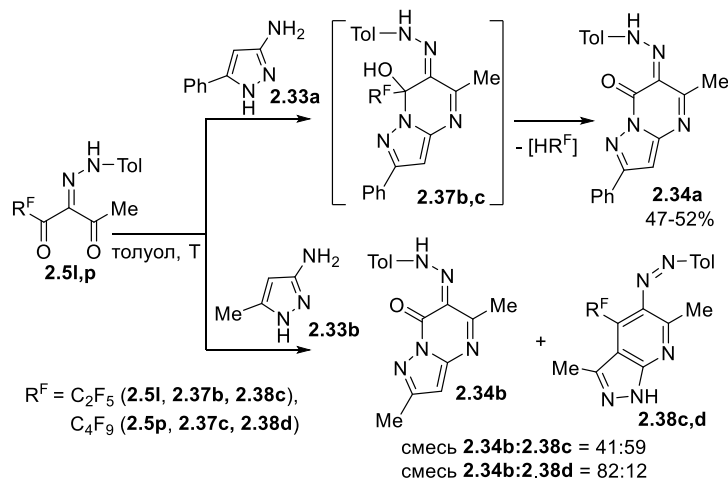


Схема 16

При взаимодействии Ph-содержащих полифторалкил-2-А-1,3-ДК **2.5b,m** с аминопиразолами **2.33a,b** *C,N*-циклоконденсация в пиразоло[3,4-*b*]пиримидины **2.38e-g**

становилась основным процессом. Однако для C_3F_7 -2-А-1,3-ДК **2.5o** характерно образование смеси гетероциклов **2.38h** и **2.34f**. Формирование последнего происходит в результате *N,N*-циклизации с последующим отщеплением гептафторпропана (схема 17). Для превращений 3-арилгидразинилиденпентан-2,4-диона **2.5c** с аминопиразолами **2.33a,b** характерна региоселективная *N,N*-циклизация с образованием пиразоло[1,5-*a*]пиримидинов **2.36c,d** (схема 18). Обобщая полученные данные, отметим не только снижение реакционной способности 2-А-1,3-ДК **2.5** в реакциях с аминопиразолами **2.33**, но и разнообразие их превращений, по сравнению с незамещенными 1,3-дикетонами **2.4**, которые образуют только изомерные пиразоло[1,5-*a*]пиримидины с преобладанием 7- CF_3 -изомера. Реакции же полифторалкил-2-А-1,3-ДК **2.5** с аминопиразолами **2.33** могут приводить не только к региоизомерным 5- R^F - и 7- R^F -пиразоло[1,5-*a*]пиримидинам **2.36**, **2.37** в результате конкурентных *N,N*-циклизаций, но и также к 4- R^F -пиразоло[3,4-*b*]пиримидинам **2.38** как

