

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени М. В. ЛОМОНОСОВА



*На правах рукописи*

**Садовников Кирилл Сергеевич**

**Новые производные изоксазола с потенциальной биологической активностью и флуоресцентными свойствами**

1.4.16 – медицинская химия

1.4.3 – органическая химия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Научные руководители:

Кандидат химических наук  
Василенко Дмитрий Алексеевич

Доктор химических наук  
Аверина Елена Борисовна

Москва – 2022

## Содержание

1. Введение.....	7
2. Литературный обзор.....	13
2.1. Ингибиторы белка тубулина.....	13
2.1.1. Структурные аналоги комбретастина А-4.....	14
2.1.1.1. 3,4-Диарилзоксазолы и их аминокпроизводные.....	14
2.1.1.2. 4,5-Диарилзоксазолы и их аминокпроизводные.....	16
2.1.1.3. 3,5-Диарилзоксазолы.....	20
2.1.1.4. Другие производные изоксазола.....	21
2.1.2. Структурные аналоги таксола.....	27
2.1.3. Производные изоксазола двойного действия.....	29
2.2. Ингибиторы различных ферментативных белков.....	35
2.2.1. Ингибиторы сигнальных путей.....	35
2.2.2. Индукторы апоптоза.....	43
2.2.3. Ингибиторы киназ, ответственных за устойчивость опухолевых клеток по отношению к иммунной системе.....	44
2.2.4. Ингибиторы белков, контролирующей экспрессию генов.....	46
2.2.5. Другие киназы и ферменты – молекулярные мишени для поиска противоопухолевых препаратов.....	50
2.2.6. Изоксазолсодержащие соединения мультитаргетного действия и с неустановленной молекулярной мишенью.....	56
2.3. Ингибиторы белка теплового шока (Hsp90).....	60
3. Обсуждение результатов.....	76
3.1. Гетероциклизация электрофильных диенов. Синтез бис(изоксазолов) – модуляторов АМРА-рецепторов.....	76
3.2. Нитрование 5-аминоизоксазолов. Синтез 5-амино-4-нитроизоксазолов.....	81
3.2.1. Синтез 5-нитроизоксазолов <b>9a-g</b> и 5-аминоизоксазолов <b>10a-g</b> .....	81
3.2.2. Синтез 5-амино-4-нитроизоксазолов <b>11a-g</b> .....	82
3.2.3. Изучение антибактериальной и противогрибковой активности 5-амино-4-нитроизоксазолов <b>11a-g, 13</b> .....	87
3.3. Разработка метода синтеза 3-арил\гетарилзамещенных 4-нитроизоксазолов.....	89
3.4. 5-Стирил-4-нитроизоксазолы: синтез и флуоресцентные свойства.....	94
3.4.1. Оптимизация условий реакции конденсации 5-метил-4-нитроизоксазолов с ароматическими альдегидами.....	95
3.4.2. Синтез 5-стирил-4-нитроизоксазолов <b>16aa-ar</b> . Варьирование заместителя в стирильном фрагменте.....	96
3.4.3. Синтез 5-стирил-4-нитроизоксазолов <b>16aa-qa</b> . Варьирование заместителя в положении 3 изоксазольного цикла.....	99

3.4.4. Синтез 5-стирил-4-нитроизоксазолов <b>16ed-od</b> . Варьирование заместителей в положениях 3 и 5 изоксазольного цикла .....	103
3.4.5. Изучение противораковой активности 5-стирил-4-нитроизоксазолов .....	105
3.5. VF <sub>2</sub> -комплексы изоксазолсодержащих 1,3-дикетонов – новый структурный тип флуорофоров .....	109
3.5.1. Синтез изоксазолсодержащих 1,3-дикетонов и VF <sub>2</sub> -комплексов на их основе.	109
3.5.2. Биотестирование противораковой активности выборочной серии VF <sub>2</sub> -комплексов .....	117
3.6. 5-Метил-4-ациламиноизоксазолы: синтез и изучение антимитотической активности .....	119
3.6.1. Синтез 4-ациламиноизоксазолов <b>23ba-m</b> .....	121
3.6.2. Изучение противораковой активности 4-ациламиноизоксазолов <b>23ba-m</b> .....	123
3.6.3. Изучение механизма действия 4-ациламиноизоксазолов <b>23ba-m</b> .....	128
3.6.4. Изучение влияния 4-ациламиноизоксазолов <b>23ba-m</b> на апоптоз и клеточный цикл.....	131
3.6.5. Прогнозирование ADMET, физико-химического и PAINS профилей для 4-ациламиноизоксазолов <b>23ba-m</b> .....	134
3.6.6. Инкапсулирование 4-ациламиноизоксазолов в полимерные носители на примере соединения <b>23ea</b> .....	135
4. Экспериментальная часть .....	138
4.1. Синтез соединений .....	139
4.1.1. Синтез бис(изоксазолов).....	139
4.1.2. Синтез 4-нитроизоксазол-5-аминов .....	141
4.1.3. Синтез 5-метил-4-нитроизоксазолов .....	145
4.1.4. Синтез 5-стирил-4-нитроизоксазолов.....	153
4.1.5. Синтез изоксазолсодержащих комплексов с VF <sub>2</sub> .....	165
4.1.6. Синтез N-ацил-4-аминоизоксазолов .....	179
4.2. Биологические испытания .....	187
4.2.1. Нейропротекторная активность .....	187
4.2.2. Антибактериальная активность .....	189
4.2.3. Противоопухолевая активность .....	190
4.3. Фотофизические исследования .....	193
5. Заключение и выводы .....	193
6. Список литературы.....	195
7. Список работ, опубликованных автором по теме диссертации.....	221

## Список сокращений

AMPA	$\alpha$ -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазол пропионовая кислота
NMDA	N-метил-D-аспартат
CAN	церий аммоний нитрат
DMA (ДМА)	диметил ацеталь N,N-диметилформамида
IC <sub>50</sub>	полумаксимальная концентрация ингибирования
EC <sub>50</sub>	полумаксимальная эффективная концентрация
GI <sub>50</sub>	полумаксимальная концентрация ингибирования роста клеток
EC	эффективная пороговая концентрация.
LOEC	наиболее низкая наблюдаемая концентрация воздействия.
HSP	белки теплового шока
LDA	диизопропиламид лития
Pu	пиридин
ЯМР	ядерный магнитный резонанс
ПМР	протонный магнитный резонанс
KCCB	константа спин-спинового взаимодействия
РСА	рентгеноструктурный анализ
ПЭ	петролейный эфир
ЭА	этилацетат
5-FU	5-фторурацил
SNX5422	[4-[2-карбамоил-5-[6,6-диметил-4-оксо-3-(трифторметил)-5,7-дигидроиндазол-1-ил]анилино]циклогексил] 2-аминоацетат

## Клеточные линии

<b>22Rv1</b>	клеточная карциномы предстательной железы человека
<b>A2780</b>	клеточная линия карциномы яичников человека
<b>A375</b>	клеточная линия злокачественной меланомы человека
<b>A431</b>	клеточная линия эпидермальной карциномы кожи человека
<b>A549</b>	клеточная линия аденокарциномы легкого человека
<b>AG1523</b>	клеточная линия меланомы кожи человека
<b>BT549</b>	клеточная линия карциномы молочной железы человека
<b>C4-2B</b>	клеточная сублиния из LNCaP – аденокарциномы предстательной

	железы человека
<b>Calu-1</b>	клеточная линия карциномы легкого человека
<b>Capan-1</b>	клеточная линия аденокарциномы поджелудочной железы человека
<b>Caco-2</b>	клеточная линия колоректальной аденокарциномы человека
<b>DU-145</b>	клеточная линия аденокарцинома простаты человека
<b>DU-4475</b>	клеточная линия карциномы груди человека
<b>EAC</b>	Клеточная линия асцитной опухоли мышей
<b>H157</b>	клеточная линия плоскоклеточного рака полости рта человека
<b>H3122</b>	клеточная линия немелкоклеточного рака легких человека
<b>HCT-116</b>	клеточная линия колоректальной карциномы человека
<b>HEK293</b>	клеточная линия почек эмбриона человека
<b>HeLa</b>	клеточная линия опухоли шейки матки человека
<b>Hep 3B</b>	клеточная линия рака печени человека
<b>HepG2</b>	клеточная линия гепатоцеллюлярной карциномы человека
<b>Her2</b>	клеточная линия рака молочной железы человека
<b>HL-60</b>	клеточная линия лейкемии человека
<b>HUVEC</b>	эндотелиальные клетки пупочной вены человека
<b>HT-29</b>	клеточная линия колоректальной аденокарциномы человека
<b>IMR-32</b>	клеточная линии из новообразований в брюшной полости человека
<b>K562</b>	клеточная линия хронической миелогенной лейкемии человека
<b>KB</b>	клеточная линия плоскоклеточной карциномы гортани человека
<b>L02</b>	клеточная линия нормальных клеток печени человека
<b>LNCaP</b>	клеточная линия аденокарциномы предстательной железы человека
<b>LoVo</b>	клеточная линия колоректального рака толстой кишки человека
<b>LS-180</b>	клеточная линия колоректального рака толстой кишки человека
<b>MCF-7</b>	клеточная линия аденокарциномы протоков молочной железы человека
<b>MCF-7R</b>	MDR-вариант клеточной линии аденокарциномы протоков молочной железы человека
<b>MDA-MB-231</b>	клеточная линия рака молочной железы человека
<b>MIA-PACA-2</b>	клеточная линия аденокарциномы желудка человека

<b>MKN-45</b>	клеточная линия рака поджелудочной железы человека
<b>MOLM13</b>	клеточная линия острого миелоидного лейкоза человека
<b>MV-4-11</b>	клеточная линия острого моноцитарного лейкоза человека
<b>NCI-H460</b>	клеточная линия немелкоклеточной карциномы легкого человека
<b>OVCAR-3</b>	клеточная линия аденокарциномы яичника человека
<b>PANC1</b>	клеточная линия эпителиальной карциномы человека
<b>PNT1a</b>	клеточная линия нормальных эпителиальных клеток предстательной железы человека
<b>Primary fibroblast</b>	клеточная линия соединительной ткани организма
<b>PC-3</b>	клеточная линия аденокарциномы простаты человека
<b>Raji</b>	клеточная линия лимфомы человека
<b>RKO</b>	клеточная линия аденокарциномы толстой кишки человека
<b>S1</b>	клеточная линия рака толстой кишки человека
<b>SH-SY5Y</b>	клеточная линия нейробластомы человека
<b>SKBR3</b>	клеточная линия рака груди человека
<b>SK-OV-3</b>	клеточная линия аденокарциномы аденокарциномы яичников человека
<b>STO</b>	клеточная линия эмбриональных фибробластов мыши
<b>SW480</b>	клеточная линия аденокарциномы толстой кишки человека
<b>T24</b>	клеточная линия рака мочевого пузыря человека
<b>T-47D</b>	клеточная линия протоковой аденокарциномы молочной железы человека.
<b>U937</b>	клеточная линия гистиоцитарной лимфомы человека
<b>VCap</b>	клеточная линия предстательной железы человека
<b>WI38</b>	клеточная линия фибробластов легочной ткани человека
<b>WI-26 VA4</b>	клеточная линия легкого человека

## 1. Введение

**Актуальность темы исследования.** Актуальность темы исследования. Изоксазолный цикл широко используется в дизайне лекарственных препаратов и биологически активных соединений, проявляющих противораковую, противовирусную, иммуномодулирующую, противовоспалительную, антибактериальную, противогрибковую, ноотропную и другие типы активности. Высокий интерес к использованию данного гетероцикла в органической и медицинской химии обуславливает необходимость разработки простых и эффективных методов синтеза функционализированных изоксазолов, которые можно легко модифицировать по различным положениям. В этом плане перспективны нитрозамещенные производные изоксазола, поскольку нитрогруппа может участвовать в разнообразных химических превращениях, включая реакции восстановления и последующего ацилирования, образования новых гетероциклических фрагментов. Кроме того, пятичленные нитрогетероциклы являются структурными аналогами известных антибактериальных и противогрибковых препаратов, что с учетом проблемы резистентности бактерий и грибков к большому количеству известных лекарств делает разработку методов их синтеза важной задачей. Производные изоксазола также представляют интерес для изучения противораковой активности, поскольку опухолевые заболевания занимают одно из первых мест среди социально значимых болезней в современном мире. Не менее важной задачей медицинской химии является изучение механизмов действия лекарственных соединений и визуализация процессов, протекающих в клетках. Одним из действенных инструментов для таких исследований является использование соединений с флуоресцентными свойствами. Следует отметить, что низкая токсичность и потенциальная биологическая активность производных изоксазола делает их перспективными объектами для изучения в качестве флуоресцентных сенсоров, тем не менее, изоксазолсодержащие флуорофоры в настоящее время остаются практически не изученными. В связи с этим разработка новых методов синтеза функционализированных производных изоксазола, в том числе, с флуоресцентными свойствами, а также направленный синтез соединений с ожидаемой биологической активностью, является актуальной проблемой органической и медицинской химии.

**Степень разработанности темы диссертации.** В литературе описаны различные синтетические подходы к получению производных изоксазола, а также направленный синтез этих гетероциклов для изучения биологической активности. В диссертационной работе представлен обзор литературы, посвященный получению изоксазолсодержащих

соединений с противораковой активностью, материал собран по типу молекулярной мишени, приводятся предложенные авторами синтетические последовательности. Тем не менее, хемо- и региоселективные методы синтеза нитрозамещенных гетероциклов с большим разнообразием заместителей в литературе практически отсутствуют, поэтому существует необходимость их разработки.

**Целью настоящей работы** явилась разработка препаративно удобных методов получения 4-нитроизоксазолов, направленный синтез производных изоксазола с ампакинной, антимикробной и противораковой типами активности, а также синтез новых флуорофоров и изучение их фотофизических характеристик. В соответствии с указанной целью в работе были поставлены следующие **задачи**:

- разработать методы синтеза бис(5-аминоизоксазолов) и изучить их активность в качестве перспективных модуляторов АМРА рецептора;
- разработать препаративный метод синтеза 3-EWG-5-амино-4-нитроизоксазолов на основе реакции нитрования соответствующих 5-аминоизоксазолов и провести скрининг их антибактериальной и противогрибковой активности;
- разработать удобный, легко масштабируемый хемо- и региоселективный метод синтеза 3-арил-/гетарил-4-нитроизоксазолов;
- разработать синтетические подходы к флуорофорам двух структурных типов: 4-нитро-5-стирилизоксазолам и  $VF_2$ -комплексам изоксазолсодержащих  $\beta$ -дикетонов. Получить большую серию соединений с различными заместителями в изоксазольном цикле и в ароматическом фрагменте для систематического изучения фотофизических характеристик, выявить основные закономерности “структура-свойство”;
- с использованием разработанных методов осуществить направленный синтез серии 3-арил-5-метил-4-ациламиноизоксазолов, исследовать их цитотоксичность по отношению к раковым и нормальным клеткам, установить зависимость “структура-активность”, для наиболее перспективных соединений провести дополнительные исследования с целью установления возможного механизма действия.

#### **Объект и предмет исследования.**

Объектами исследования являлись изоксазолсодержащие соединения, а именно: бис(5-аминоизоксазолы), 3-EWG-5-амино-4-нитроизоксазолы, 3-арил\гетарил-4-нитроизоксазолы, 4-нитро-5-стирилизоксазолы,  $VF_2$ -комплексы изоксазолсодержащих  $\beta$ -дикетонов, 5-метил-4-ациламиноизоксазолы.

Предметом исследования являлась разработка методов синтеза, изучение реакционной способности, биологической активности и фотофизических свойств полученных в работе производных изоксазола.

## **Методология и методы исследования**

В работе использовали физико-химические методы анализа для подтверждения состава и структуры соединений:  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$  ЯМР спектроскопия, в том числе с привлечением двумерных методик (HMBC, HMQC), масс-спектрометрия (HRMS-ESI), элементный анализ и рентгеноструктурный анализ. Исследование фотофизических свойств проводили с помощью электронной спектроскопии поглощения и флуоресцентной спектроскопии. Взаимодействие соединений с АМРА рецептором изучалось методом локальной фиксации потенциала (patch-clamp). Первичный скрининг антибактериальной и противогрибковой активности был проведен с использованием дисково-диффузионного метода. Цитотоксичность оценивали с использованием МТТ-теста на клеточных линиях рака человека.

## **Научная новизна.**

Разработан синтетический подход к бис(5-аминоизоксазолам), которые являются новым структурным типом положительных аллостерических модуляторов АМРА-рецептора, найдено соединение, проявляющее активность в субнанолярном диапазоне концентраций.

Найдены условия хемоселективного нитрования 3-EWG-5-аминоизоксазолов с незащищенной аминогруппой под действием нитрата аммония в трифторуксусном ангидриде. Разработан новый метод синтеза 4-нитро-5-аминоизоксазолов, для которых выявлена антибактериальная активность.

Разработан новый препаративный метод синтеза 3-арил\гетарил-4-нитроизоксазолов на основе реакции гетероциклизации  $\alpha,\beta$ -ненасыщенных (арил\гетарил)винилкетонов под действием трет-бутилнитрита в смеси диоксан-вода.

Синтезированы большие серии новых 3-арил\гетарил-4-нитро-5-стирилизоксазолов и BF<sub>2</sub>-комплексов изоксазолсодержащих  $\beta$ -дикетонов, для которых впервые проведен систематический анализ зависимости фотофизических характеристик от природы заместителей в различных положениях изоксазольного цикла.

Осуществлен направленный синтез большой серии новых 5-метил-4-ациламиноизоксазолов в качестве ингибиторов полимеризации тубулина для изучения противораковой активности. Найдены соединения, проявляющие антимиотические свойства в субмикромольном диапазоне концентраций с высокой селективностью.

## **Теоретическая и практическая значимость.**

Предложен препаративный метод синтеза неизвестных ранее бис(5-аминоизоксазолов) с различными линкерами, показано, что бис(5-аминоизоксазол), содержащий 1,4-фениленбисметиленовый фрагмент в качестве линкера, является

перспективным положительным модулятором АМРА-рецептора, потенцирующим каинат-индуцированные токи в широком диапазоне концентраций (от  $10^{-12}$  до  $10^{-6}$  М). Разработан новый метод синтеза 4-нитроизоксазолов на основе реакции хемоселективного нитрования 3-EWG-5-аминоизоксазолов, который представляет интерес для получения соединений с потенциальной антибактериальной и противогрибковой активностью. Найден новый реагент гетероциклизации  $\alpha,\beta$ -ненасыщенных (арил-/гетарил)винилкетонov – *трет*-бутилнитрит в смеси диоксан-вода, позволяющий получать 3-арил\гетарил-4-нитроизоксазолы в граммовых количествах с высокими выходами. Для двух больших серий неизвестных ранее 3-арил\гетарил-4-нитро-5-стирилизоксазолов и  $\text{BF}_2$ -комплексов изоксазолсодержащих  $\beta$ -дикетонov проведено систематическое изучение фотофизических характеристик, в результате чего были найдены основные закономерности зависимости “структура-свойства”, а также продемонстрирована возможность использования 4-нитро-5-стирилизоксазолов в качестве сенсоров, в том числе, в живых клетках. Предложен универсальный синтетический подход к 5-метил-4-ациламиноизоксазолам, представляющим интерес для изучения противораковой активности, найдено соединение-лидер с противораковой активностью в субмикромольном диапазоне концентрации (для клеточной линии LNCaP  $\text{IC}_{50}=0.301 \mu\text{M}$ ) и высокой селективностью, которое представляет интерес для дальнейшей оптимизации структуры.

#### **Положения, выносимые на защиту**

1,4-Фениленбис(метилен)бис(5-аминоизоксазол-3-карбоксилат) потенцирует каинат-индуцированные токи в широком диапазоне концентраций от  $10^{-12}$  до  $10^{-6}$  М с максимумом потенцирования 170% при  $10^{-11}$  М.

Эффективным подходом к синтезу 3-EWG-4-нитро-5-аминоизоксазолов является нитрование 3-EWG-5-аминоизоксазолов под действием нитрата аммония в трифторуксусном ангидриде. 3-EWG-4-нитро-5-аминоизоксазолы обладают антибактериальными свойствами.

*Трет*-бутилнитрит в смеси диоксан-вода является новым реагентом гетероциклизации  $\alpha,\beta$ -ненасыщенных (арил-/гетарил)винилкетонov. В реакциях с участием этого реагента образуются 3-(арил-/гетарил)-4-нитроизоксазолы с высокими выходами в граммовых количествах.

3-Арил\гетарил-4-нитро-5-стирилизоксазолы и  $\text{BF}_2$ -комплексы изоксазолсодержащих  $\beta$ -дикетонov являются флуорофорами нового структурного типа. Флуоресцентные свойства соединений зависят от электронной природы заместителей в изоксазольном цикле, ароматических кольцах и их расположения в молекуле.

Изоксазолсодержащие флуорофоры проявляют сенсорные свойства по отношению к различным ионам металлов, сольватохромизм и умеренную противораковую активность.

5-Метил-4-ациламиноизоксазолы являются ингибиторами полимеризации белка тубулина, а также действуют на другую неустановленную мишень. Соединение-лидер (3-метил-N-(5-метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил)бензамид) проявляет цитотоксичность в субмикромольном диапазоне концентраций и характеризуется хорошим токсикологическим профилем. Инкапсулирование 5-метил-4-ациламиноизоксазолов в полисахаридные мицеллы-«наноконтейнеры» позволяет улучшить их физико-химические и биологические свойства.

**Личный вклад автора** состоит в подборе и анализе литературы с последующей систематизацией в обзоре литературы. Автор принимал непосредственное участие в постановке целей и промежуточных задач, в синтезе целевых и промежуточных соединений, подготовке соединений к изучению их физико-химических и биологических свойств, регистрации спектров поглощения и испускания. Автор участвовал в обработке и интерпретации экспериментального материала, подготовке материалов к публикации в научных журналах и в представлении ключевых результатов на конференциях.

#### **Апробация работы и публикации.**

Основное содержание работы изложено в 13 публикациях в виде 6 статей в международных рецензируемых научных изданиях, индексируемых виртуальными базами данных (Web of Science, Scopus) и рекомендованы ВАК для публикации результатов диссертационных работ, а также 7 тезисов докладов на международных и российских научных конференциях. Во всех работах вклад автора является определяющим.

Основные материалы работы были представлены в виде стендовых и устных докладов на конференциях: V Всероссийская с международным участием конференция по органической химии (Владикавказ, Россия, 2018); 21 Менделеевский съезд по общей и прикладной химии (Санкт Петербург, Россия, 2019); Всероссийская конференция «Химия нитросоединений и родственных азот-кислородных систем» (Москва, Россия, 2019); The Fifth International Scientific Conference «Advances in Synthesis and Complexing» (Moscow, Russia, 2019); 5-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021» (Волгоград, Россия, 2021), The Sixth International Scientific Conference «Advances in Synthesis and Complexing» (Moscow, Russia, 2022);

Работа выполнена при финансовой поддержке: РНФ (гранты 19-73-00145, 19-13-00084, 22-15-00041), Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение с ИОХ им. Н.Д. Зелинского № 075-15-2020-803).

### **Структура и объем диссертационной работы**

Материал диссертации изложен на 221 странице машинописного текста и состоит из следующих разделов: введение, литературный обзор, обсуждение результатов, экспериментальная часть, заключение и выводы, список литературы и список работ, опубликованных автором по теме диссертации. Диссертация содержит 51 рисунок, 61 таблицу и 78 схем. Список литературы включает 254 наименования.

## 2. Литературный обзор

Известно, что производные изоксазола обладают различными типами биологической активности. В частности, фрагмент изоксазола входит в состав соединений с противораковой, антибактериальной, противогрибковой, противовирусной и другими типами биологической активности [1–7], известны также изоксазолсодержащие соединения с нейропротекторными, иммуномодулирующими и другими свойствами [8–10]. Следует особо отметить, что для изоксазолсодержащих соединений, также как и для многих других структурных типов гетероциклов, активно изучается противоопухолевое действие, поскольку онкологические заболевания чрезвычайно распространены в мире и занимают второе место по смертности среди других болезней. В связи с этим в настоящем литературном обзоре проведен анализ работ последних 10-15 лет, посвященных синтезу и изучению противораковой активности производных изоксазола.

Согласно литературным данным, можно выделить несколько основных молекулярных мишеней, которые изучаются в период с 2000 года для производных изоксазола, обладающих противораковой активностью. К таким мишеням можно отнести белок тубулин [11, 12], белок теплового шока (Hsp90) [13, 14], различные ферментативные белки [15–18], а также некоторые менее изученные мишени.

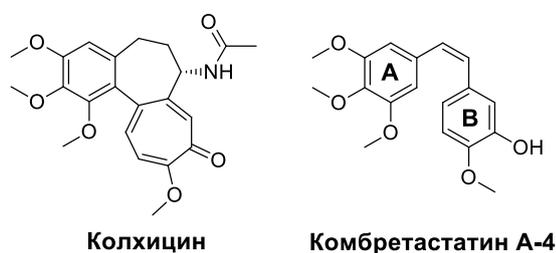
### 2.1. Ингибиторы белка тубулина

Из литературных данных известно, что белок тубулин составляет основу для микротрубочек – белковых внутриклеточных структур, которые играют важную роль в процессах жизнедеятельности клеток, включая изменения в морфологии и митоз. Нарушение динамики полимеризации и деполимеризации тубулина, обеспечивающей образование и разрушение микротрубочек, приводит к остановке клеточного цикла в фазе G2/M и апоптозу (гибели клетки), что делает тубулин важной молекулярной мишенью для противоопухолевых препаратов.

Белок тубулин имеет не менее 6 основных сайтов связывания, а именно, винка-алкалоидный, колхициновый, таксоновый, лаулималидный, пиронетиновый, майтансиновый, вследствие чего представляет интерес в качестве молекулярной мишени для соединений с различной пространственной структурой [11, 12]. Обсуждаемые в данном разделе производные изоксазола относятся к лигандам колхицинового или таксонового сайтов связывания тубулина, а также являются составной частью молекул, действующих на 2 молекулярные мишени.

### 2.1.1. Структурные аналоги комбретастина А-4 (колхициновый сайт связывания)

Одним из наиболее изученных сайтов связывания тубулина является колхициновый сайт, лиганды которого ингибируют полимеризацию тубулина в микротрубочки. Широко известным лигандом этого сайта является комбретастин А-4 (СА-4) – природное соединение класса стильбенов (рис. 1). Данное соединение имеет сопряженную структуру, которая включает триметоксифенильное кольцо (А) и 3-гидрокси-4-метоксифенильное кольцо (В) с цис-расположением при двойной связи. Благодаря высокой активности и структурной простоте СА-4 был выбран в качестве соединения-лидера для получения различных классов соединений с противораковой активностью (рис. 1).



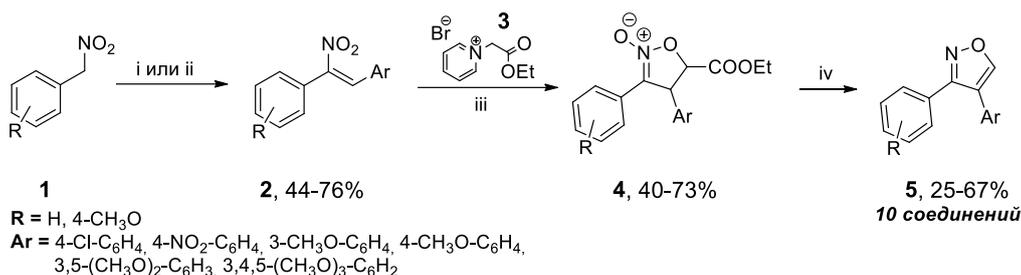
**Рисунок 1.** Структурные формулы Колхицина и Комбретастина А-4.

При создании аналогов СА-4 на основе изоксазола были получены разнообразные структуры, содержащие ароматические заместители и аминогруппу в различных положениях гетероцикла: 3,4-диарилизоксазолы [19, 20, 30], 4,5-диарилизоксазолы [23–30] и их аналоги со свободной или замещенной аминогруппой [21, 22, 30].

#### 2.1.1.1. 3,4-Диарилизоксазолы и их аминопроводные

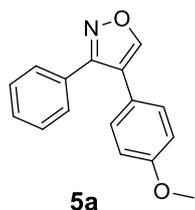
В литературе имеется ограниченное число примеров синтеза незамещенных по положению 5 3,4-диарилизоксазолов, обладающих противораковыми свойствами. Авторами работ [19, 20] была получена серия таких соединений из доступных арилнитрометанов **1** и ароматических альдегидов или енаминов (схема 1). Ключевой стадией данной синтетической последовательности является реакция гетероциклизации диарилнитроалкенов **2** под действием пиридиний бромиды **3**, приводящая к образованию изоксазолин оксидов **4**, обработка которых раствором щелочи приводит к 3,4-диарилизоксазолам **5**.

### Схема 1



i: ArCHO, CH<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>\*HCl, NaHCO<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>OH; ii: ArCH=NMMe<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>CN; iii: Et<sub>3</sub>N, CH<sub>3</sub>CN, 20-60°C; iv: 2% NaOH, EtOH-H<sub>2</sub>O, 60°C

Для полученной серии соединений **5** была протестирована противоопухолевая активность на эмбрионах морского ежа. Наиболее активное соединение показало сопоставимую активность с исходным соединением-лидером СА-4 (рис. 2). Косвенным подтверждением механизма связывания с тубулином полученных соединений явились результаты докинга соединения **5a** в сайт связывания колхицина белка тубулина [20].



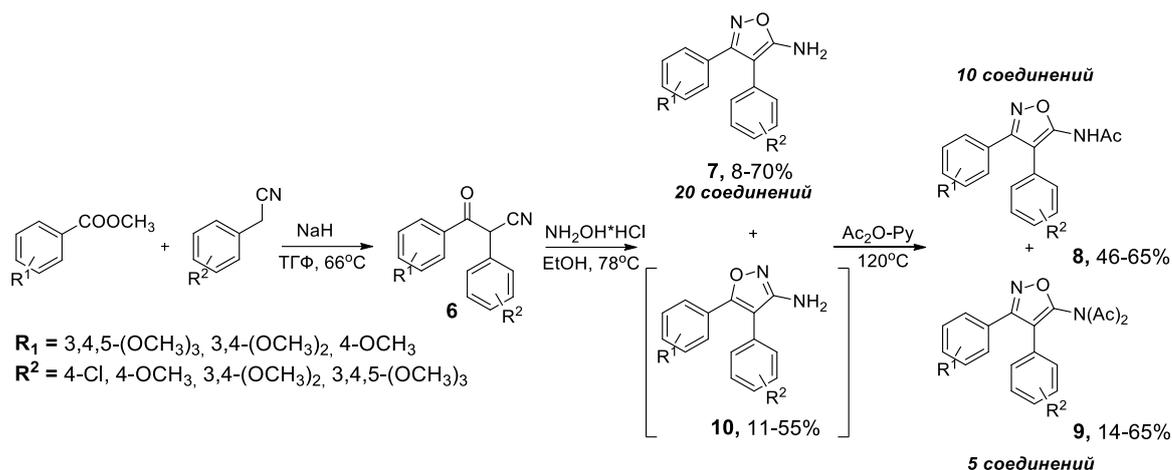
	ЕС (μМ)	<b>5a</b>	<b>СА-4</b>
Изменение расщепления:		0.005	0.002
Задержка расщепления:		0.05	0.01
Вращение эмбриона:		0.1	0.05

**Рисунок 2.** Действие соединения **5a** серии 3,4-диарилизоксазолов на эмбрионы морского ежа.

Для 5-аминозамещенных 3,4-диарилизоксазолов **7** также была изучена противораковая активность. Гетероциклы **7** были получены стандартным методом с использованием реакции α-кетоцианидов **6** с гидроксиламином [21, 22] (схема 2). Хотя в более ранней работе [21] описано региоселективное образование 5-амино-3,4-диарилизоксазолов **7**, впоследствии было установлено, что в реакции образуется смесь 5- и 3-региоизомеров аминозамещенных изоксазолов в близких соотношениях, которые были разделены хроматографически [22]. Обработка аминов **7** уксусным ангидридом привела к продуктам моно- и диацилирования **8** и **9**, которые также выделяли с использованием метода колоночной хроматографии.

Серии соединений **7-9** с различными ароматическими фрагментами и свободной или ацилированной аминогруппой были протестированы на раковых клеточных линиях [21] и эмбрионах морского ежа [22]. На примере нескольких соединений была подтверждена способность данного типа гетероциклов ингибировать полимеризацию белка тубулина [21]. В табл. 1 приведены данные измерений для наиболее активных соединений в сравнении с СА-4.

## Схема 2



**Таблица 1.** Биологическая активность целевых соединений **7** на различных клеточных линиях и эмбрионах морского ежа.

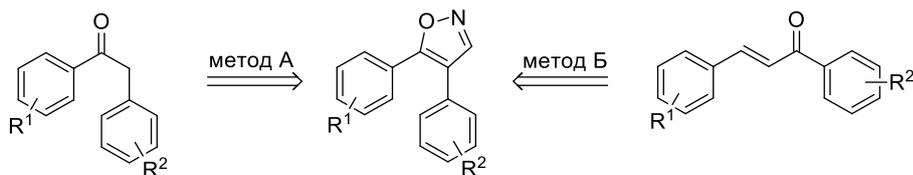
	EC (μM)			IC <sub>50</sub> , μM			
	Изменение расщепления	Задержка расщепления	Вращение эмбриона	K562	A549	PC-3	Ингиб. полим. тубулина
 <b>7a</b>	0.002	0.005	0.5	0.04	4.49	3.03	1.8
 <b>7b</b>	0.0005	0.002	0.05	-	-	-	-
<b>CA-4</b>	0.002	0.01	0.05	0.046	0.42	5.40	1.2

Анализ полученных результатов позволяет сделать вывод, что 3,4-диарил-5-аминоизоксазолы являются более перспективными структурами для поиска соединения-лидера, чем их незамещенные по положению 5 аналоги. Тем не менее, в целом, 3,4-диарилизоксазолы являются перспективным структурным типом гетероциклов для дальнейшего поиска ингибиторов белка тубулина.

### 2.1.1.2. 4,5-Диарилизоксазолы и их аминопроизводные

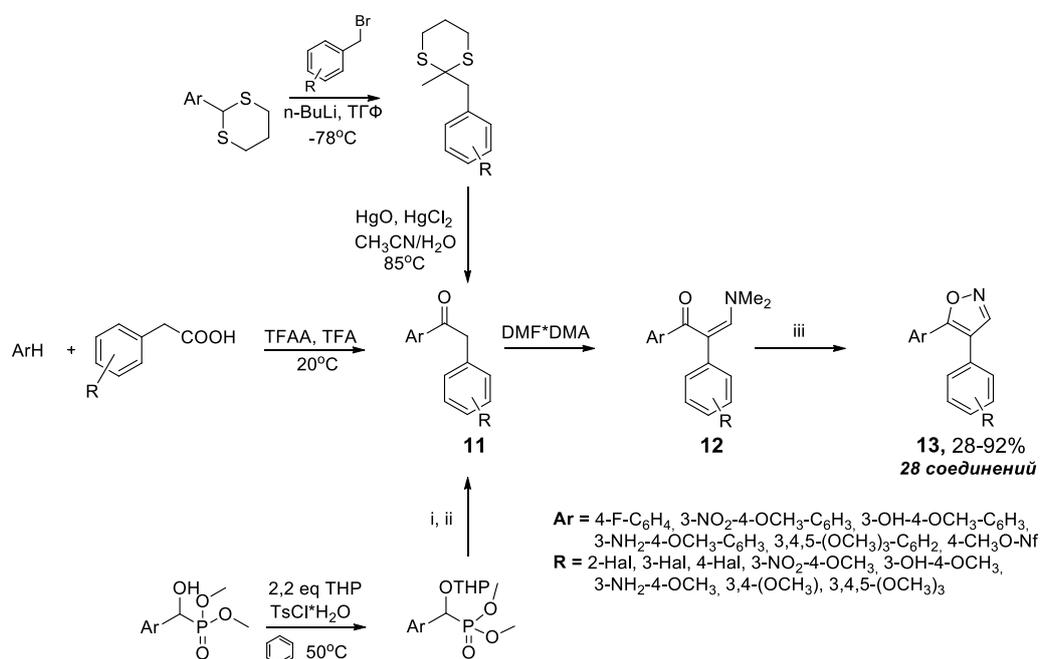
Для получения 4,5-диарилизоксазолов используются два основных синтетических подхода на основе реакции гетероциклизации арилбензилкетонов (метод А) или халконов (метод Б) (схема 3):

### Схема 3



Согласно методу А предварительно синтезированный арил(бензил)кетон **11** вводили в реакцию с димилацеталем диметилформамида (DMFDMA), а затем полученный енамин **12** обрабатывали гидроксиламином, что приводило к образованию 4,5-диарилизоксазолов **13** с широким диапазоном выходов [23–25] (схема 4).

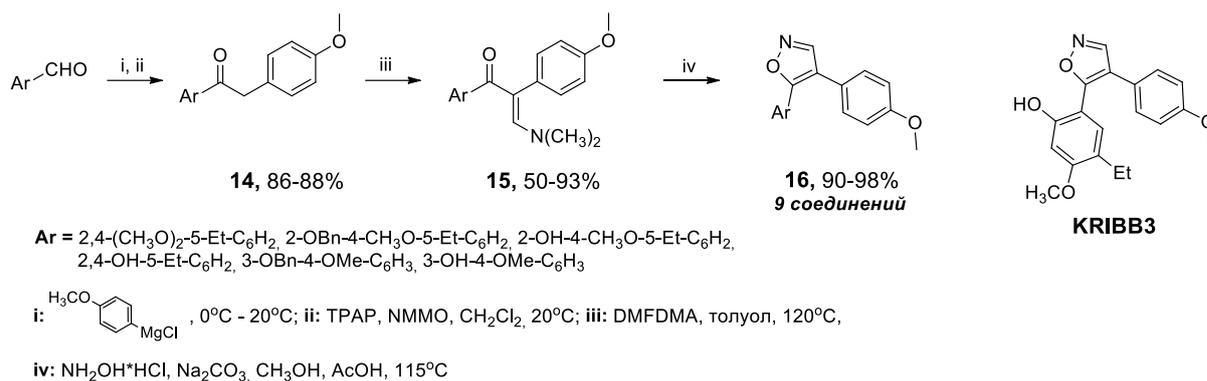
### Схема 4



i: 4 экв NaH, 1 экв RCHO, EtOH, 20°C; ii: 0,95 экв HCl (10%), MeOH; iii: NH<sub>2</sub>OH·HCl, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>OH-АсОН

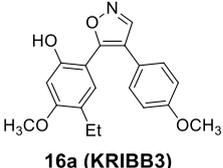
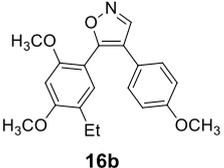
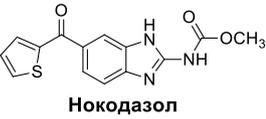
Метод А использовался также для получения 4,5-диарилизоксазола KRIBB3 и его аналогов **16**, которые описаны в работах корейских авторов [26–28]. Полученный с использованием реактива Гриньяра кетон **14** с различными ароматическими заместителями далее был превращен в енамин **15**, который под действием гидроксиламина давал серию 4,5-диарилизоксазолов **16**, включая соединение-лидер KRIBB3 (схема 5).

### Схема 5



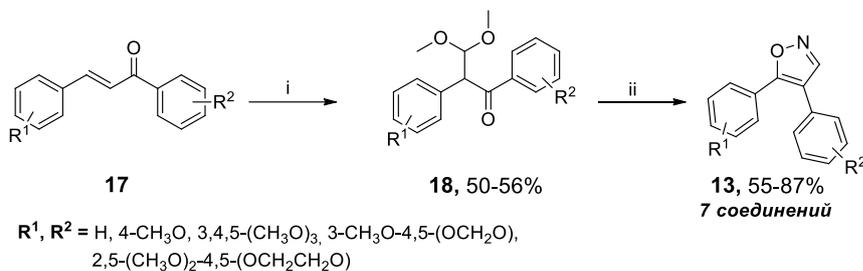
Проведенное биотестирование показало, что KRIBB3 ингибирует пролиферацию клеток колоректального рака НСТ-116 при GI<sub>50</sub> 0.1 мкМ, что превосходит результаты известного стандарта антимиотического действия – нокодазола (табл. 2) [27, 28]. Оказалось, что замена *m*-метоксигруппы в арильном фрагменте в положении 4 изоксазольного цикла соединений **16** приводит к снижению активности. Также не удалось достичь большей цитотоксичности при варьировании заместителей в ароматическом кольце положения 5 гетероцикла. Данные для наиболее активных структур приведены в табл. 2.

**Таблица 2.** Антипролиферативная активность соединений **16** по отношению к клеточной линии НТС-116.

	 <b>16a (KRIBB3)</b>	 <b>16b</b>	 <b>Нокодазол</b>
GI <sub>50</sub> (НСТ-116), μМ	0.1	0.1	0.6

Ключевой стадией синтеза 4,5-диарилизоксазолов по методу Б является реакция окисления двойной связи халконов **17** при обработке иодозобензолдиацетатом, сопровождающаяся миграцией ароматического кольца. Полученные в этой реакции ацетали **18** далее подвергались гетероциклизации под действием гидроксилamina с образованием целевых изоксазолов **13** (Схема 6) [20, 29].

### Схема 6



i:  $\text{PhI(OAc)}_2, \text{MeOH}, \text{H}_2\text{SO}_4, 20^\circ\text{C}$ ; ii:  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}, \text{EtOH}, 78^\circ\text{C}$

Следует отметить, что оба метода (А и Б) приводят к конечным изоксазолам **13** с суммарными невысокими выходами, что связано со сложностью получения промежуточных соединений.