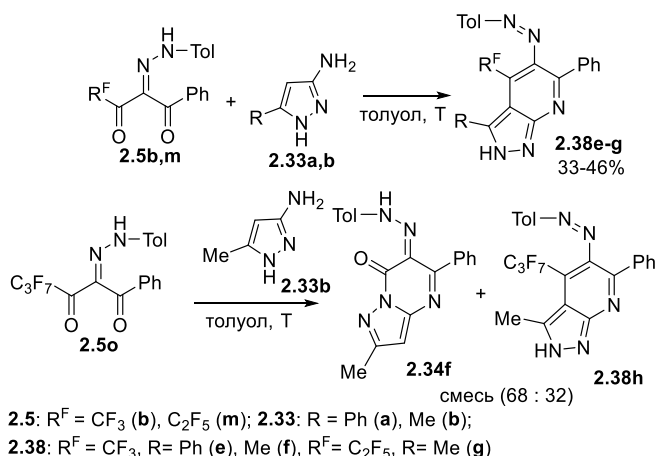


Схема 17

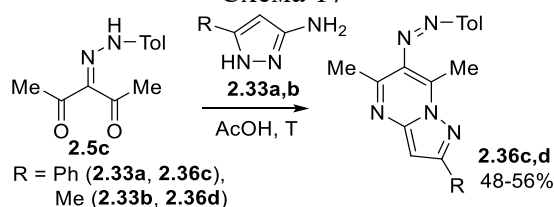


Схема 18

продуктам *S,N*-циклизаций. Направление этих реакций зависит как от заместителей дикетонного фрагмента 2-А-1,3-ДК **2.5**, так и от строения аминопиразолов **2.33**. Примечательно, что 7- R^F -изомерные пиразоло[1,5-*a*]пиримидины **2.37** выделяются в гидратированной форме, ароматизация которых реализуется только в случае гетероциклов, имеющих «длинные» полифторалкильные заместители за счет галоформного расщепления.

Исследование эстеразного профиля пиразоло[1,5-*a*]пиримидинов **2.31a,d** показало, что в отличие от нефторированного бицикла **2.31a** CF_3 -аналог **2.31d** эффективно ингибирует CES с $IC_{50} = 2.91$ мкМ, но при этом малоактивен по отношению к AChE и BChE.

Нами также оценено обезболивающее действие новых пиразолозинов **2.34a-d**, **2.36a,c**, **2.37**, **2.38f** в тесте «горячая пластина» на крысах SD в дозе 15 мг/кг при в/бр введении. Самые активные соединения приведены в таблице 5. Пиразолопиримидиноны **2.34b,c** показали выраженную анальгетическую активность на 2-й ч после введения, а пиразолопиримидин **2.38f** и пиразолопиримидин **2.36c** проявили сильное обезболивающее действие на 1-й и 2-й ч измерений. При исследовании их острой токсичности в экспериментах на мышах линии CD-1 найдено, что в дозе 150 и 300 мг/кг они не вызывают токсических эффектов.

Таблица 5 – Острая токсичность и анальгетическая активность пиразолозинов

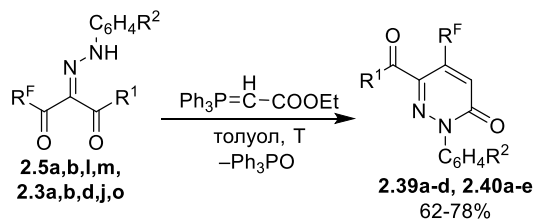
Соединение	Доза, мг/кг	Увеличение латентного периода, %		Доза, мг/кг	Острая токсичность: выживаемость через 14 дней, %
		1 ч	2 ч		
2.36c	15	83.5**	47.0*	300	100
2.38f	15	110.1****	71.9****	300	100
2.34b	15	н.а.	96.7***	150	100
2.34c	15	н.а.	121.1***	150	100
Анальгин	15	59.8–93.8 (2 ч)		ЛД ₅₀ 2160–3340	
н/а – неактивно; данные трех независимых экспериментов; * $p < 0.01$; ** $p < 0.001$; *** $p < 0.0001$					

2.3 Модификации 2-А-1,3-ДКС и их производных с участием арилгидразонной группы

Трансформации арилгидразонной группы в полифторалкил-2-А-1,3-ДКС и их производных до сих пор остаются малоизученными, поэтому в работе отдельное внимание уделено этим превращениям.

2.3.1 Синтез 2-арил-5-полифторалкилпиридазин-3-онов

Полифторалкил-2-А-1,3-ДК **2.5a,b,l,m** и 2-А-3-ОЭ **2.3a,b,d,j,o** циклизируются с (этоксикарбонилметил)трифенилфосфораном при кипячении в толуоле в 2-арил-5-полифторалкилпиридазин-3-оны **2.39a-d, 2.40a-e** (схема 19), причем при их формировании



- 2.5, 2.39:** R¹ = Me, R² = 4-Me, R^F = CF₃ (**2.5a, 2.39a**), C₂F₅ (**2.5l, 2.39l**);
 R¹ = Ph, Ar = 4-Me, R^F = CF₃ (**2.5b, 2.39c**), C₂F₅ (**2.5m, 2.39d**);
2.3, 2.40: R¹ = OEt, R^F = CF₃, R² = 4-Me (**2.3a, 2.40a**), H (**2.3b, 2.40b**),
 4-MeO (**2.3d, 2.40c**), 4-CO₂Et (**2.3j, 2.40d**);
 R^F = C₂F₅, R² = 4-Me (**2.3o, 2.40e**).

Схема 19

происходит сначала присоединение илида фосфора к полифторацильной группе 2-А-1,3-ДКС **2.3** или **2.5** по реакции Виттига, а затем замыкание пиридазинового кольца за счет конденсации NH-гидразонной группы со сложноэфирной группой илидного остатка. При этом образуется только один изомер с R^F-заместителем в пиридазиновом цикле. Для подтверждения региоизомерного строения гетероциклов **2.39a-d, 2.40a-e** использованы данные спектроскопии ЯМР ¹⁹F и ¹³C.

При изучении эстеразного профиля пиридазинов **2.39a-d, 2.40a-e**, сочетающих полифторалкильный заместитель и два карбонильных фрагмента, найдено, что они слабо ингибируют CES, AChE и BChE или совсем не активны. Эти данные указывают, что для проявления анти-CES активности, важно присутствие не только фторированного заместителя, но и арилгидразонной группы, сопряженной с дикарбонильным фрагментом.

2.3.2 2-А-1,3-ДКС и 4-арилгидразинилиден-5-трифторметилпиразол-3-оны в реакциях кросс-сочетания Сузуки

Современным методом модификации органических соединений являются реакции Pd-катализируемого кросс-сочетания. Однако данных о введении в такие реакции 2-А-1,3-ДКС **2.3, 2.5** и их производных не обнаружено, хотя кросс-сочетание Сузуки может быть реализовано для 2-А-1,3-ДКС, содержащих атомы галогенов в арилгидразонном остатке.

Нами изучена возможность модификации 2-А-3-ОЭ **2.3h** и 2-А-1,3-ДК **2.5j** по их арилгидразонному фрагменту в реакциях кросс-сочетания Сузуки (схема 20). Однако, эти реакции приводили к образованию смеси продуктов, состав которых изучали с помощью ГХ-МС анализа. При взаимодействии 2-А-3-ОЭ **2.3h** с фенилбороновой кислотой основным продуктом реакции по данным ГХ-МС является 3-[2-(бифенил-3-ил)гидразинилиден]-1,1,1-трифторпропан-2-он **2.41**, который, по-видимому, образуется за счет кетонного распада интермедиата **A** по действием K₂CO₃. В случае 2-А-1,3-ДК **2.5q** основным продуктом согласно ГХ-МС является продукт кислотного расщепления интермедиата **B** – 2-(2-([1,1-бифенил]-4-ил)гидразинилиден)-1-фенилэтан-1-он **2.42**. Очевидно, что дикарбонильный фрагмент не устойчив в условиях проведения этих реакций.