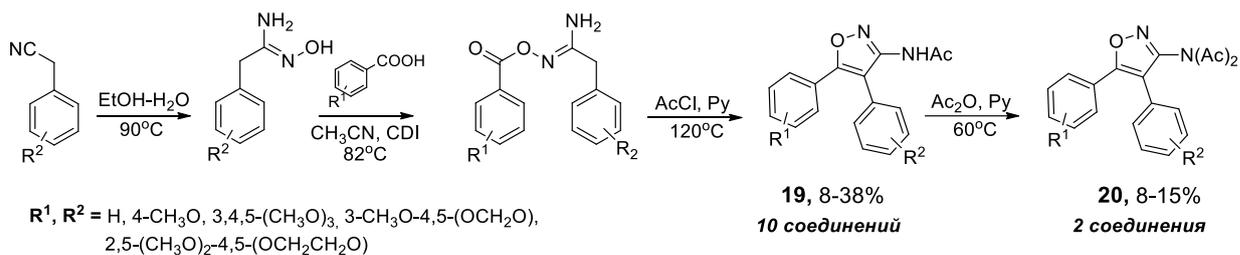
Для синтезированных по методам А и Б 4,5-диарил-3-изоксазолов **13** была изучена противораковая активность на нескольких раковых клеточных линиях [23–25], а также на эмбрионах морского ежа [20, 29]. В результате были найдены соединения, превосходящие по активности соединения сравнения СА-4 (табл. 3).

**Таблица 3.** Активность целевых соединений **13** по отношению к клеточным линиям и эмбрионам морского ежа.

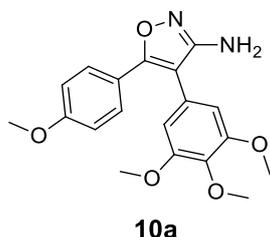
	LOEC/ $\mu\text{M}$ $\text{дм}^3$			IC <sub>50</sub> , nM		
	Изменение расщепления	Задержка расщепления	Вращение эмбриона	HeLa	HepG2	OVCAR-3
 <b>13a</b>	-	-	-	0.022	0.065	0.135
 <b>13b</b>	0.001	0.005	0.02	-	-	-
<b>СА-4</b>	0.002	0.01	0.05	2.75	0.14	0.01

Для 4,5-диарил-3-изоксазолов **10,19,20**, содержащих свободную или ацилированную аминогруппу в положении 3 гетероцикла, также была изучена противораковая активность [22, 30]. Как показано на схеме 2, гетероциклы данного структурного типа (**10**) образуются в смеси с региоизомерными 3,4-диарил-5-аминоизоксазолами **7** в реакции гетероциклизации  $\alpha$ -кетоцианидов **6** с гидроксиламином [22]. Ацилированные 4,5-диарил-3-аминоизоксазолы **19** и **20** удалось получить региоселективно этим же авторам [22] с использованием альтернативной синтетической последовательности, приведенной на схеме 7.

## Схема 7



Для полученной серии 3-аминоизоксазолов **10** и их моно- и диацелированных аналогов **19** и **20** была исследована противоопухолевая активность. Наиболее активным оказался 3-аминоизоксазол **10a** со свободной аминогруппой (рис. 3).



	EC (μM)	<b>10a</b>	<b>CA-4</b>
Изменение расщепления:		0.004	0.002
Задержка расщепления:		0.02	0.01
Вращение эмбриона:		0.2	0.05

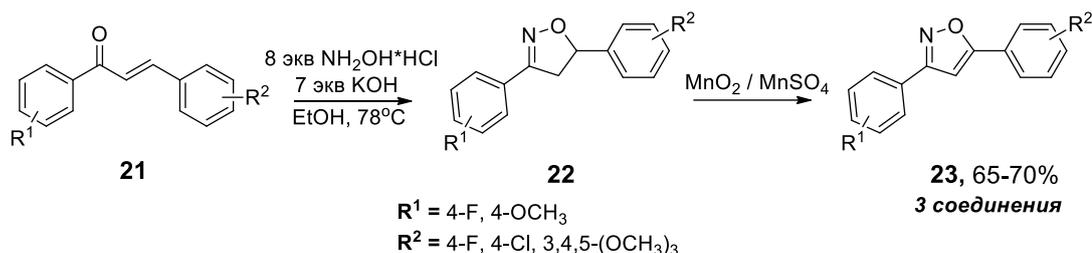
**Рисунок 3.** Действие соединения **10a** на эмбрионы морского ежа.

Сопоставление противораковой активности amino(диарил)изоксазолов с альтернативным расположением заместителей в гетероцикле было проведено в работе [30]. Было показано, что триметоксиарильный фрагмент играет ключевую роль в связывании с белком-мишенью тубулином, при этом 4,5-диарилизоксазолы **13** оказались более активными по сравнению с 3,4-дизамещенными аналогами **5**. Также было показано, что введение аминогруппы в положение 3 изоксазольного цикла понижает противораковую активность соединений, в то время как наличие аминогруппы в положении 5 способствует увеличению активности.

### 2.1.1.3. 3,5-Диарилизоксазолы

Изучение противораковой активности 3,5-диарилизоксазолов описано в единственной публикации [24]. Изоксазолы **23** были получены путем гетероциклизации халконов **21** под действием гидросиламина и последующей ароматизации промежуточно образующихся изоксазолинов **22** при обработке оксидом марганца (IV) (схема 8). Изучение цитотоксичности соединений **23** на клеточной линии MCF-7/6 показало, что 3,5-диарилизоксазолы **23** практически не активны.

### Схема 8

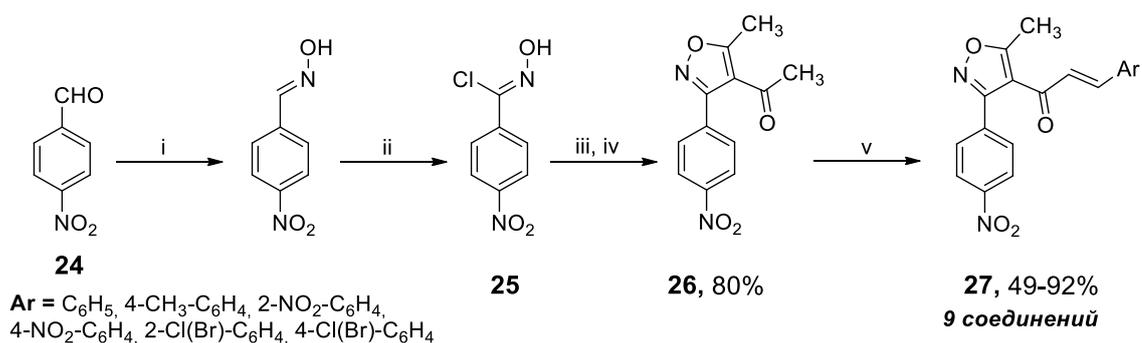


#### 2.1.1.4. Другие производные изоксазола

Наряду с диарилізоксазолами в литературе описаны другие структурные типы функционализированных изоксазолов, для которых изучалась активность по отношению к сайту связывания колхицина белка тубулина. В частности, имеются данные о производных изоксазола, содержащих кратные связи [31–38], амидные группы [39–41] и дополнительные гетероциклические фрагменты [42].

Одним из структурных типов изоксазолсодержащих ненасыщенных соединений являются изоксазолілхалконы, которые были описаны в работах [31, 32]. Для синтеза изоксазолов, содержащих β-арилвинилкарбонильный фрагмент в положении 4 гетероцикла, использовались хлоргидроксаметовая кислота **25**, полученная стандартным способом из соответствующего ароматического альдегида **24**. Гетероциклизация с участием дикарбонильного соединения и генерируемого *in situ* нитрилоксида привела к 4-ацетилізоксазолу **26**, реакция конденсации которого с ароматическими альдегидами позволила получить целевые изоксазолілхалконы **27** (схема 9) [31].

### Схема 9

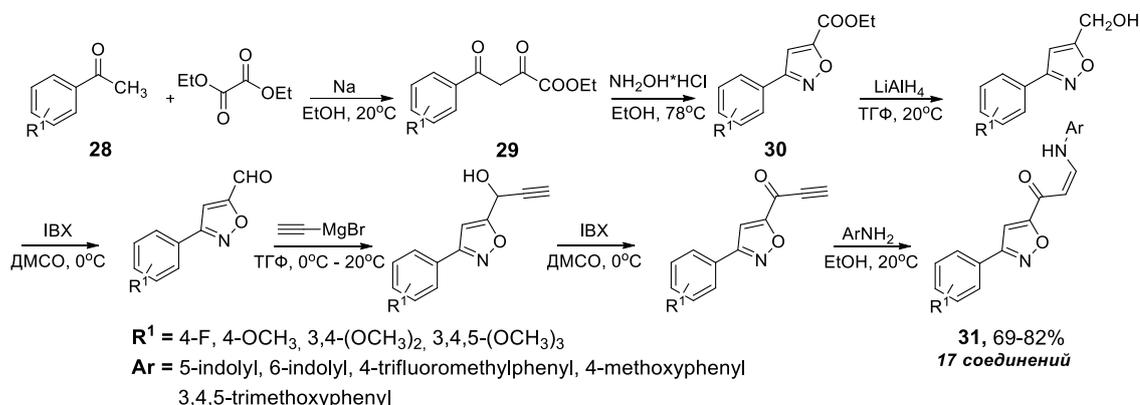


i:  $NH_2OH \cdot HCl, Na_2CO_3, EtOH, 78^\circ C$ ; ii: ДМФА, NCS,  $0^\circ C-20^\circ C$ ; iii:  $Et_3N, CH_2Cl_2$ ; iv:  $CH_3COCH_3$ ;  
v:  $ArCHO, NaOH$  (экв),  $EtOH, 20^\circ C$

Изоксазолы **31**, содержащие ненасыщенный заместитель в положении 5 были получены многостадийным синтезом из арилметилкетонов **28** и диэтилоксалата путем последовательности реакций конденсации, гетероциклизации образующегося β-кетозэфира

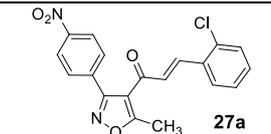
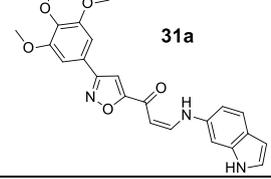
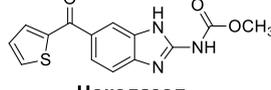
**29** под действием гидроксилamina и серии дальнейших трансформаций сложноэфирной группы в положении 5 изоксазольного цикла соединения **30** (схема 10) [32].

### Схема 10

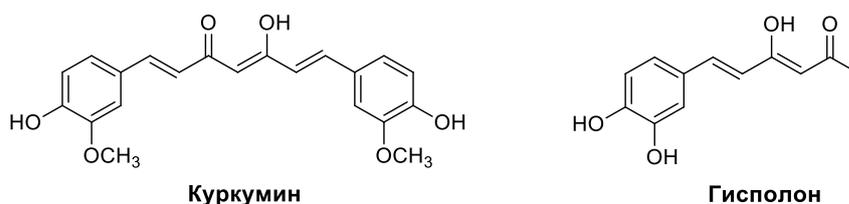


Производные изоксазола **27** и **31** были протестированы на нескольких раковых клеточных линиях и показали активность в микромолярном диапазоне концентраций [31, 32]. Примеры наиболее активных соединений приведены в табл. 4. В работе [32] наряду с изоксазолами **27** изучались также пиразольные аналоги, для которых экспериментально была подтверждена способность ингибировать полимеризацию тубулина и приводить к апоптозу в G2/M фазе клеточного цикла.

**Таблица 4.** Цитотоксичность целевых соединений **27a** и **31a** по отношению к клеточным линиям.

	IC <sub>50</sub> , μM				
	A549	H157	Calu-1	HeLa	HCT-116
 <b>27a</b>	1.48	1.35	2.07	-	-
 <b>31a</b>	1.68	-	-	1.41	1.29
 <b>Нокодазол</b>	0.9	-	-	1.2	1.3

Помимо изоксазолсодержащих халконов для изучения противораковой активности использовался еще один структурный тип ненасыщенных изоксазолов – гетероциклические аналоги куркумина и гисполона [33–37] (рис. 4).

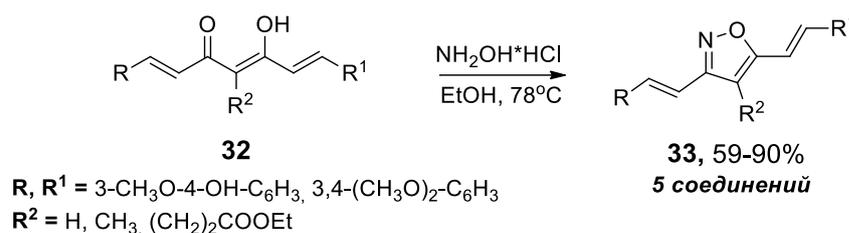


**Рисунок 4.** Структурные формулы Куркумина и Гисполона.

Куркумин и гисполон являются природными соединениями, которые обладают широким спектром биологической активности, в том числе, противораковой. В литературе описаны многочисленные модификации этих соединений путем введения гетероциклического фрагмента в их структуру и варьирования ароматических заместителей [38].

Изоксазолсодержащие аналоги куркумина **33** могут быть легко получены гетероциклизацией соответствующих ненасыщенных 1,3-дикетонов **32** под действием гидроксиламина [33-36] (схема 11)

**Схема 11**



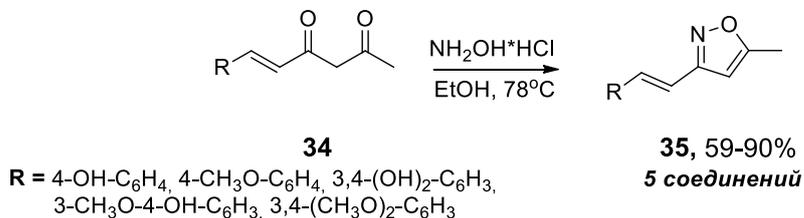
Для ненасыщенных производных изоксазола **33** была изучена цитотоксичность на ряде клеточных линий [33, 34], а также проведено молекулярное моделирование связывания с белком тубулином и изучены некоторые физико-химические свойства молекул [35, 36]. Из приведенных данных (табл. 5), можно сделать вывод о том, что изоксазолсодержащие аналоги куркумина обладают умеренной цитотоксичностью и способностью взаимодействовать с белком тубулином.

**Таблица 5.** Цитотоксичность целевого соединения **33а** по отношению к клеточным линиям.

	IC <sub>50</sub> , μM		
	MCF-7	MCF-7R	SKBR3
<p style="text-align: center;"><b>33а</b></p>	13.1	12.0	4.0
<p style="text-align: center;"><b>Куркумин</b></p>	29.3	26.2	2.1

Изоксазолсодержащие производные гисполона **35** могут быть получены гетероциклизацией моноарилзамещенных 1,3-дикетонов **34** под действием гидроксиламина по аналогии с биоизостерами куркумина (схема 12) [37]:

**Схема 12**



Гетероциклы **35** были протестированы на серии раковых и нормальных клетках, результаты для наиболее активного производного изоксазола **35a** приведены на рис. 5 [37]. Следует отметить, что селективность по отношению к раковым клеткам для соединения **35a** практически отсутствует.

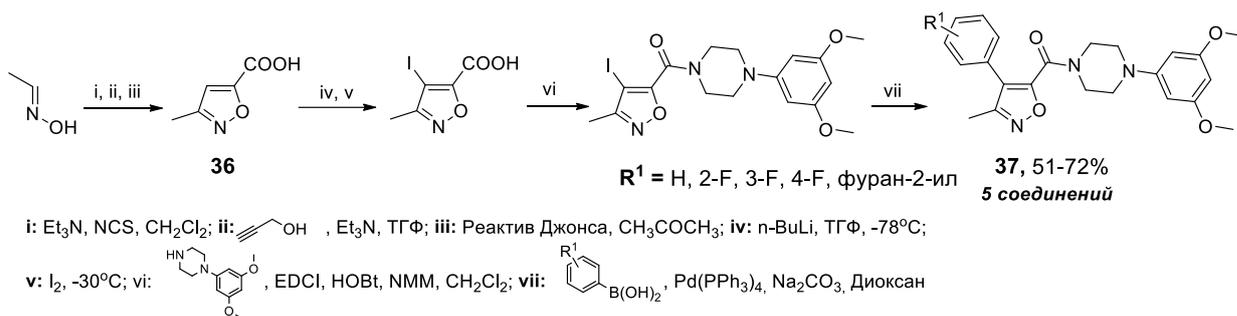
IC <sub>50</sub> (μM)	<b>35a</b>	Гисполон
PC-3	3.3	12.9
Du-145	10.5	28.6
HCT-116	5.3	5.2
S1	7.9	8.4
MCF-7	6.3	7.9
MDA-MB-231	8.9	32.2

**35a**

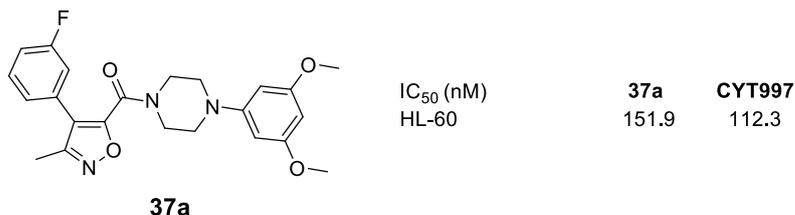
**Рис. 5.** Цитотоксичность соединения **35a** по отношению к раковым и нормальным клеткам.

Еще один структурный тип производных изоксазола, который активно изучается в качестве перспективных лигандов тубулина в сайте связывания колхицина, представляет собой амиды изоксазолкарбоновых кислот [39–41]. За счет легкости образования амидной связи возможно введение в молекулу изоксазолкарбоновой кислоты различных фрагментов аминов, что позволяет осуществлять дизайн структур с ожидаемой высокой цитотоксичностью. Синтез 4-арилизоксазолов **37**, содержащих амидную группу в положении 5 гетероцикла, описан в работе [39]. Изоксазол-5-карбоновую кислоту **36** получали с использованием реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения генерируемого *in situ* нитрилоксида к тройной связи пропаргилового спирта и последующего окисления гидроксигруппы (схема 13). Дальнейшее иодирование положения 4 гетероцикла, образование амидной связи и реакция кросс-сочетания привели к получению целевых соединений **37** с умеренными выходами [39].

### Схема 13



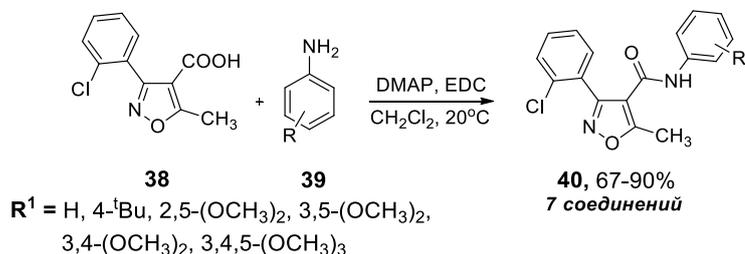
Полученные производные изоксазола **37** были протестированы на противоопухолевую активность по отношению к клеточной линии HL-60 (клетки лейкемии человека) [39]. Было найдено, что соединения данной серии проявляют цитотоксичность в наномолярном диапазоне концентраций, структура наиболее активного гетероцикла представлена на рис. 6. Тем не менее, производные изоксазола оказались на порядок менее активными по сравнению с оксазольными аналогами, поэтому не рассматривались в качестве соединений-лидеров.



**Рисунок 6.** Цитотоксичность соединения **37a** по отношению к раковым клеткам.

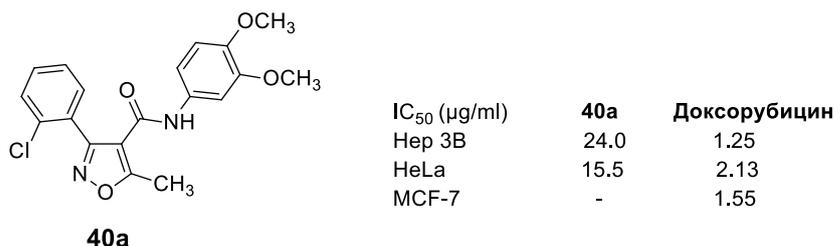
Амиды изоксазол-4-карбоновой кислоты **40** были получены из соответствующей изоксазол-4-карбоновой кислоты **38** и серии анилинов **39** с использованием реакции пептидного синтеза (схема 14) [40].

### Схема 14



Тестирование цитотоксичности амидов **40** на 3 раковых клеточных линиях показало, что соединения данной серии показывают низкую активность (рис. 7), тем не менее, авторы провели дополнительные исследования по изучению апоптоза на клеточной линии Нер3В и нашли, что соединение **40a** вызывает остановку клеточного цикла в G2/M

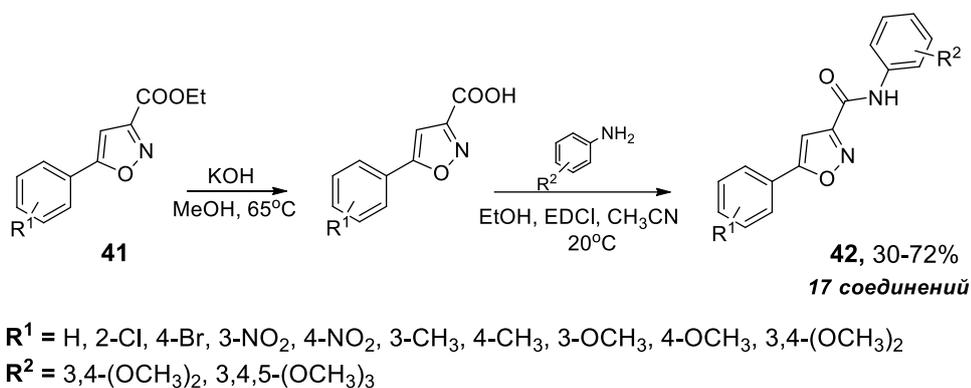
фазе клеточного цикла, что является косвенным подтверждением действия на белок тубулин [40].



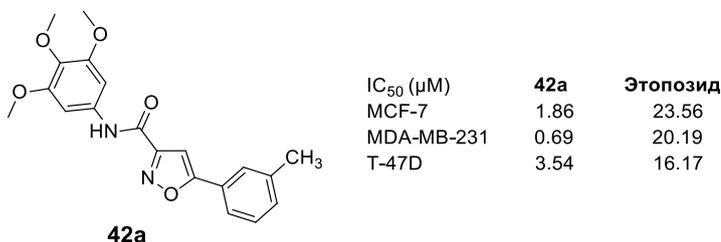
**Рисунок 7.** Цитотоксичность соединения **40a** по отношению к раковым клеткам.

5-Арилизоксазолы **42**, содержащие амидную группу в положении 3 гетероцикла, были получены из соответствующих сложных эфиров **41** с использованием реакций гидролиза и последующего ацилирования анилинов (схема 15) [41].

**Схема 15**



Противоопухолевая активность гетероциклов **42** была изучена на 3 раковых клеточных линиях. Соединения **42**, в целом, оказались малотоксичными, однако триметоксифенилсодержащий амид **42a** показал цитотоксичность в низком микромолярном диапазоне концентраций (рис. 8).

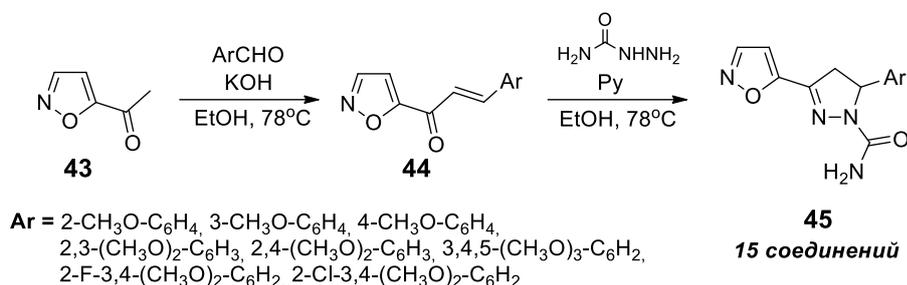


**Рисунок 8.** Цитотоксичность соединения **42a** по отношению к раковым клеткам.

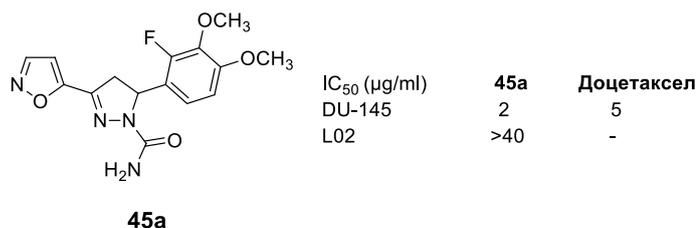
В литературе также описан синтез и тестирование цитотоксичности бис(гетероциклов) **45**, содержащих фрагменты изоксазола и дигидропиразола [42]. Синтез целевых структур **45** включал реакцию конденсации изоксазолил(метил)кетона **43** с ароматическими альдегидами и последующую гетероциклизацию образующихся халконов

**44** под действием семикарбазида (схема 16). К сожалению, авторы не приводят экспериментальные методики и выходы полученных соединений.

### Схема 16



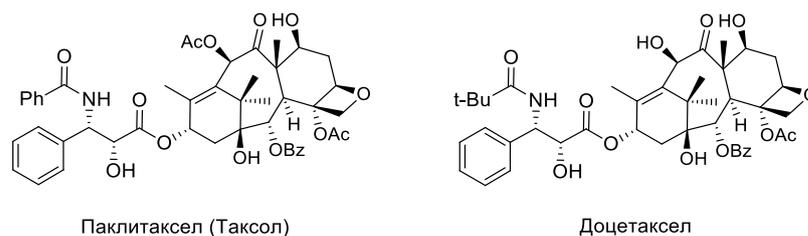
Для бис(гетероциклов) **45** был проведен скрининг противораковой, антибактериальной и противогрибковой типов активности. Оценка цитотоксичности была проведена на клеточной линии DU-145, при этом наиболее перспективное соединение **45a** показало неплохую активность и высокую селективность по отношению к раковым клеткам (рис. 9) [42].



**Рисунок 9.** Цитотоксичность соединения **45a** по отношению к раковым (DU-145) и нормальным (L02) клеткам.

#### 2.1.2. Структурные аналоги таксола (таксольный сайт связывания)

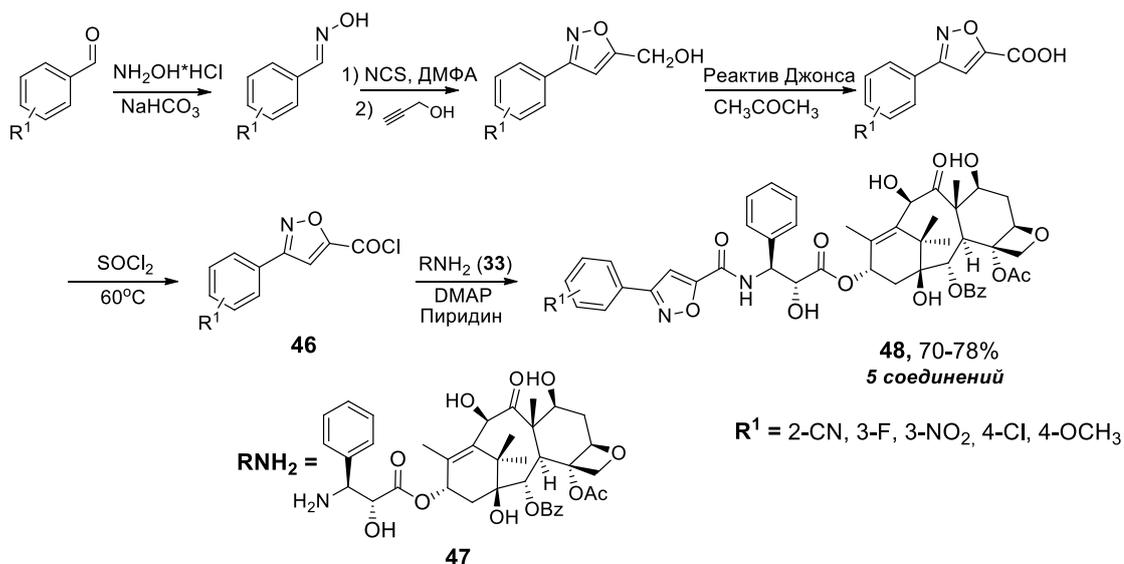
Производные изоксазола, действующие на таксольный сайт связывания тубулина, описаны в 2 работах [43, 44]. Классические лиганды этого сайта – таксол (природное соединение) и доцетаксел (полусинтетический аналог) имеют достаточно сложное строение, содержат большое число хиральных центров и функциональных групп (рис. 10), в связи с чем модификация их структур с целью упрощения и повышения активности является актуальной задачей современной медицинской химии.



**Рисунок 10.** Структурные формулы Паклитакселя (Таксола) и Доцетакселя.

Так, в работе [43] в молекуле доцетакселя фрагмент пивалевой кислоты был заменен на ацильные остатки 3-арилизоксазол-5-карбоновой кислоты. Изоксазольный цикл был получен стандартным способом с участием хлоргидроксамовых кислот и производного ацетилена, затем соответствующий хлорангидрид карбоновой кислоты **46** был введен в реакцию с предварительно синтезированным предшественником доцетакселя со свободной аминогруппой **47** (схема 17)

**Схема 17**



Оказалось, что изоксазолсодержащие аналоги доцетакселя **48** показали более высокую активность по сравнению со стандартом за счет более высокой аффинности к белку тубулину (табл. 6).

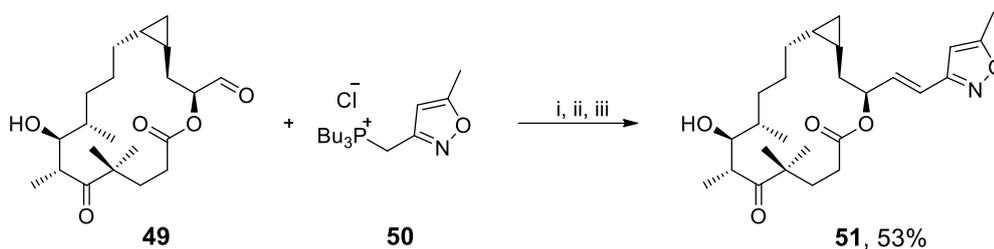
**Таблица 6.** Цитотоксичность целевых соединений **48** ( $IC_{50}$ , нМ) по отношению к раковым клеточным линиям.

$R^1$	$IC_{50}$ , нМ				
	HeLa	A2780	A549	MCF-7	SK-OV-3
2-CN ( <b>48a</b> )	35.4	9.0	32.7	38.2	37.2
3-F ( <b>48b</b> )	25.1	12.3	23.2	16.6	26.9
3-NO <sub>2</sub> ( <b>48c</b> )	38.8	13.4	35.6	39.0	28.8
4-Cl ( <b>48d</b> )	75.8	13.7	30.7	57.8	20.3
4-OCH <sub>3</sub> ( <b>48e</b> )	24.0	8.9	39.5	20.0	15.1
Доцетаксель	50.1	33.1	35.2	38.5	37.1

Другой способ модификации таксола заключается в синтезе так называемых эпофилонов, которые имеют упрощенный макроциклический фрагмент и дополнительный гетероциклический заместитель в боковой цепи. В работе [44] изоксазолсодержащий

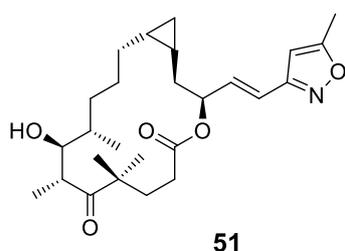
эпофилон **51** был получен реакцией Виттига соответствующего альдегида **49** и фосфониевой соли изоксазола **50** (схема 18).

### Схема 18



i: **49**, t-BuOK (1M ТГФ), ТГФ, 0°C; ii: **50** в ТГФ, -78°C – 0°C; iii: HF-пиридин, ТГФ, 20°C

Скрининг цитотоксичности соединения **51** показал, что оно является менее активным, чем природный эпофилон А (Еро А), однако авторы считают, что существуют перспективы дальнейших модификаций **51** за счет варьирования заместителей в гетероциклическом фрагменте (рис. 11).



IC <sub>50</sub> (μM)	<b>51</b>	Еро А
MCF-7	26	2.3
A549	31	2.0
PC-3	48	4.3

**Рисунок 11.** Цитотоксичность соединения **51** по отношению к раковым клеткам.

#### 2.1.3. Производные изоксазола двойного действия

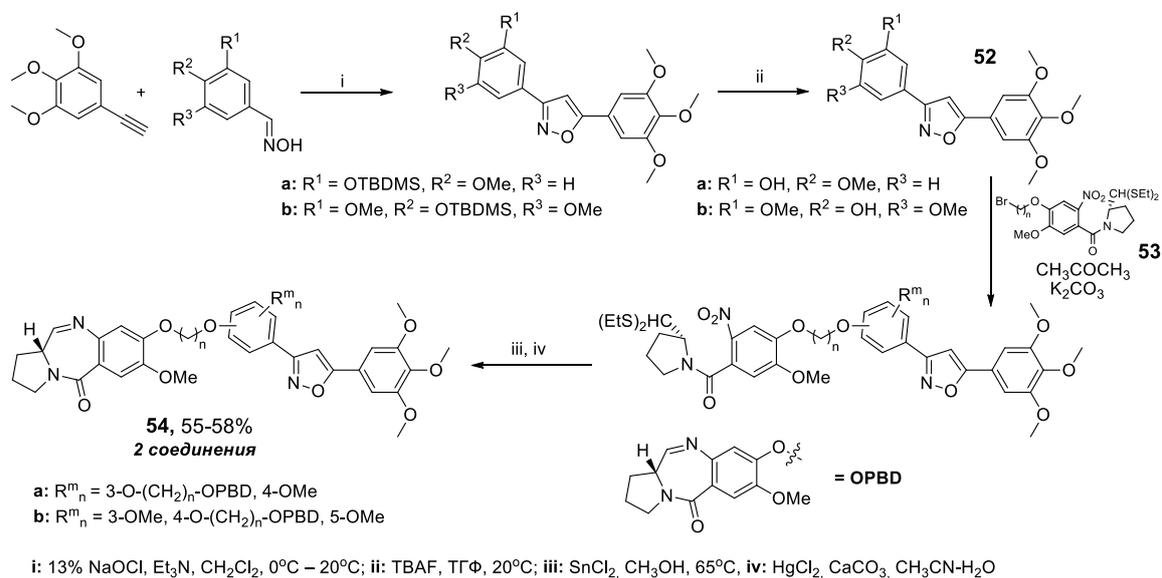
Ингибиторы полимеризации тубулина занимают важное место среди соединений противоопухолевого действия, однако зачастую высокая токсичность и развитие толерантности ограничивает их применение в клинической практике. Этих недостатков можно избежать, используя в качестве противоопухолевых агентов гибридные структуры, в молекуле которых объединены два фрагмента, действующие на разные молекулярные мишени. Данные соединения называются двойными лекарствами и, как правило, они обладают потенциально более высокой активностью, чем составляющие фрагменты в индивидуальном состоянии [11]. В ряде работ последнего десятилетия были проведены исследования по созданию изоксазолсодержащих гибридных структур, в молекулах которых один из фрагментов был активен по отношению к белку тубулину в сайте связывания колхицина [45–49].

В большинстве случаев, исходя из структурных аналогий с известными ингибиторами полимеризации тубулина, в качестве фрагмента, отвечающего за

связывание с этим белком, использовался изоксазольный цикл с триметоксифенильным заместителем [45–47]. Вторым компонентом гибридной молекулы являлись фрагменты бензодиазепина [45], хиназолина [46], 2-хлорникотина [47], 1,3,4-оксадиазола [48] и замещенного бензохинона [49].

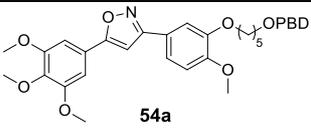
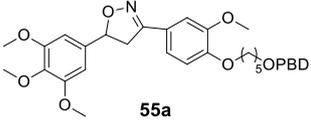
Известно, что цитотоксичность пирроло[2,1-с][1,4]бензодиазепинов (PBD) обусловлена их взаимодействием с ДНК, которое приводит к ингибированию синтеза и разрывам нуклеиновых кислот [45]. Авторы работы [45] синтезировали несколько серий гибридных соединений, содержащих триметоксифенилизоксазольный или изоксазолиновый фрагменты, связанные различными линкерами с PBD-скаффолдом. Производные изоксазола **52** были получены стандартным методом, а затем введены в реакцию с линкерсодержащим предшественником PBD **53**. Завершающим этапом синтеза явилось формирование PBD-фрагмента путем восстановления нитрогруппы в ароматическом кольце и последующей внутримолекулярной циклизации с участием альдегидной группы пирролидинового цикла после удаления диэтилтиоацетальной защиты (схема 19). Аналогичным образом были получены структуры, содержащие изоксазолиновый цикл; здесь и далее синтетическая схема приводится для производных изоксазола.

**Схема 19**



Соединения **54** были протестированы на 5 раковых клеточных линиях, результаты исследований представлены в табл. 7.

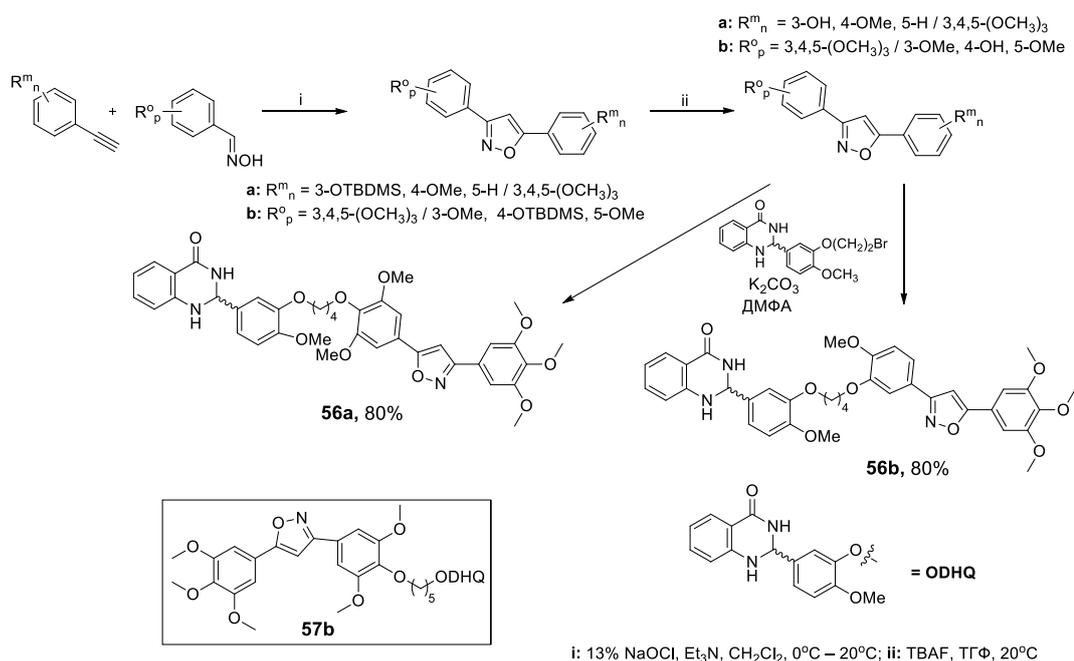
**Таблица 7.** Цитотоксичность соединений **54a** и **55a** по отношению к раковым клеточным линиям.

	GI <sub>50</sub> , μM				
	A549	MCF-7	A2780	KB	PC-3
 <b>54a</b>	0.11	<0.1	0.12	0.13	0.13
 <b>55a</b>	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
<b>DC-81 (PBDOH)</b>	0.16	0.17	0.14	0.17	0.20
<b>Адриамицин (доксорубицин)</b>	13.0	<0.1	<0.1	0.16	<0.1

Следует отметить, что гибридные структуры на основе изоксазолинов (**55a**) оказались более активными по сравнению с производными изоксазола, однако по результатам исследований авторы делают вывод, что связанные линкером бис(гетероциклы) показывают большую цитотоксичность по сравнению с индивидуальными компонентами [45].

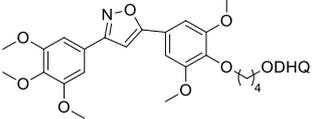
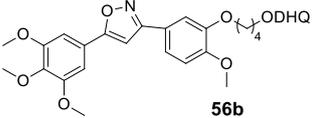
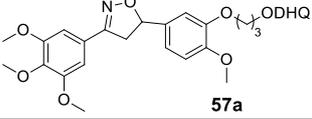
Эти же авторы использовали аналогичную синтетическую последовательность для получения конъюгатов триметоксифенилизоксазолов или изоксазолинов с фрагментом 3-дигидрохиназолинона (DHQ), который, как предполагалось, также проявляет ингибирующее действие на полимеризацию тубулина (схема 20) [46].

**Схема 20**



Для полученных гибридных структур **56** была протестирована цитотоксичность на 5 раковых клеточных линиях (табл. 7).