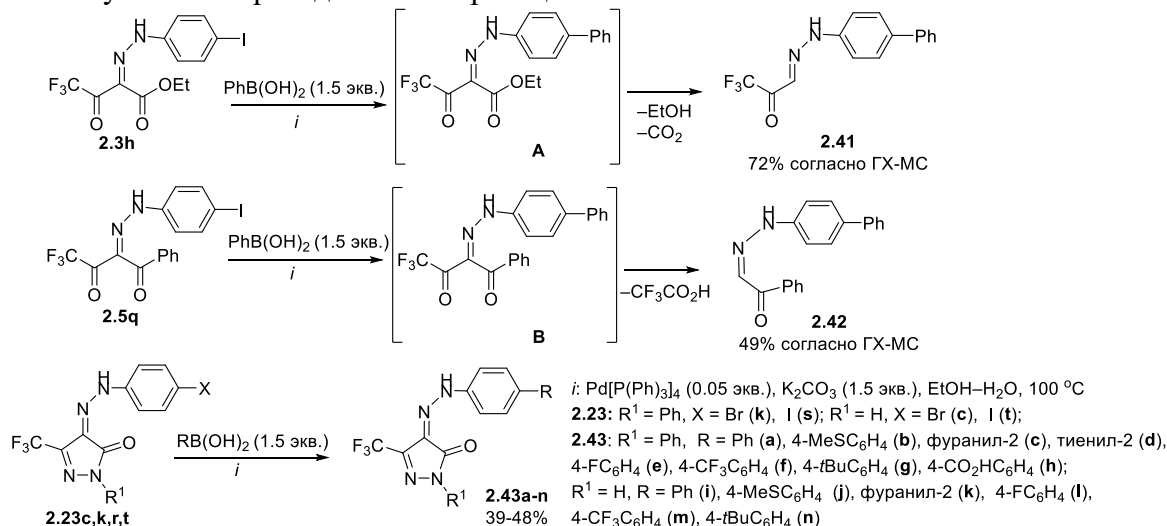


Схема 20

Тогда мы решили использовать реакции кросс-сочетания Сузуки для модификации более стабильных 4-арилгидразинилиден-5-СF₃-пиразол-3-онов (схема 20). Найдено, что 4-бром- и 4-йодфенилгидразинилиденпиразолонны **2.23c,k,r,t** в реакциях с (гет)арилбороновыми кислотами под действием тетраакс(трифенилфосфин)палладия в присутствии К₂СО₃ образуют 4-[(гет)арилфенилгидразинилиден]пиразол-3-оны **2.43a-n**. На основании данных РСА, ИК и ЯМР спектроскопии установлено, что они существуют в Z-изомерной форме аналогично исходным пиразолонам **2.23c,k,r,t**.

Как известно, 4-арилгидразинилиденпиразолонны обладают красящими свойствами, благодаря чему они находят различное применение. Удлинение цепи сопряжения в пиразолонах **2.23** за счет введения еще одного (гет)ароматического цикла приводит к повышению их коэффициентов экстинкции, что подтверждено нами экспериментально для новых пиразол-3-онов **2.43a,c,d** в сравнении с пиразолоном **2.23e** в растворах хлороформа с помощью спектроскопии в УФ и видимой области. При этом наибольший коэффициент экстинкции был зафиксирован для тиенилзамещенного пиразолона **2.43d** ($\epsilon = 29400 \text{ л} \times \text{моль}^{-1} \times \text{см}^{-1}$). Введение дополнительного π -донорного заместителя в фенил-гидразонный остаток приводит к батохромному сдвигу длинноволновой полосы поглощения (π - π^* переход) на 33-67 нм в спектрах поглощения **2.43a,c,d** (440, 470, 465 нм, соответственно) по сравнению с **2.23e** (407 нм).

2.3.3 Восстановление 4-арилдiazенил-3-трифторметилпиразолов

Еще одной ценной синтетической возможностью 2-А-1,3-ДКС и их производных является способность к восстановлению арилгидразонного заместителя до аминofункции. Недавно в ЛФОС было найдено, что 4-амино-СF₃-пиразолы, полученные восстановлением 4-нитрозо-СF₃-пиразолов, обладают разнообразным биологическим действием⁴. Однако применить этот подход для получения 4-амино-3-СF₃-1-фенилпиразолов не удалось из-за того, что в циклизации СF₃-2-гидроксиимино-1,3-дикетонов с фенилгидразином образуются 5-гидрокси-4-гидроксиимино-5-СF₃-1-фенилпиразолины.