**Таблица 8.** Цитотоксичность целевых соединений **56a**, **56b** и **57a** по отношению к раковым клеточным линиям.

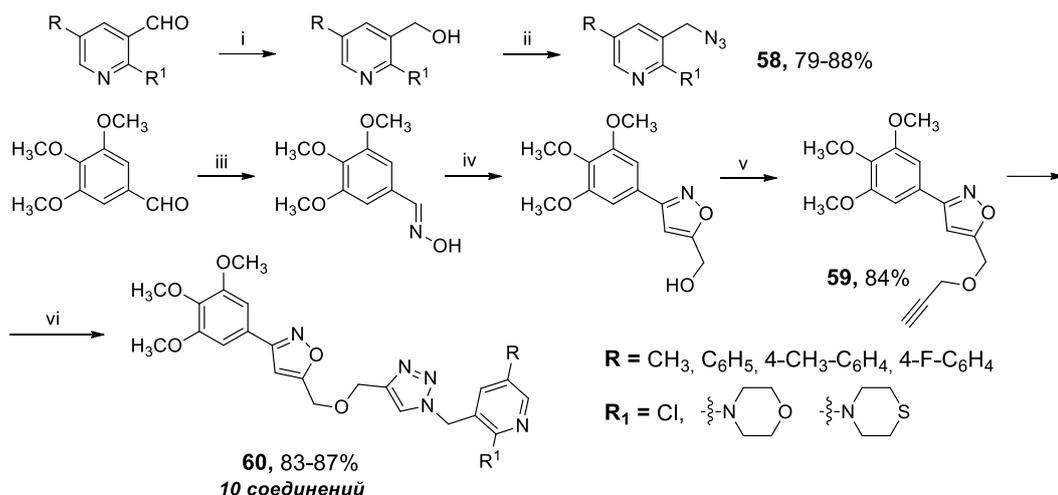
	IC <sub>50</sub> , μM				
	A549	MCF-7	A2780	KB	PC-3
 <p><b>56a</b></p>	>100	0.15	>100	>100	2.1
 <p><b>56b</b></p>	0.18	25	2.0	26	2.0
 <p><b>57a</b></p>	0.17	0.17	26	28	2.5
<b>Адриамицин (доксорубицин)</b>	0.13	0.15	0.18	0.19	0.16

В целом, можно отметить, что конъюгаты с DHQ оказались менее активными по сравнению с аналогами, содержащими фрагмент PBD. Авторы показали, что наиболее перспективное соединение **57b** останавливает клеточный цикл в G2/M фазе, является ингибитором циклина B и циклин-зависимой киназы CDK1 [46].

Следующий тип изоксазолсодержащих гибридных структур включал фрагмент пиридина, связанный триазольным линкером [47]. Предполагалось, что составные части конъюгата действуют на колхициновый сайт тубулина. Синтез гибридных структур **60** включал формирование триметоксифенилзамещенного изоксазольного или изоксазолинового цикла, введение тройной связи в заместитель в положение 5 гетероцикла и использование интемедиата **59** в клик реакции с пиридинсодержащим азидом **58** (схема 21) [47].

Гибридные структуры на основе изоксазола **60** или изоксазолина (**61**) были протестированы на 4 раковых клеточных линиях, а также была изучена их способность ингибировать полимеризацию тубулина. Дополнительно был проведен докинг некоторых структур в сайт связывания колхицина с целью подтверждения молекулярной мишени. Результаты биотестирования цитотоксичности и ингибирования тубулина соединений **60a** и **61a** приведены в табл. 9.

### Схема 21



i: NaBH<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub>OH; ii: DPPA, DBU; iii: NH<sub>2</sub>OH·HCl, CH<sub>3</sub>OH; iv: , NCS, Et<sub>3</sub>N, CHCl<sub>3</sub>, 60°C; v: , NaH, ТГФ;  
vi: **58**, <sup>t</sup>BuOH, H<sub>2</sub>O, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, Аскорбат натрия.

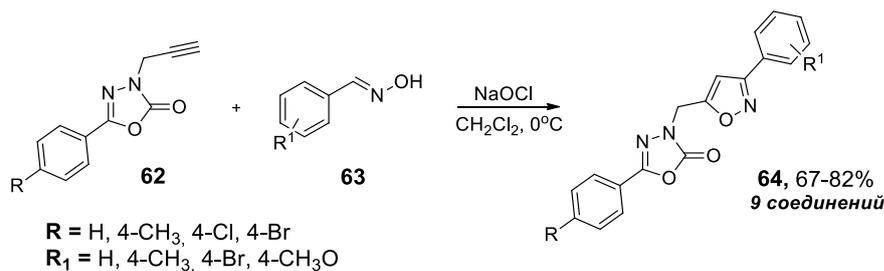
**Таблица 9.** Цитотоксичность целевых соединений **60a** и **61a** по отношению к клеточным линиям и ингибирование полимеризации тубулина при концентрации 10 μM

	IC <sub>50</sub> , μM				Ингиб. полим. тубулина, %
	A549	MCF-7	DU-145	Hela	
<p><b>60a</b></p>	30.6	58.4	37.3	35.3	59
<p><b>61a</b></p>	8.6	14.6	11.4	7.3	72
<b>Колхицин</b>	0.12	0.07	0.69	0.54	87

В работе [47] также был проведен докинг в сайт связывания колхицина белка тубулина и было показано, что исследуемые структуры вызывают клеточный апоптоз в G2/M фазе.

В работе [48] была протестирована противоопухолевая активность для (изоксазол/оксадиазол)содержащих гибридных структур. Для их синтеза использовалось оксадиазолсодержащее производное ацетилена **62**, которое вводили в реакцию гетероциклизации с арилзамещенной хлоргидроксамовой кислотой **63** (схема 22)

## Схема 22



Гибридные структуры **64** показали цитотоксичность на серии раковых клеток в микромолярном диапазоне концентраций (рис. 12), для наиболее активного соединения **64a** было подтверждено индуцирование экспрессии белка циклина В1, что является индикатором остановки клеточного цикла в G2/M фазе.

$GI_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )	<b>64a</b>	Паклитаксел
HeLa	6.95	0.034
MDA-MB-231	8.12	0.027
DU-145	5.17	<0.016
HepG2	8.27	0.05

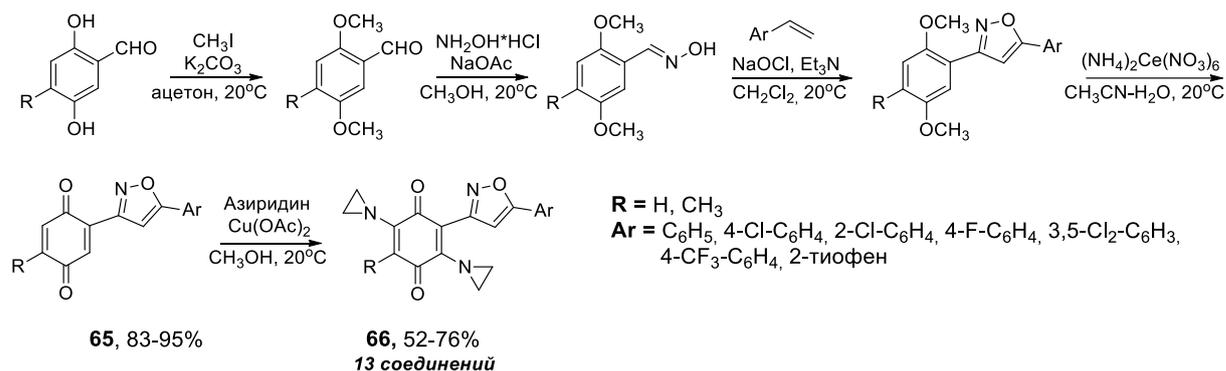
**64a**

**Рисунок 12.** Цитотоксичность соединения **64a** по отношению к раковым клеткам.

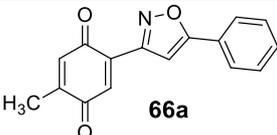
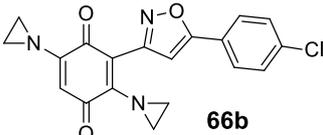
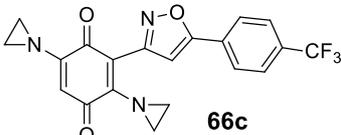
Интересный тип гибридных структур, объединяющих 3 фрагмента с потенциальной противораковой активностью, описан в работе [49]. Предполагалось, что производные хинона будут выполнять окислительно-восстановительную функцию, являясь переносчиками электронов; азиридиновый фрагмент может взаимодействовать с ДНК, нарушая ее функции; а производное изоксазола ответственно за ингибирование полимеризации тубулина. Синтез структур **66** был выполнен по приведенной ниже схеме, которая включала образование изоксазольного цикла из арилхлогидроксамовых кислот и стиролов, окисление *п*-диметоксизамещенного арильного фрагмента до изоксазолзамещенного хинона **65** и каталитическое аминирование хинонового цикла с участием 2 молекул азиридина, приводящее к продуктам **66** с хорошими выходами (схема 23).

Биотестирование гибридных структур **66** на раковых и нормальных клеточных линиях показало, что они характеризуются умеренной цитотоксичностью, однако в ряде случаев демонстрируют хорошую селективность к раковым клеткам (табл. 10).

### Схема 23



**Таблица 10.** Цитотоксичность целевых соединений **66** ( $\text{IC}_{50}$ ,  $\mu\text{M}$ ) по отношению к клеточным линиям.

	$\text{IC}_{50}$ , $\mu\text{M}$				
	A549	MCF-7	HeLa	BT549	HEK293
 <b>66a</b>	36.1	33.1	45.8	55.6	-
 <b>66b</b>	28.3	3.1	8.2	18.9	42.3
 <b>66c</b>	8.0	2.3	11.0	16.8	56.0
<b>Доксорубин</b>	2.64	2.03	2.23	2.16	1.13

Проведенный докинг на примере одного из соединений **66** в сайт связывания колхицина белка тубулина подтвердил возможность взаимодействия с белком.

Таким образом, рассмотренные в данном разделе гибридные структуры, содержащие изоксазольный фрагмент, представляют интерес для дальнейших исследований противораковой активности.

## 2.2. Ингибиторы различных ферментативных белков

### 2.2.1. Ингибиторы сигнальных путей

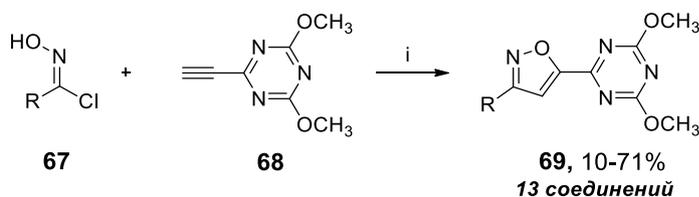
Сигнальный путь представляет собой определенную последовательность взаимодействующих молекул, посредством которых передается сигнал внутри клетки. Важным отличием опухолевых клеток от нормальных является нарушение в системе передачи сигналов за счет изменения активности, свойств и внутриклеточной концентрации онкопротеинов и белков опухолевой супрессии, что делает сигнальные пути привлекательной мишенью для разработки противоопухолевых препаратов. Среди

производных изоксазола известны такие ингибиторы сигнальных путей, как ингибиторы фарнезилтрансферазы и ингибиторы протеинкиназ.

Фермент фарнезилтрансфераза обеспечивает введение гидрофобной фарнезильной группы в белок Ras (G-белок), что позволяет осуществляться передаче сигнала в клетке, при этом высокая активность фермента является причиной бесконтрольного деления клетки [50].

В качестве ингибиторов фарнезилтрансферазы была изучена серия производных изоксазола, содержащих 1,3,5-триазиновый фрагмент [51]. Синтез целевых структур был осуществлен реакцией 1,3-диполярного циклоприсоединения нитрилоксидов, генерированных из арилзамещенных хлоргидроксамовых кислот **67**, и ацетилена **68** (схема 24).

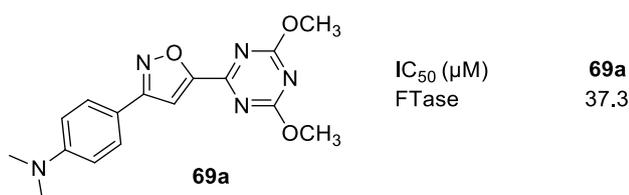
#### Схема 24



i:  $\text{KHCO}_3$ , EtOAc, 77°C, 72 ч

R = 4- $\text{CH}_3\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4$ , 4- $\text{Br}-\text{C}_6\text{H}_4$ , 4-( $\text{CH}_3$ ) $_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4$ , 3,4-( $\text{CH}_3$ ) $_2-\text{C}_6\text{H}_3$ , 3-F-4- $\text{CH}_3\text{O}-\text{C}_6\text{H}_3$ , 3- $\text{Cl}-\text{C}_6\text{H}_4$ , 2,5-( $\text{CH}_3\text{O}$ ) $_2-\text{C}_6\text{H}_3$ , 2,6- $\text{Cl}_2-\text{C}_6\text{H}_3$ , 2,3,4-( $\text{CH}_3\text{O}$ ) $_3-\text{C}_6\text{H}_2$ , 3,4,5-( $\text{CH}_3\text{O}$ ) $_3-\text{C}_6\text{H}_2$

Наибольшую ингибирующую активность по отношению к фарнезилтрансферазе в данной серии соединений показал изоксазол **69a** (рис. 13), при этом действие на фермент было косвенно подтверждено результатами молекулярного докинга.

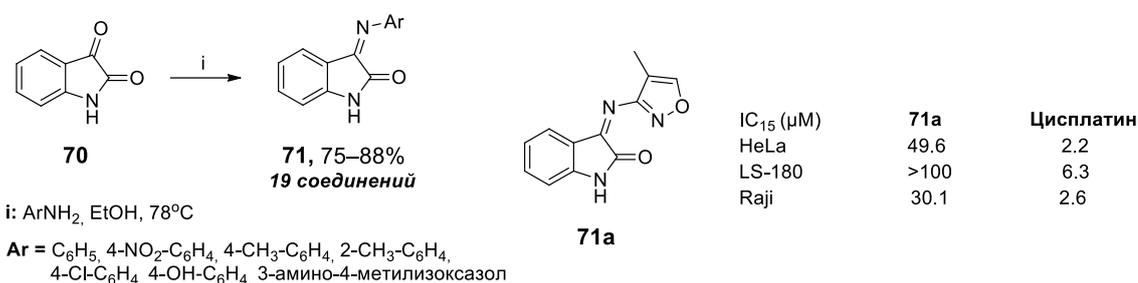


**Рисунок 13.** Ингибирующая активность соединения **69a** по отношению к фарнезилтрансферазе.

Среди протеинкиназ особое место занимают рецепторы факторов роста, которые обычно находятся в начале пути передачи сигнала в клетку. В литературе известны изоксазолсодержащие соединения, ингибирующие рецепторы фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR) [52–54], эпидермального фактора роста (EGFR) [54, 57, 58], фактора роста стволовых клеток (SCFR или c-KIT) [60], фактора роста гепатоцитов (HGFR или c-MET) [62].

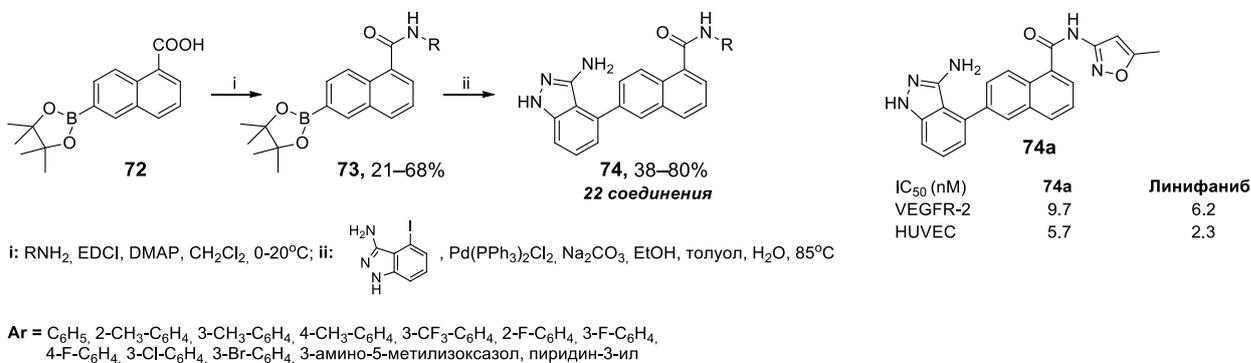
Одним из важных факторов развития опухоли является нерегулируемое образование новых кровеносных сосудов в органе или ткани – ангиогенез, подавление которого может рассматриваться как инструмент в борьбе с онкологическими заболеваниями. Для этой цели на основе молекулярного докинга были предложены ингибиторы белка-мишени VEGFR2 (Vascular endothelial growth factor receptor 2) на основе изатина, в том числе, содержащие фрагмент изоксазола [52]. Синтез соединений **71** был осуществлен взаимодействием изатина **70** с различными ароматическими или гетероциклическими аминами, однако полученные продукты **71** показали низкую цитотоксичность на нескольких клеточных линиях (схема 25).

**Схема 25**



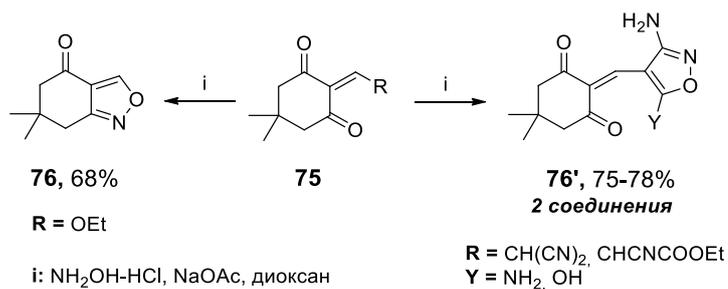
Другой структурный тип ингибиторов VEGFR-2, представляющих собой производные нафтиламидов, показал цитотоксичность и ингибирующую активность по отношению к белку в наномолярном диапазоне концентраций [53]. Серия нафтиламидов, в том числе, изоксазолсодержащих, была получена из соответствующих 6-борзамещенных нафталин-1-карбоновых кислот **72** с использованием последовательности реакций ацилирования и кросс-сочетания Сузуки. Результаты биологических испытаний изоксазолсодержащего соединения **72a** приведены на схеме 26.

**Схема 26**



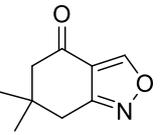
Еще одна серия ингибиторов фактора роста эндотелия сосудов была получена реакцией гетероциклизации производных димедона [54]. Синтез изоксазолсодержащих соединений **76** осуществлялся путем обработки енаминов **75** гидроксилмином (схема 27).

### Схема 27



Изучение противораковой активности гетероциклов **76** и **76'** показало, что они проявляют цитотоксичность к ряду клеточных линий в субмикромольном диапазоне концентраций, однако характеризуются низкой селективностью по отношению к VEGFR-2 и действуют на другие киназы и рецепторы факторов роста (с-Kit, EGFR и др.) [54]. Результаты биологических исследований приведены в таблице 11 на примере соединения **76**.

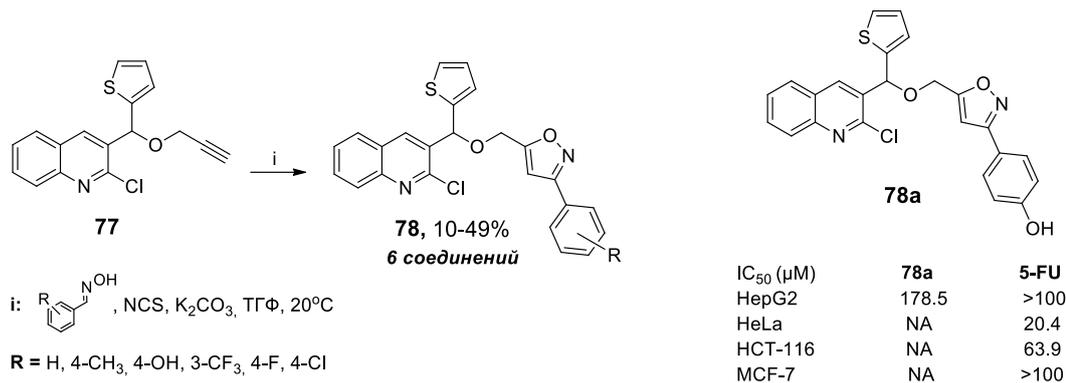
**Таблица 11.** Цитотоксичность целевых соединений **76** (IC<sub>50</sub>, μM) по отношению к клеточным линиям и связывание с некоторыми факторами роста.

	IC <sub>50</sub> , μM					
	A549	NCI-H460	MKN-45	c-Kit	VEGFR-2	EGFR
 <b>76</b>	0.25	0.29	0.37	0.62	0.24	0.38
<b>Форетиниб</b>	0.08	0.18	0.03	-	-	-

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) также является перспективной молекулярной мишенью при создании противоопухолевых препаратов. Ингибиторы фермента EGFR используются для лечения опухолей эпителиальной природы, в частности метастатического колоректального рака [55, 56]. Среди производных изоксазола в качестве ингибиторов протеинкиназы EGFR были изучены 3,5-дизамещенные изоксазолы с дополнительными гетероциклическими фрагментами [57, 58].

Синтез изоксазолов **78** с тиофеновым и хиназолиновым фрагментами в составе заместителя в положении 5 изоксазольного цикла был осуществлен с использованием реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с участием соответствующих ацетиленов **77** (схема 28) [57].

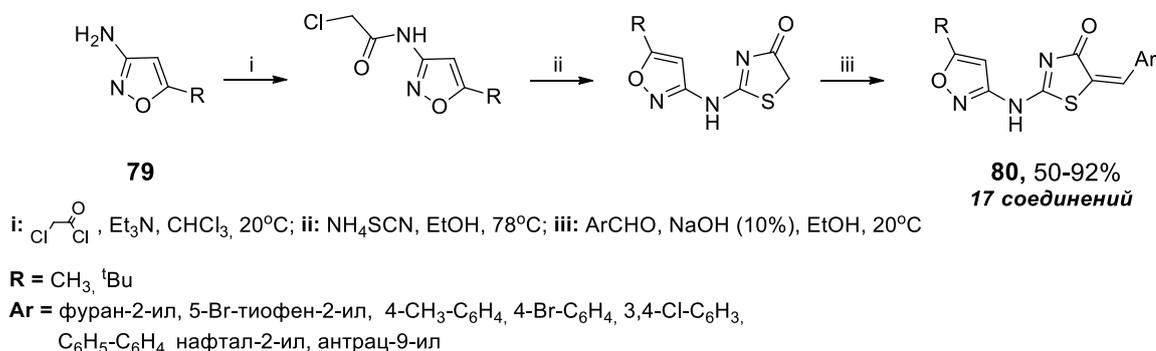
### Схема 28



Цитотоксичность структур **78**, протестированная на нескольких клеточных линиях, оказалась невысокой, поэтому дальнейшее изучение взаимодействия с ферментом EGFR не проводилось.

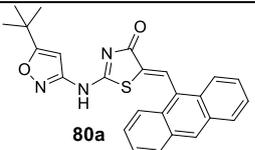
Изоксазолы **80** с дополнительным аминотиазолоновым заместителем были получены из доступных 3-аминоизоксазолов **79** путем ацилирования аминогруппы хлорангидридом монохлоруксусной кислоты и последующим замыканием тиазольного кольца под действием тиоцианата аммония (схема 29) [58].

### Схема 29



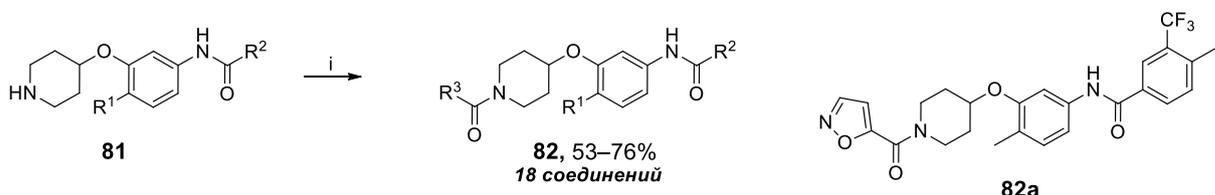
Соединения данного структурного типа (**80**) оказались перспективными для изучения противораковой активности, показали высокую цитотоксичность на ряде раковых клеточных линий, а также высокую ингибирующую активность по отношению к протеинкиназам EGFR и VEGFR-2 (табл. 12) [58].

**Таблица 12.** Цитотоксичность целевых соединений **80** (IC<sub>50</sub>, μM) по отношению к клеточным линиям и связывание с некоторыми факторами роста.

	IC <sub>50</sub> , μM					
	HepG2	MCF-7	HCT-116	EGFR	VEGFR-2	тоpo II
 <b>80a</b>	6.9	6.4	7.7	0.054	0.087	0.13
<b>Доксирубицин</b>	4.5	4.2	5.2	-	-	0.727
<b>Эрлотиниб</b>	8.2	4.2	11.2	0.067	-	-
<b>Сорафениб</b>	-	-	-	-	0.08	-

Важную роль в развитии таких заболеваний, как меланома и лейкемия играет фактор роста стволовых клеток (с-KIT), отвечающий за фертильность, гомеостаз, образование меланоцитов и клеток крови [59]. В работе [60] была синтезирована библиотека структурных аналогов известного ингибитора тирозинкиназы с-KIT – лекарственного препарата иматиниба. Производные изоксазола **82** были получены ацилированием замещенных пиперидинов изоксазол-5-карбоновой кислотой **81** (схема 30). В целом, изоксазолсодержащие аналоги иматиниба оказались немного менее активными по сравнению с соединением-лидером данной серии, однако их ингибирующая активность по отношению к с-KIT киназе находится в наномолярном диапазоне концентраций. Пример активного соединения **82a** показан на схеме 30.

**Схема 30**



i: R<sup>3</sup>COOH, NATU, DIPEA, ДМФА, 20°C

R<sup>1</sup> = H, CH<sub>3</sub>, Cl, OCH<sub>3</sub>

R<sup>2</sup> = 3-CF<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 3-CF<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>, 3-CF<sub>3</sub>-5-Cl-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>, 3-CF<sub>3</sub>-5-F-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>

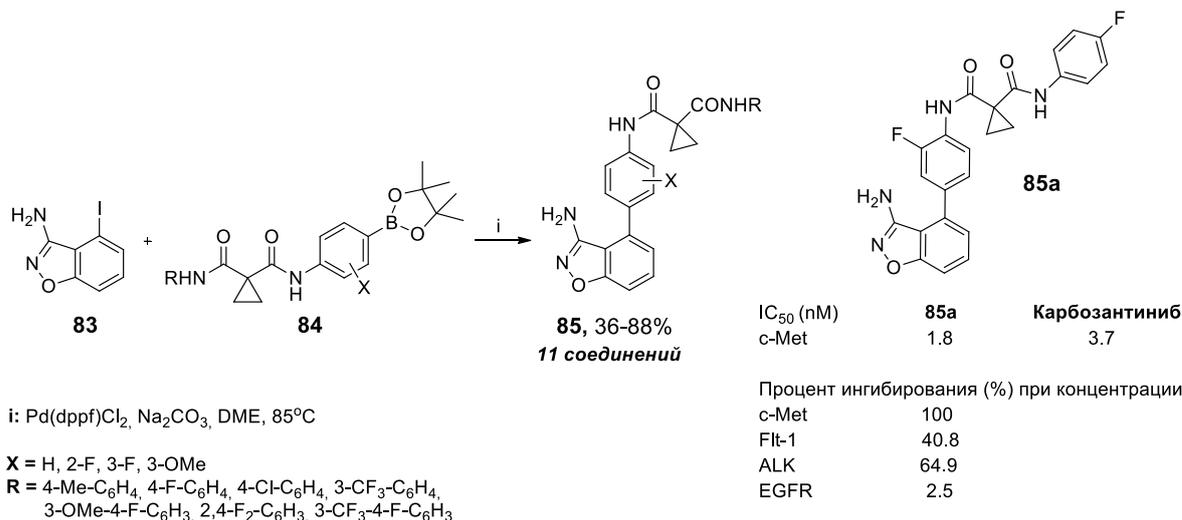
R<sup>3</sup> = никотиноил, пиридин-2-ил, изоникотиноил, изоксазол-5-ил, пропионил, акрилоил

GI <sub>50</sub> (μM)	<b>82a</b>	<b>иматиниб</b>
Tel-c-KIT-BaF <sub>3</sub>	0.065	0.4
K562	1.96	0.12

Еще одной молекулярной мишенью для таргетной терапии рака является рецептор фактора роста гепатоцитов (с-MET). В нормальном режиме этот рецептор функционирует в стволовых клетках, играет важную роль в эмбриогенезе, развитии органов, а также в заживлении ран, однако в результате мутаций возникает высокая онкогенная активность MET рецептора, что приводит к образованию различных опухолей, в том числе, рака печени [61]. В качестве ингибиторов с-MET киназы в работе [62] были изучены бензизоксазол- и индазолсодержащие аналоги противоракового препарата карбозантиниба, который является мультитаргетным ингибитором тирозинкиназ. При

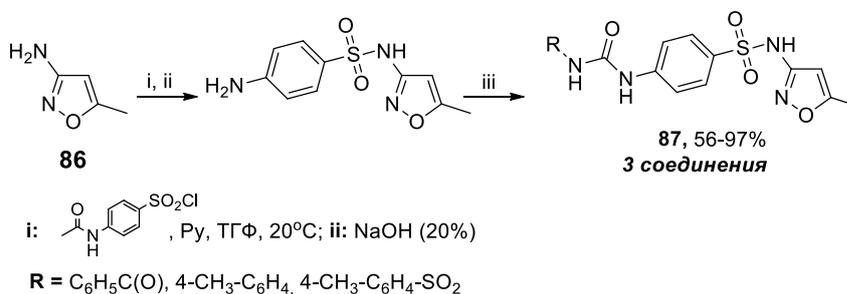
замене хиолинового фрагмента на бензизоксазольный полученные соединения **85** сохраняют высокую ингибирующую активность и при этом показывают высокую селективность в сравнении с другими киназами (схема 31). Серия производных изоксазола **85** была получена реакцией кросс-сочетания 3-амино-бензо[d]изоксазолов **83** с производными циклопропандикарбоновой кислоты **84** (схема 31).

**Схема 31**



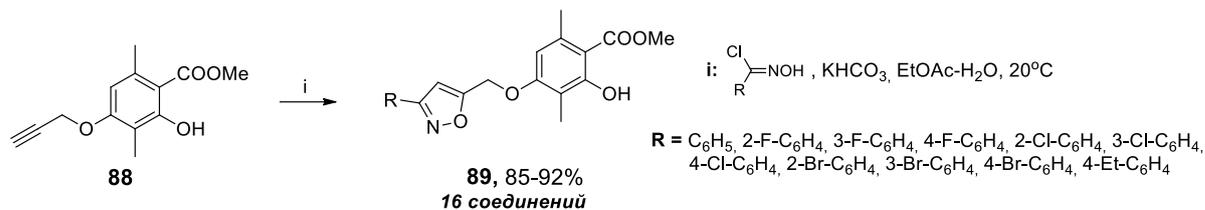
Две серии 3,5-замещенных изоксазолов были получены для изучения в качестве ингибиторов циклинзависимых киназ (CDKs), которые являются движущей силой клеточного деления и при активации которых протоонкогенами происходит рост опухолей [63]. Гетероциклы **87** представляют собой сульфонамиды, синтезированные из 3-амино-5-метилизоксазола **86** при помощи модификации аминогруппы [64] (схема 32, табл. 13).

**Схема 32**



Производные изоксазола **89** были получены в реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с использованием арилпропаргиловых эфиров **88** и хлоргидроксамовых кислот (схема 33, табл. 13) [65].

### Схема 33



**Таблица 13.** Цитотоксичность целевых соединений **87, 89** ( $\text{IC}_{50}$ ,  $\mu\text{M}$ ) по отношению к клеточным линиям.

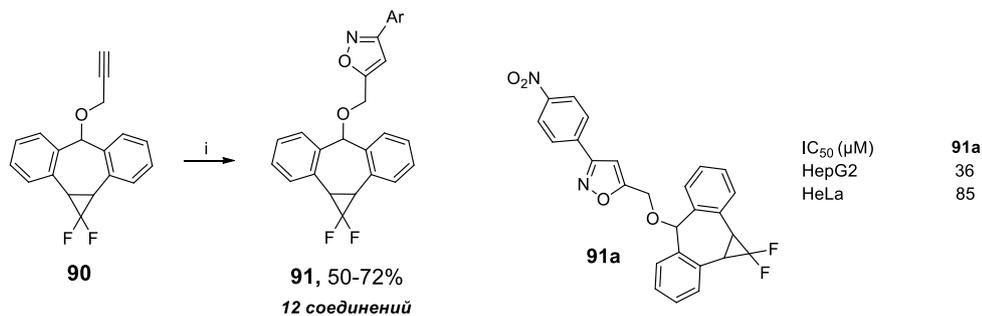
	$\text{IC}_{50}$ , $\mu\text{M}$			
	A549	MCF-7	IMR-32	DU-145
<p><b>87a</b></p>	52.3	5.9	-	-
<p><b>89a</b></p>	-	7.9	16.0	42.7
<b>5-FU</b>	55.5	52.9	-	-
<b>Доксорубин</b>	-	1.5	3.0	0.8

Соединения **87, 89** показали умеренную активность на ряде клеточных линий в микромолярном диапазоне концентраций, был также сделан вывод о возможности взаимодействия гетероциклов с киназами на основании их докинга в сайты связывания циклинзависимых киназ и некоторых других ферментов [64, 65].

Кроме ингибиторов рецепторов факторов роста, отвечающих за начало сигнального пути, мишенью могут быть также киназы, участвующие в передаче сигнала. Так, например, в сигнальном пути MAPK, мишенью могут быть Raf, MAP, MEK и другие киназы.

Авторы работы [66] предположили, что производные изоксазола, содержащие дибензосубероновый фрагмент, представляют интерес для изучения в качестве ингибиторов p38 митоген активируемой протеинкиназы (МАРК), которая участвует в сигнальном пути MAPK. Гетероциклы **91** были синтезированы стандартным способом с использованием пропаргилового эфира **90** и хлоргидроксамовых кислот (схема 34) [66].

### Схема 34



i: ArCH=N-NH, Хлорамин-Т, EtOH, 78°C

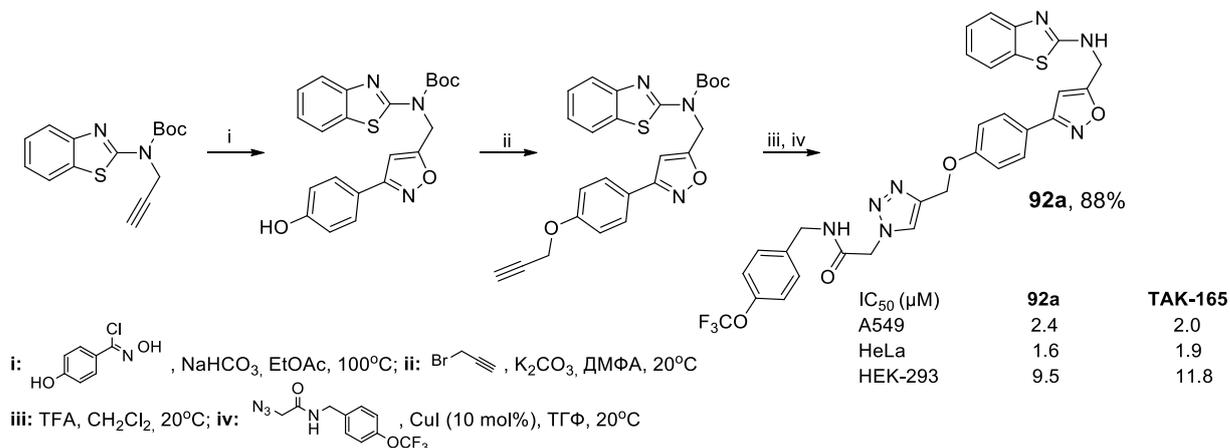
Ar = H, 4-CH<sub>3</sub>O-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-F-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-Cl-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-NO<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>,  
4-Br-2-F-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>, 3,4,5-(CH<sub>3</sub>O)<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>, тиофен-2-ил

Следует отметить, что производные изоксазола данной серии оказались малоактивными на раковых клеточных линиях, поэтому дополнительные исследования механизма их действия не проводились.

#### 2.2.2. Индукторы апоптоза

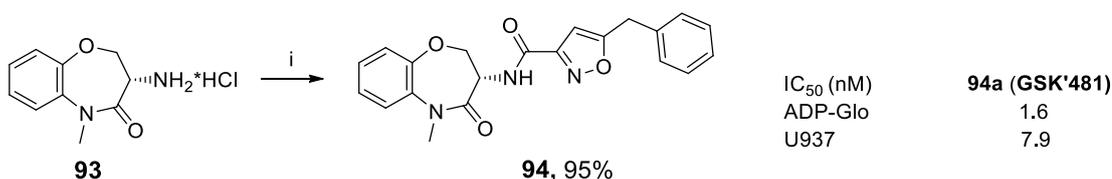
Среди производных изоксазола известны соединения, цитотоксичность которых обусловлена активацией процессов апоптоза. Апоптоз представляет собой сложный комплекс биохимических реакций, приводящий к запрограммированной смерти клетки, при этом один из возможных путей запуска апоптоза является процесс активации ферментов каспаз [67]. В работе [68] был синтезирован ряд изоксазол-триазолсодержащих соединений **92** с использованием соответствующих реакций 1,3-диполярного циклоприсоединения. Большинство соединений **92** показало цитотоксичность в микромолярном диапазоне концентраций на 3 раковых клеточных линиях, для наиболее активных структур **92** была подтверждена возможность активировать каспазы 3, 9, запускающих гибель клеток по пути апоптоза. На схеме 35 показан синтез соединений **92** на примере структуры **92a**, а также представлены результаты биологических испытаний.

### Схема 35



Другой возможный путь запуска апоптоза заключается в ингибировании киназы RIP1, которая находится на перекрестке сигнальных путей и определяет жизнеспособность клетки [69]. В работе [70] в качестве ингибиторов киназы RIP1 была изучена серия бензоксазепинов, содержащих различные гетероциклические фрагменты. Было найдено, что соединение **94**, содержащее изоксазольный фрагмент, показало высокую активность на клеточных линиях опухоли поджелудочной железы, и в дальнейшем использовалось в качестве лидера для поиска селективных ингибиторов RIP1. Соединение **94** было получено ацилированием амина **93** 5-бензилизоксазол-3-карбоновой кислотой (схема 36).

**Схема 36**

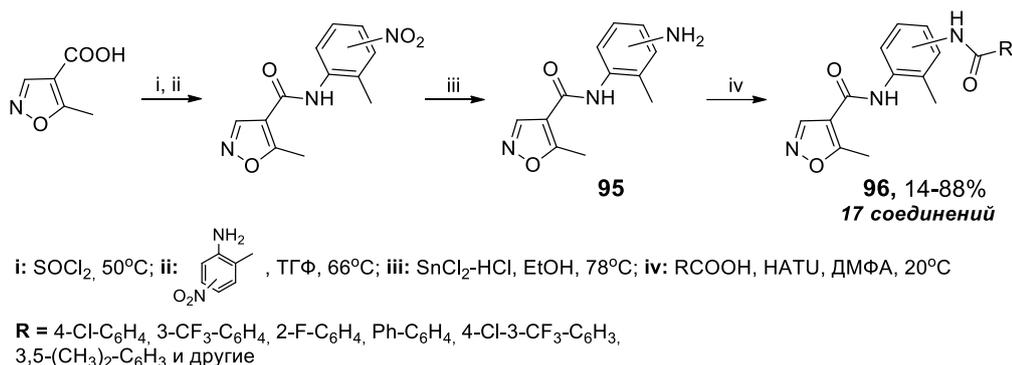


i: 5-бензилизоксазол-3-карбоновая кислота, HATU, DIPEA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

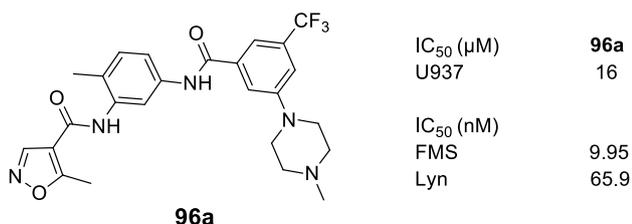
### 2.2.3. Ингибиторы киназ, ответственных за устойчивость опухолевых клеток по отношению к иммунной системе.

В данной части будут рассмотрены изоксазолсодержащие ингибиторы киназ, которые обеспечивают выживаемость опухолевых клеток за счет устойчивости к иммунитету. К таким киназам относится FMS киназа, действие которой основано на связывании с моноцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (M-CSF или CSF-1), активирующим пролиферацию предшественников макрофагов в костном мозге. При этом связанные с опухолью макрофаги ответственны за создание особого иммуноподавляющего микроклимата опухоли, что является движущей силой ее развития, метастазирования и повышенной устойчивости к различным внешним факторам [71]. Следует отметить, что FMS киназа редко используется в качестве молекулярной мишени при разработке противоопухолевых препаратов, однако авторам работы [72] удалось найти эффективный ингибитор этой киназы при изучении серии производных изоксазола **96**. Гетероциклы **96** были получены ацилированием большой серии анилинов **95** хлорангидридом 5-метилизоксазол-4-карбоновой кислоты (схема 37).

### Схема 37



Ряд соединений **96** показал высокую активность и селективность по отношению к раковой клеточной линии U937 (клетки гистиоцитарной лимфомы человека), для наиболее активного гетероцикла **96a** была изучена возможность связывания с различными киназами, в результате чего была найдена селективность к FMS и Lyn киназам (рис. 14) [72].

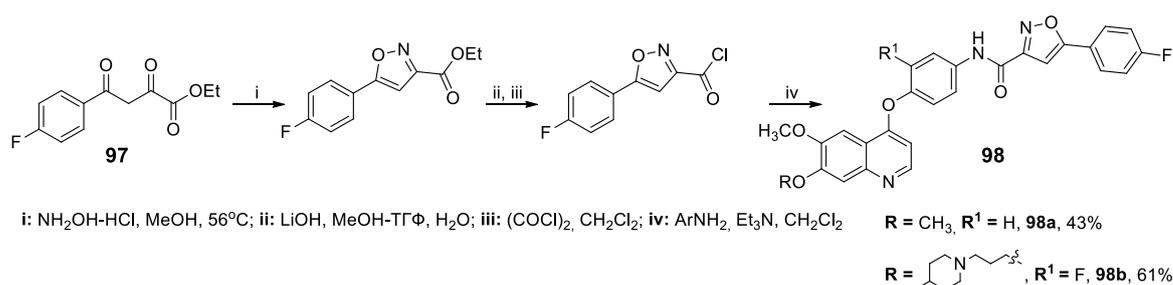


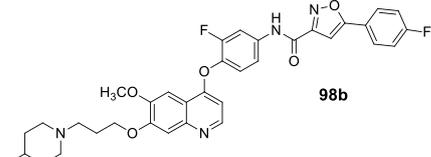
**Рисунок 14.** Цитотоксичность целевых соединений **96** по отношению к клеточной линии U937 и связывание с FMS и Lyn киназами.

Подавление иммунного ответа организма по отношению к опухолевым клеткам также может вызывать AXL киназа, активность которой приводит к неэффективности лечения рака во многих случаях. Обнаружено, что AXL участвует в различных аспектах роста опухоли, включая пролиферацию раковых клеток, их миграцию, ангиогенез, что делает эту киназу перспективной мишенью для лечения рака [73].

С целью создания ингибиторов AXL киназы была синтезирована серия производных N,O-содержащих пятичленных гетероциклов, в том числе, изоксазолсодержащих структур **98** [74]. Синтетическая схема включала образование изоксазольного цикла реакцией гетероциклизации  $\beta$ -оксоэфира **97** под действием гидроксиламина с последующим превращением сложноэфирной группы в амидный фрагмент (табл. 14) [74].

**Таблица 14.** Цитотоксичность целевых соединений **98** по отношению к клеточным линиям и связывание с Axl киназой.



	IC <sub>50</sub> , μM			Ингибирование (%) при 1 μM
	A549	HT-29	PC-3	Axl киназа
 <b>98b</b>	3.3	24.6	2.0	11
<b>Кабозантиниб</b>	3.8	4.6	8.3	94

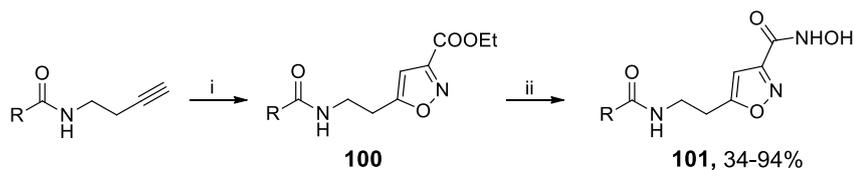
Было найдено, что производные изоксазола **98** показали неплохую активность на нескольких раковых клеточных линиях, однако оказались малоэффективными ингибиторами AXL киназы. Предполагается, что соединения **98** могут действовать на другие молекулярные мишени [74].

#### 2.2.4. Ингибиторы белков, контролирующих экспрессию генов

В литературе известны противораковые лекарственные препараты, такие как вориностат, ромидепсин, туцидинонат и др., действие которых основано на ингибировании ферментов деацетилаз гистонов (HDAC). Процесс ацетилирования\деацетилирования ядерных белков гистонов связан с функционированием ДНК, при этом ингибиторы HDAC участвуют в ремоделировании структуры хромосом, приводят к остановке клеточного цикла и апоптозу в раковых клетках [75].

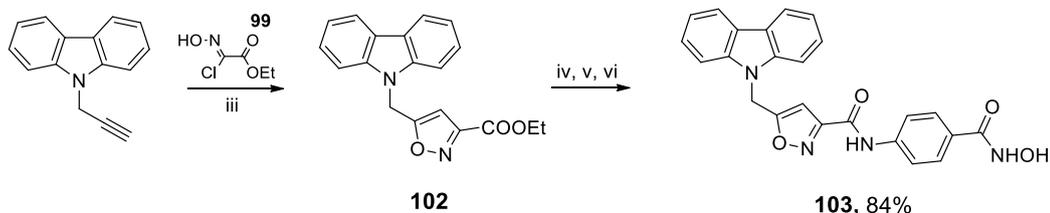
В работах [76, 77] описан синтез изоксазолсодержащих гидроксамовых кислот **101**, **103**, для которых изучалась ингибирующая активность по отношению к различным изоформам HDAC. Для обоих типов структур **101**, **103** формирование изоксазольного цикла происходило в реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с участием алкинов и хлоргидроксамовой кислоты **99**, последующие модификации сложноэфирной группы **100** и **102** позволили получить целевые соединения **101** и **103** с хорошими выходами (схема 38).

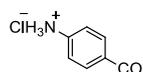
### Схема 38



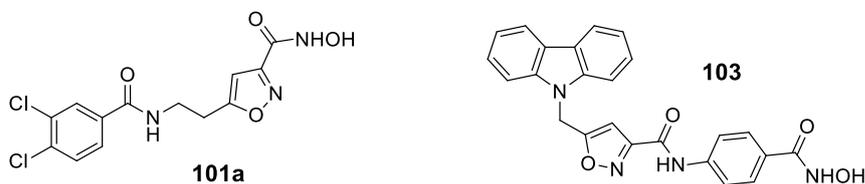
**R** = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, 3,4-Cl<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>, нафта-2-ил

i: **99**, NaHCO<sub>3</sub>, EtOAc, 100°C; ii: NH<sub>2</sub>OH·HCl, NaOH, ТГФ, MeOH



iii: Et<sub>3</sub>N, ТГФ; iv: LiOH, NaOH, ТГФ-H<sub>2</sub>O; v:  PyBOP, Et<sub>3</sub>N, ДМФА; vi: NH<sub>2</sub>OH·HCl, NaOH, THF, MeOH

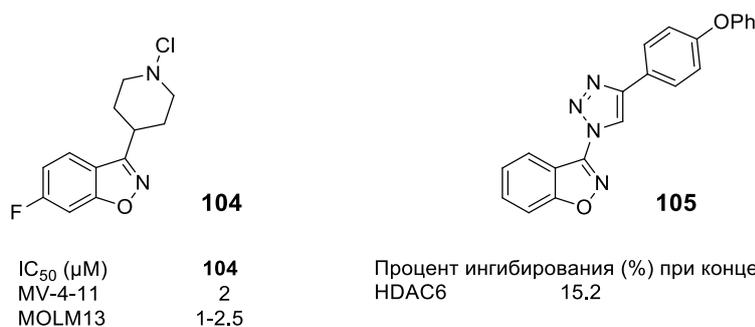
Изучение возможности связывания производных изоксазола **101**, **103** с различными изоформами HDAC показало высокую селективность по отношению ферменту HDAC6 [76, 77] (рис. 15). Тем не менее, такая селективность соединений **101**, **103** привела к уменьшению способности блокировать рост раковых клеток. Авторы [77] предположили, что для высокой цитотоксичности необходимо также эффективное ингибирование гистон деацетилазы HDAC1, что потребует дальнейшего изучения.



IC <sub>50</sub> (nM)	<b>101a</b>	IC <sub>50</sub> (nM)	<b>103</b>
HDAC6	12	HDAC6	0.61
HDAC1	1390	HDAC1	495
HDAC4	19500	HDAC2	1370
HDAC11	5120	HDAC10	22200

**Рисунок 15.** Связывание целевых соединений **101**, **103** с различными изоформами HDAC.

3-Замещенные бензизоксазолы являются еще одним структурным типом гетероциклов, которые изучались в качестве ингибиторов HDAC. Соединения **104** и **105** [78, 79] показали умеренную цитотоксичность на раковых клетках и слабую ингибирующую активность по отношению к деацетилазам гистонов, предположительно HDAC6 типа согласно данным компьютерного моделирования [32] (рис. 16).

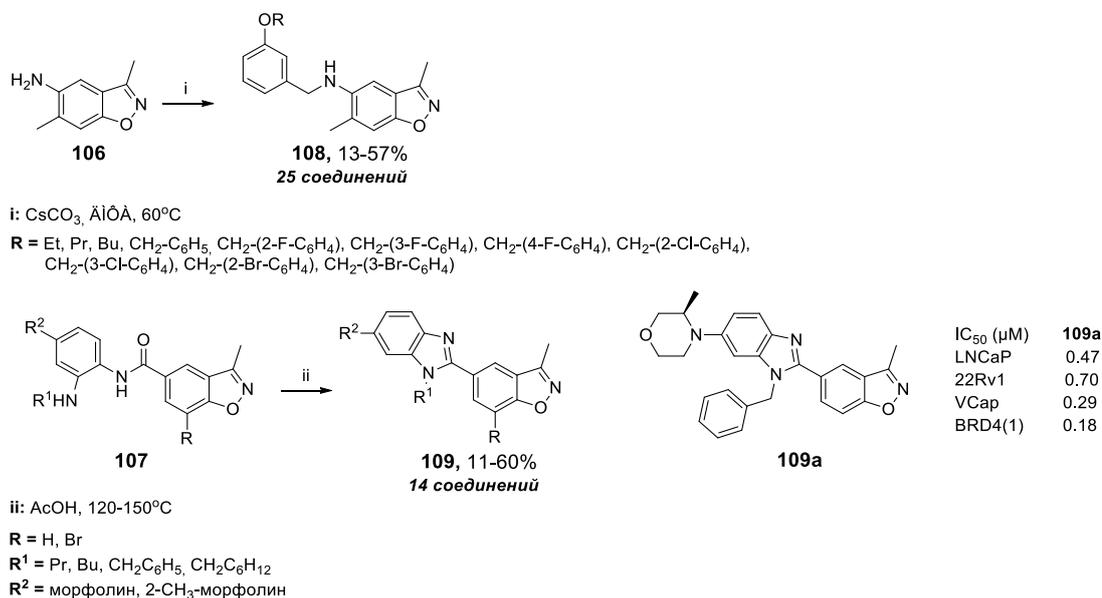


**Рисунок 16.** Цитотоксичность целевых соединений **104** по отношению к клеточным линиям, связывание соединений **105** с ферментами HDAC.

Еще одной молекулярной мишенью, которая используется для регуляции процессов в ядре клетки, является бромодомен (BRD) – фрагмент фермента ацетилтрансферазы гистонов (НАТ), способный к специфичному распознаванию *N*-ацетилированных остатков лизина гистонов, и за счёт этого регулирующий транскрипцию ряда генов [80]. Белки семейства бромодоменов и экстра-терминальных доменов (BET), включая BRD2-4 и BRDT, играют ключевую роль в развитии онкологических заболеваний, поэтому активно ведется поиск новых BET-ингибиторов [81, 82].

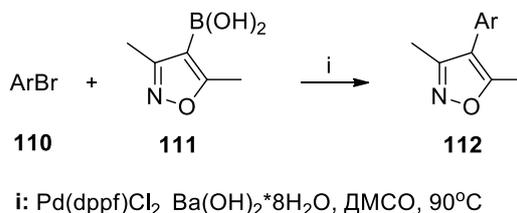
В работах [83, 84] в качестве BET-ингибиторов были изучены замещенные бензизоксазолы **108**, **109**, полученные алкилированием 5-аминогруппы ароматического кольца гетероцикла **106** или циклизацией *N*-ариламидного фрагмента соединения **107** (схема 39). Было найдено, что 5-(*N*-бензил)бензизоксазолы **108** оказались малоактивными по отношению к бромодоменам BRD4(1) и BRD9 [83], в то время как соединение **109a** показало высокую цитотоксичность на серии раковых клеток и оказалось эффективным ингибитором белка BRD4(1).

**Схема 39**



В ряде работ в качестве ингибиторов бромодомена BRD4(1) были изучены продукты арилирования 3,5-диметилизоксазола по положению 4 [85–88]. В реакциях кросс-сочетания использовались бромзамещенные ароматические соединения **110** с соответствующим производным 3,5-диметилизоксазола **111**, пример условий проведения реакции приведен из работы [87].

#### Схема 40



Изучение биологической активности соединений **112** показало, наиболее эффективным ингибитором BRD4(1) оказался изоксазол **112d** с тетрагидрохиназолиновым заместителем в положении 4 [88] (табл. 15), при этом цитотоксичность для всех соединений изученных серий находится в диапазоне микромолярных-субмикромолярных концентраций (табл. 15).

**Таблица 15.** Цитотоксичность целевых соединений **112** по отношению к клеточным линиям, связывание соединений **112** с ферментами BRD4.

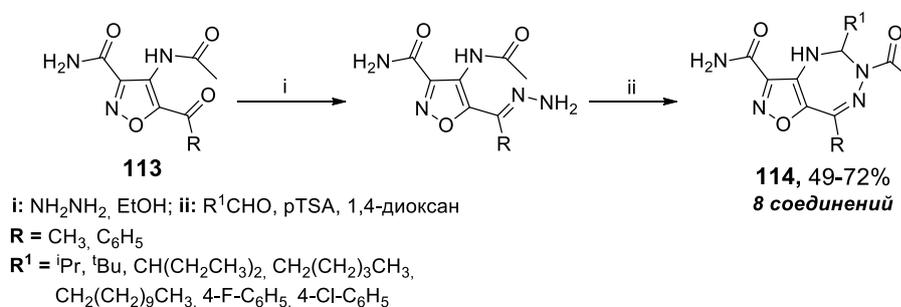
Структура	Активность	Ссылка
<p style="text-align: center;"><b>112a</b></p>	<p>IC<sub>50</sub> (BRD4(1)) = 5.2 μM IC<sub>50</sub> (MV-4-11) = 0.616 μM</p>	[85]
<p style="text-align: center;"><b>112b</b></p>	<p>IC<sub>50</sub> (BRD4) = 0.67 μM IC<sub>50</sub> (K562) = 1.86 μM IC<sub>50</sub> (MV-4-11) = 0.91 μM</p>	[86]
<p style="text-align: center;"><b>112c</b></p>	<p>IC<sub>50</sub> (BRD4) = 0.10 μM IC<sub>50</sub> (C4-2B) = 0.38 μM IC<sub>50</sub> (VCap) = 0.46 μM</p>	[87]
<p style="text-align: center;"><b>112d</b></p>	<p>IC<sub>50</sub> (BRD4(1)) = 32 nM IC<sub>50</sub> (HCT-116) = 3.34 μM</p>	[88]

### 2.2.5. Другие киназы и ферменты – молекулярные мишени для поиска противоопухолевых препаратов

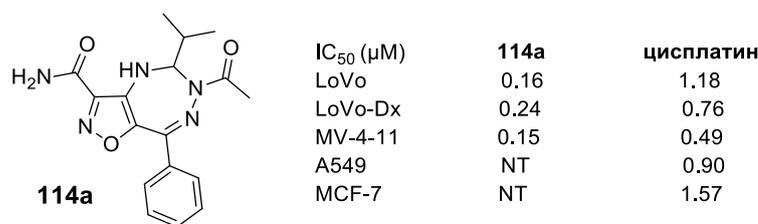
В данном разделе рассматриваются некоторые менее распространенные или неспецифичные молекулярные мишени, используемые для производных изоксазола с противораковой активностью.

Протеинкиназа С (РТС) является одним из элементов передачи сигнала в клетке, участвует в фосфорилировании ядерных белков, белков цитоскелета, ферментов. Данная молекулярная мишень не является специфичной для раковых клеток, однако повышенная активность этого фермента ответственна за распространение опухоли и воспаления [89]. Авторы работы [90] предположили, что цитотоксичность серии изоксазолотриазепинов **114** связана с ингибирующей активностью по отношению к РТС, однако подтверждающих гипотезу экспериментальных или расчетных исследований не проводилось. Синтез соединений **114** осуществляли путем формирования гетероаннелированного триазепинового фрагмента за счет внутримолекулярной циклизации с участием заместителей в положения 4,5 производных изоксазолов **113** последовательной обработкой гидразином, а затем ароматическими альдегидами в присутствии *n*-толуолсульфокислоты (рTSA) (схема 41).

**Схема 41**



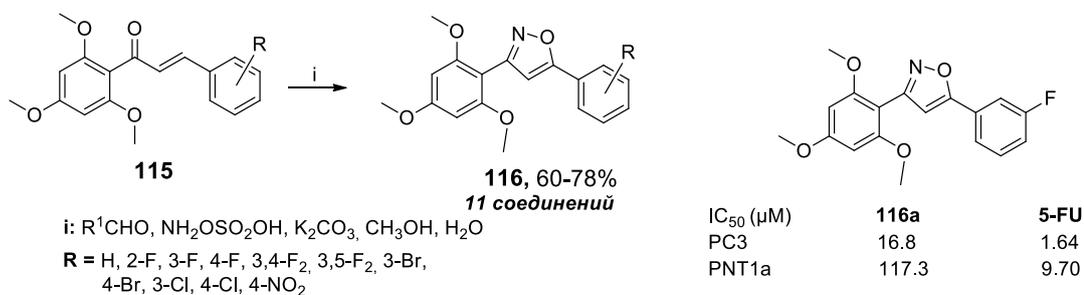
Для ряда гетероциклов **114** была исследована цитотоксичность на панели из 60 раковых клеточных линий, в результате чего были выявлены структуры с активностью в субмикромольном диапазоне концентраций. Пример наиболее активного соединения данной серии **114a**, приведен на рис. 17 [90].



**Рисунок 17.** Цитотоксичность целевых соединений **114** по отношению к клеточным линиям

Рибосомная протеинкиназа S6K1 также участвует в процессе фосфорилирования белков, в частности, фосфорилирует несколько остатков рибосомального белка S6. Ингибирование белка S6K1 приводит к замедлению пролиферации жировых клеток, что может использоваться для лечения ожирения. С другой стороны, сверхэкспрессия протеинкиназы S6K1 наблюдается в некоторых клеточных линиях рака молочной железы, что позволяет использовать этот фермент в качестве молекулярной мишени для лечения опухолевых заболеваний [91]. В работе [92] в качестве потенциальных ингибиторов протеинкиназы S6K1 и противораковых агентов по отношению к клеткам рака простаты PC3 были изучены 3,5-диарилизоксазолы **116** с 2,4,6-триметоксифенильным заместителем в положении 3 изоксазольного цикла. Целевые соединения **116** были получены гетероциклизацией соответствующих α,β-непредельных кетонов **115** под действием гидроксилламин-О-сульфоновой кислоты (схема 42) [92]

**Схема 42**

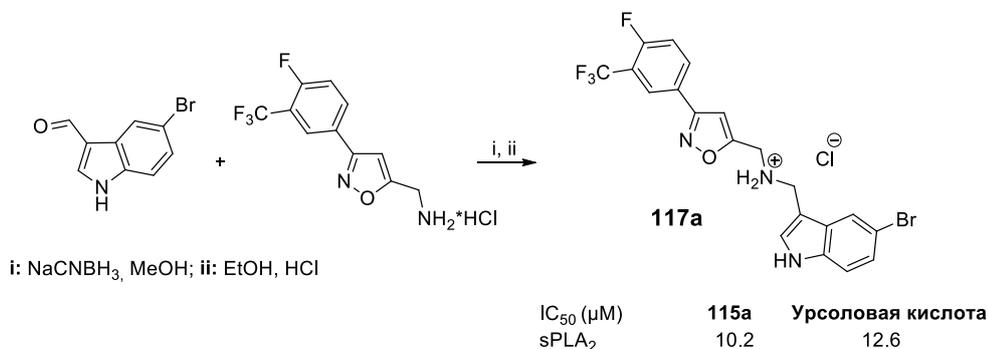


Наилучшие результаты показало соединение **116a**, для которого умеренная активность сочеталась с неплохой селективностью к раковым клеткам. С использованием молекулярного докинга авторы [92] показали, что гетероцикл **116a**, располагается в кармане белка S6K1 аналогично известным ингибиторам.

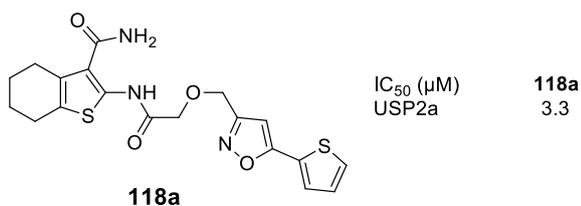
Возможной мишенью для создания противоопухолевых препаратов являются фосфолипазы A2 (PLA2), представляющие собой группу ферментов, расщепляющих фосфолипиды с высвобождением свободных жирных кислот, которые инициируют воспалительные и раковые заболевания [93]. В качестве потенциальных ингибиторов этих ферментов была изучена серия 3,5-дизамещенных производных изоксазола, синтез

которых показан на примере соединения **117a** (схема 43). Для наиболее активной структуры **117a** была выявлена умеренная цитотоксичность на 2 раковых клеточных линиях и ингибирующая активность по отношению к ферментам sPLA<sub>2</sub> в микромолярном диапазоне концентраций [94].

**Схема 43**



Производные 5-(2-тиенил)-3-изоксазола **118**, описанные в работе [95], были изучены в качестве ингибиторов цистеиновой протеазы семейства убеквитин-специфических протеаз (USP2a). Данный фермент участвует в удалении убеквитиновой метки из белков, что предотвращает их протеосомную деградацию и приводит к росту опухоли. К сожалению, авторы не приводят схему синтеза бис(гетероциклов) **118**, при этом наиболее активное соединение **118a** показало ингибирующую активность по отношению к исследуемому ферменту в микромолярном диапазоне концентраций (рис. 18).



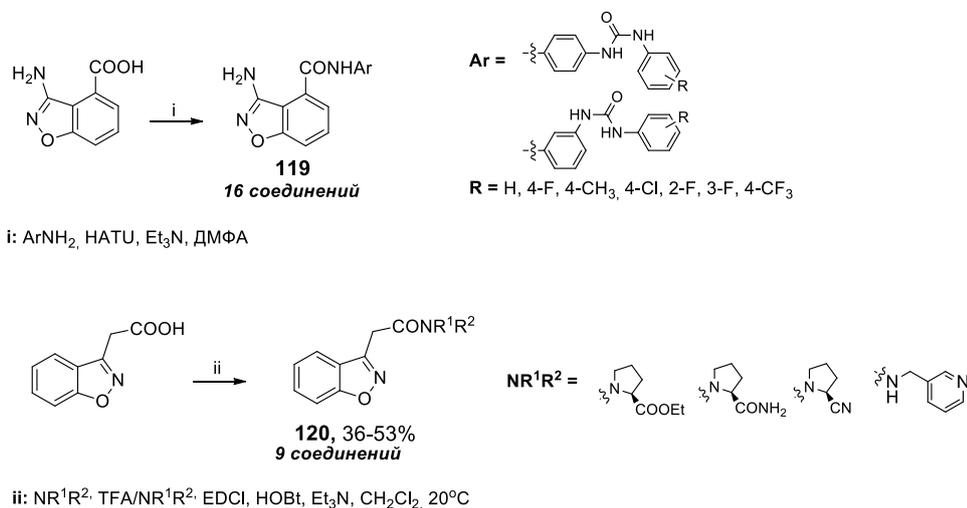
**Рисунок 18.** Связывание соединения **118a** с цистеиновой протеазой USP2a семейства убеквитин-специфических протеаз.

Производные бензизоксазола **119** и **120** (схема 8) с различным расположением амидных групп использовались для изучения в качестве ингибиторов Aurora B киназы [96] и дипептидилпептидазы-4 [97]. Киназа Aurora B представляет собой фермент, регулирующий процесс митотического деления клетки. Чрезмерная экспрессия этого белка приводит к неравному хромосомному разделению, и как следствие, возникновению раковых заболеваний [98]. Дипептидилпептидаза-4 (DPP-IV) является неспецифическим мембранным ферментом, который участвует в передаче клеточного сигнала, иммунной регуляции, апоптозе. Ингибиторы DPP-IV используются для лечения сахарного диабета II

типа, в то же время известно, что фермент DPP-IV усиливает опухолевый иммунитет и может служить мишенью при создании противораковых препаратов [99].

Получение гетероциклов **119**, **120** включает функционализацию бензизоксазольного фрагмента амидными группами в различных положениях (схема 44).

#### Схема 44



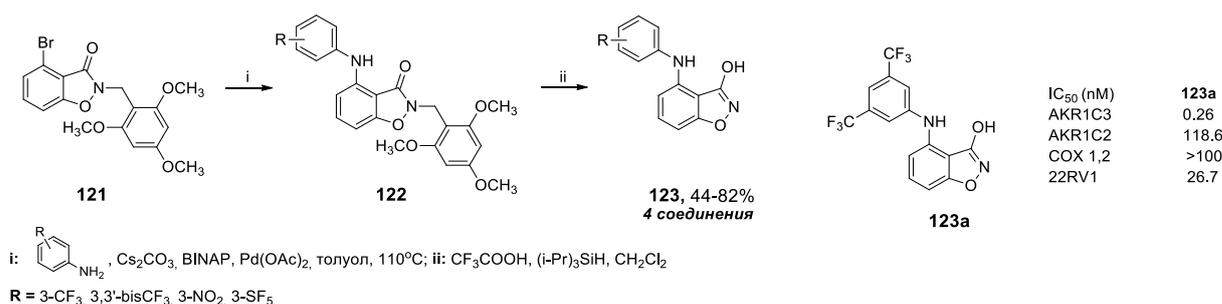
Среди изученных бензизоксазолов **119** был найден высокоселективный ингибитор Aurora В киназы **119a** с активностью в наномолярном диапазоне концентраций (табл. 16) [96]. Для бензизоксазолов **120** была показана возможность ингибирования фермента DPP-IV: лучшие результаты показало соединение **120a** (табл. 16), ингибирующее фермент на 57% при 200 мкМ и активное по отношению к раковой клеточной линии MCF-7 [97].

**Таблица 16.** Активность различных полифункционализированных бензизоксазолов.

Структура	Активность	Ссылка
<p><b>119a</b></p>	IC <sub>50</sub> (Aurora kinase A) = 12500 nM IC <sub>50</sub> (Aurora kinase B) = 12 nM	[96]
<p><b>120a</b></p>	IC <sub>50</sub> (A549) = NA IC <sub>50</sub> (MCF-7) = 3.49 μM Ингибирование DPP-IV = 35%	[97]
Флуороурацил	IC <sub>50</sub> (A549) = 11.13 μM IC <sub>50</sub> (MCF-7) = 45.04 μM	

Гетероциклы ряда изоксазола изучались также в качестве потенциальных ингибиторов альдокеторедуктазы AKRIC3 [100] и дегидрофолат-редуктазы (DHFR) [101, 102], которые относятся к многочисленному семейству ферментов редуктаз, катализирующих окислительно-восстановительные реакции. Изоформа фермента альдокеторедуктазы AKRIC3 участвует в метаболизме эстрогена и прогестерона, кроме того, повышенная экспрессия AKRIC3 является маркером развития наиболее устойчивой агрессивной формы рака простаты. Известные ингибиторы AKRIC3, в основном, неселективны, и действуют также на изоформу AKRIC2 и фермент циклооксигеназу (COX-1 и COX-2), который отвечает за воспалительные процессы. В работе [100] в качестве ингибиторов AKRIC3 была синтезирована серия 3-гидрокси-4-(N-ариламино)бензизоксазолов **123** реакцией каталитического аминирования Бухвальда-Хартвига соответствующего бромида **121** и последующего дебензилирования изоксазолонна **122** (схема 45).

**Схема 45**

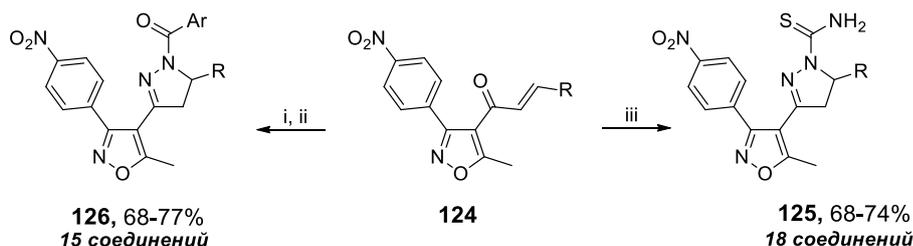


Следует отметить, что большинство соединений **123** показали хорошую селективность по отношению к AKRIC3, однако цитотоксичность на клеточной линии 22RV1 рака предстательной железы оказалась невысокой (схема 45).

Был также осуществлен поиск изоксазолсодержащих соединений в качестве ингибиторов дегидрофолат-редуктазы (DHFR) [101, 102], которая поддерживает необходимый уровень кофактора – тетрагидрофолата, необходимого для синтеза нуклеотида ДНК – дезокситимидинмонофосфата (dTMP). Ингибирование DHFR может ограничивать рост и пролиферацию клеток, которые характерны для раковых и бактериальных инфекций [103].

Синтез (изоксазолил)пиразолинов **125** и **126** был осуществлен из доступных изоксазолсодержащих винилкетонов **124** с использованием реакций гетероциклизации под действием гидразина или тиосемикарбазида (схема 46).

### Схема 46



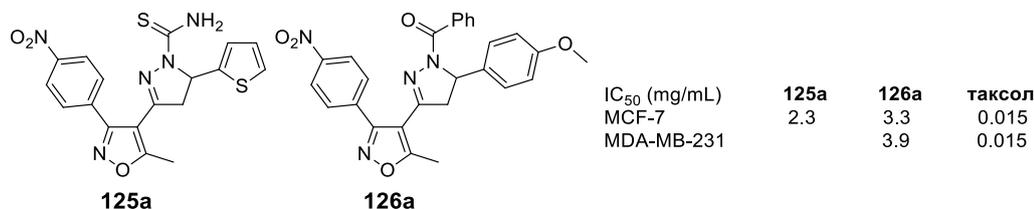
i:  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , EtOH, 78°C; ii:  $\text{ArCH}_2\text{Cl}$ , ТГФ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 20°C; iii:  $\text{H}_2\text{N}-\text{C}(=\text{S})-\text{NH}_2$ , KOH, 100°C

Ar =  $\text{C}_6\text{H}_5$ , 4- $\text{CH}_3\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4$

R = 4- $\text{CH}_3-\text{C}_6\text{H}_4$ , 4- $\text{CH}_3\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4$ , 4-F- $\text{C}_6\text{H}_4$ , 4-Cl- $\text{C}_6\text{H}_4$ ,  
2,4-( $\text{CH}_3\text{O}$ )<sub>2</sub>- $\text{C}_6\text{H}_3$ , 2,4- $\text{Cl}_2-\text{C}_6\text{H}_3$ ,

R =  $\text{C}_6\text{H}_5$ , 4- $\text{CH}_3\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4$ , 4-Cl- $\text{C}_6\text{H}_4$ , 4-Br- $\text{C}_6\text{H}_4$ ,  
4- $\text{CH}_3-\text{C}_6\text{H}_4$ , 4-F- $\text{C}_6\text{H}_4$ , 2-Cl- $\text{C}_6\text{H}_4$

Для бис(гетероциклов) **125**, **126** была протестирована цитотоксичность на клеточных линиях рака молочной железы (рис. 19), а также проведен молекулярный докинг наиболее активной структуры **126** в сайт связывания DHFR, подтверждающий взаимодействие с ферментом.

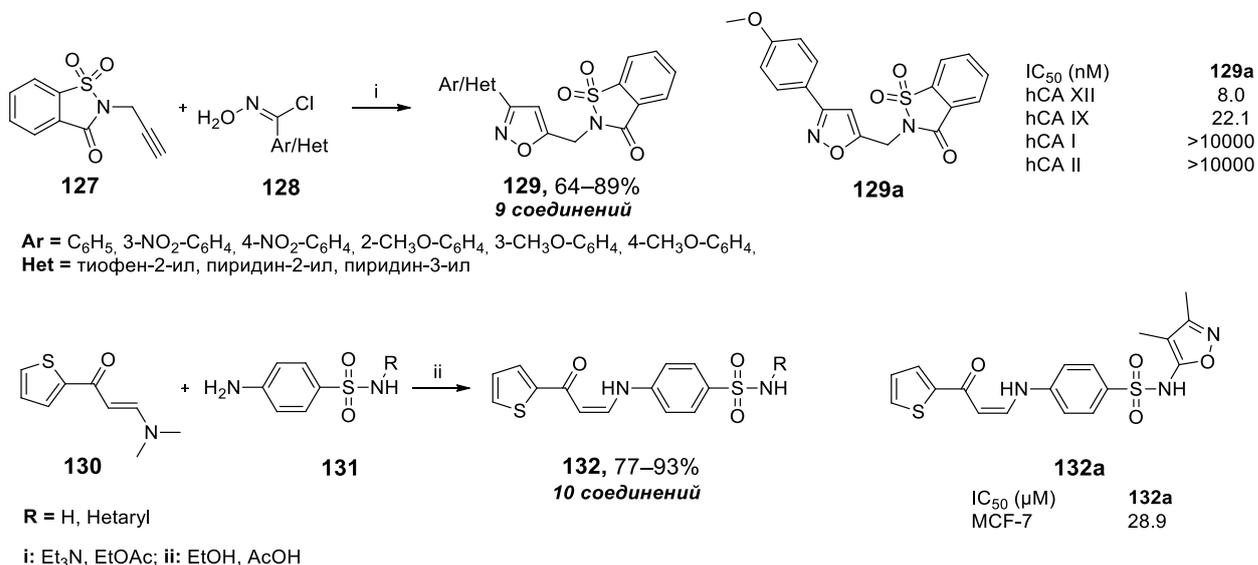


**Рисунок 19.** Цитотоксичность соединений **125** и **126** по отношению к клеточным линиям.

Еще одной молекулярной мишенью, используемой для производных изоксазола с противораковой активностью, являются карбоангидразы, которые представляют собой широко распространенные ферменты, катализирующие взаимопревращение  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  в  $\text{H}^+$  и  $\text{CO}_3^{2-}$ . Ингибиторы карбоангидразы применяются для лечения сердечно-сосудистых, офтальмологических и др. заболеваний. В человеческом организме карбоангидразы присутствуют в виде 15 изоформ, при этом известно, что изоформы hCA I и II экспрессируются во всех тканях организма, в то время как разновидности hCA IX и XII присутствуют, в основном, в опухолевых тканях [104]. Этот факт использовался в работе [105] для поиска селективных ингибиторов hCA IX и XII изоформ среди изоксазолсодержащих соединений **129** – производных сахарина. Гетероцилы **129** были получены с использованием реакции 1,3-диполярного присоединения с участием алкина **127** и хлоргидроксамовой кислоты **128**. Одно из наиболее перспективных соединений **129a** показало высокую ингибирующую активность и селективность по отношению к изоформам hCA IX\XII, однако цитотоксичность на клетках MCF-7 оказалась умеренной [105]. Также невысокой цитотоксичностью характеризовались ациклические

изоксазолсодержащие сульфонамиды **132**, полученные в работе [106] в качестве потенциальных ингибиторов карбоангидраз из енаминонов **130** и анилинов **131** (схема 47).

**Схема 47**

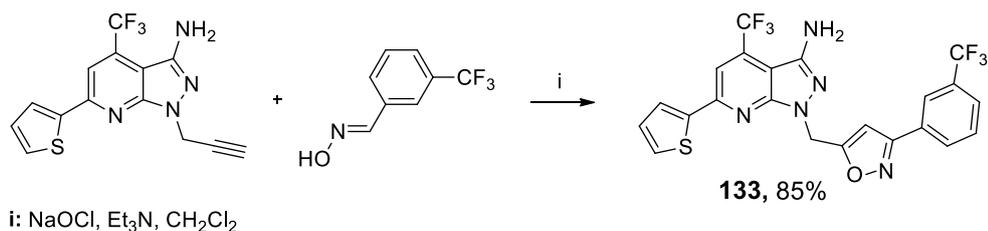


### 2.2.6. Изоксазолсодержащие соединения мультитаргетного действия и с неустановленной молекулярной мишенью

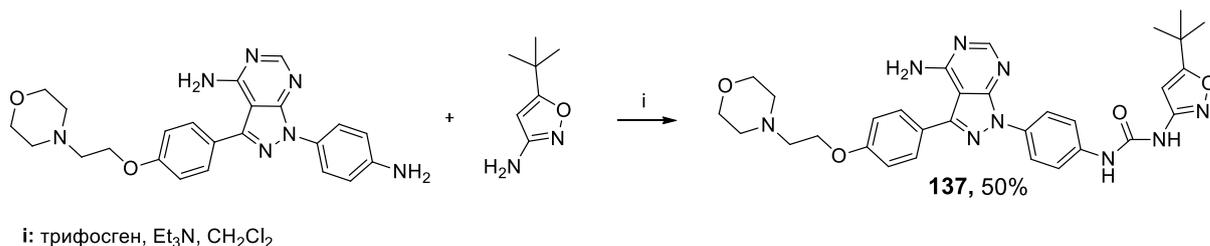
В данном разделе собраны работы, в которых изучались производные изоксазола, содержащие дополнительные гетероциклические фрагменты, отвечающие за наличие противораковой активности. Как правило, это соединения, для которых возможно действие на несколько молекулярных мишеней, или структуры с неустановленной мишенью, показавшие цитотоксичность по отношению к раковым клеточным линиям.

Синтез гетероциклов **133–137**, содержащих изоксазолный цикл в боковой цепи проводили с использованием реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с участием хлоргидроксамовых кислот и соответствующих алкинов (схема 48 на примере соединения **133**), либо введением фрагмента соответствующего производного изоксазола путем образования амидной связи (схема 49 на примере соединения **137**).

**Схема 48**

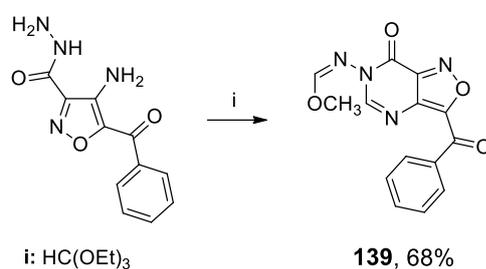


### Схема 49



Образование замещенных изоксазолопиридинов **138** или изоксазолопиримидинов **139–141** осуществлялось путем формирования 6-членного гетероцикла с участием изоксазолсодержащего предшественника (схема 50 на примере соединения **139**).

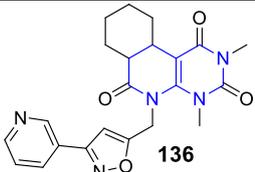
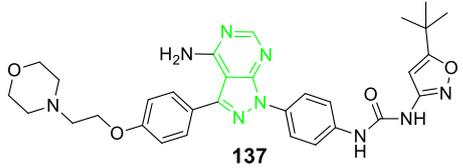
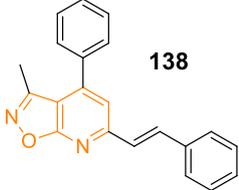
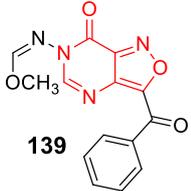
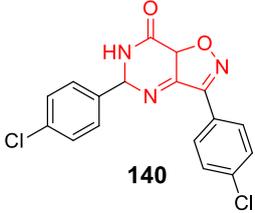
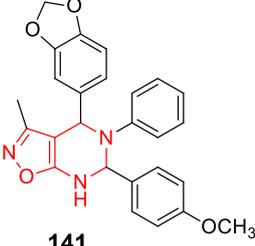
### Схема 50



Данные по активности изоксазолсодержащих гетероциклов приведены в табл. 17. Для структур **133** была определена ингибирующая активность по отношению к FLT3-киназам, для остальных соединений в работах приводятся результаты по скринингу цитотоксичности на различных раковых клеточных линиях без указания молекулярной мишени.

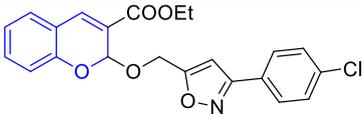
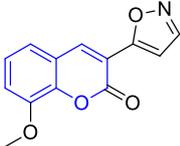
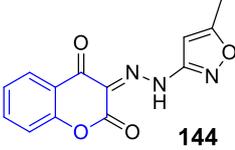
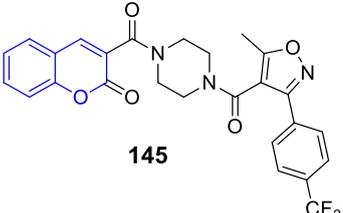
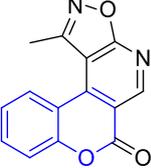
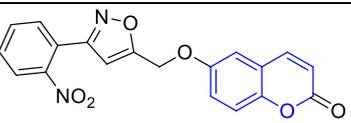
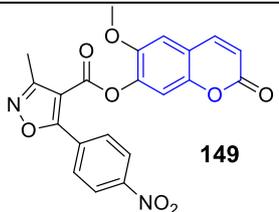
**Таблица 17.** Активность изоксазолсодержащих гетероциклов **133–137**.