В этой работе показана возможность использования 4-арилазопиразолов **2.28** в качестве исходных реагентов для получения 4-аминопиразолов **2.44**. В реакцию восстановления мы ввели пиразолы **2.28h-o**, полученные по известным методикам циклизацией 2-А-1,3-ДК **2.5b,r-v** с гидразингидратом и фенилгидразином (схема 21). На примере 4-фенилазопиразола **2.28h** опробованы различные условия для восстановления. Оказалось, что использование дитионита натрия или гидразингидрата не приводит к образованию целевого амина **2.44a**. Под действием смеси Zn/АсОН этот амин образуется с выходом 27%, а под действием SnCl₂ в конц. HCl выделен гидрохлорид 4-аминопиразола **2.45a** (выход 38%). Самым эффективным методом оказалось гидрирование пиразола **2.28h** под давлением при 5-7 атм в присутствии 5% Pd/C (10% моль) (выход амина 47%). Введение 4-толил- и 4-этоксикарбонилфенилазопиразолов **2.28i,j** в реакции гидрирования привело к трудноразделимым смесям из-за образования ариламинов, осложняющих выделение пиразола **2.44a** в отличие от превращений 4-фенилазопиразола **2.28h**, в которых образуется более легко отделяемый анилин.

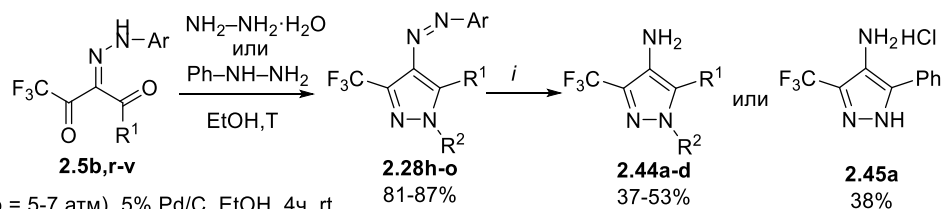


Схема 21

⁴ Burgart Y.V. et al, Eur. J. Med. Chem. 2020. 208. 112768.

Восстановление 4-арилазо-3-СF₃-пиразолов **2.28k-o** выполнено Н₂ под давлением 5-7 атм в присутствии Pd/C в этаноле при 25 °С в течение 4 ч, что позволило получить 4-аминопиразолы **2.44a-d** со средними 37-53% выходами, которые обусловлены сложностью их отделения от образующихся ариламинов. Однако такой метод позволяет получить 4-амино-3-СF₃-1-фенилпиразолы, которые невозможно было получить из нитропиразолов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Найдены пути модификации открытоцепного остова 2-А-1,3-ДКС для создания ингибиторов сериновых эстераз:

- Предложены методы синтеза 2-А-3-ОК и их эфиров, в том числе с остатками природных спиртов, как новых ингибиторов карбоксилэстераз с антиоксидантным действием, эффективность и селективность которых регулируется варьированием заместителей. При этом адамантил-4,4,4-трифторо-2-[2-(4-метилфенил)гидразинилиден]-3-оксобутаноат **2.7e** можно выделить в качестве наиболее перспективного соединения для разработки ингибитора CES.

- На основе 2-А-1,3-ДК получены конъюгаты с такрином с мультитаргетным действием, перспективным для лечения болезни Альцгеймера, причем наибольшим потенциалом обладают конъюгаты **2.18c** и **2.19b**.

2. Показано, что гетероциклизация 2-А-1,3-ДКС является плодотворным подходом для получения биоактивных веществ:

- Разработаны альтернативные методы синтеза 4-арилгидразинилиден-5-R^F-пиразол-3-онов, которые имеют значимый потенциал как антикарбоксилэстеразные, антигонорейные, противоопухолевые и анальгетические средства. 4-{2-[4-(Метилсульфонил)фенил]-гидразинилиден}-2-фенил-5-трифторметил-2,4-дигидропиразол-3-он **2.23m** имеет большие возможности для разработки на его основе анальгетического средства. Получены сульфонилсодержащие 4-арилдiazенил-3-R^F-пиразолы, обладающие противогриппозной активностью.

- Обнаружено, что фторсодержащие 2-А-3-ОЭ циклизуются с гидроксиламином в 4-арилгидразинилиден-3-R^F-изоксазол-5-оны, а 2-А-1,3-ДК – в 4-арилгидразинилиден-5-гидрокси-5-R^F-изоксазолины, которые дегидратируются в 4-арилдiazенил-5-R^F-изоксазолы. Изоксазолы и изоксазолины проявили антиоксидантные и антифунгальные свойства с лучшим сочетанием свойств для 4-[(4-метилфенил)дiazенил]-3-фенил-5-(трифторметил)-2,5-дигидро-1,2-оксазол-5-ола **2.30c**.