Структура	Активность	Ссылка
<p><b>133</b></p>	IC <sub>50</sub> (MCF-9) = 13.4 μM IC <sub>50</sub> (HepG2) = 14.6 μM IC <sub>50</sub> (HeLa) = 9.1 μM	[107]
<p><b>134</b></p>	IC <sub>50</sub> (MDA-MB-231) = 0.19 μM IC <sub>50</sub> (MDA-MB-435) = 0.08 μM	[108]
<p><b>135</b></p>	GI <sub>50</sub> (PANC1) = 1.16 μM GI <sub>50</sub> (A549) = 3.81 μM GI <sub>50</sub> (HeLa) = 1.24 μM	[109]

 <p><b>136</b></p>	$IC_{50}$ (MCF-9) = 14.7 $\mu$ M $IC_{50}$ (A549) = 16.8 $\mu$ M $IC_{50}$ (HeLa) = 27.8 $\mu$ M	[110]
 <p><b>137</b></p>	$IC_{50}$ (FLT3-WT) = 91 nM $IC_{50}$ (FLT3-ITD) = 9 nM $GI_{50}$ (BaF3-FLT3-ITD-F691L) = 2 nM $T_{1/2}$ = 3.6 ч, Биодоступность = 18.8%	[111]
 <p><b>138</b></p>	$IC_{50}$ (EAC) = 9.1 $\mu$ M	[112]
 <p><b>139</b></p>	Ингибирование роста раковых клеток %, при концентрации 10 $\mu$ M 83.79 (OVCAR-8); 25.74 (RPMI-8226); - 12.84 (UO-31)	[113]
 <p><b>140</b></p>	Ингибирование роста раковых клеток %, при концентрации 10 $\mu$ M 36.12 (CCRF-CEM); 36.5 (SW-620)	[114]
 <p><b>141</b></p>	$ED_{50}$ (EAC) = 47.8 $\mu$ g	[115]

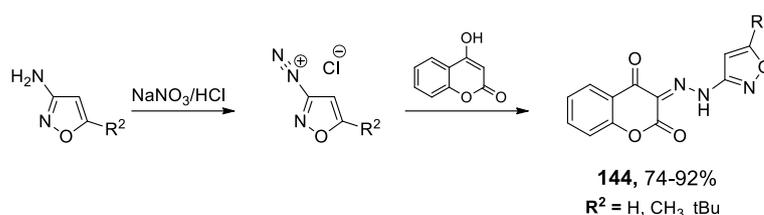
Еще один структурный тип производных изоксазола, для которых была протестирована цитотоксичность без указания молекулярной мишени, представляет собой соединения, содержащие фрагмент кумарина (табл. 18). В некоторых случаях предполагается, что действие таких соединений может быть связано с ингибированием гормон-связанных ферментов (например, ароматазы), или киназ, участвующих в сигнальных путях.

**Таблица 18.** Активность изоксазолсодержащих производных кумарина **142–149**.

Структура	Активность	Ссылка
 <p><b>142</b></p>	$IC_{50}$ (A549) = 19.1 $\mu$ M $IC_{50}$ (HeLa) = 12.3 $\mu$ M $IC_{50}$ (MCF-7) = 18.2 $\mu$ M	[116]
 <p><b>143</b></p>	$IC_{50}$ (Hep-G2) = 5715 $\mu$ M $IC_{50}$ (MCF-7) = 32441 $\mu$ M	[117]
 <p><b>144</b></p>	$IC_{50}$ (SCP1833) = 81.4 $\mu$ M $IC_{50}$ (SCP4175) = 49.8 $\mu$ M $IC_{50}$ (MDA-MB-231) = 50.3 $\mu$ M $IC_{50}$ (MCF-7) = 50.3 $\mu$ M	[118, 119]
 <p><b>145</b></p>	GI = 24 % на клетках K562 при концентрации 1 $\mu$ M	[120]
 <p><b>146</b></p>	Ингибирование 37.8% на клетках HepG2 при концентрации 30 $\mu$ M	[121]
 <p><b>147</b></p>	$IC_{50}$ (EAC) = 0.21 $\mu$ M	[122]
 <p><b>148</b></p>	$IC_{50}$ (PC-3) = 8.2 $\mu$ M	[123]
 <p><b>149</b></p>	$IC_{50}$ (HCT-116) = 9.21 $\mu$ M $IC_{50}$ (Huh7) = 8.76 $\mu$ M $IC_{50}$ (SW620) = 9.83 $\mu$ M	[124]

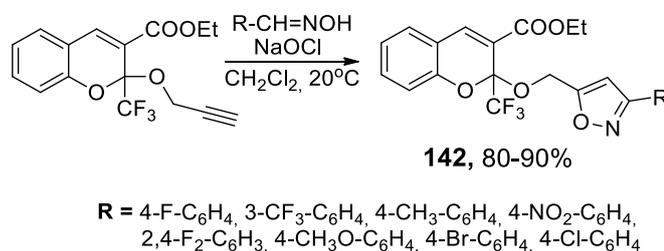
В большинстве случаев кумаринсодержащие изоксазолы получали реакциями функциональных групп изоксазолов с различными положениями кумаринового фрагмента (**144–147, 149**, схема 51 на примере соединения **144**).

### Схема 51

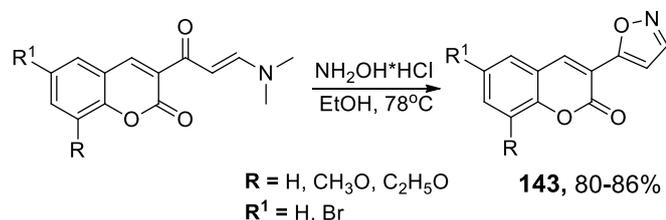


Также для формирования изоксазольного цикла в составе кумаринсодержащих изоксазолов использовались реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения (**142**, **148**, схема 52 на примере соединения **142**) или гетероциклизации под действием гидроксилamina аналогов 1,3-дикарбонильных соединений (**143**, схема 53).

### Схема 52



### Схема 53



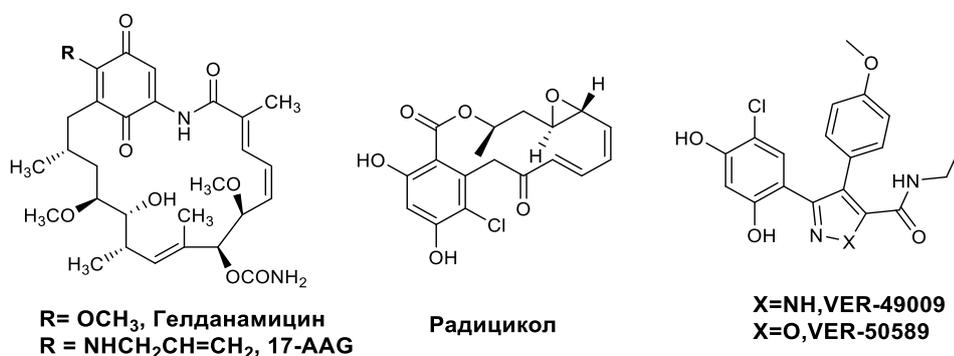
Следует отметить, что изученные кумаринсодержащие изоксазолы, в целом, показали умеренную цитотоксичность на различных раковых клеточных линиях в микромолярном диапазоне концентраций (табл. 18), однако наличие незамещенного изоксазольного цикла в положении 3 кумаринового фрагмента (соединение **143**) привело к практически полному исчезновению цитотоксичности. В то же время кумаринсодержащий 5-амино-3-метилизоксазол **147** показал высокую цитотоксичность на клеточной линии ЕАС.

### 2.3. Ингибиторы белка теплового шока (Hsp90)

Белки теплового шока (heat shock proteins, Hsp) относятся к специфической группе белков, которые вырабатываются в клетках в стрессовых ситуациях, таких как повышение температуры, воспалительные процессы, действие токсинов, УФ-облучение, недостаток кислорода и другие. Роль белков теплового шока заключается в облегчении формирования

вторичной и третичной структуры других белков (активность в качестве шаперонов), а также их восстановлении от повреждений или удалении неправильно свернутых или денатурированных белков. Одним из способов классификации белков теплового шока является разделение их по молекулярной массе, например, Hsp90 или Hsp70 относятся к молекулам с массой 90 или 70 кДа, соответственно. Известно, что белок теплового шока Hsp90 участвует в стабилизации рецепторов факторов роста или сигнальных путей, которые обеспечивают рост раковых опухолей [13, 14, 125], поэтому Hsp90 используется в качестве одной из молекулярных мишеней для соединений с противораковой активностью.

Среди ингибиторов Hsp90 в первую очередь следует упомянуть природные макроциклы гелданамицин и радицикол (рис. 20) [125, 126], на примере которых с использованием рентгеноструктурного анализа было показано, что ингибиторы связываются с сайтом АТФ в *N*-концевом домене Hsp90. Следует отметить, что гелданамицин не нашел применение в клинической практике из-за высокой гепатотоксичности, а его полусинтетическое производное 17AAG – из-за низкой растворимости и недостаточной пероральной доступности [126]. Тем не менее, эти макроциклы используются в качестве классического стандарта при изучении ингибирующей активности соединений по отношению к белку Hsp90.



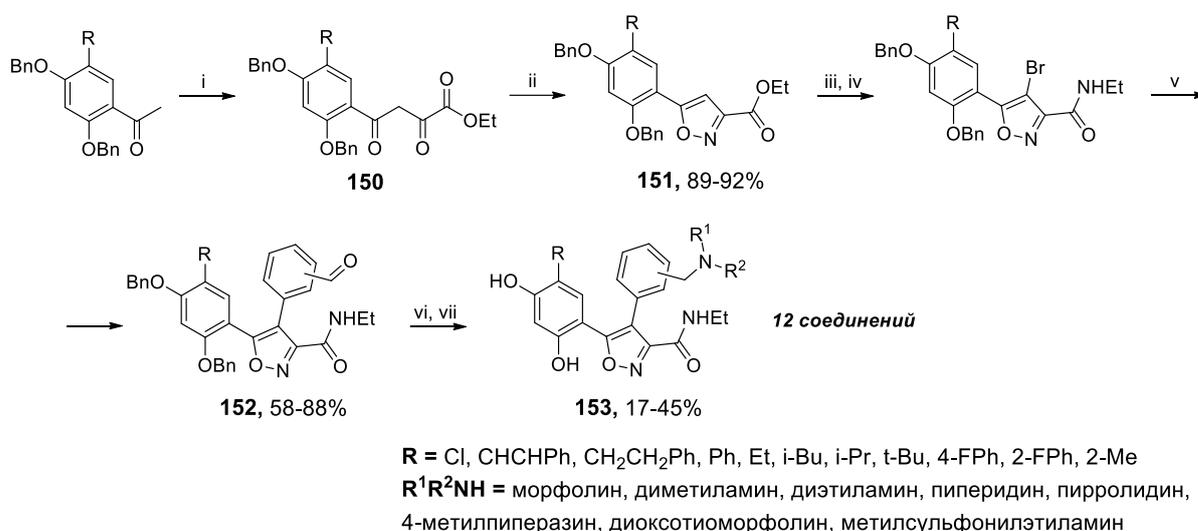
**Рисунок 20.** Известные ингибиторы белка теплового шока.

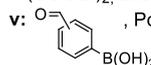
Сложность синтеза природных и полусинтетических макроциклических ингибиторов Hsp90, а также известные ограничения в их использовании явились причиной поиска структурно более простых аналогов. В частности, было найдено, что производные пиразола или изоксазола (VER-49009, VER-50589 рис. 20) могут рассматриваться как перспективные соединения-лидеры, ингибирующие белок Hsp90 [126, 127].

В работе [128] в рамках поиска более активных аналогов VER-49009 был проведен синтез большой серии пиразолов и изоксазолов с варьированием заместителей в

ароматических кольцах и варьированием расположения заместителей в пиразольном или изоксазольном циклах. Наиболее эффективными ингибиторами Hsp90 оказалась серия амидов 4,5-диарилизоксазол-3-карбоновой кислоты **153**, которые были получены последовательностью реакций, включающей гетероциклизацию арилзамещенных  $\beta$ -оксоэфиров **150** под действием гидроксилamina, дальнейшую функционализацию положения 4 изоксазольного цикла **151** путем бромирования и кросс-сочетания с арилборными кислотами, и заключительную модификацию заместителей в ароматических кольцах гетероцикла **152** (схема 54) [128, 129].

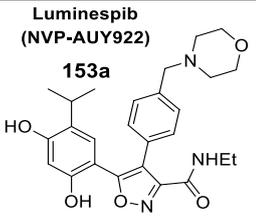
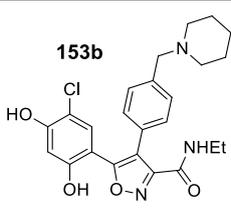
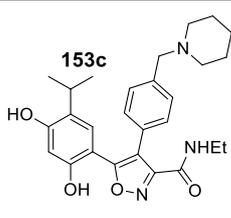
Схема 54



i: (COOEt)<sub>2</sub>, EtONa, EtOH; ii: NH<sub>2</sub>OH·HCl, EtOH, 80°C; iii: EtNH<sub>2</sub>, MeOH, 65°C; iv: NBS, CAN, MeOH, 65°C;  
v: , Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, ДМФА, H<sub>2</sub>O; vi: R<sup>1</sup>R<sup>2</sup>NH, NaCNBH<sub>3</sub>, AcOH, MeOH; vii: BCl<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0°C

Для серии изоксазолов **153** была изучена ингибирующая активность по отношению к белку Hsp90, а также цитотоксичность на клеточной линии рака толстой кишки HCT-116. В табл. 19 приведены данные для наиболее активных соединений **153a-c**. Особое внимание было уделено соединению **153a** (NVP-AUY922), которое обладает хорошей аффинностью к Hsp90 (IC<sub>50</sub>=21 нМ) и ингибирует пролиферацию раковых клеток (GI<sub>50</sub> 16 нМ) [128].

**Таблица 19.** Связывание соединений **153** с Hsp90 (ФП\* анализ) и цитотоксичность по отношению к клеточной линии НСТ-116

	 <p>Luminespib (NVP-AUY922) <b>153a</b></p>	 <p><b>153b</b></p>	 <p><b>153c</b></p>	<b>17-AAG</b>
IC <sub>50</sub> (Hsp90), μM	<b>0.021</b>	0.019	0.006	1.27
GI <sub>50</sub> , (НСТ-116), μM	<b>0.016</b>	0.061	0.040	0.16

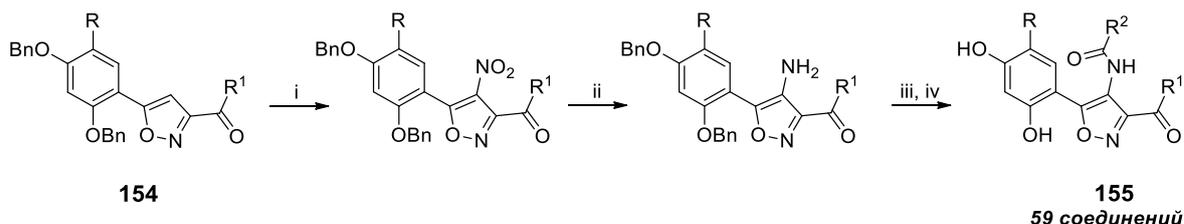
\*Поляризация флуоресценции (ФП) — метод, основанный на изменении плоскости поляризации флуоресценции за счет связывания соединений с исследуемым белком. **17-AAG** – 17-аллиламиногелданамицин

В дальнейшем для соединения NVP-AUY922 были проведены клинические испытания, в результате чего было показано, что при обработке клеток происходит повышение концентрации Hsp70 и деградация онкогенных белков (т.н. «клиентских» белков), связанных с активностью Hsp90 [129]. Соединение NVP-AUY922 показало высокую ингибирующую активность и селективность по отношению к белку Hsp90: K<sub>i</sub> для α и β изоформ Hsp90 составляет 9 и 8.2 нМ. Также производное изоксазола NVP-AUY922 ингибирует пролиферацию большого ряда раковых клеток в интервале величин GI<sub>50</sub> от 2 до 40 нМ [129–135].

Гетероцикл **153a** (NVP-AUY922) использовался в ряде работ [136–143] в качестве соединения-лидера для структурных модификаций с целью поиска новых изоксазолсодержащих ингибиторов белка Hsp90.

В работах [136, 137] была проведена модификация положения 4 изоксазольного цикла NVP-AUY922. Авторы [136] синтезировали большую серию соединений **155**, в структуре которых ароматическое кольцо положения 4 было заменено на амидную группу с различными заместителями у атома азота, также была проведена небольшая модификация заместителей в положениях 3 и 5. Гетероциклы **155** были получены исходя из амидов 5-арилизоксазол-3-карбоновой кислоты **154** с использованием последовательности реакций нитрования положения 4, восстановления нитрогруппы и ее ацилирования (схема 54). К сожалению, выходы целевых соединений **155** в работе [136] не приводятся.

### Схема 54



**154**

**155**

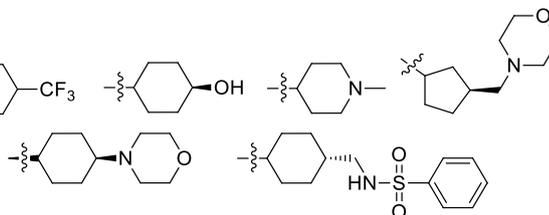
**59 соединений**

**R** = Cl, i-Pr

**R<sup>1</sup>** = NHEt, NHCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>,

**R<sup>2</sup>** = CH<sub>3</sub>, t-Bu, c-hexane,

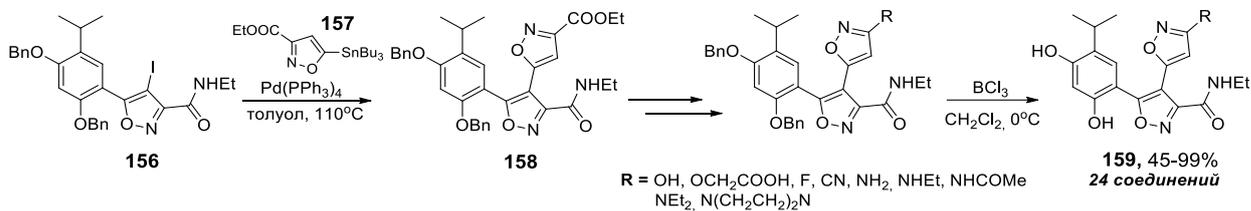
5-CH<sub>3</sub>-изоксазол-3-ил



i: HNO<sub>3</sub>/Ac<sub>2</sub>O; ii: Zn, NH<sub>4</sub>Cl, ТГФ/H<sub>2</sub>O; iii: R<sup>2</sup>COCl, Et<sub>3</sub>N, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; iv: BCl<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0°C

В работе [137] в молекуле NVP-AUY922 ароматический фрагмент в положении 4 был заменен на дополнительный изоксазольный цикл. Для получения бис(изоксазолов) **159** авторы [137] использовали производное 4-иодизоксазола **156** в реакции Стилле с изоксазол-5-илстаннаном **157**, а затем в продукте кросс-сочетания **158** проводили дальнейшую модификацию сложноэфирной группы (схема 55).

### Схема 55

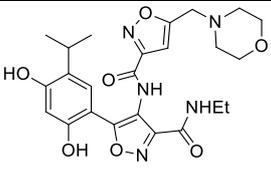
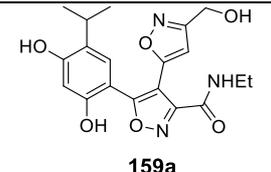


**R** = OH, OCH<sub>2</sub>COOH, F, CN, NH<sub>2</sub>, NHEt, NHCOMe, NEt<sub>2</sub>, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N

**24 соединений**

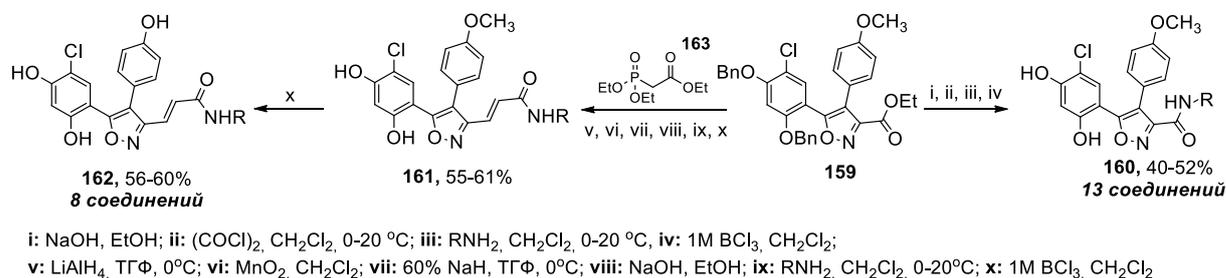
Авторы отмечают [136,137], что модификация положения 4 изоксазольного цикла в NVP-AUY922 сохраняет ингибирующую способность соединений **155**, **159** по отношению к Hsp90, кроме того, цитотоксичность гетероциклов **155**, **159** на ряде раковых клеточных линий также сохраняется или немного улучшается (табл. 20).

**Таблица 20.** Связывание соединений **155**, **159** с Hsp90 и цитотоксичность по отношению к клеточным линиям.

	IC <sub>50</sub> , μM					
	Hsp90	ATPase	NCI-H460	Her2	A2780	HCT-116
 <p><b>155a</b></p>	0.040		0.2			
 <p><b>159a</b></p>		0.279		0.042	0.005	0.013
NVP-AUY922	0.061	0.500	0.0024	0.012	0.006	0.020

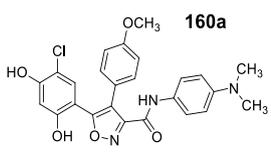
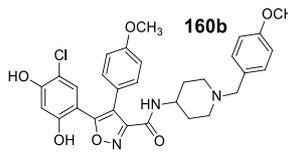
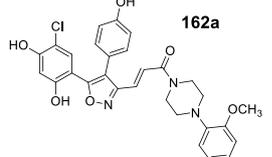
При модификации амидной группы в положении 3 изоксазольного цикла аналогов NVP-AUY922 авторы работы [138] ожидали получения ингибиторов двойного действия как по отношению к белку Hsp90, так и к митохондриальному ферменту пируватдегидрогеназе 1 (PDHK1), контролирующему окисление глюкозы, повышенная активность которого отмечается при различных разновидностях раковых заболеваний. Возможность синтеза соединений с двойным действием обусловлена гомологичностью АТФ-связывающего кармана этих белков. Серии *N*-замещенных амидов **160** и винилогов **162** были получены из эфира изоксазол-3-карбоновой кислоты **159** с использованием последовательности стандартных превращений сложноэфирной группы (схема 56) [138].

**Схема 56**



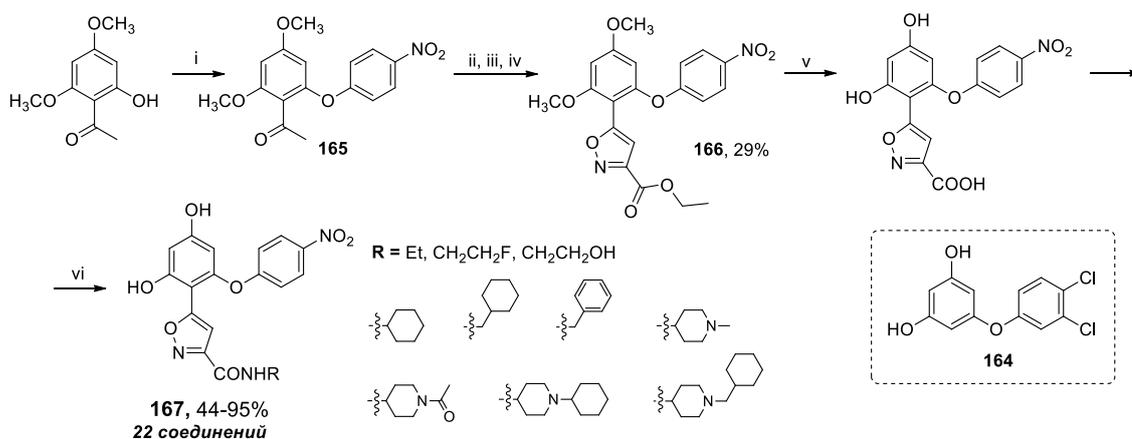
Биологические исследования показали (табл. 21), что амиды **160a** и **160b** являются эффективными ингибиторами обоих белков Hsp90 и PDHK1, однако они неактивны по отношению к раковым клеткам, что можно объяснить плохой проницаемостью в клетку через мембрану. При переходе к винилогу **162a** наблюдалось снижение ингибирующей активности к Hsp90 и PDHK1 при заметной цитотоксичности.

**Таблица 21.** Связывание соединений **160**, **162** с Hsp90 и PDHK1.

			
IC <sub>50</sub> (Hsp90), μM	0.091	0.016	0.512
IC <sub>50</sub> (PDHK1), μM	0.38	0.017	0.604

С учетом компьютерного моделирования в работах [139, 140] была проведена модификация структуры NVP-AUY922 путем замены заместителей в положениях 3\5 и удаления заместителя в положении 4 изоксазольного цикла. По результатам докинга библиотеки малых молекул в *N*-концевой домен Hsp90 было найдено, что диарилловый эфир **164** хорошо связывается с этим сайтом, на основании чего в положение 5 изоксазола NVP-AUY922 был введен соответствующий арилоксиарильный фрагмент [139, 140]. Для синтеза изоксазол-3-карбоксамидов **167** использовали сложный эфир **166**, который был получен из метиларилкетона **165**, как показано на схеме 57. [139].

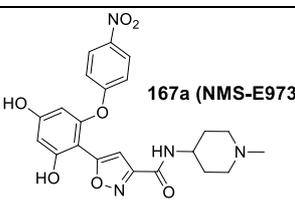
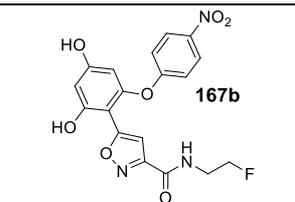
**Схема 57**



i: 4-F-нитробензол, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ДМСО, 110°C; ii: LiN(SiMe<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, ТГФ, -50°C; iii: (COOEt)<sub>2</sub>, 20°C; iv: NH<sub>4</sub>OH-HCl, EtOH, 78°C; v: 1M BBr<sub>3</sub> in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 20°C; vi: Амины, DIPEA, TBTU, DMA, 20°C

Большинство изученных гетероциклов **167** показало ингибирующую активность по отношению к белку Hsp90 и цитотоксичность в наномолярном диапазоне концентраций, при этом одно из наиболее активных соединений **167a** (NMS-E973) было также протестировано на ряде ферментов и более широкой выборке раковых клеточных линий (DU-4475, MV-4-11, SH-SY5Y, RKO и др.) (табл. 22) [139, 140]. Авторы [140] отмечают высокую селективность изученного соединения как к белку Hsp90, так и к раковым клеткам.

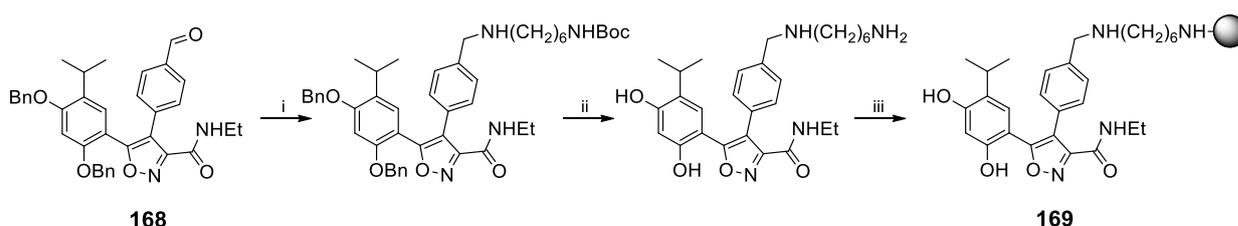
**Таблица 22.** Связывание соединений **167** с Hsp90 и цитотоксичность по отношению к клеточным линиям.

	IC <sub>50</sub> , μM					
	Hsp90	A2780	DU-4475	MV-4-11	SH-SY5Y	RKO
 <b>167a (NMS-E973)</b>	0.010	0.069	0.013	0.029	0.051	0.084
 <b>167b</b>	0.018	0.052	—*	—*	—*	—*

\* - данные отсутствуют

Соединение-лидер NVP-AUY922, наряду с другими известными ингибиторами Hsp90 был использован для выделения белка Hsp90 и его комплексов с «клиентскими» белками из раковых клеток. Для этой цели известные соединения-лидеры были пришиты к полимерному носителю (схема 58, на примере NVP-AUY922) [141]. Связанный с полимерным носителем изоксазол **169** был получен из соединения **168**, содержащего 4-формилфенильный заместитель в положении 4 изоксазольного цикла, путем введения диаминоалкильного фрагмента и связывания его с полимером.

**Схема 58**

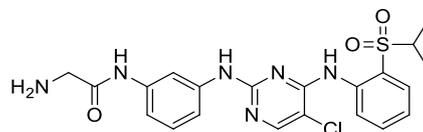


i: NH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>NHBoc, NaCNBH<sub>3</sub>, AcOH, MeOH, 20°C; ii: BCl<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 20°C; iii: Affigel-10, DIEA, DMAP, ДМФА

Данный подход, по мнению авторов, является удобным инструментом для изучения разницы в механизме действия ингибиторов Hsp90 [141].

Соединение NVP-AUY922 использовалось также в качестве одного из активных структурных фрагментов в молекулах двойного действия, содержащих дополнительный фрагмент, действующий на другую мишень [142, 143]. С учетом того, что Hsp90 играет важную роль в поддержании конформации, стабильности и функционировании многочисленных сигнальных белков и «белков-клиентов», включая многие онкогенные

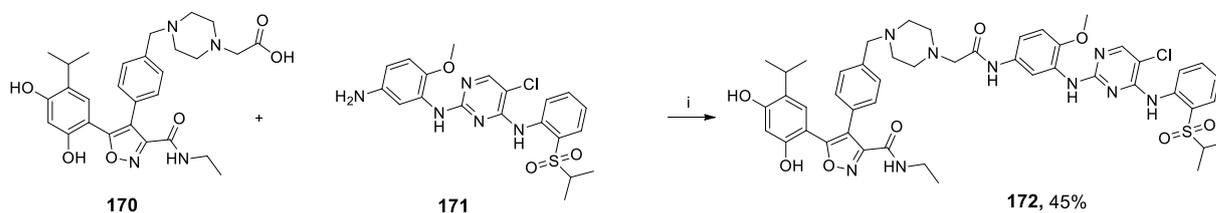
белки, например тирозинкиназу ALK, участвующую в передаче сигнального пути, авторы [142] синтезировали серию производных изоксазола **172**, содержащих фрагмент ингибитора фермента ALK (рис. 21).



**Рисунок 21.** Структурная формула ингибитора фермента ALK.

Синтез наиболее активного соединения **172a** осуществляли с использованием производного изоксазола **170** и соответствующего анилина **171** (схема 59)

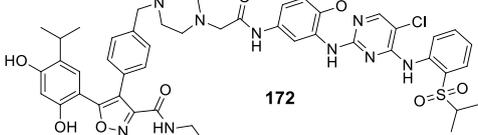
**Схема 59**



i: HATU, HOAT, DIPEA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

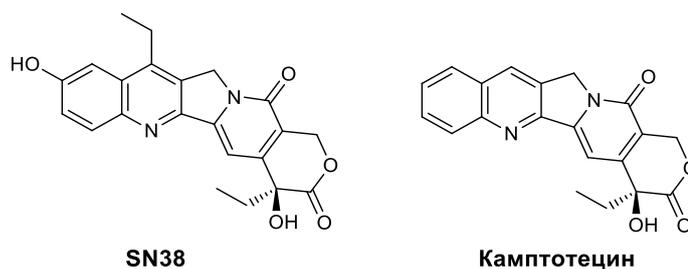
Соединение **172** показало высокую ингибирующую активность по отношению к белкам Hsp90 и ALK, а также цитотоксичность на клеточной линии H3122 (табл. 23), что по мнению авторов, является хорошей перспективой для дальнейших исследований [142].

**Таблица 23.** Связывание соединения **172** с Hsp90, ALK и цитотоксичность по отношению к клеточной линии H3122.

	IC <sub>50</sub> , nM		
	Hsp90	ALK	H3122
 <b>172</b>	100	17.3	11
<b>NVP-AUY922</b>	12	-	12.4
<b>170</b>	-	2.7	97

Еще одним примером соединения двойного действия является молекула, содержащая фрагменты структур NVP-AUY922 и SN38 [143]. Соединение SN38 (рис. 22) является эффективным аналогом камптотецина, индуцирующего апоптоз путем взаимодействия с ДНК-топоизомеразой I, однако SN38 обладает низкой селективностью и биодоступностью [143]. В работе [143] использовали способность NVP-AUY922 связываться с внеклеточными белками теплового шока (Hsp90), концентрация которых высока вокруг раковых клеток. При объединении NVP-AUY922 и SN38 с помощью легко

гидролизуемого линкера обеспечивается возможность доставки молекулы SN38 в раковые клетки.



**Рисунок 22.** Структурные формулы SN38 и Камптотецина

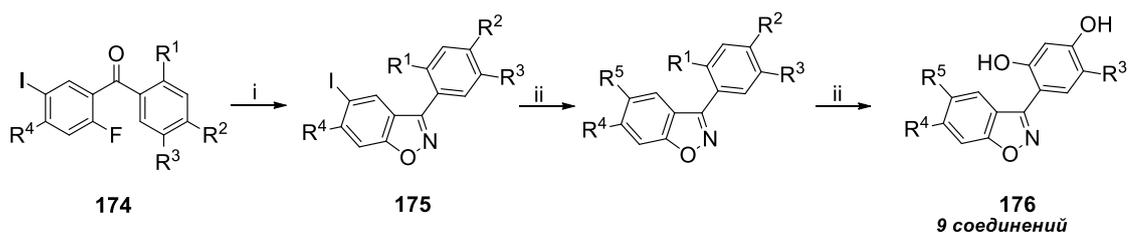
Было найдено, что гибридная молекула **173**, в которой два фрагмента соединены коротким линкером с амидной и сложноэфирной связями, является наиболее перспективной для дальнейших исследований. Как показано в таблице 24, конъюгат **173** показывает высокую цитотоксичность *in vitro*, превосходящую исходные молекулы NVP-AUY922 и SN38.

**Таблица 24.** Связывание соединения **173** с Hsp90 и цитотоксичность по отношению к раковым клеточным линиям.

	IC <sub>50</sub> , nM				
	Hsp90	A549	HCT116	MIA-PACA-2	Саран-1
<p><b>173</b></p>	72	56	22	46	36
<b>NVP-AUY922</b>	12	39	121	38	657
<b>SNX5422</b>	38	11	4	13	8

В качестве ингибиторов белка Hsp90 изучались также аннелированные с другим циклом производные изоксазола, содержащие фрагмент (4-хлор)резорцина. В работе [144] был найден эффективный ингибитор Hsp90 среди 3-арилбензизоксазолов **176** (схема 60). Для синтеза гетероциклов **176** использовались *o*-фторарилкетоны **174**, при обработке которых гидроксиламином происходило образование изоксазольного цикла за счет нуклеофильного замещения атома фтора под действием оксимной группы. Дальнейшие модификации заместителей арильных фрагментов бензизоксазола **175** привели к получению целевых структур **176** (схема 8) [144]. К сожалению, авторы не приводят выходы для промежуточных и целевых соединений.

### Схема 60



**R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>** = OH, OCH<sub>3</sub>

**R<sup>3</sup>** = H, Me, Cl, Br

**R<sup>4</sup>** = H, OH, OCH<sub>3</sub>

**R<sup>5</sup>** = H, N-метилпиперазин, -NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-морфолин

i: NH<sub>2</sub>OH, Py, 115°C, ii: амин, Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>, BINAP, <sup>t</sup>BuONa, толуол, 80°C, iii: BBr<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 20°C

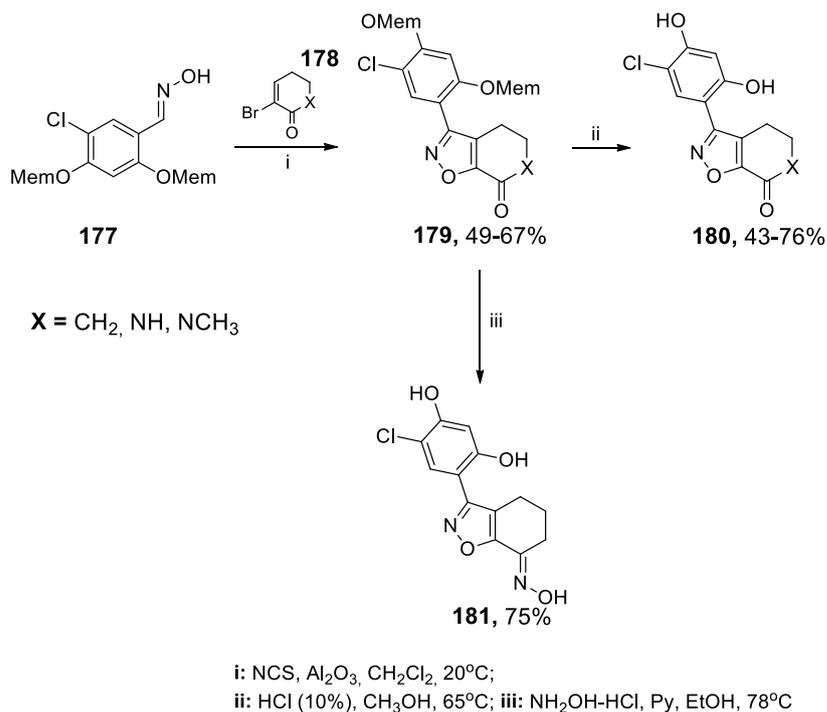
Соединение **176a** проявило ингибирующую активность по отношению к Hsp90, сравнимую с гелданамицином, а также цитотоксичность на серии раковых клеточных линий в наномолярном диапазоне концентраций (табл. 25) [144].

**Таблица 25.** Связывание соединений **176** с Hsp90 и цитотоксичность по отношению к раковым клеточным линиям.

	IC <sub>50</sub> , μM					
	Hsp90	HCT116	SKBR3	LnCap	DU145	H157
<p style="text-align: right;"><b>176a</b></p>	0.03	0.28	0.37	0.17	0.29	0.23
Гелданамицин	0.02					

В более поздней работе [145] при поиске новых ингибиторов белка Hsp90 была проведена замена ароматического кольца бензизоксазольного скаффолда на шестичленный алицикл или гетероцикл. Ряд соединений **179-181** был получен с использованием реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с участием гидроксамовых кислот **177** в присутствии NCS и бромвинилкетонов **178**, и последующих модификаций заместителей (схема 61). [145].

### Схема 61



Для производных изоксазола **179-181** было проведено изучение возможности связывания с белком Hsp90, в результате чего были найдены структуры, сопоставимые по активности с известным ингибитором белка теплового шока 17-AAG (табл. 26) [145].

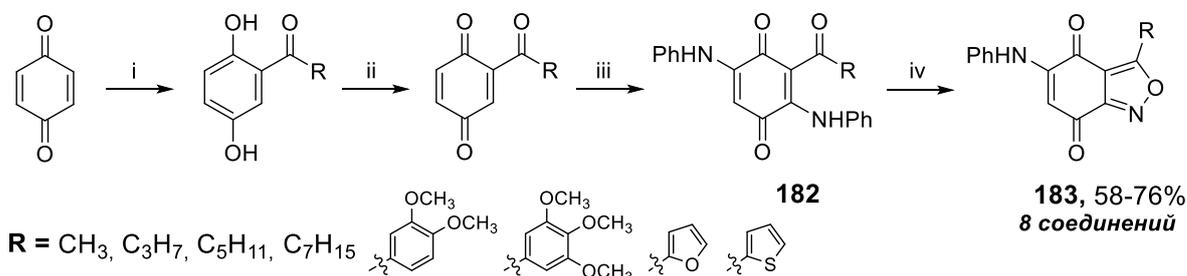
**Таблица 26.** Связывание соединений **35-38** с Hsp90.

	<p><b>180a</b></p>	<p><b>181</b></p>	<b>17-AAG</b>
IC <sub>50</sub> (Hsp90), μM	1.6	<b>0.8</b>	1.09

Авторы работы [146] предложили метод дезактивации шаперонной функции Hsp90 за счет его окислительного расщепления, реализуемого в условиях индуцированного окислительного стресса в клетке под действием системы аскорбат/менадион. Для этой цели в качестве ингибиторов Hsp90 были изучены производные изоксазола **183**, аннелированные с фрагментом бензохинона, который выполняет функцию источника радикальных центров, образующихся в присутствии восстановителя аскорбата натрия. Дезактивация белка Hsp90 фиксировалась при этом по деградации клиентских белков, таких как Акт киназа, которые участвуют в развитии раковых опухолей. Производные

изоксазола **183** были получены из коммерчески доступных альдегидов и бензохинона при использовании гидросиламина на стадии гетероциклизации кетона **182** (схема 62) [146].

### Схема 62



i: RCHO, C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>, hv; ii: Ag<sub>2</sub>O, MgSO<sub>4</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; iii: PhNH<sub>2</sub>, EtOH; iv: NH<sub>2</sub>OH·HCl, AcONa, EtOH

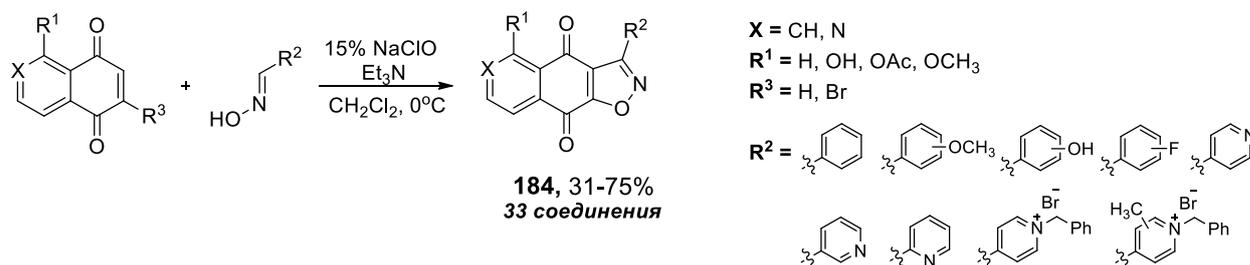
Было найдено, что гетероциклы **183** проявляют низкую цитотоксичность на серии раковых клеточных линий, однако оказалось, что эти соединения в присутствии аскорбата натрия способствуют деградации белка Akt при отсутствии модификации структуры Hsp90. Результаты цитотоксичности наиболее активных соединений приведены в таблице 27 [146].

**Таблица 27.** Цитотоксичность соединений **183** (IC<sub>50</sub>, μM) по отношению к клеточным линиям.

	 <b>183a</b>	 <b>183b</b>	<b>Доксорубин</b>
T24	3.4	15.1	0.46
DU-145	74.2	27.5	0.93
AG1523	29.6	40.7	0.53

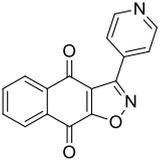
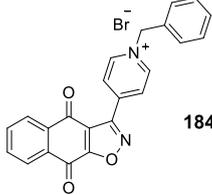
Сходный структурный тип производных изоксазола **184** был изучен в качестве ингибиторов Hsp90 в работе [147]. Авторы синтезировали большую серию аннелированных изоксазолонaftо- и изоксазолоазанаftохинонов **184** из синтетически доступных гидроксамовых кислот и наftо\азанаftохинонов (схема 63).

### Схема 63

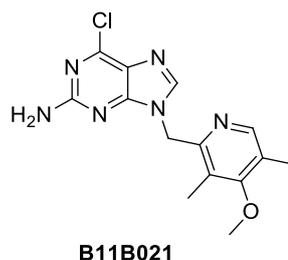


Изучение биологической активности соединений **184** показало, что их цитотоксичность и ингибирующая активность по отношению к Hsp90 сопоставима с активностью известного стандарта 17-AAG (табл. 28). Авторы предполагают, что результаты, полученные для соединений-лидеров **184a,b**, связаны с увеличением их полярности и растворимости в воде.

**Таблица 28.** Связывание соединений **39** с Hsp90 (ФП анализ) и цитотоксичность по отношению к клеточным линиям.

	 <b>184a</b>	 <b>184b</b>	<b>17-AAG</b>
Hsp90	0.39	0.034	1.095
NCl-H460	0.14	0.018	0.010
STO	0.011	0.0022	–
A431	0.056	0.0016	0.069

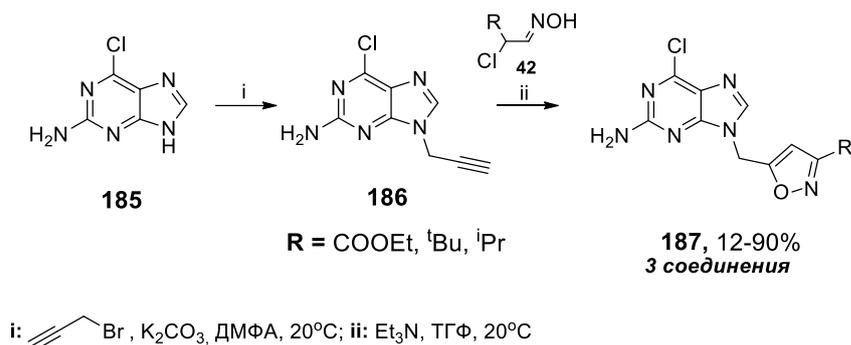
Изоксазольный цикл также использовался для модификации известного эффективного ингибитора белка Hsp90 – производного пурина В11В021 с целью улучшения его фармакологического профиля (рис. 23) [148]. Соединение В11В021 показало высокую максимально переносимую дозу, но не обладало длительным действием, что требовало более высоких доз для достижения биологических эффектов в клинических испытаниях.



**Рисунок 23.** Ингибитор белка Hsp90 – производное пурина В11В021

Введение изоксазольного фрагмента в молекулу производного пурина осуществлялось с использованием реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения хлоргидроксамовых кислот **42** к пропаргилпуринам **186** (схема 64)

### Схема 64



Изучение цитотоксичности соединений **187** и связывания с белком Hsp90 показало, что результаты не превосходят данные для исходного производного пурина В11В021 и стандарта 17-ААG (рис. 24), однако рентгеноструктурный анализ комплексов производного изоксазола **187** с *N*-терминальным доменом Hsp90 позволил получить дополнительную информацию о влиянии конформационных эффектов на связывание с АТФ-сайтом белка Hsp90.

	% Ингибирования при 10 мМ		
	<b>187a</b>	<b>17-ААG</b>	<b>В11В021</b>
Hsp90	95.8	100	96.1
MCF-7	15.66	79.74	84.81
SK-BR-3	45.76	74.44	71.94
HCT116	26.03	88.89	86.20

**187a**

**Рисунок 24.** Связывание соединений **43** с Hsp90 (ФП анализ) и цитотоксичность по отношению к клеточным линиям.

Таким образом, анализ литературных данных показал, что изоксазольный цикл широко используется в дизайне соединений с противоопухолевой активностью, действующих на различные молекулярные мишени. Среди рассмотренных мишеней для противоопухолевой терапии особое место занимают многочисленные ферменты киназы, которые являются участниками сигнальных путей. Разработка ингибиторов сигнальных путей сопряжена с проблемой селективности к определенному типу киназ, что требует “тонкой настройки” структуры ингибитора, тщательного подбора заместителей в гетероциклическом ядре. Лиганды белка тубулина или белка теплового шока Hsp90, как правило, представляют собой соединения, в молекуле которых изоксазольный цикл является центральным фрагментом, в котором варьируются, в основном, ароматические заместители. Несмотря на большое структурное разнообразие гетероциклов ряда изоксазола противоопухолевого действия для их получения используются, как правило, два основных метода формирования изоксазольного цикла: 1) реакции 1,3-диполярного присоединения генерируемых *in situ* нитрилоксидов к ненасыщенным соединениям и 2)

реакции гетероциклизации 1,3-диэлектрофилов под действием гидроксиламина. Оба указанных метода имеют ограничения по возможности введения функциональных групп в гетероциклическое ядро, в связи с чем по-прежнему остается актуальной разработка новых методов синтеза и функционализации производных изоксазола, позволяющих вводить заместители, пригодные для дальнейшей модификации.

### 3. Обсуждение результатов<sup>1,2</sup>

Известно, что производные изоксазола, обладая широким спектром биологической активности, как правило, характеризуются низкой токсичностью [149], что делает их привлекательными объектами в дизайне лекарственных препаратов. В литературном обзоре также показано, что изоксазольный цикл используется в качестве центрального ядра соединений, обладающих противораковым действием. Фрагмент изоксазола входит в состав сульфамидных лекарственных препаратов (сульфоизоксазолов), полусинтетических пенициллинов (оксациллин), противоревматозных препаратов (лефлуномид), модуляторов центральной нервной системы (изокарбоксазид) и других лекарственных средств [150, 151].

Не менее привлекательным направлением использования гетероциклов ряда изоксазола является получение новых флуорофоров на их основе, которые могут найти применение в качестве флуоресцентных меток и зондов, например, для изучения механизмов действия лекарственных препаратов. Тем не менее, изоксазолсодержащие флуорофоры до настоящего времени практически не изучались. Высокий интерес к производным изоксазола стимулирует поиск новых синтетических подходов к формированию изоксазольного цикла и его дальнейшей функционализации. В связи с этим, настоящее исследование посвящено разработке новых синтетических подходов к нитрозамещенным изоксазолам, их последующей модификации и направленному синтезу большой библиотеки соединений с флуоресцентными свойствами и различными типами биологической активности.

#### **3.1. Гетероциклизация электрофильных диенов. Синтез бис(изоксазолов) – модуляторов АМРА-рецепторов**

Ранее нами был разработан новый препаративный метод синтеза функционализированных 5-нитроизоксазолов, на основе реакции гетероциклизации электрофильным алкенов под действием тетранитрометана (ТНМ), активированного триэтиламино (ТЭА) [153]. В ходе изучения синтетического потенциала этой реакции было найдено, что метод применим, в том числе, для синтеза нитрозамещенных бис(изоксазолов)<sup>3</sup>. Согласно результатам компьютерного моделирования бис(5-аминоизоксазолы) представляют интерес в качестве бивалентных лигандов АМРА

<sup>1</sup> В этом разделе используется независимая нумерация соединений, схем, таблиц и рисунков

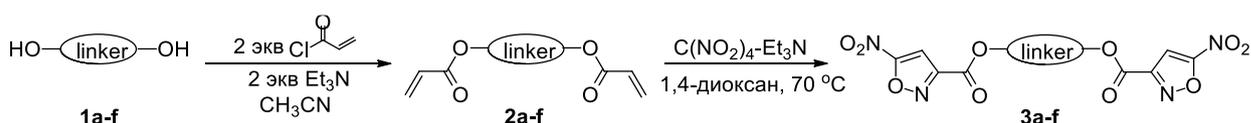
<sup>2</sup> Основное содержание данного раздела изложено в опубликованных работах автора, приведенных в разделе 7

<sup>3</sup> Василенко Д.А., Кандидатская диссертация, 2017, Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова

рецептора, поэтому в рамках данной диссертационной работы предполагалось получить серию бис(5-нитроизоксазолов) и изучить их в реакции восстановления нитрогруппы.

Для этой цели была синтезирована серия бис(5-нитроизоксазолов) **3a-f** с линейным алифатическим и бис(метилен)бензольным линкерами. Исходные диены **2a-f** были получены из соответствующих диолов **1a-f** с использованием двух эквивалентов хлорангидрида акриловой кислоты в присутствии Et<sub>3</sub>N (табл. 1). Первоначально реакцию ацилирования проводили в хлористом метиле согласно методике [153], однако в этом случае диены **2a-f** были получены с умеренным выходом (до 50%), что может быть связано с низкой растворимостью исходных диолов в хлористом метиле. Замена хлористого метилена на ТГФ также не привела к увеличению выхода. Было показано, что более высокий выход бис(эфиров) **2a-f** (до 85%) достигается при использовании ацетонитрила в качестве растворителя.

**Таблица 1.** Синтез электрофильных диенов **2** и бис(5-нитроизоксазолов) **3**.



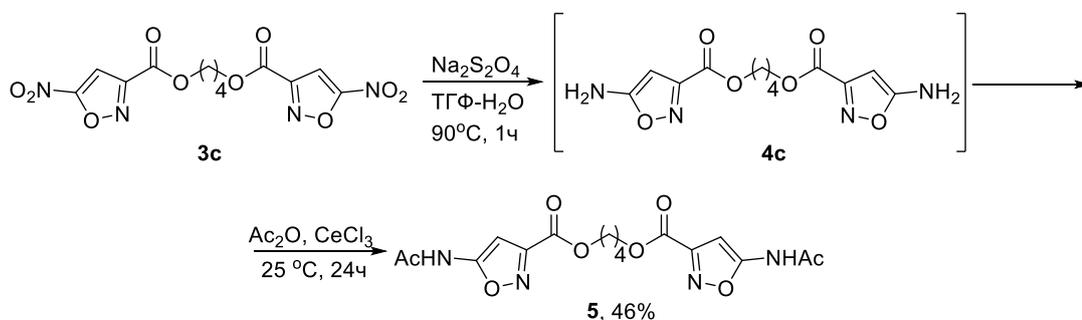
№	Соединение	Линкер	Выход, %*	
			<b>2</b>	<b>3</b>
1	<b>a</b>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -	73	46
2	<b>b</b>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -	76	55
3	<b>c</b>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -	81	64
4	<b>d</b>		85	32
5	<b>e</b>		84	40
6	<b>f</b>		82	22

\* Выход хроматографически выделенного продукта

Электрофильные алкены **2a-f** далее были введены в реакцию гетероциклизации под действием комплекса ТНМ-ТЭА в 1,4-диоксане при 70 °С, что позволило получить бис(5-нитроизоксазолы) **3a-f** с удовлетворительными или хорошими выходами. Было показано, что выход продукта зависит от типа линкера: так, для изоксазолов **3a-c** с алкильным линкером наблюдался более высокий выход, чем в случае **3d-f** с ароматическим линкером. Полученный результат можно объяснить легкостью окисления бензильного положения в условии реакции.

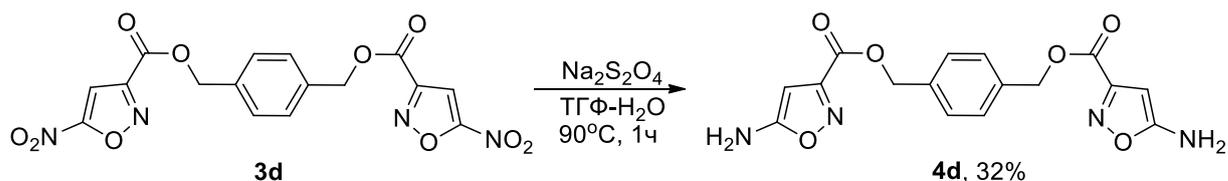
Поиск оптимальных условий восстановления бис(5-нитроизоксазолов) был проведен на модельном изоксазоле **3c**. Было показано, что использование таких восстановительных систем, как  $\text{SnCl}_2/\text{EtOH}$  или  $\text{Zn}/\text{CH}_3\text{COOH}$  [154] оказалось неэффективным. Также не удалось выделить продукт восстановления нитрогруппы при использовании в качестве восстановителя дитионита натрия в среде  $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ . Мы предположили, что такой результат может быть связан с крайне низкой растворимостью соответствующего бис(5-аминоизоксазола) **4c**. Для подтверждения этого предположения реакционная смесь, полученная после восстановления изоксазола **3c** под действием дитионита натрия, была упарена досуха и введена в реакцию ацилирования уксусным ангидридом в присутствии хлорида церия<sup>4</sup>. При этом был получен ацилированный бис(амин) **5** с удовлетворительным выходом (схема 1).

Схема 1



Наибольший интерес в качестве положительного модулятора АМРА рецептора представляет бис(5-аминоизоксазол) **4d**, в молекуле которого гетероциклические фрагменты связаны ароматическим линкером. Целевой бис(амин) **4d** был получен восстановлением соответствующего нитропроизводного **3d** с использованием дитионита натрия. Оказалось, что целевой продукт **4d** обладает большей по сравнению с аналогом **4c** растворимостью в органических растворителях, что позволило его выделить из реакционной смеси, не прибегая к процедуре ацилирования, с удовлетворительным выходом (схема 2).

Схема 2



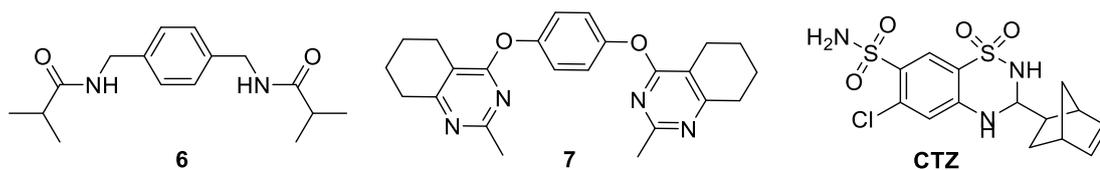
<sup>4</sup> Разработанный нами метод будет описан в разделе 3.2.2 обсуждения результатов.

Взаимодействие бис(изоксазола) **4d** с АМРА рецептором было изучено методом патч-кламп с использованием свежевыделенных нейронов Пуркинье мозжечка новорожденных крыс<sup>5</sup>. Была проведена оценка влияния соединения **4d** на каинат-индуцированные токи, результаты приведены в табл. 2. Было показано, что исследуемый бис(изоксазол) **4d** потенцирует каинат-индуцированные токи в широком диапазоне концентраций от  $10^{-12}$  до  $10^{-6}$  М с максимумом потенцирования 170% при концентрации  $10^{-11}$  М.

**Таблица 2.** Концентрационное влияние различных соединений на каинат-индуцированные токи АМРА-рецептора в клетках Пуркинье мозжечка крысы.

Соединение	Число нейронов	Концентрация соединения/М, Текущая амплитуда (% к контролю, $\pm$ SD)						
		$10^{-12}$	$10^{-11}$	$10^{-10}$	$10^{-9}$	$10^{-8}$	$10^{-7}$	$10^{-6}$
<b>4d</b>	4	141 $\pm$ 7	172 $\pm$ 9	152 $\pm$ 7	144 $\pm$ 5	129 $\pm$ 4	113 $\pm$ 4	105 $\pm$ 3
<b>6</b>	5		106 $\pm$ 6	118 $\pm$ 7	140 $\pm$ 8	128 $\pm$ 5	119 $\pm$ 4	119 $\pm$ 3
<b>7</b>	7	108 $\pm$ 5	132 $\pm$ 5	143 $\pm$ 9	170 $\pm$ 11	123 $\pm$ 8	85 $\pm$ 6	78 $\pm$ 4
<b>CTZ</b>	8						100 $\pm$ 3	145 $\pm$ 11

Необходимо отметить, что значение эффективной концентрации для соединения **4d** сравнимо или превосходит соответствующие значения для ранее разработанных в нашей лаборатории положительных аллостерических модуляторов (ПАМ) АМРА рецептора **6** и **7** [155, 156], структуры которых приведены на рис. 1, и значительно превосходит показатели для известного стандарта – циклотиазида (**CTZ**) [157].

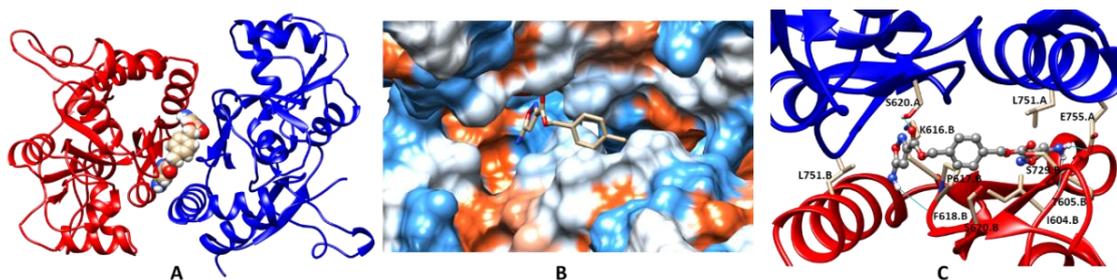


**Рисунок 1.** Примеры известных ПАМ АМРА рецептора.

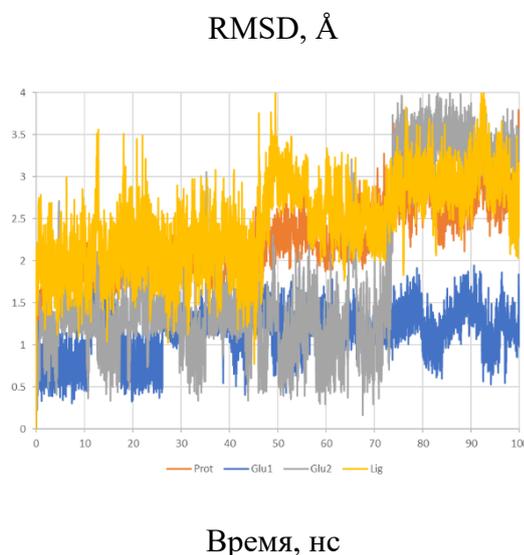
Для выяснения вероятного механизма действия ПАМ **4d**, было проведено моделирование его взаимодействия с димерным лиганд-связывающим доменом рецептора GluA2 АМРА с использованием молекулярного докинга и молекулярной динамики. Подобно другим более крупным димерным модуляторам [158], молекула **4d** занимает слегка несимметричное положение, встраивается в центральный и один из боковых подкарманов симметричного сайта связывания ПАМ (рис. 2А, В). Связывание стабилизируется соответствием объема полости, гидрофобными взаимодействиями и

<sup>5</sup> Биологические испытания выполнены в ИФАВ РАН к.б.н. В.Л. Замойским и д.б.н. В.В. Григорьевым

рядом водородных связей (рис. 2В, С). График среднеквадратичных отклонений (СКО) тяжелых атомов белка, глутамата и лиганда (рис. 3), а также визуальный осмотр траектории подтверждают, что стабильность системы сохраняется в течение всего периода моделирования (100 нс), хотя положение лиганда немного скорректировано по сравнению с результатами докинга. В целом, эти результаты подтверждают, что соединение **4d** действительно может действовать как положительный модулятор рецептора АМРА, связывающийся в проверенном сайте связывания ПАМ<sup>6</sup>.



**Рисунок 2.** Способ связывания ПАМ **4d** уточнен с использованием метода молекулярной динамики. (А) Общий вид димерного лиганд-связывающего домена рецептора АМРА (GluA2) и расположение сайта связывания. (В) Карманы на молекулярной поверхности белка, окрашенные по типу гидрофобных или гидрофильных областей (коричневый для гидрофобных и синий для гидрофильных). (С) Подробный вид сайта связывания. Лиганд представлен серой моделью, аминокислотные остатки, расположенные в пределах 3 Å от него, представлены бежевой моделью. Водородные связи показаны голубыми линиями.



**Рисунок 3.** RMSD тяжелых атомов белка, глутамата и лиганда (**4d**) при молекулярно-динамическом моделировании комплекса ПАМ с димерным лиганд-связывающим доменом GluA2 АМРА-рецептора.

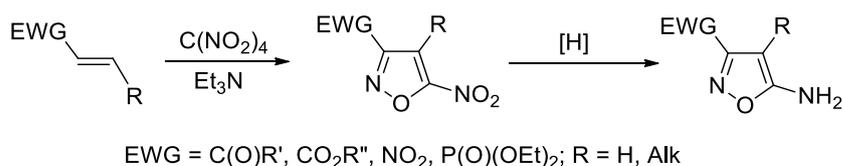
<sup>6</sup> Моделирование выполнено на кафедре медицинской химии и тонкого органического синтеза химического факультета МГУ к.х.н. Е.В. Радченко

Таким образом, с использованием реакции гетероциклизации электрофильных диенов была получена серия бис(5-нитроизоксазолов), которые были изучены в реакции восстановления. Найдены условия восстановления нитрогруппы, в результате чего был получен бис(5-аминоизоксазол) **4d** – эффективный положительный модулятор АМРА рецептора, проявляющий активность в субнанолярном диапазоне концентраций.

### 3.2. Нитрование 5-аминоизоксазолов. Синтез 5-амино-4-нитроизоксазолов

Ранее в нашей лаборатории был разработан региоселективный метод синтеза функционализированных 5-аминоизоксазолов на основе реакции гетероциклизации электрофильных алкенов под действием комплекса ТНМ-ТЭА и последующего восстановления нитрогруппы образующихся 5-нитроизоксазолов (схема 3) [152]. Было найдено, что наиболее эффективными восстановителями нитрогруппы, позволяющими сохранить изоксазольный цикл, являются системы SnCl<sub>2</sub>/EtOH, Zn/AcOH или дитионит натрия [154].

Схема 3



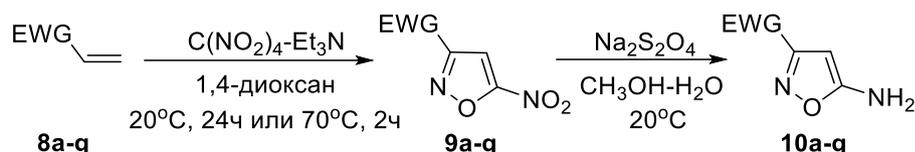
Незамещенный по положению 4 изоксазольный цикл 5-аминоизоксазолов может быть использован для дальнейшей функционализации этого положения, в частности, для введения нитрогруппы. В связи с этим в данной части диссертационной работы был осуществлен поиск оптимальных условий нитрования с целью получения 5-амино-4-нитроизоксазолов.

#### 3.2.1. Синтез 5-нитроизоксазолов **9a-g** и 5-аминоизоксазолов **10a-g**

Для изучения 5-аминоизоксазолов в реакциях нитрования был выбран ряд гетероциклов, содержащих различные функциональные группы в положении 3 изоксазольного кольца. Для получения аминзамещённых гетероциклов использовалась разработанная ранее в нашей лаборатории синтетическая последовательность, приведенная в табл. 3. 5-Нитроизоксазолы **9a-g** были получены с хорошими выходами и полностью охарактеризованы спектрально. Строение и состав впервые синтезированного соединения **9g** были подтверждены спектрами ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C, а также данными масс-спектрометрии высокого разрешения (HRMS-ESI).

Восстановление 5-нитроизоксазолов **9a-g** проводили под действием дитионита натрия в качестве мягкого восстановителя нитрогруппы, при этом была получена серия 5-аминоизоксазолов **10a-h** с удовлетворительными выходами. Строение 5-аминоизоксазолов **10a-h** было подтверждено данными ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  спектроскопии, для впервые полученного 5-аминоизоксазола **10g** был также получен масс-спектр высокого разрешения.

**Таблица 3.** Синтез 5-нитро- и 5-аминоизоксазолов.



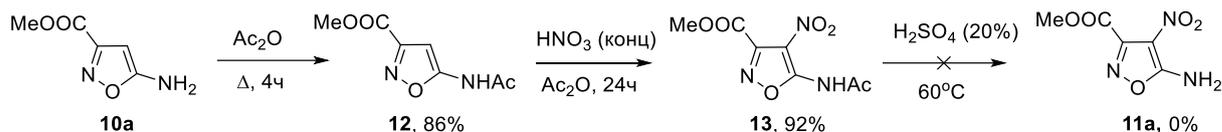
EWG	5-Нитроизоксазол	Выход, %*	5-Аминоизоксазол	Выход, %*
-COOCH <sub>3</sub>	<b>9a</b>	60	<b>10a</b>	40
-C(O)CH <sub>3</sub>	<b>9b</b>	80	<b>10b</b>	30
-C(O)CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	<b>9c</b>	86	<b>10c</b>	32
-C(O)Ph	<b>9d</b>	85	<b>10d</b>	40
-P(O)(OEt) <sub>2</sub>	<b>9e</b>	80	<b>10e</b>	45
	<b>9f</b>	75	<b>10f</b>	38
	<b>9g</b>	70	<b>10g</b>	40

\* Выход хроматографически выделенного продукта

### 3.2.2. Синтез 5-амино-4-нитроизоксазолов **11a-g**

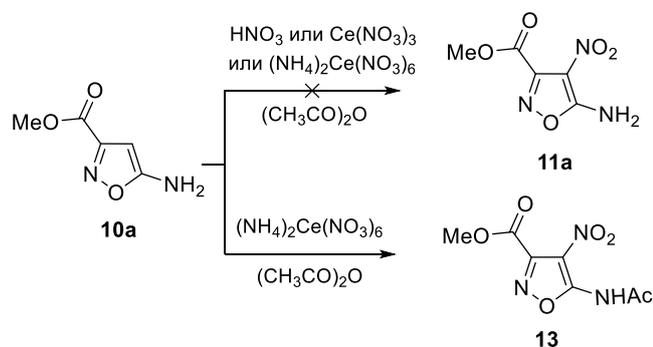
Далее была проведена оптимизация условий нитрования 5-аминоизоксазолов на примере модельного соединения **10a**. В литературе описано несколько примеров синтеза 5-амино-4-нитроизоксазолов с использованием последовательности реакций ацилирования 5-аминогруппы, нитрования положения 4 изоксазольного цикла и удаления защитной группы [159]. При попытке воспроизвести эти условия мы обнаружили, что наличие электрооакцепторного заместителя в положении 3 изоксазольного цикла значительно снижает нуклеофильность аминогруппы 5-аминоизоксазолов, поэтому ацилирование модельного гетероцикла **10a** удалось провести только при кипячении в избытке уксусного ангидрида (схема 4). Дальнейшее нитрование 5-(*N*-ацетиламино)изоксазола **12** под действием концентрированной азотной кислоты приводит к образованию продукта **13**, однако удаление защитной группы в описанных условиях (20% раствор серной кислоты) не происходит, а использование более жестких условий (кипячение в 20% растворе серной кислоты) приводит к деструкции гетероцикла.

#### Схема 4



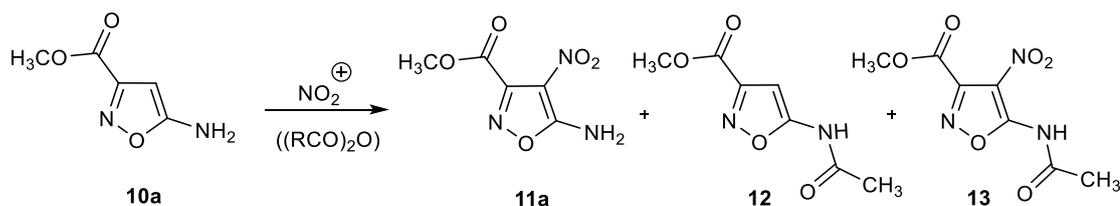
Учитывая низкую нуклеофильность 3-EWG-5-аминоизоксазолов, мы предположили, что введение нитрогруппы в положение 4 изоксазольного цикла можно осуществить без дополнительной стадии ацилирования аминогруппы. С целью поиска оптимальных условий нитрования модельный 5-аминоизоксазол **10a** был изучен в реакциях с различными мягкими нитрующими системами (схема 5).

#### Схема 5



Было найдено, что нитрование гетероцикла **10a** под действием ацетилнитрата, генерируемого *in situ* в смеси уксусного ангидрида с азотной кислотой (табл. 4, № 1), нитратом церия (табл. 4, № 3, 4) или церий аммоний нитратом (табл. 4, № 5) не приводит к образованию 5-амино-4-нитроизоксазола **11a**. Использование азотной кислоты приводит к деструкции гетероцикла (табл. 4, № 1, 2), а при использовании солей церия наряду с реакцией нитрования протекает ацилирование аминогруппы (табл. 4, № 3–5), в частности, в реакции изоксазола **10a** с церий аммоний нитратом единственным продуктом является соединение **13** (табл. 4, № 5).

**Таблица 4.** Оптимизация условий нитрования 5-аминоизоксазолов на модельном гетероцикле **10a**<sup>a</sup>.

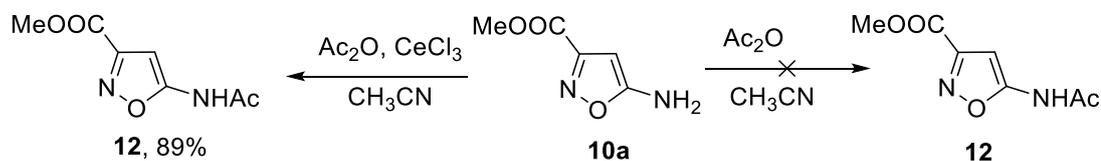


№	Нитрующий реагент (NO <sub>2</sub> <sup>+</sup> )	Соотношение, экв. <b>10a</b> :(NO <sub>2</sub> <sup>+</sup> )	Растворитель	t, ч	Продукт и выход, % <sup>c</sup>
1	HNO <sub>3</sub> (к)	1:1	(CH <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> O	24	- <sup>d</sup>
2		1:1	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	12	- <sup>d</sup>
3	Ce(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	1:1	(CH <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> O	12	<b>12</b> , 10 <b>13</b> , 26
4		1:2		12	<b>12</b> , 8 <b>13</b> , 34
5	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> Ce(NO <sub>3</sub> ) <sub>6</sub>	1:1	(CH <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> O	14	<b>13</b> , 40
6		1:1 <sup>b</sup>	CH <sub>3</sub> CN	14	0 <sup>e</sup>
7	NO <sub>2</sub> BF <sub>4</sub>	1:1	CH <sub>3</sub> CN	24	<b>11a</b> , 20
8	Me <sub>4</sub> NNO <sub>3</sub>	1:2	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	12	- <sup>d</sup>
9		1:1		12	- <sup>d</sup>
10		1:1		0.5	0 <sup>e</sup>
11	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1:1	(CF <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> O	12	<b>11a</b> , 70
12		1:1 <sup>b</sup>	CH <sub>3</sub> CN	12	<b>11a</b> , 5 <sup>e</sup>
13		1:1	(CH <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> O	12	<b>12</b> , 5 <sup>e</sup>
14	Me <sub>4</sub> NNO <sub>3</sub>	1:1	(CF <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> O	12	<b>11a</b> , 72
15		1:1 <sup>b</sup>	CHCl <sub>3</sub>	12	- <sup>d</sup>
16		1:1 <sup>b</sup>	CH <sub>3</sub> CN	12	- <sup>d</sup>

<sup>a</sup> Условия реакции: **10a** (0.25 ммоль), нитрующий реагент NO<sub>2</sub><sup>+</sup>, растворитель (2 мл); <sup>b</sup> № 6: добавлено 2 экв. Ac<sub>2</sub>O; № 12: добавлено 20 экв. (CF<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O; № 14, 15: добавлено 2 экв. (CF<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O; <sup>c</sup> выход после колоночной хроматографии; <sup>d</sup> нет продукта реакции; <sup>e</sup> отсутствие реакции или неполная реакция.

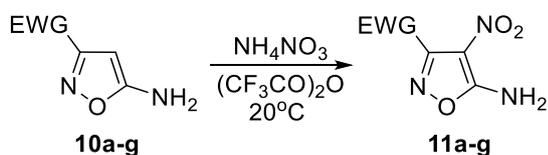
Следует отметить, что обнаруженный нами процесс катализа солями церия реакции ацилирования 5-аминоизоксазолов позволил разработать более эффективную экспериментальную методику введения ацильной защиты. Мы показали, что в присутствии хлорида церия (III) даже при использовании эквимольного количества уксусного ангидрида при комнатной температуре 5-(N-ацетиламино)изоксазол **13** образуется с высоким выходом (схема 6).

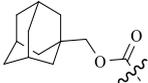
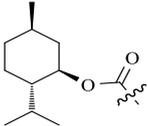
**Схема 6**



Дальнейший поиск нитрующих реагентов показал, что использование тетрафторбората нитрония (табл. 4, № 7) или нитратов аммония ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$  или  $\text{Me}_4\text{NNO}_3$ ) (табл. 4, № 11, 14) в трифторуксусном ангидриде в реакции с изоксазолом **10a** приводит к образованию целевого продукта **11a** с выходами от 20 до 72%, при этом наилучшие результаты были получены при действии на гетероцикл **10a** нитратов аммония в трифторуксусном ангидриде в качестве растворителя. Попытки использовать трифторуксусный ангидрид в смеси с другими растворителями приводит к снижению выхода изоксазола **11a** (табл. 4, № 12, 14, 15). В найденных оптимальных условиях была получена серия 5-амино-4-нитроизоксазолов **11a-g** (табл. 5).

**Таблица 5.** Синтез 5-амино-4-нитроизоксазолов **11a-g**

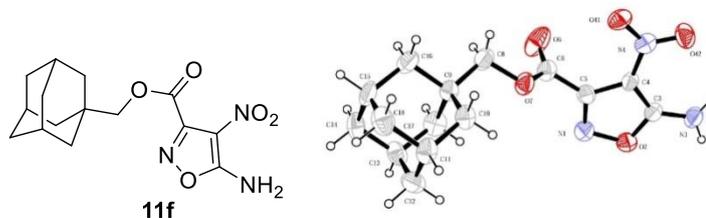


№	5-Аминоизоксазол	5-Амино-4-нитроизоксазол	EWG	Выход, %*
1	<b>10a</b>	<b>11a</b>	-CO(O)Me	70
2	<b>10b</b>	<b>11b</b>	-C(O)Me	78
3	<b>10c</b>	<b>11c</b>	-C(O)Et	35
4	<b>10d</b>	<b>11d</b>	-C(O)Ph	64
5	<b>10e</b>	<b>11e</b>	-P(O)(OEt) <sub>2</sub>	80
6	<b>10f</b>	<b>11f</b>		55
7	<b>10g</b>	<b>11g</b>		66

\* Выход хроматографически выделенного продукта

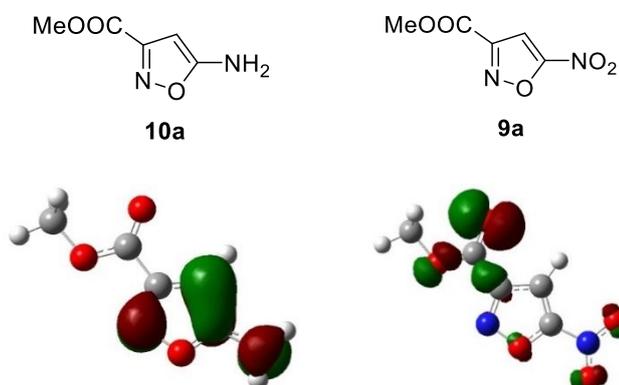
Строение 5-амино-4-нитроизоксазолов **11a-g** подтверждено спектрами ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$ , состав – данными масс-спектрометрии высокого разрешения. В спектрах ЯМР  $^1\text{H}$  5-амино-4-нитроизоксазолов **11a-g** отсутствует характеристичный для незамещенных по положению 4-аминоизоксазолов сигнал протона C(4)-H при  $\delta$  5.4–5.7 м.д. Также, смещение уширенного сигнала  $\text{NH}_2$ -группы в слабое поле ( $\delta$  6.7–7.7 м.д.,  $\Delta\delta$  2.1–2.5 м.д.) однозначно указывает на наличие сильной электроакцепторной нитрогруппы в положении 4 5-аминоизоксазолов. В спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  гетероциклов **11a-g** происходит смещение в слабое поле сигналов атомов C(4), связанных с нитрогруппой, которые проявляются при  $\delta$  109–110 м.д. ( $\Delta\delta \approx 30$  м.д.), при этом сигналы атомов углерода C(3) и C(5) гетероцикла сохраняют положения химсдвигов и наблюдаются при  $\delta$  151–158 м.д. и

159–166 м.д. Дополнительно структура 5-амино-4-нитроизоксазолов была подтверждена рентгеноструктурным анализом на примере соединения **11f** (рис. 4).



**Рисунок 4.** Молекулярная структура соединения **11f**.<sup>7</sup>

Для более однозначной оценки реакционной способности 5-замещенных изоксазолов в процессе нитрования были выполнены квантово-химические расчеты электронной плотности атомов C4 и C5 5-аминоизоксазола **10a** и его нитрозамещенного аналога **9a**<sup>8</sup>. Как показано на рис. 5 для 5-аминоизоксазола **10a** ВЗМО имеют высокие орбитальные коэффициенты на атоме C4 гетероцикла, что делает его более реакционноспособным по отношению к электрофилам по сравнению с 5-нитроизоксазолом, для которого ВЗМО C4 и C5 имеют низкие значения орбитальных коэффициентов (рис. 5).



**Рисунок 5.** НСМО 5-аминоизоксазола **10a** и 5-нитроизоксазола **9a**. Граничные орбитали были получены с использованием функционала ВЗLYP и базиса 6-31G(d,p).

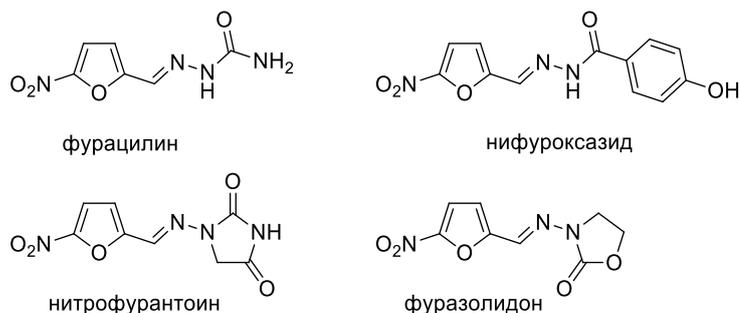
Действительно, попытка нитрования 5-нитроизоксазола **9a** в оптимальных условиях для аминзамещенных аналогов ( $\text{NH}_4\text{NO}_3/(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ ), а также при обработке смесями  $\text{HNO}_3/\text{Ac}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HNO}_3$ , или олеум– $\text{HNO}_3$  при комнатной температуре или при нагревании (120 °C) не привела к образованию 4,5-динитроизоксазола, и только исходное соединение **9a** было выделено из реакционных смесей.

<sup>7</sup> [CCDC 984431](#)

<sup>8</sup> Квантово-химические расчеты выполнены на кафедре медицинской химии и тонкого органического синтеза химического факультета МГУ к.х.н. Д.А. Василенко

### 3.2.3. Изучение антибактериальной и противогрибковой активности 5-амино-4-нитроизоксазолов **11a-g, 13**

Известно, что нитрозамещенные гетероциклы проявляют антибактериальную активность, в частности, производные фурана широко используются в качестве антибактериальных препаратов. На рис. 6 приведены формулы фурацилина и его структурных аналогов – нифуроксазида, нитрофурантоина, фуразолидона [160].



**Рисунок 6.** Известные антибактериальные препараты на основе нитрозамещенных фуранов.

Необходимо отметить, что ввиду высокой резистентности бактериальных клеток к тем или иным антибиотикам постоянно требуется поиск новых структурных типов соединений с антибактериальной и противогрибковой активностью. В связи с этим полученные в данной работе гетероциклы **11a-g, 13**, которые имеют структурные аналогии с нитрозамещенными производными фурана, могут представлять интерес в качестве новых объектов исследования указанных типов активности.

Первичный скрининг соединений **11a-g, 13** был проведен в научно-исследовательском институте по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе (“НИИНА”) с использованием дисково-диффузионного метода<sup>9</sup>, согласно которому все анализируемые вещества наносятся в количестве 100 мкг на диски с различными бактериальными и грибковыми культурами и выдерживаются при температуре 37°C в течение суток. Зоны ингибирования роста культур измеряли по истечении 24 часов. Результаты представлены в табл. 6.

<sup>9</sup> Биологические испытания выполнены к.х.н. Алферовой В.А.

**Таблица 6.** Результаты исследований антибактериальной и противогрибковой активности изоксазолов **11a-g, 13**.

№	Активность (диаметр зоны ингибирования, мм)			
	Антибактериальная		Противогрибковая	
	<i>Bacillus Subtilis</i>	<i>Escherichia Coli</i>	<i>Aspergillus Niger</i>	<i>Candida Albicans</i>
<b>11a</b>	_*	_*	_*	_*
<b>11b</b>	_*	_*	_*	_*
<b>11c</b>	_*	_*	_*	_*
<b>11d</b>	следы	9	следы	_*
<b>11e</b>	_*	_*	_*	_*
<b>11f</b>	_*	_*	_*	_*
<b>11g</b>	11	_*	_*	_*
<b>13</b>	11	9	14	_*

\* - Диск зарос полностью, активность отсутствует.

Соединения **11d, 11g** и **13** проявили активность по отношению к бактериальным грамположительным клеткам *B. Subtilis* (**11g, 13**) и грамотрицательным *E. Coli* (**11d, 13**), при этом гетероцикл **13** также показал противогрибковую активность по отношению к грибковой культуре *A. Niger*.