- Основным направлением реакции 2-А-3-ОЭ с 3-аминопиразолами является *N,N*-циклизация с образованием 6-арилгидразинилиденпиразоло[1,5-*a*]пиримидинонов. Аналогичные взаимодействия 2-А-1,3-ДК приводят к образованию изомерных пиразоло[1,5-*a*]пиримидинонов за счет конкурентных *N,N*-циклизаций и пиразоло[3,4-*b*]пиридинов за счет *C,N*-циклизации в зависимости от строения реагентов. Полученные пиразолоазины выявили высокую анальгезирующую активность.

3. Показаны возможности модификации 2-А-1,3-ДКС и их производных по арилгидразонному фрагменту:

- Предложен метод синтеза функционализированных 5-R^F-пиридазин-3-онов на основе региоспецифичной циклизации фторсодержащих 2-А-1,3-ДКС с илидом фосфора. При этом найдено, что циклизация по арилгидразонному фрагменту приводит к потере анти-CES свойств;

- Найдено, что реакция кросс-сочетания Сузуки 4-галогенфенилгидразинилиден-5-СF₃-пиразол-3-онов может быть использована для синтеза ди(гет)арильных производных с более высоким коэффициентом экстинции.

- Показана возможность использования 4-арилазопиразолов в качестве исходных реагентов в реакциях каталитического гидрирования для получения 4-аминопиразолов.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Широкий спектр биологической активности, выявленный среди синтезированных открытоцепных и гетероциклических производных 2-А-1,3-ДКС, создает перспективы для создания антиоксидантных, анальгетических, антибактериальных, противовирусных и противоопухолевых средств. Особого внимания заслуживает возможность разработки

селективных ингибиторов CES как солекарств к препаратам, гидролизующихся под действием этого фермента, и мультитаргетных агентов для лечения болезни Альцгеймера.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах и изданиях, определенных ВАК РФ и Аттестационным советом УрФУ:

1. Elkina N.A. New multifunctional agents for potential Alzheimer's disease treatment based on tacrine conjugates with 2-arylhydrazinylidene-1,3-diketones / **N.A. Elkina**, M.V. Grishchenko, E.V. Shchegolkov, G.F. Makhaeva, N.V. Kovaleva, E.V. Rudakova, N.P. Boltneva, S.V. Lushchekina, T.Y. Astakhova, E.V. Radchenko, V.A. Palyulin, E.F. Zhilina, A.N. Perminova, L.S. Lapshin, Y.V. Burgart, V.I. Saloutin, R.J. Richardson // *Biomolecules*. 2022. V. 12. 1551. (1.88 п.л. / 0.11 п.л.) (WOS, Scopus)
2. Елькина Н.А. Восстановление трифторметилсодержащих 4-нитрозо- и 4-арилазопиразолов как метод синтеза 4-амино-3-трифторметилпиразолов / **Н.А. Елькина**, А.Н. Перминова, Н.А. Агафонова, Е.В. Щегольков, Я.В. Бургарт, М.Г. Первова, М.А. Саморукова, В.И. Салоутин // *Журнал общей химии*. 2022. Т. 92. № 9. С. 1334–1348 (0.94 п.л. / 0.12 п.л.)
3. Худина О.Г. Синтез и биологическая активность 2-сульфонарилгидразинилиден-1,3-дикетонов и их пиразольных производных / О.Г. Худина, **Н.А. Елькина**, Я.В. Бургарт, М.А. Ежикова, М.И. Кодесс, Я.Л. Есаулкова, В.В. Зарубаев, А.А. Штро, Г.А. Триандафилова, О.П. Красных, К.О. Малышева, Н.А. Герасимова, Н.П. Евстигнеева, В.И. Салоутин // *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2022. № 12. С. 2670–2684. (0.94 п.л. / 0.07 п.л.)
4. **Elkina N.A.** Synthesis and biological evaluation of polyfluoroalkyl-containing 4-arylhydrazinylidene-isoxazoles as antifungal agents with antioxidant activity / **N.A. Elkina**, E.V. Shchegolkov, Y.V. Burgart, N.A. Agafonova, A.N. Perminova, N.A. Gerasimova, G.F. Makhaeva, E.V. Rudakova, N.V. Kovaleva, N.P. Boltneva, O.G. Serebryakova, S.S. Borisevich, N.P. Evstigneeva, N.V. Zilberberg, N.V. Kungurov, V.I. Saloutin // *Journal of Fluorine Chemistry*. 2022. V.254. 109935. (0.94 п.л. / 0.06 п.л.) (WOS, Scopus)
5. Щегольков Е.В. 3-(Бензолсульфонил)-1,1,1-трифтор-3-[2-(арил)гидразинилиден]-пропан-2-оны как селективные ингибиторы карбоксилэстеразы / Е.В. Щегольков, Н.П. Болтнева, Я.В. Бургарт, С.В. Луцкекина, О.Г. Серебрякова, **Н.А. Елькина**, Е.В. Рудакова, А.Н. Перминова, Г.Ф. Махаева, В.И. Салоутин // *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2022. № 1. С. 158–164. (0.44 п.л. / 0.04 п.л.)
6. Makhaeva G.F. Novel potent bifunctional carboxylesterase inhibitors based on a polyfluoroalkyl-2-imino-1,3-dione scaffold / G.F. Makhaeva, S.V. Lushchekina, N.P. Boltneva, O.G. Serebryakova, N.V. Kovaleva, E.V. Rudakova, **N.A. Elkina**, E.V. Shchegolkov, Y.V. Burgart, T.S. Stupina, A.A. Terentiev, E.V. Radchenko, V.A. Palyulin, V.I. Saloutin, S.O. Bachurin, R.J. Richardson // *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2021. V. 218. 113385. (1.13 п.л./ 0.07 п.л.) (WOS, Scopus)
7. Елькина Н.А. Синтез новых эффективных и селективных ингибиторов карбоксилэстеразы на основе адамантил и цитронеллил 4,4,4-трифтор-2-арилгидразинилиден-3-оксобутаноатов / **Н.А. Елькина**, Е.В. Щегольков, Я.В. Бургарт, В.И. Салоутин, Н.П. Болтнева, О.Г. Серебрякова, С.В. Луцкекина, Г.Ф. Махаева // *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2021. № 3. С. 567-572. (0.38 п.л. / 0.05 п.л.)
8. Elkina N.A. Competitive routes to cyclizations of polyfluoroalkyl-containing 2-tolyhydrazinylidene-1,3-diketones with 3-aminopyrazoles into bioactive pyrazoloazines / **N.A. Elkina**, Y.V. Burgart, E.V. Shchegolkov, O. P. Krasnykh, V.V. Maslova, G.A. Triandafilova, S.S. Solodnikov, A.A. Muryleva, M.A. Misiurina, A.V. Slita, V.V. Zarubaeve, V.I. Saloutin // *Journal of Fluorine Chemistry*. 2020. V. 240. 109648. (0.69 п.л. / 0.06 п.л.) (WOS, Scopus)
9. Бургарт Я.В. Синтез биологически активных 6-толилгидразинилиденпиразоло[1,5-а]пиримидинонов / Я.В. Бургарт, **Н.А. Елькина**, Е.В. Щегольков, О.П. Красных, В.В. Маслова, Г.А. Триандафилова, С.Ю. Солодников, Г.Ф. Махаева, О.Г. Серебрякова, Е.В. Рудакова, В.И. Салоутин // *Химия гетероциклических соединений*. 2020. №. 56. С. 199–207. (0.56 п.л. / 0.05 п.л.)
10. Khudina O.G. Synthesis of 2-arylhydrazinylidene-3-oxo-4,4,4-trifluorobutanoic acids as new selective carboxylesterase inhibitors and radical scavengers / O.G. Khudina, G.F. Makhaeva, **N.A. Elkina**, N.P. Boltneva, O.G. Serebryakova, E.V. Shchegolkov, E.V. Rudakova, S.V. Lushchekina,