**Таблица 7.** Результаты исследований антибактериальной и противогрибковой активности изоксазолов **11d, 11g** и **13** с положительным контролем.

№	Активность (диаметр зоны ингибирования, мм)			
	Антибактериальная			Противогрибковая
	<i>B.Subtilis</i>	MRSA	<i>E.Coli</i>	<i>C.Albicans</i>
<b>11d</b>	7	9 (диффузная)	_*	-
<b>11g</b>	10	11	_*	-
<b>13</b>	20	18	10	-
<b>Контроль</b>	24	19	15	40

\* - Диск зарос полностью, активность отсутствует.

Для проявивших активность в первичном скрининге соединений **11d, 11g** и **13** было дополнительно изучено их действие на культуру резистентного стафилококка (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, MRSA) с положительным контролем. В качестве контроля использовали стандартные диски с антибиотиками по 30 мкг ванкомицина (для *B. Subtilis* и MRSA), 10 мкг гентамицина (для *E. Coli*) и 40 мкг флуконазола (для грибов *A. Niger* и дрожжей *C.Albicans*). Результаты испытаний приведены в табл. 7 и рис. 7.

MRSA

*B. Subtilis*

*E. Coli*



**Рисунок 7.** Результаты исследований антибактериальной активности изоксазолов **11d**, **11g** и **13** с положительным контролем (номера дисков **4**, **5** и **9** соответствуют соединениям **11d**, **11g** и **13**).

Согласно данным табл. 6 ацилированный 5-амино-4-нитроизоксазол **13** проявил антибактериальную активность по отношению ко всем изучаемым культурам (*B.Subtilis*, MRSA, *E.Coli*), сопоставимую с активностью антибиотиков положительного контроля. Изоксазолы **11d** и **11g** также показали хорошие результаты по отношению к бактериям *B.Subtilis* и MRSA, но оказались неактивными по отношению к бактериям *E.Coli*. Противогрибковую активность по отношению к дрожжевой культуре *C.Albicans* не проявило ни одно из изученных соединений.

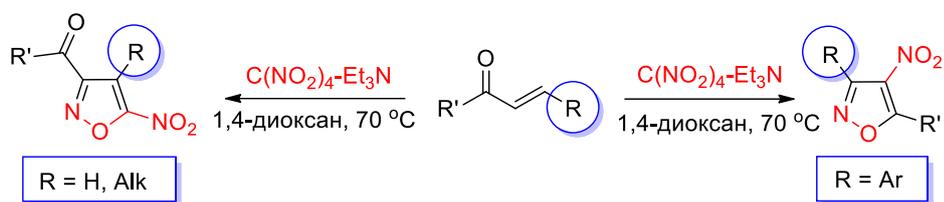
Таким образом, была разработана простая и эффективная методика синтеза 5-амино-4-нитроизоксазолов из 5-аминоизоксазолов со свободной аминогруппой и различными функциональными группами в положении 3 гетероцикла. В результате изучения антибактериальной и противогрибковой активности 5-амино-4-нитроизоксазолов на серии культур был выявлен ряд активных соединений. Было также найдено, что гетероцикл **13** является наиболее перспективным объектом для дальнейшего изучения биологической активности, а также представляет интерес для дальнейших структурных модификаций с целью поиска новых соединений-лидеров с антибактериальной и противогрибковой активностью.

### **3.3. Разработка метода синтеза 3-арил\гетарилзамещенных 4-нитроизоксазолов**

При изучении области применения реакции гетероциклизации электрофильных алкенов под действием комплекса ТНМ-ТЭА [153] на различных субстратах было

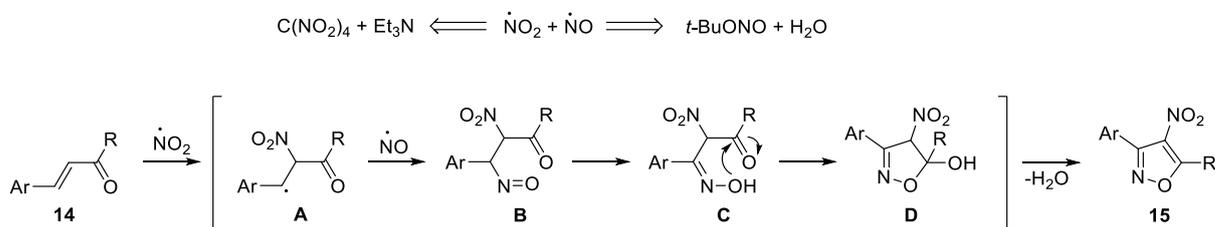
показано, что арилзамещенные винилкетоны в этих же условиях образуют 4-нитроизоксазолы вместо ожидаемых 5-нитроизоксазолов (схема 7).

Схема 7



Мы предположили, что образование 4-нитроизоксазолов протекает по радикальному механизму с участием нитрозных газов (смеси NO и NO<sub>2</sub>), источником которых выступает ТНМ (схема 8). На первой стадии происходит атака NO<sub>2</sub> по α-углеродному атому при двойной связи, приводящая к образованию стабильного радикала **A**. Затем происходит взаимодействие радикалов **A** и NO с формированием нитропроизводного **B**, которое подвергается быстрой таутомеризации в оксим **C**. Завершающей стадией процесса является внутримолекулярная циклизация оксима, сопровождающаяся элиминированием молекулы воды, что приводит к образованию 3-арил-4-нитроизоксазола **15**.<sup>10</sup>

Схема 8



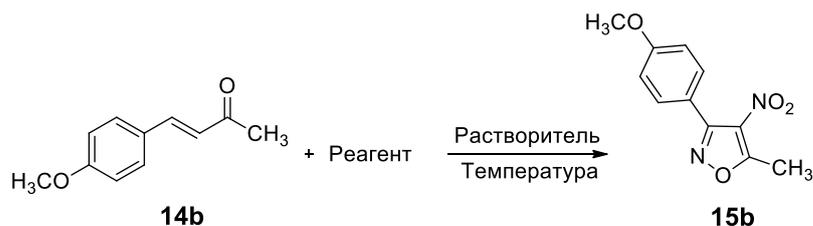
С учетом функции тетранитрометана в реакции гетероциклизации (источник NO и NO<sub>2</sub>) в рамках данной диссертационной работы была поставлена задача найти более дешевый, синтетически доступный и более безопасный источник нитрозных газов. Для этой цели были изучены системы NaNO<sub>2</sub>/AcOH и t-BuONO в присутствии воды, для которых проведена оптимизация условий реакции гетероциклизации путем варьирования соотношения реагентов, растворителей и температуры (табл. 8). При обработке алкена **14b** NaNO<sub>2</sub> (10 экв.) в смеси AcOH/диоксан при 60 °С в течение 2 часов (табл. 8, № 1) наблюдалось лишь образование следовых количеств изоксазола **15b**. Изменение температуры и количества эквивалентов NaNO<sub>2</sub> не привело к заметному изменению выхода продукта **15b** (табл. 8, № 1–5). В целом, при использовании системы NaNO<sub>2</sub>/AcOH

<sup>10</sup> Василенко Д.А., Кандидатская диссертация, 2017, Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова

удалось достичь лишь 20% конверсии алкена **14b** в изоксазол **15b** (табл. 8, № 2, 4), при этом при многократной обработке алкена **14b** реагентами конверсия не превышала 80%.

Использование *t*-BuONO (20 экв.) в присутствии 3 мл воды для гетероциклизации алкена **14b** оказалось более эффективным по сравнению с системой NaNO<sub>2</sub>/AcOH (табл. 8, № 6): в этих условиях удалось достичь 55% конверсии алкена **14b** в целевой гетероцикл **15b**. С целью повышения эффективности реакции варьировались различные растворители, а именно, EtOH, EtOAc, ТГФ, CH<sub>3</sub>CN, 1,4-диоксан (табл. 8, № 7–12), и было обнаружено, что 1,4-диоксан обеспечивает наибольшую конверсию исходного алкена **14b**. Варьирование температуры (табл. 8, № 12, 14–16), количества эквивалентов *t*-BuONO (табл. 8, № 12, 22, 24, 25) и соотношения диоксан\вода (табл. 8, № 12, 17–24) показало, что полная конверсия алкена **14b** в изоксазол **15b** происходит при использовании 10 экв. *t*-BuONO в растворе диоксан\вода (0.25 мл/0.75 мл) при 60 °С в течение 2 часов (табл. 8, № 24). В этих условиях 4-нитроизоксазол **15b** был выделен с выходом 78%.

**Таблица 8.** Оптимизация условий реакции соединения **14b** с *t*-BuONO<sup>a</sup>



№	Реагент (экв.)	Растворитель	Температура, °С	Конверсия <b>14b</b> , % <sup>b,c</sup> (выход, %) <sup>d</sup>
1	NaNO <sub>2</sub> (10)	AcOH/1,4-диоксан (5 мл/ 5 мл)	60	Следы
2	NaNO <sub>2</sub> (10)	AcOH/1,4-диоксан (5 мл/ 5 мл)	80	20 (15)
3	NaNO <sub>2</sub> (10)	AcOH/1,4-диоксан (5 мл/ 5 мл)	100	0
4	NaNO <sub>2</sub> (20)	AcOH/1,4-диоксан (5 мл/ 5 мл)	80	21 (15)
5	NaNO <sub>2</sub> (5)	AcOH/1,4-диоксан (5 мл/ 5 мл)	80	12 (-)
6	<i>t</i> -BuONO (20)	H <sub>2</sub> O (3 мл)	60	55 (50)
7	<i>t</i> -BuONO (20)	EtOH/H <sub>2</sub> O (3 мл/ 3 мл)	60	0
8	<i>t</i> -BuONO (20)	EtOAc/H <sub>2</sub> O (3 мл/ 3 мл)	60	32 (25)
9	<i>t</i> -BuONO (20)	AcOH/H <sub>2</sub> O (3 мл/ 3 мл)	60	79 (50)
10	<i>t</i> -BuONO (20)	ТГФ/H <sub>2</sub> O (3 мл/ 3 мл)	60	53 (45)
11	<i>t</i> -BuONO (20)	CH <sub>3</sub> CN/H <sub>2</sub> O (3 мл/ 3 мл)	60	74 (50)
12	<i>t</i> -BuONO (20)	1,4-диоксан/H <sub>2</sub> O (3 мл/ 3 мл)	60	85 (55)
13	<i>t</i> -BuONO (20)	1,4-диоксан (3 мл)	60	Следы
14	<i>t</i> -BuONO (20)	1,4-диоксан/H <sub>2</sub> O (3 мл/ 3 мл)	20	30 (2)
15	<i>t</i> -BuONO (20)	1,4-диоксан/H <sub>2</sub> O (3 мл/ 3 мл)	40	38 (18)
16	<i>t</i> -BuONO (20)	1,4-диоксан/H <sub>2</sub> O (3 мл/ 3 мл)	80	86 (50)
17	<i>t</i> -BuONO (20)	1,4-диоксан/H <sub>2</sub> O (2 мл/ 3 мл)	60	84 (54)
18	<i>t</i> -BuONO (20)	1,4-диоксан/H <sub>2</sub> O (1 мл/ 3 мл)	60	85 (60)

<b>19</b>	<i>t</i> -BuONO (20)	1,4-диоксан/H <sub>2</sub> O (0.5 мл/ 3 мл)	60	84 (62)
<b>20</b>	<i>t</i> -BuONO (20)	1,4-диоксан/H <sub>2</sub> O (1.5 мл/ 1.5 мл)	60	95 (66)
<b>21</b>	<i>t</i> -BuONO (20)	1,4-диоксан/H <sub>2</sub> O (0.5 мл/ 1.5 мл)	60	100 (70)
<b>22</b>	<i>t</i> -BuONO (10)	1,4-диоксан/H <sub>2</sub> O (3 мл/ 3 мл)	60	75 (61)
<b>23</b>	<i>t</i> -BuONO (10)	1,4-диоксан/H <sub>2</sub> O (0.75 мл/ 0.75 мл)	60	100 (76)
<b>24</b>	<i>t</i> -BuONO (10)	1,4-диоксан/H <sub>2</sub> O (0.25 мл/ 0.75 мл)	60	100 (78)
<b>25</b>	<i>t</i> -BuONO (5)	1,4-диоксан/H <sub>2</sub> O (0.25 мл/ 0.75 мл)	60	76 (60)

<sup>a</sup> Реакция проводилась при использовании 0.5 ммоль **14b** в атмосфере аргона.

<sup>b</sup> Конверсия **14b** в **15b** определялась по спектрам <sup>1</sup>H ЯМР

<sup>c</sup> При использовании в качестве реагента *t*-BuONO в реакционной смеси образовывалось 10–20 % 4-метоксибензальдегида.

<sup>d</sup> Выход после хроматографической очистки

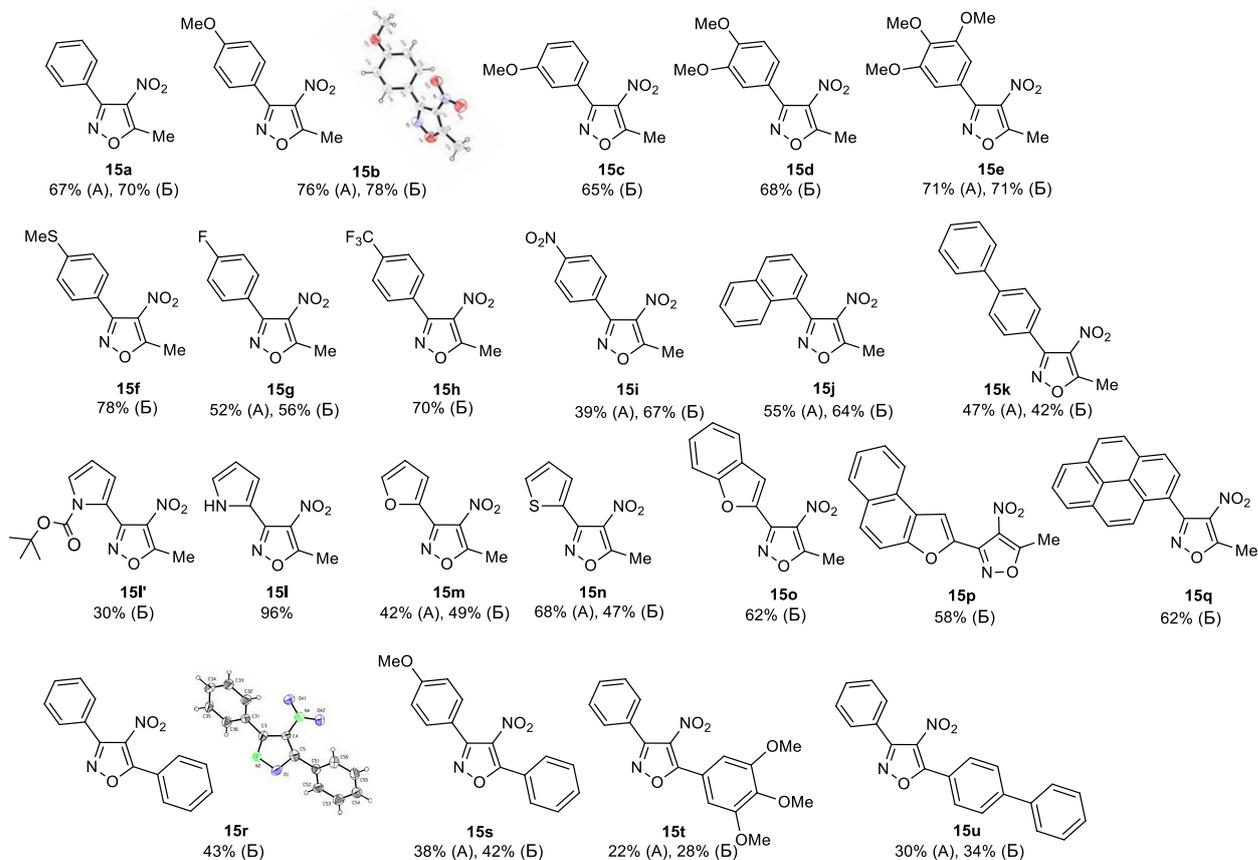
В найденных оптимальных условиях мы ввели в реакцию гетероциклизации ряд  $\alpha,\beta$ -ненасыщенных кетонов, содержащих различные арильные и гетарильные заместители. Для сравнения эффективности 2 типов реагентов (ТНМ и *t*-BuONO) в ряде случаев для получения 4-нитроизоксазолов использовались обе системы. Как показано на схеме 9, электронная природа заместителей в ароматическом кольце слабо влияла на реакционную способность  $\alpha,\beta$ -ненасыщенных кетонов **14a–u**, хотя, в целом, изоксазолы с электронодонорными группами (**15b–15f**) были получены с большими выходами, чем с электроноакцепторными (**15g–15i**). Найденные условия гетероциклизации могут быть также использованы для синтеза 4-нитроизоксазолов с полиароматическими заместителями (**15j**, **15k**, **15o–15q**). Возможность синтеза 4-нитроизоксазолов с гетероциклическим заместителем в положении 3 гетероцикла была изучена на примере  $\alpha,\beta$ -ненасыщенных кетонов (**14l–14p**). Оказалось, что в случае пирролсодержащего алкена **14l** в условиях гетероциклизации происходила его полная деструкция. Данную проблему удалось решить при использовании в реакции защищенного по атому азота пиррольного фрагмента алкена **14l'**, из которого с умеренным выходом был получен 4-нитроизоксазол **15l'**. Последующее удаление Бок-защиты в стандартных условиях [161] позволило получить гибридную структуру **15l**, содержащую связанные между собой пиррольный и изоксазольный гетероциклы. Мы также показали возможность получения 3,5-диарил-4-нитроизоксазолов **15r–u**, которые образуются в результате гетероциклизации соответствующих алкенов **14r–u**. Умеренные выходы некоторых продуктов реакции, по-видимому, связаны с низкой растворимостью как исходных алкенов, так и целевых 4-нитроизоксазолов.

## Схема 9<sup>11</sup>



Метод А:  $\text{C}(\text{NO}_2)_4\text{-Et}_3\text{N}$ , 1,4-диоксан, 60 °С, 2 ч

Метод Б:  $t\text{-BuONO}$ , 1,4-диоксан: $\text{H}_2\text{O}$  (1:3), 60 °С, 2 ч



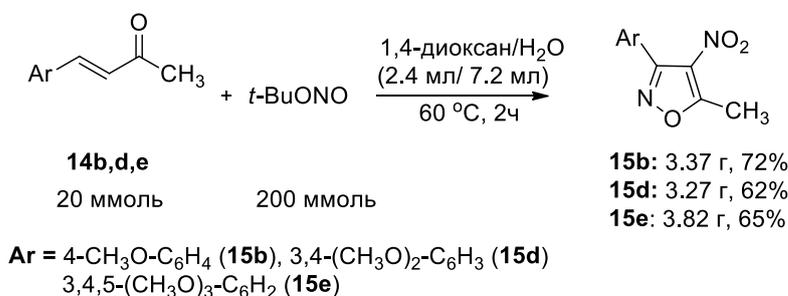
Строение 4-нитроизоксазолов **15a–u** было установлено на основании данных спектроскопии ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$  с привлечением двумерных методик (HMBC и HSQC). Состав впервые полученных соединений подтвержден данными масс-спектрометрии высокого разрешения (HRMS-ESI) или элементного анализа. Дополнительно строение 4-нитроизоксазолов было подтверждено рентгеноструктурным анализом на примере соединений **15b** и **15r**.

В спектрах ЯМР  $^1\text{H}$  5-метилзамещенных 4-нитроизоксазолов **15a–q** наряду с сигналами протонов ароматических заместителей также наблюдается характеристичный синглетный сигнал протонов  $\text{CH}_3$ -группы в области  $\delta$  2.84–3.03 м.д. В спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  гетероциклов **15a–q** присутствуют сигналы четвертичных атомов углерода изоксазольного цикла: характеристичный уширенный сигнал атома C(4), связанного с  $\text{NO}_2$ -группой при  $\delta$  128.8–131.1 м.д., а также сигналы, относящиеся к атомам C(3) и C(5) в области  $\delta$  148.5–159.6 м.д. и  $\delta$  171.3–173.8 м.д., соответственно.

<sup>11</sup> CCDC 1901455 (**15b**), CCDC 1516780 (**15r**)

С использованием доступного и безопасного в работе *tert*-бутилнитрита в качестве реагента гетероциклизации оказалось возможным масштабирование реакции. На примере соединений **15b**, **15d**, **15e** было показано, что 4-нитроизоксазолы могут быть получены в граммовых количествах практически без потери в выходе (схема 10).

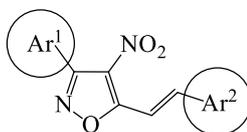
**Схема 10**



Таким образом, нами был разработан общий региоселективный метод синтеза 3-арил-4-нитроизоксазолов из легкодоступных и удобных в работе реагентов. Показано, что новый метод применим для широкого круга  $\alpha,\beta$ -арил/гетарилзамещенных винилкетонов и позволяет получать целевые гетероциклы с высокими выходами в граммовых количествах.

### 3.4. 5-Стирил-4-нитроизоксазолы: синтез и флуоресцентные свойства

Разработанный метод синтеза 3-арил-4-нитроизоксазолов позволяет использовать их в дальнейших превращениях, в частности, 5-метилзамещенные изоксазолы можно использовать в реакциях конденсации по метильной группе с карбонильными соединениями. Образующиеся в этих реакциях 4-нитро-5-стирилизоксазолы представляют собой  $\pi$ -сопряженные структуры «push-pull» типа, в которых фрагмент донора электронов сопряжен с акцептором электронов через винильную группу (рис. 8).



**Рисунок 8.** Структурная формула  $\pi$ -сопряженной системы на основе 4-нитро-5-стирилизоксазолов.

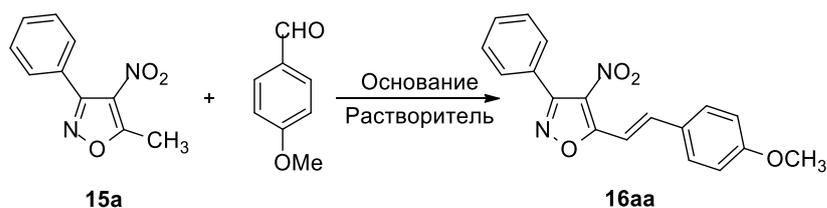
Интересно отметить, что несмотря на активное использование в органическом синтезе 5-стирилизоксазолов, полученных из 3,5-диметил-4-нитроизоксазола, их фотофизические свойства остаются практически не изученными. К настоящему времени опубликована только одна статья [162], в которой для нескольких 5-стирилизоксазолов приводятся спектры флуоресценции, и показана возможность использовать такие соединения в качестве эффективных детекторов следовых концентраций сероводорода.

Продукты конденсации 3-арил-5-метил-4-нитроизоксазолов с ароматическими альдегидами в литературе представлены двумя примерами [163], однако их фотофизические свойства не изучались, что можно объяснить отсутствием до настоящего времени общих методов синтеза 3-арил-5-метил-4-нитроизоксазолов и продуктов их конденсации с ароматическими альдегидами. В связи с этим в данной работе впервые была синтезирована большая серия 4-нитро-5-стирилизоксазолов с целью выявления основных закономерности влияния структурных фрагментов на фотофизические свойства  $\pi$ -сопряженной системы.

### 3.4.1. Оптимизация условий реакции конденсации 5-метил-4-нитроизоксазолов с ароматическими альдегидами

Для разработки метода синтеза 5-стирилизоксазолов была проведена оптимизация условий реакции конденсации на модельном 5-метил-4-нитроизоксазоле **15a** и анисовом альдегиде. Было найдено, что наилучший выход продукта **16aa** достигается при использовании в качестве растворителя этанола в присутствии основания – пиперидина при комнатной температуре в течение 24 часов или при кипячении в этаноле в течение 2 часов (табл. 9, № 5, 6). Следует отметить, что продукт конденсации кристаллизуется из реакционной смеси и после фильтрации и промывки холодным этанолом не требует дополнительной очистки. Использование более сильного основания, такого как гидроксид натрия, приводит к снижению выхода **16aa**, что, по-видимому, связано с разрушением гетероцикла в сильнощелочных условиях (табл. 9, № 1–4).

**Таблица 9.** Оптимизация условий конденсации 4-нитро-5-метилизоксазолов с альдегидами.



№	Основание	Растворитель	T, °C	Время, ч	Выход, %*
1	NaOH	MeOH	20	24	47
2	NaOH	MeOH	40	2	20
3	NaOH	MeOH–H <sub>2</sub> O	20	24	6
4	NaOH	EtOH	20	24	-
5	Пиперидин	EtOH	20	24	82
6	Пиперидин	EtOH	80	2	80

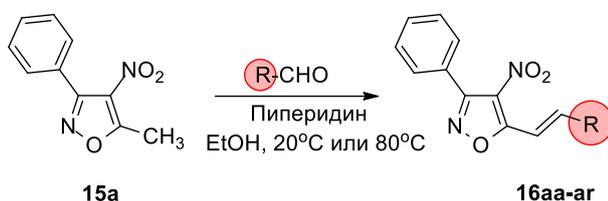
\* Выход приведен для гетероцикла **16aa**, выделенного в индивидуальном состоянии.

В найденных оптимальных условиях конденсации (табл. 9, № 5, 6) была получена большая серия 5-стирилизоксазолов с различными заместителями в положениях 3 и 5 гетероцикла.

### 3.4.2. Синтез 5-стирил-4-нитроизоксазолов **16aa-ar**. Варьирование заместителя в стирильном фрагменте

На первом этапе было изучено влияние ароматических или гетероароматических фрагментов в положении 5 изоксазольного цикла на фотофизические свойства 5-стирилизоксазолов. Для этой цели в оптимальных условиях была проведена конденсация 3-фенил-4-нитроизоксазола **15a** с различными альдегидами, в результате чего с высокими выходами была получена большая серия алкенов **16aa-ar** (табл. 10).

**Таблица 10.** Синтез 3-фенил-4-нитро-5-стирилизоксазолов **16aa-ar**



<b>№</b>	<b>16aa</b>	<b>16ab</b>	<b>16ac</b>	<b>16ad</b>	<b>16ae</b>	<b>16af</b>
<b>R</b>						
Выход, %*	84	74	72	89	52	64
<b>№</b>	<b>16ag</b>	<b>16ah</b>	<b>16ai</b>	<b>16aj</b>	<b>16ak</b>	<b>16al</b>
<b>R</b>						
Выход, %*	82	68	62	65	68	88
<b>№</b>	<b>16am</b>	<b>16an</b>	<b>16ao</b>	<b>16ap</b>	<b>16aq</b>	<b>16ar</b>
<b>R</b>						
Выход, %*	70	90	70	86	76	88

\* Выход выделенного продукта

Для всех синтезированных соединений **16aa-ar** были изучены фотофизические свойства: зарегистрированы спектры УФ и флуоресценции, измерены коэффициенты поглощения и квантовые выходы флуоресценции (рис. 9, табл. 11).

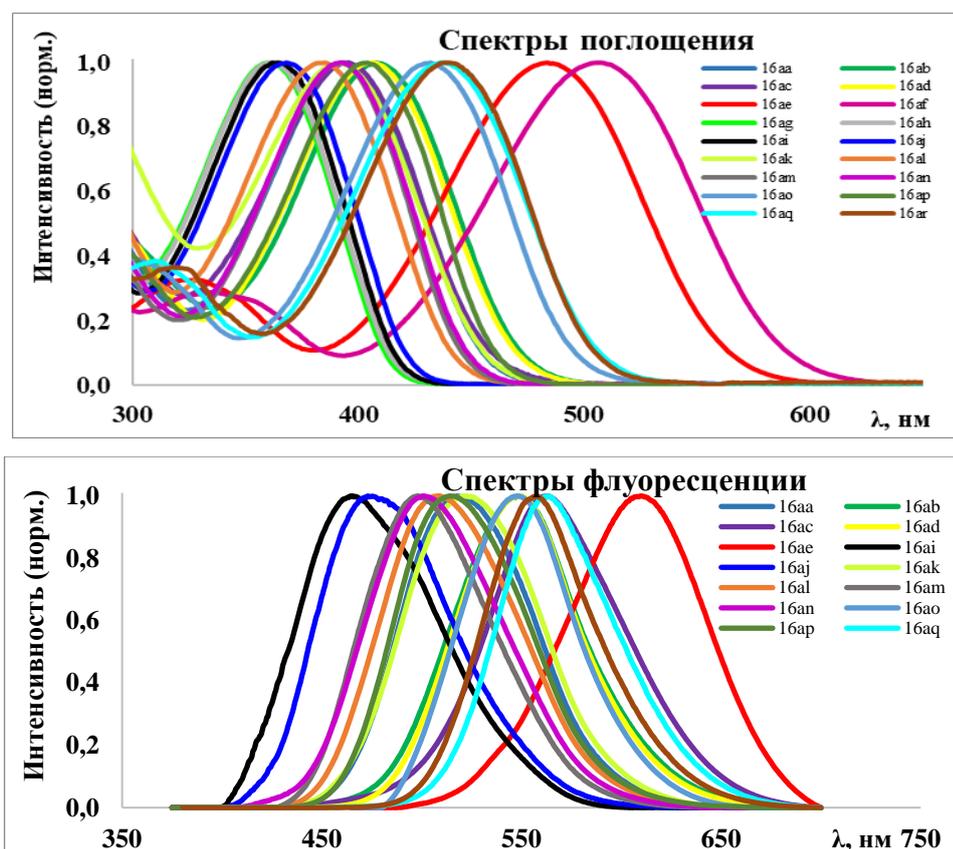
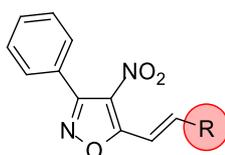


Рисунок 9. Спектры поглощения и флуоресценции соединений **16aa–16ar**.

Для изученных соединений **16aa–ar** наиболее длинноволновые максимумы поглощения находятся в видимой области при 360–508 нм, а максимумы эмиссии лежат в диапазоне 466–610 нм. Примечательно, что для всех исследованных соединений характерен большой стоксов сдвиг (100-140 нм).

Таблица 11. Фотофизические характеристики 5-стирилизоксазолов **16aa–ar** (растворитель – CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)



**16aa-ar**

N	R	$\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ , nm	$\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ , nm	$\Delta\lambda$ , cm <sup>-1</sup>	$\epsilon$ , M <sup>-1</sup> ·cm <sup>-1</sup>	$\psi$ , %
<b>16aa</b>		396	518	5948	16907	0.64
<b>16ab</b>		408	548	6262	26281	0.52
<b>16ac</b>		393	563	7683	18761	0.18
<b>16ad</b>		407	549	6355	25961	<b>3.56</b>
<b>16ae</b>		484	610	4268	34436	0.06

<b>16af</b>		508	—*	—*	31738	—*
<b>16ag</b>		360	—*	—*	21401	—*
<b>16ah</b>		360	—*	—*	24018	—*
<b>16ai</b>		364	466	6013	23476	0.04
<b>16aj</b>		368	476	6166	27907	0.17
<b>16ak</b>		392	523	6390	14406	1.52
<b>16al</b>		382	515	6761	24456	2.21
<b>16am</b>		392	498	5430	23777	0.32
<b>16an</b>		393	500	5445	18658	0.10
<b>16ao</b>		432	548	4900	25672	0.25
<b>16ap</b>		403	514	5359	23100	2.93
<b>16aq</b>		438	563	5069	29320	1.21
<b>16ar</b>		440	557	4774	26187	<b>4.31</b>

\* – флуоресценция отсутствует

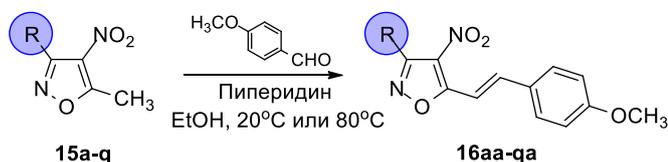
Данные таблицы 11 показывают, что на флуоресцентные свойства молекулы оказывает заметное влияние электронная природа заместителя в ароматическом кольце стирильного фрагмента. Было найдено, что при наличии фенильного или *p*-фторфенильного заместителей в стирильном фрагменте изоксазолов **16ag** и **16ah** флуоресценция в видимой области спектра не наблюдается. На примере соединений **16ah-aj**, содержащих *p*-галогенфенильный фрагмент при двойной связи, показано, что квантовый выход флуоресценции растет с уменьшением электроотрицательности атома галогена. Интересные результаты получены для соединений **16ad** и **16ae**, содержащих *n*-тиометил- и *n*-диметиламиногруппы в ароматическом кольце стирильного фрагмента. Так, изоксазол **16ad** характеризуется одним из наиболее высоких квантовых выходов флуоресценции для данной серии соединений, при этом наиболее длинноволновый максимум флуоресценции и наибольший коэффициент поглощения наблюдаются у гетероцикла **16ae**, которое при этом характеризуется низким квантовым выходом. Соединение **16af** с электрообогащенным ароматическим кольцом имеет наиболее

длинноволновый максимум поглощения, но, к сожалению, не обладает флуоресцентными свойствами в видимой области. Замена в стирильном фрагменте ароматических заместителей на гетероароматические, в целом, не приводит к заметным изменениям флуоресцентных свойств исследуемой  $\pi$ -системы, однако увеличение протяженности  $\pi$ -системы приводит к увеличению квантовых выходов и смещению полосы флуоресценции в красную область (соединения **16ak**, **al**, **ap-ar**). Так, соединение **16ar** с нафтофурановым заместителем в стирильном фрагменте имеет наибольший квантовый выход в данной серии при максимуме полосы испускания более 550 нм.

### 3.4.3. Синтез 5-стирил-4-нитроизоксазолов **16aa-qa**. Варьирование заместителя в положении 3 изоксазольного цикла

Следующим этапом работы явилось изучение влияния заместителей в положении 3 изоксазольного цикла на флуоресцентные свойства 5-стирилизоксазолов. Для этого в реакции конденсации был использован ряд 3-арил\гетарил-4-нитро-5-метилизоксазолов **15a-q**, в качестве карбонильной компоненты был выбран анисовый альдегид, который удобен для спектрального анализа. В результате был синтезирован ряд гетероциклов **16aa-qa** с высокими выходами (табл. 12).

Таблица 12. Синтез 3-арил/гетарил-4-нитро-5-стирилизоксазолов **16aa-qa**



№	<b>16aa</b>	<b>16ba</b>	<b>16ea</b>	<b>16fa</b>	<b>16ga</b>	<b>16ha</b>
R						
Выход, %*	84	96	60	88	88	94
N	<b>16ia</b>	<b>16ja</b>	<b>16ka</b>	<b>16la</b>	<b>16ma</b>	<b>16na</b>
R						
Выход, %*	86	90	80	76	84	86
N	<b>16oa</b>	<b>16pa</b>	<b>16qa</b>			
R						
Выход, %*	86	90	88			

\* Выход выделенного продукта

Фотофизические свойства соединений **16aa–qa** исследовали методами УФ- и флуоресцентной спектроскопии в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при комнатной температуре, также были измерены коэффициенты поглощения и квантовые выходы флуоресценции (рис. 10, табл. 13).

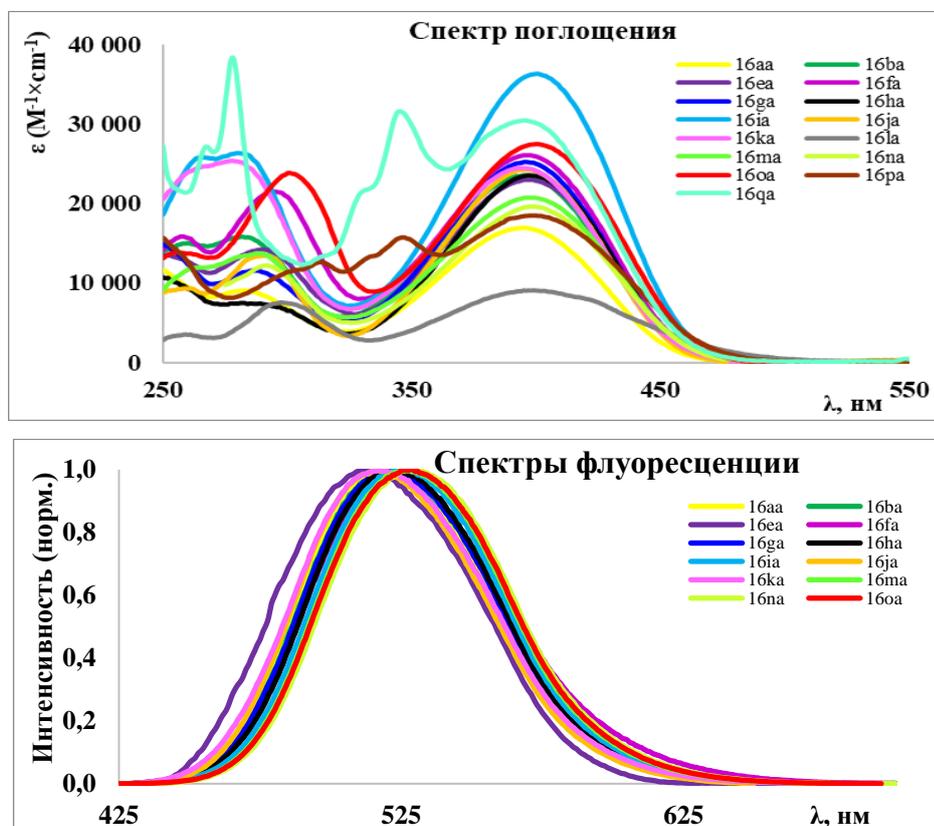
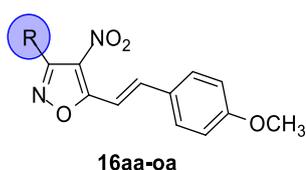
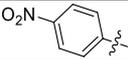
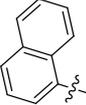
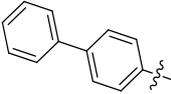
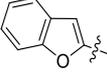
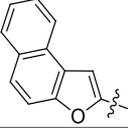
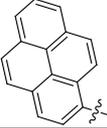


Рисунок 10. Спектры поглощения и флуоресценции для соединений **16aa–qa**

Таблица 13. Фотофизические характеристики 5-стирилизоксазолов **16aa–qa** (растворитель –  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )



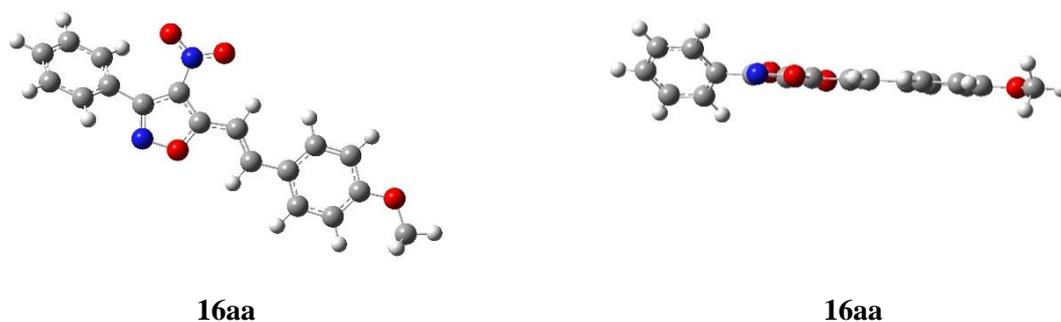
N	R	$\lambda^{\text{max}}_{\text{abs}}$ , nm	$\lambda^{\text{max}}_{\text{em}}$ , nm	$\Delta\lambda$ , $\text{cm}^{-1}$	$\epsilon$ , $\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$	$\psi$ , %
<b>16aa</b>		396	518	5948	16907	0.64
<b>16ba</b>		395	522	6159	23116	0.50
<b>16ea</b>		397	512	5658	23082	0.23
<b>16fa</b>		398	525	6078	24107	0.49
<b>16ga</b>		396	521	6059	24971	0.54
<b>16ha</b>		398	523	6005	23603	0.75

<b>16ia</b>		398	526	6078	38680	0.82
<b>16ja</b>		397	516	5809	24156	1.06
<b>16ka</b>		395	519	6049	24427	0.85
<b>16la</b>		400	–	–	9133	–
<b>16ma</b>		398	528	6186	20919	0.91
<b>16na</b>		397	530	6321	19650	0.91
<b>16oa</b>		400	530	6132	25234	1.20
<b>16pa</b>		398	–	–	18587	–
<b>16qa</b>		396	–	–	30588	–

Основные максимумы поглощения для исследованных соединений **16aa–qa** находятся в области 395–400 нм, причем наибольшим коэффициентом поглощения обладает соединение **16ia** с *n*-NO<sub>2</sub>-группой в ароматическом заместителе положения 3. Было найдено, что максимумы эмиссии гетероциклов **16aa–qa** находятся в диапазоне 512–530 нм, что свидетельствует об отсутствии заметного влияния природы арильного фрагмента в положении 3 гетероцикла на флуоресцентные свойства. Тем не менее, можно отметить, что соединения с электроноакцепторными заместителями в ароматическом фрагменте, например, с CF<sub>3</sub>-группой (гетероцикл **16ha**) или NO<sub>2</sub>-группой (гетероцикл **16ia**), обладают относительно более высоким квантовым выходом флуоресценции, что может быть связано с более эффективным внутримолекулярным переносом заряда π-системы. Кроме того, увеличение протяженности π-системы за счет заместителей в положении 3 изоксазольного цикла также приводит к увеличению квантового выхода (соединения **16ja**, **16ka**). Неожиданным результатом оказалось отсутствие флуоресценции для изоксазола **16qa**, который содержит полиароматический пиреновый фрагмент в положении 3 гетероцикла.