Y.V. Burgart, S.O. Bachurin, R.J. Richardson, V.I. Saloutin // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2019. V. 29. N 23. 126716. (0.38 п.л. / 0.03 п.л.) (WOS, Scopus)

11. Makhaeva G.F. Synthesis, molecular docking, and biological evaluation of 3-oxo-2-tolyldrazinylidene-4,4,4-trifluorobutanoates bearing higher and natural alcohol moieties as new selective carboxylesterase inhibitors / G.F. Makhaeva, **N.A. Elkina**, E.V. Shchegolkov, N.P. Boltneva, S.V. Lushchekina, O.G. Serebryakova, E.V. Rudakova, N.V. Kovaleva, E.V. Radchenko, V.A. Palyulin, Y.V. Burgart, V.I. Saloutin, S.O. Bachurin, R.J. Richardson // *Bioorganic Chemistry*. 2019. V. 91. 103097. (0.81 п.л. / 0.06 п.л.) (WOS, Scopus)

Другие публикации:

12. **Елькина Н.А.** Новые конъюгаты такрина с 2-арилазо-1,3-аминоенкетонами как мультитаргетные агенты для лечения болезни Альцгеймера / Н.А. Елькина, М.В. Грищенко, А.Н. Перминова, Е.В. Щегольков, Я.В. Бургарт, Г.Ф. Махаева, Н.П. Болтнева, Е.В. Рудакова, Н.В. Ковалева, В.И. Салоутин // Всероссийская научная конференция с международным участием «Современные проблемы органической химии» (Новосибирск, 12-14 сентября 2022). С. 89. (0.06 п.л. / 0.01 п.л.)

13. **Елькина Н.А.** Синтез антифунгальных агентов с антиоксидантным действием на основе полифторалкилсодержащих 4-арилгидразинилиденизоксазолов / Н.А. Елькина, А.Н. Перминова, Е.В. Щегольков, Я.В. Бургарт, Н.П. Евстигнеева, Н.А. Герасимова, В.И. Салоутин // Сборников тезисов Всероссийской конференции «Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней» (Сочи, 8-11 октября 2021). С. 34. (0.06 п.л. / 0.01 п.л.)

14. **Елькина Н.А.** Синтез биологически активных соединений на основе 2-арилгидразоно-3-оксоэфиров / **Н.А. Елькина**, Е.В. Щегольков, Я.В. Бургарт, В.И. Салоутин, Н.В. Болтнева, Е.В. Рудакова, Г.Ф. Махаева // Международная конференция «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии» (OrgChem BioTech 2020) (Екатеринбург, 18-21 ноября 2020). С. 214-216. (0.06 п.л. / 0.01 п.л.)

15. **Елькина Н.А.** Новые перспективные ингибиторы карбоксилэстеразы в ряду полифторалкил-2-арилгидразоно-3-оксоэфиров / **Н.А. Елькина**, Е.В. Щегольков, О.Г. Худина, Я.В. Бургарт, В.И. Салоутин // VIII Молодежная конференция ИОХ РАН (Москва, 22-23 мая 2019). С. 15. (0.06 п.л. / 0.02 п.л.)

16. **Елькина Н.А.** Разработка методов модификации полифторалкил-2-арилгидразоно-3-оксоэфиров в качестве селективных ингибиторов карбоксилэстеразы / **Н.А. Елькина**, Е.В. Щегольков, О.Г. Худина, Я.В. Бургарт, В.И. Салоутин // Тезисы докладов 2-ой Международной конференции «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов» (MOSM2018) (Екатеринбург, 15-17 ноября 2018). УД-28. (0.06 п.л. / 0.02 п.л.)