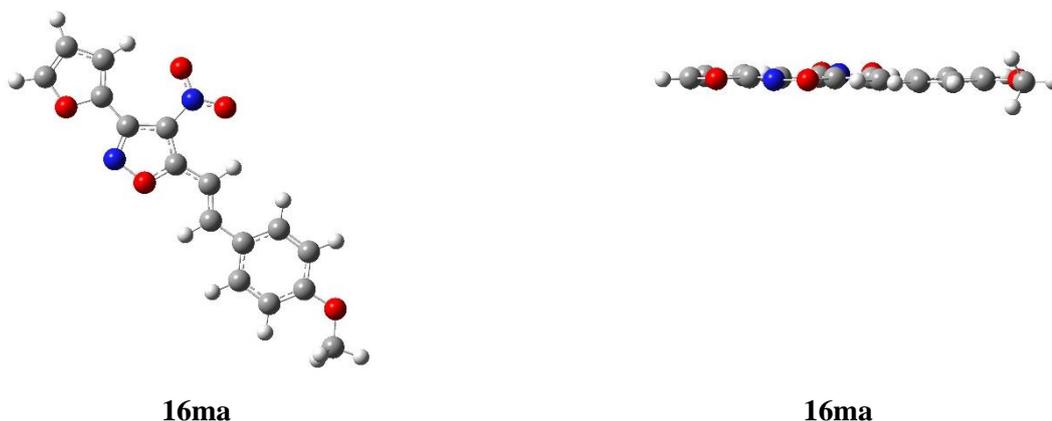
Для объяснения флуоресцентных свойств 5-стирилизоксазолов **16aa–qa** были выполнены квантово-химические расчеты (DFT B3LYP/G TZVP) на примере соединения

**16aa**<sup>12</sup>. Было показано, что ароматическое кольцо в положении 3 гетероцикла **16aa** не лежит в плоскости изоксазольного цикла, следовательно, между этими фрагментами нет эффективного сопряжения (рис. 11). Полученный результат объясняет слабое влияние протяженности  $\pi$ -системы, а также мезомерного влияния заместителей в ароматическом кольце (положение 3) на флуоресцентные свойства. По-видимому, для этой серии 5-стирилизоксазолов влияние заместителя в положении 3 заключается только в суммарном индуктивном эффекте.



**Рисунок 11.** Расчет геометрии молекул 5-стирилизоксазола на примере гетероцикла **16aa** методом DFT (B3LYP/G TZVP).

Оказалось, что введение гетарильных заместителей в 3 положение изоксазольного цикла изменяет геометрию молекулы. Согласно квантово-химическим расчетам (DFT B3LYP/G TZVP), проведенным для соединения **16ma**, фурановый и изоксазольный циклы лежат в одной плоскости, поэтому можно было ожидать большего влияния гетарильного заместителя в положении 3 изоксазольного цикла на флуоресцентные свойства 5-стирилизоксазолов (рис. 12).



**Рисунок 12.** Расчет геометрии молекул 5-стирилизоксазолов на примере гетероцикла **16ma** методом DFT (B3LYP/G TZVP).

Действительно, наличие гетероароматических заместителей, связанных по С3-атому с изоксазольным циклом приводит к небольшому увеличению квантового выхода

<sup>12</sup> Квантово-химические расчеты выполнены на кафедре медицинской химии и тонкого органического синтеза химического факультета МГУ к.х.н. Д.А. Василенко

соединений **16ma–oa**, однако электронодонорный характер заместителей снижает эффективность внутримолекулярного переноса заряда  $\pi$ -системы, в частности, 3-пиррол-2-илзамещенный гетероцикл **16la** имеет наименьший квантовый выход, что можно объяснить наиболее донорными свойствами пиррольного кольца в ряду других пятичленных гетероциклов.

#### 3.4.4. Синтез 5-стирил-4-нитроизоксазолов **16ed–od**. Варьирование заместителей в положениях 3 и 5 изоксазольного цикла

С учетом полученных данных о влиянии заместителей в положениях 3 и 5 изоксазольного цикла на фотофизические свойства 5-стирилизоксазолов был синтезирован ряд стир依лизоксазолов **16ed–od**, содержащих фрагменты, обеспечивающие наиболее длинноволновые максимумы флуоресценции и наилучшие квантовые выходы (табл. 14). Структурные формулы гетероциклы **16ed–od**, их химические выходы и фотофизические характеристики приведены в табл. 14, 15.

**Таблица 14.** Синтез 3-арил\гетарил-4-нитро-5-стирилизоксазолов **16ed–od**

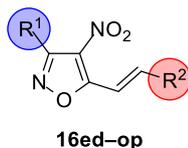
$$\text{15e,j,m,n,o} \xrightarrow[\text{EtOH, 20}^\circ\text{C или 80}^\circ\text{C}]{\text{Пиперидин}} \text{16ed-od}$$

N	16ed	16jd	16md	16nd	16od
<b>Выход, %*</b>	62	74	88	90	90

\* Выход выделенного продукта

Результаты измерения спектров УФ и флуоресценции подтвердили ранее обнаруженные общие закономерности «структура-свойство» 5-стирилизоксазолов: соединений **16jd–od** с гетарильными или нафтильным заместителями в положении 3 и *n*-тиометилфенильной группой в стирильном фрагменте показали достаточно высокие квантовые выходы и длинноволновые максимумы (>550 нм) полос флуоресценции.

**Таблица 15.** Фотофизические характеристики 5-стирилизоксазолов **16ed-od** (растворитель – CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)



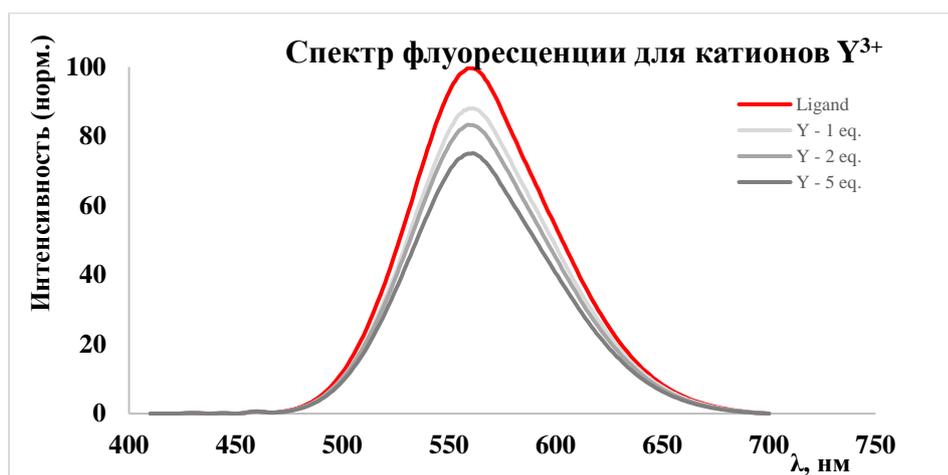
N	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	$\lambda^{\max}_{\text{abs}}$ , nm	$\lambda^{\max}_{\text{em}}$ , nm	$\Delta\lambda$ , cm <sup>-1</sup>	$\epsilon$ , M <sup>-1</sup> ·cm <sup>-1</sup>	$\psi$ , %
<b>16ed</b>			408	550	6328	23691	0.98
<b>16jd</b>			405	549	6476	15405	4.63
<b>16md</b>			409	553	6367	23400	3.89
<b>16nd</b>			409	553	6367	24974	3.40
<b>16od</b>			410	555	6372	26638	3.82

Для соединения **16jd** с наибольшим квантовым выходом флуоресценции среди 5-стирилизоксазолов, было изучено влияние различных растворителей и ионов металлов на флуоресцентные свойства. Было показано, что для нового класса  $\pi$ -сопряженных систем на основе изоксазола наблюдается эффект сольватохромизма. Согласно данным табл. 15, с увеличением диэлектрической проницаемости растворителя происходит bathochromный сдвиг максимумов полос флуоресценции в спектрах производного изоксазола **16jd**.

**Таблица 16.** Влияние растворителей на фотофизические свойства соединения **16jd**

Растворитель	$\lambda^{\max}_{\text{abs}}$ , nm	$\lambda^{\max}_{\text{em}}$ , nm	$\Delta\lambda$ , cm <sup>-1</sup>
Et <sub>2</sub> O	392	496	5349
C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	403	500	4814
EtOAc	395	524	6232
CHCl <sub>3</sub>	405	540	6173
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	405	549	6476
CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub>	397	552	7073
CH <sub>3</sub> CN	396	560	7395
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO	412	568	6666

Для изучения хемосенсорных свойств гетероцикла **16jd** были измерены спектры флуоресценции в присутствии большого ряда ионов металлов (Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, Cr<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Ag<sup>+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Ga<sup>3+</sup>, In<sup>3+</sup>, Y<sup>3+</sup>) в различных концентрациях. Наибольший отклик в спектрах флуоресценции (тушение флуоресценции) был получен при добавлении к раствору производного изоксазола **16jd** ионов редкоземельных металлов Ga<sup>3+</sup>, In<sup>3+</sup> и Y<sup>3+</sup>. Спектр флуоресценции соединения **16jd** с добавлением ионов Y<sup>3+</sup> в различных концентрациях представлен на рис. 13.



**Рисунок 13.** Спектры флуоресценции гетероцикла **16jd** в присутствии ионов  $Y^{3+}$  в различных концентрациях.

#### 3.4.5. Изучение противораковой активности 5-стирил-4-нитроизоксазолов

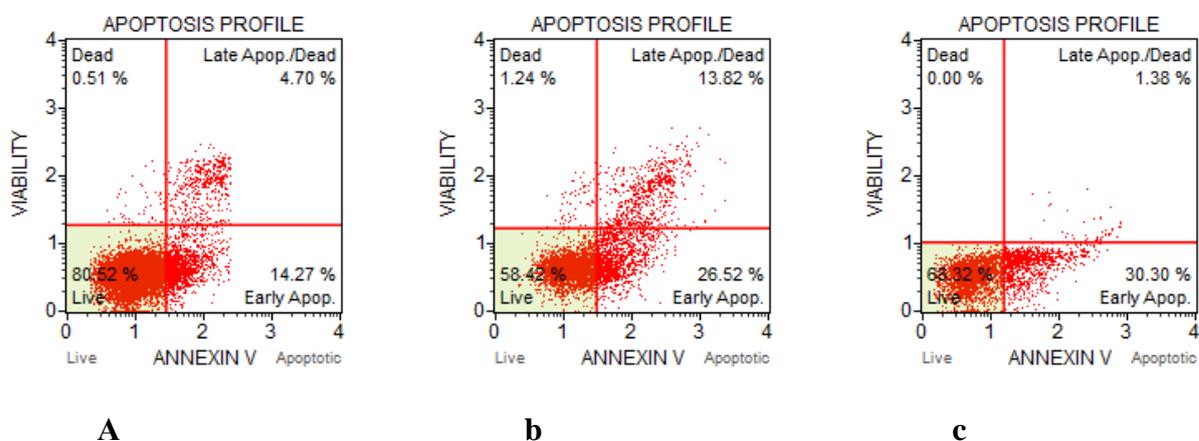
Наряду с хемосенсорными свойствами для ряда 5-стирилизоксазолов (**16ak**, **16ea**, **16ed**, **16od**, **16jd**, **16ao**, **16ap**) мы также провели биотестирование их противораковой активности. Первичный скрининг был проведен с помощью МТТ-теста на 3 клеточных раковых линиях МСF-7 (клетки аденокарциномы молочной железы человека), НСТ-116 (клетки карциномы прямой кишки человека), А549 (клетки аденокарциномы легкого человека) и условно нормальных клеток фибробластов легочной ткани (W138). Результаты биотестирования приведены в табл. 17. В целом, изученные 5-стирилизоксазолы показали низкую цитотоксичность, при этом наиболее активным оказалось соединение **16ed** по отношению к линии раковых клеток НСТ-116. Более интересные данные были получены для близкого аналога **16ed** соединения **16ea**. Несмотря на несколько меньшую активность, соединение **16ea** характеризуется лучшей селективностью к раковым клеткам.

**Таблица 17.** Результаты МТТ-теста для соединений **16**.

Соединение	Структура	IC50, $\mu\text{M}$			
		МСF-7	НСТ-116	А549	W138
<b>16ak</b>		44.6 $\pm$ 5	57.2 $\pm$ 11.3	45.3 $\pm$ 10	61 $\pm$ 15
<b>16ea</b>		53.5 $\pm$ 12	20.6 $\pm$ 4.3	35.8 $\pm$ 9	86.7 $\pm$ 16
<b>16ed</b>		25.5 $\pm$ 6.7	9.8 $\pm$ 3.1	24.7 $\pm$ 7.5	17.1 $\pm$ 3

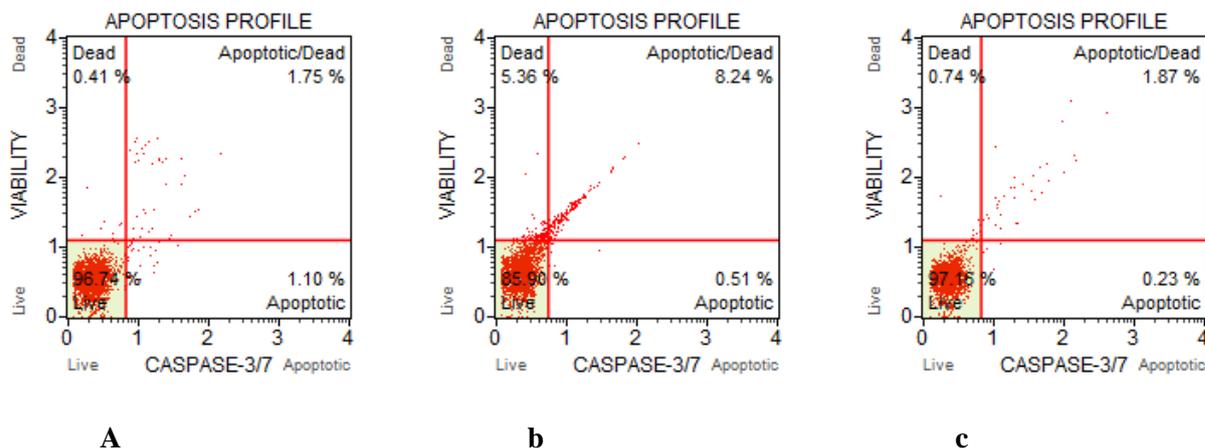
<b>16od</b>		>200	39.7±19.4	133.4±40	78.6±40
<b>16jd</b>		>200	95.8±17.1	>200	>200
<b>16ao</b>		63.2±15	22.3±4.5	125.1	165.1
<b>16ap</b>		75.6±13	60.4±25	>200	67.4±20

Еще одним клеточным параметром, который используется для скрининга противораковой активности, является апоптоз, поэтому на примере соединения **16ed** с помощью проточной цитометрии была изучена его способность индуцировать апоптоз. За протеканием процессов, связанных с апоптозом, наблюдали с помощью специфического индукционного сигнала – высвобождения из клетки фосфатидилсерина (ФС). Этот процесс осуществляется на ранней стадии апоптоза, при этом ФС связывается с флуоресцеин меченным аннексином V – Ca<sup>2+</sup>-зависимым белком, который имеет высокое сродство к ФС. Клетки линии НСТ-116 были инкубированы с соединением **16ed** и цисплатином в качестве стандарта в течение 48 ч с концентрацией равной 2×IC<sub>50</sub>. Было показано, что соединение **16ed** активно индуцирует апоптоз (рис. 14), при этом доля аннексин V-положительных клеток в случае **16ed** в позднем апоптозе оказалась на порядок выше, чем у цисплатина: 13.8±1.5% и 1.38±0.7% соответственно.



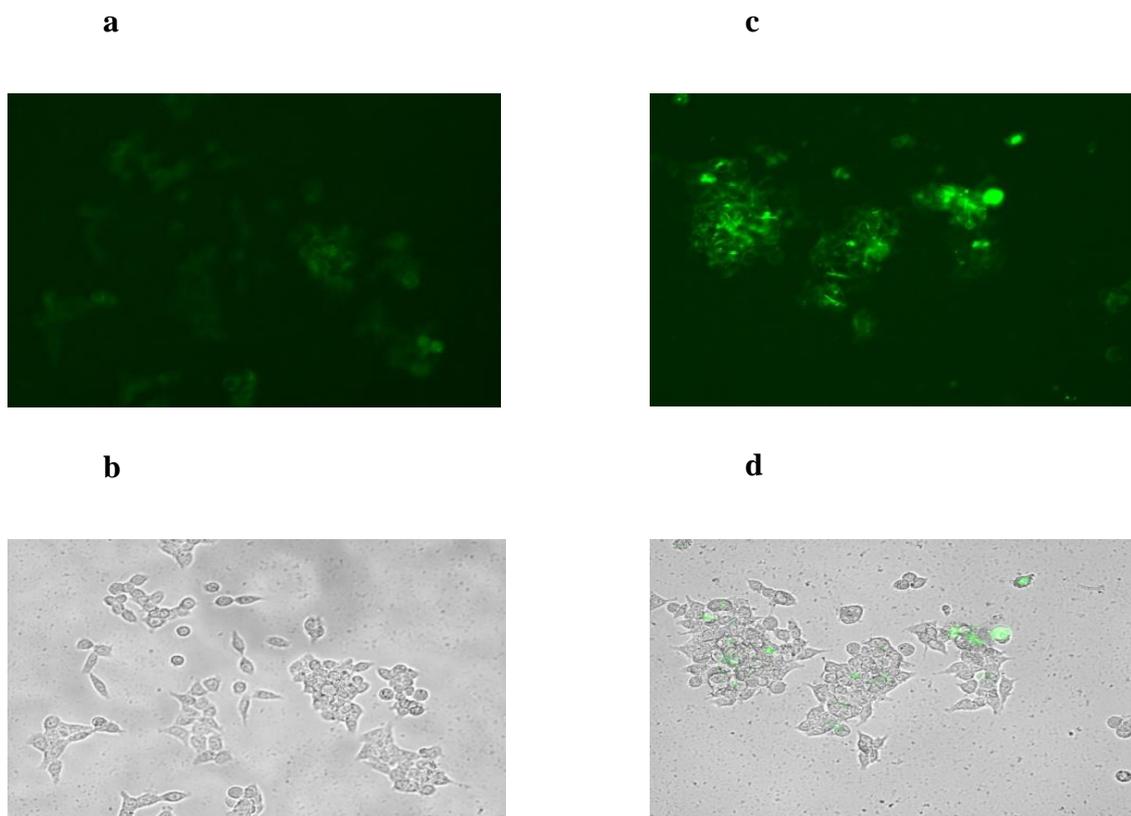
**Рисунок 14.** Профиль апоптоза клеток НСТ 116, обработанных соединением **16ed**, через 48 часов. Концентрация соединений 2×IC<sub>50</sub> (а- контроль, б- **16ed**, с-цисплатин).

Важную роль в протекании процесса апоптоза играют каспазы, которые ответственны за проапоптотические сигналы, например, действие каспаз-3/7 направлено на клеточный распад через разрушение структурных белков. Действие соединения **16ed** на активацию каспаз 3/7 было изучено с помощью проточной цитометрии с использованием теста Muse® Caspase-3/7 Kit. Было показано, что соединение **16ed** активирует каспазы 3/7 более активно, чем цисплатин (рис. 15).



**Рисунок 15.** Цитометрическое исследование активации каспаз 3/7 соединением **16ed** на клеточной линии НСТ116 через 48 часов (а- контроль, б- **16ed**, с- цисплатин).

Активация каспаз является важным этапом запрограммированной клеточной смерти и часто используется для преклинического скрининга токсичности противораковых соединений. Для визуализации активности соединения **16ed** на активацию каспаз был использован флуоресцентный набор красителей CellEvent™ Caspase-3/7 Green ReadyProbes™. После инкубации клеток НСТ 116 с соединением **16ed**, был добавлен специфический краситель для визуализации клеток с активированными каспазами (рис. 16).

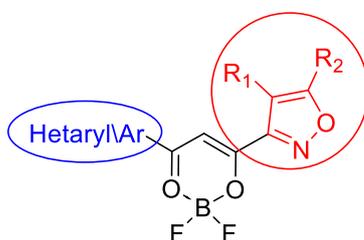


**Рисунок 16.** Исследование соединения **16ed** на активацию каспаз CellEvent™ Caspase-3/7 Green ReadyProbes™ Reagent (a – контрольный зеленый свет; b – контрольный поглощение; c – соединение **16ed** – зеленый свет; d – соединение **16ed** - поглощение).

Таким образом, разработан универсальный метод синтеза 3-арил-4-нитро-5-стирилизоксазолов с использованием доступных исходных соединений, получены серии  $\pi$ -сопряженных систем на основе изоксазола с большим разнообразием заместителей. Для всех синтезированных соединений изучены фотофизические свойства, найдены корреляции между структурными параметрами и спектральными данными, такими как максимумы полос поглощения и флуоресценции, квантовый выход, коэффициент экстинкции и др. Найдено, что заместители в стирильном фрагменте (положение 5 изоксазольного цикла), в целом, оказывают большее влияние на изменение фотофизических свойств производных изоксазола, что подтверждается квантово-химическими расчетами. Показано, что для 5-стирилизоксазолов характерен эффект сольватохромизма, наблюдаются хемосенсорные свойствами к ряду ионов редкоземельных металлов. Кроме того, низкая цитотоксичность большинства изученных 5-стирилизоксазолов позволяет использовать их в качестве флуоресцентных красителей в биологических объектах.

### 3.5. BF<sub>2</sub>-комплексы изоксазолсодержащих 1,3-дикетонов – новый структурный тип флуорофоров

BF<sub>2</sub>-комплексы 1,3-дикетонов являются перспективным классом флуорофоров, которые характеризуются высокими коэффициентами экстинкции и квантовыми выходами флуоресценции, а также чувствительностью фотофизических характеристик к природе заместителей и внешней среде [164–166]. Среди различных BF<sub>2</sub>-комплексов, содержащих гетероароматические фрагменты наиболее изученными являются комплексы на основе (дипирролил)дикетонов [167–170], в то время как аналогичные соединения бора с другими гетероциклическими фрагментами изучены в меньшей степени. В настоящее время в литературе описаны BF<sub>2</sub>-комплексы, содержащие фрагменты фурана [171–174], тиафена [171, 172, 175–177], тиентиафена [178] и пиридина [179, 180]. Введение различных гетероциклов в структуру BF<sub>2</sub>-комплекса приводит к получению соединений с необычными свойствами, что может оказаться полезным при создании новых материалов. Так, при введении бром- или иодтиафена в структуру дифторборных комплексов дикетонов были получены инициаторы полимеризации лактида, которые обладают флуоресценцией при комнатной температуре, при этом параметры спектра флуоресценции зависят от концентрации кислорода в среде [175]. Введение пиридинового фрагмента в структуру дифторборных комплексов дикетонов позволяет получать соединения, которые сохраняют флуоресцентные свойства в полимерных пленках, обладают заметным термохромизмом и ацидохромизмом [180]. Отметим, что изоксазолсодержащие дифторборные комплексы β-дикетонов в литературе не описаны, и впервые синтезированы в данной работе. С целью выявления зависимости фотофизических характеристик от структуры была получена серия 1,3-дикетонов и их дифторборных комплексов с различными ароматическими и гетероциклическими заместителями.



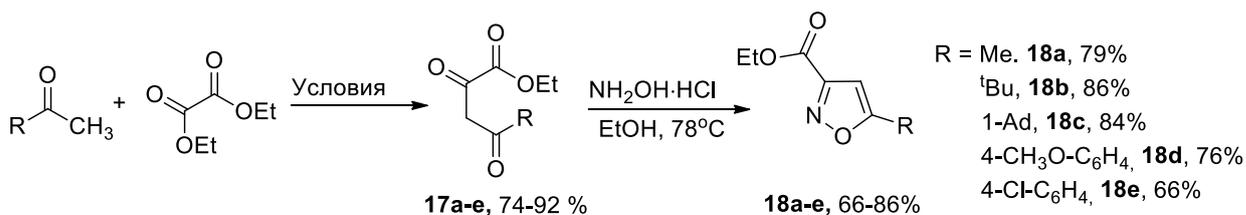
**Рисунок 17.** Общая формула BF<sub>2</sub>-комплексов изоксазолсодержащих 1,3-дикетонов.

#### 3.5.1. Синтез изоксазолсодержащих 1,3-дикетонов и BF<sub>2</sub>-комплексов на их основе

Синтез изоксазолсодержащих дикетонов с различными ароматическими и гетероциклическими заместителями включал получение сложных эфиров изоксазол-3-

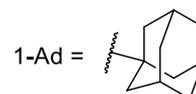
карбоновой кислоты, и их последующую конденсацию с метилкетонами. Сложные эфиры **18a-e** с алкильными и арильными группами в положении 5 изоксазольного цикла были синтезированы стандартным методом [181] путем гетероциклизации 1,3-дикетонов **17a-e** под действием гидроксилamina в этаноле, при этом исходные дикетоны **17a-e** были получены в реакции конденсации соответствующих метилкетонов с диэтилоксалатом (схема 11) [182, 183].

### Схема 11



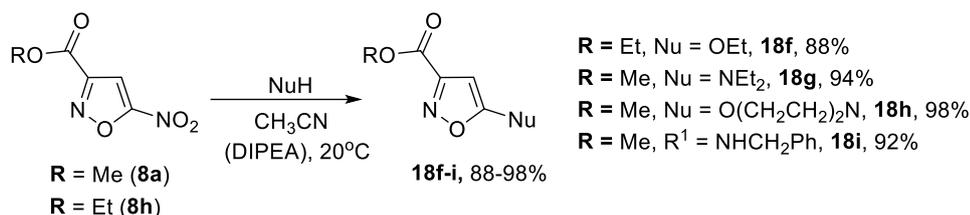
для R = Me Условия = NaOEt, EtOH, 0 °C

для R = <sup>t</sup>Bu, 1-Ad, 4-CH<sub>3</sub>O-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-Cl-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> Условия = NaN, ТГФ, 70 °C



Для получения эфиров **18f-i**, содержащих амино- или алкоксигруппы в изоксазольном цикле был использован разработанный в нашей лаборатории метод функционализации производных изоксазола с использованием реакции нуклеофильного замещения нитрогруппы в положении 5 гетероцикла на различные нуклеофилы [184]. Реакция 5-нитроизоксазолов **8a** и **8h** с серией нуклеофилов протекала при комнатной температуре в присутствии DIPEA в качестве основания (в случае **18f,i**) или в избытке азотсодержащего нуклеофила (в случае **18g,h**). (схема 12).

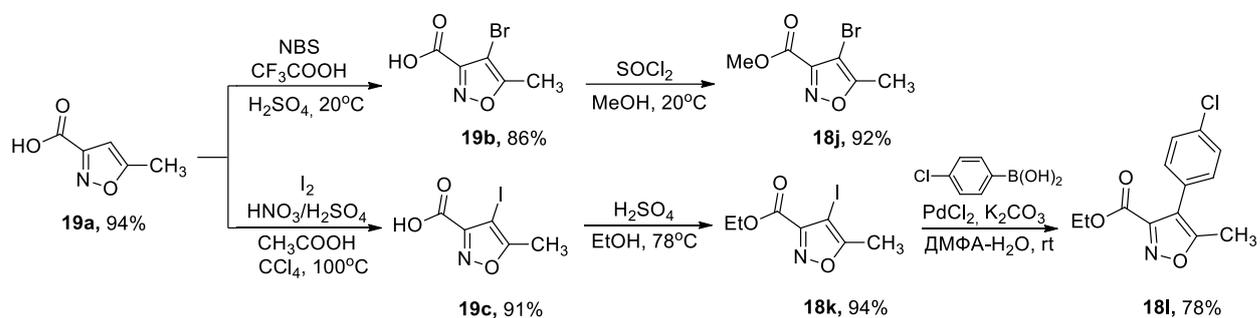
### Схема 12



Введение заместителя в положении 4 изоксазольного цикла проводили с помощью реакции галогенирования изоксазол-3-карбоновой кислоты **19a** по описанным в литературе методикам [185, 186]. Исходная кислота **19a** была получена из эфира изоксазол-3-карбоновой кислоты **18a** с использованием гидролиза сложноэфирной группы. 4-Бром- и 4-йодизоксазол-3-карбоновые кислоты **19b** и **19c** далее подвергались этерификации с образованием соединений **18j,k**. Использование 4-йодизоксазола **18k** в

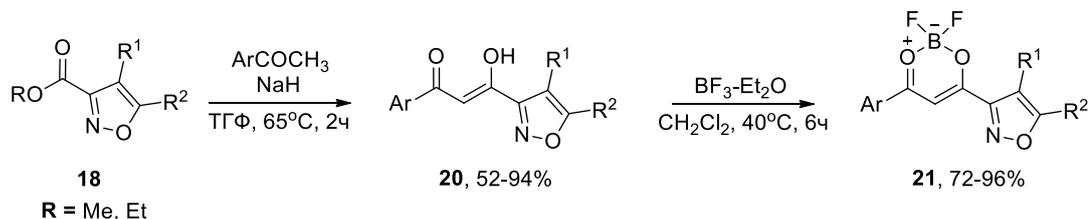
реакции кросс-сочетания Сузуки позволило получить арилированный изоксазол **18l** с хорошим выходом (схема 13).

**Схема 13**

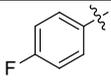
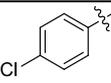
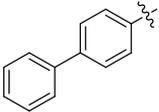
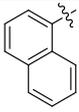
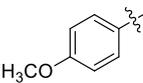
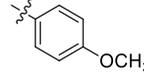
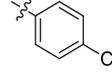


Производные изоксазола **18a-l** были далее введены в реакцию сложноэфирной конденсации с ароматическими метилкетонами, в результате чего была получена серия 1,3-дикетонов **20aa-la**. Их последующее взаимодействие с избытком эфирата трехфтористого бора (4-5 экв.) привело к образованию  $\text{BF}_2$ -комплексов **21 aa-la** с высокими выходами (табл. 18).

**Таблица 18.** Синтез 1,3-дикетонов **20aa-la** и их  $\text{BF}_2$ -комплексов **21aa-la**



Ar	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Соединения 20– 21	Выход, %*	
				20	21
	H	CH <sub>3</sub>	<b>aa</b>	92	92
			<b>ab</b>	90	91
			<b>ac</b>	88	87
			<b>ad</b>	86	92
			<b>ae</b>	84	85

			<b>af</b>	86	83
			<b>ag</b>	90	88
			<b>ah</b>	88	90
			<b>ai</b>	90	92
			<b>aj</b>	82	93
	H	<sup>t</sup> Bu	<b>ba</b>	94	96
			<b>ca</b>	78	88
			<b>da</b>	82	89
			<b>ea</b>	72	87
		OEt	<b>ea</b>	74	86
		NEt <sub>2</sub>	<b>ga</b>	71	84
			<b>ha</b>	72	85
		NHCH <sub>2</sub> Ph	<b>ia</b>	52	72
	Br	CH <sub>3</sub>	<b>ja</b>	82	85
	I		<b>ka</b>	84	91
	<b>la</b>		81	85	

\* Выход выделенного продукта

Строение изоксазолсодержащих 1,3-дикетонов **20aa-la** и их BF<sub>2</sub>-комплексов **21 aa-la** было установлено на основании данных спектроскопии ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C с привлечением двумерных методик (HMBC и HSQC). Состав соединений подтвержден данными масс-спектрометрии высокого разрешения (HRMS-ESI). В спектрах ЯМР <sup>1</sup>H 1,3-дикетонов **20aa-aj**, присутствуют сигналы изоксазольного фрагмента (см. экспериментальную часть), при этом в растворе в хлороформе дикетоны **20aa-la** находятся в енольной форме, о чем

свидетельствует наличие синглетного сигнала =C-H группы в области  $\delta$  6.90–7.11 м.д. и уширенного синглета ОН-группы при  $\delta$  15.62–16.16 м.д. В спектрах ЯМР  $^{13}\text{C}$  дикетонов **20aa-aj** также присутствует характеристичный сигнал СН= группы енольного фрагмента при  $\delta$  93.6–99.8 м.д.

Спектры ЯМР  $^1\text{H}$   $\text{VF}_2$ -комплексов **21aa-la** имеют сходство с соответствующими спектрами 1,3-дикетонов, однако наблюдается смещение сигналов в слабое поле. В частности, сигналы =C-H группы енольного фрагмента находятся в области  $\delta$  7.12–7.52 м.д., при этом область хим.сдвигов атомов углерода =C-H фрагмента практически не изменяется ( $\delta$  93.8–99.4 м.д.).

Для всех  $\text{VF}_2$ -комплексов **21aa-la** были зарегистрированы спектры УФ и флуоресценции, измерены коэффициенты поглощения и квантовые выходы флуоресценции. На основании полученных данных был проведен анализ зависимости фотофизических характеристик от структуры изученных соединений.

Первоначально была изучена серия комплексов **21aa-aj**, в молекуле которых варьировался ароматический заместитель при сохранении 5-метилизоксазольного фрагмента, результаты измерений приведены на рис.18 и в таблице 19.

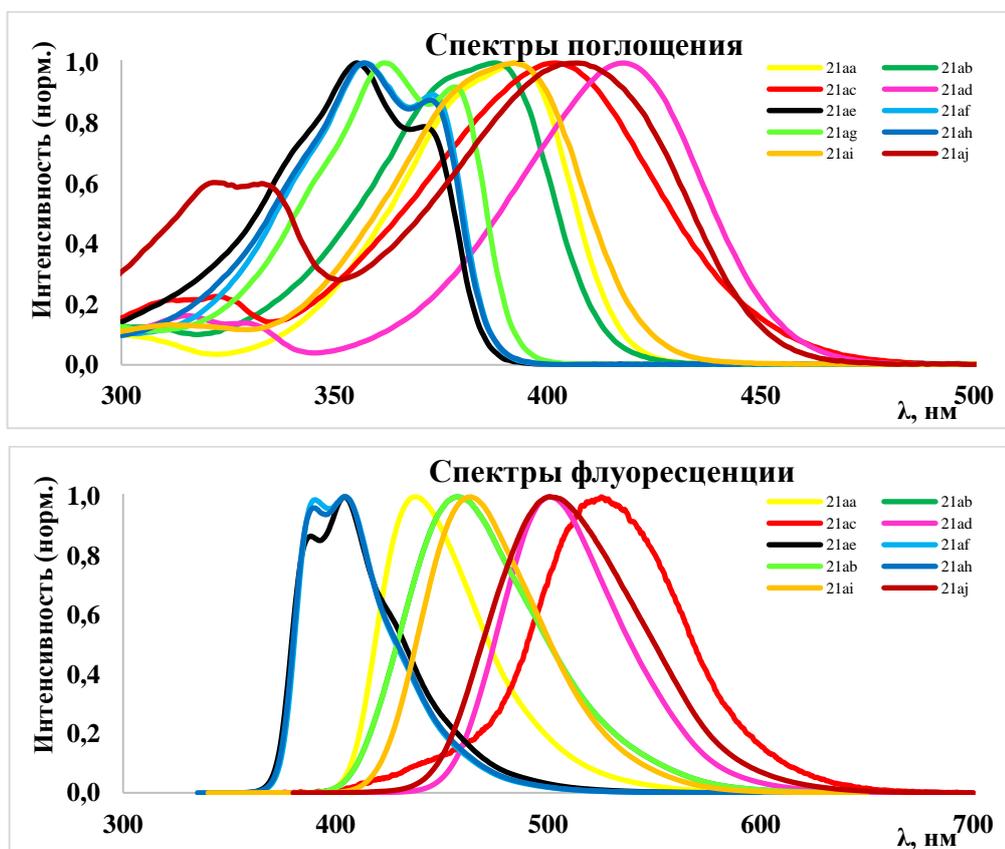
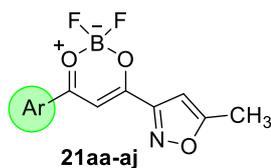


Рисунок 18. Спектры поглощения и флуоресценции соединений **21aa-aj**.

**Таблица 19.** Фотофизические характеристики соединений **21aa-aj** (растворитель – CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).



N	Ar	$\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ , nm	$\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ , nm	$\Delta\lambda$ , cm <sup>-1</sup>	$\epsilon$ , M <sup>-1</sup> ·cm <sup>-1</sup>	$\psi$ , %
<b>21aa</b>		393	438	2614	49495	99.8
<b>21ab</b>		388	458	3939	38424	15.1
<b>21ac</b>		402	527	5900	31272	0.1
<b>21ad</b>		418	501	3963	52961	48.8
<b>21ae</b>		355 371	388 404	2396 2202	31574	5.7
<b>21af</b>		357 373	390 405	2370 2118	32990	11.0
<b>21ag</b>		362 378	395 410	2308 2065	42566	23.6
<b>21ah</b>		357 373	389 405	2304 2118	23916	8.8
<b>21ai</b>		392	464	3959	45512	74.5
<b>21aj</b>		407	502	4650	20133	19.2

Согласно таблице 19 для комплексов **21aa-aj** наиболее длинноволновые максимумы поглощения находятся в видимой области при 355–418 нм, а максимумы эмиссии лежат в диапазоне 388–527 нм. Следует также отметить, что флуоресцентные свойства BF<sub>2</sub>-комплексов **21aa-aj** зависят от природы заместителя в ароматическом кольце. Так, сравнение BF<sub>2</sub>-комплекса фенилдикетоната **21ah** с арилзамещенными

аналогами **21ae**, **21aa**, **21ad** показывает, что введение индуктивного акцептора – группы -CF<sub>3</sub> в ароматическое кольцо (соединение **21ae**) приводит к уменьшению квантового выхода, при этом введение сильных мезомерных донорных групп -SMe, -OMe (соединения **21aa**, **21ad**) значительно увеличивает квантовые выходы. На примере соединений **21af** и **21ag**, содержащих *n*-галогенфенильный фрагмент, можно видеть, что квантовый выход флуоресценции растет с уменьшением электроотрицательности атома галогена. Кроме того, увеличение протяженности π-системы для соединений **21ai** и **21aj**, как и следовало ожидать, приводит к росту квантового выхода.

Далее было изучено влияние изоксазольного фрагмента на флуоресцентные свойства соединений **21ba-1a** при сохранении *n*-метоксифенильного заместителя при кето-группе (рис. 19, табл. 20).

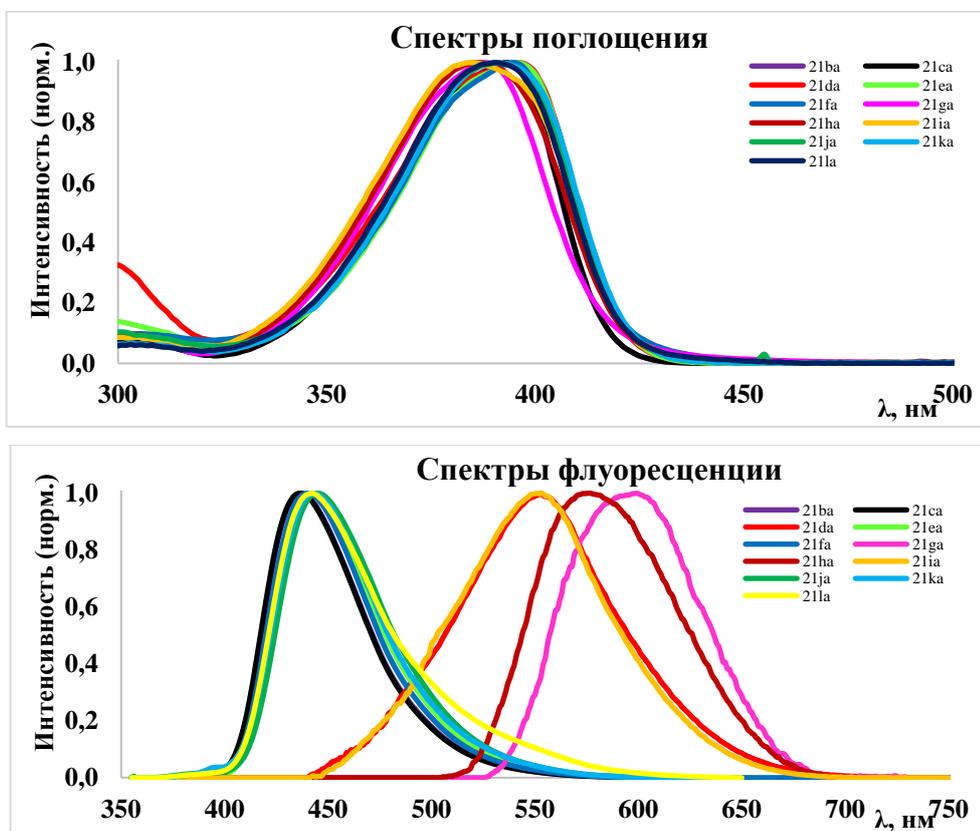
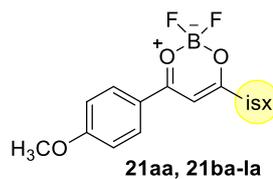


Рисунок 19. Спектры поглощения и флуоресценции соединений **21ba-1a**.

Для борных комплексов данной серии **21ba-1a** наиболее длинноволновые максимумы поглощения также находятся в видимой области при 385–396 нм, а максимумы эмиссии лежат в диапазоне 337–596 нм.

**Таблица 20.** Фотофизические характеристики соединений **21ba-1a** (растворитель – CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).



<b>N</b>	<b>isx</b>	$\lambda^{\max}_{\text{abs}}$ , <b>nm</b>	$\lambda^{\max}_{\text{em}}$ , <b>nm</b>	$\Delta\lambda$ , <b>cm<sup>-1</sup></b>	$\epsilon$ , <b>M<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup></b>	$\psi$ , <b>%</b>
<b>21aa</b>		393	438	2614	49495	99.8
<b>21ba</b>		393	437	2562	46003	97.2
<b>21ca</b>		393	437	2562	39911	99.9
<b>21da</b>		396	553	7169	49162	0.7
<b>21ea</b>		396	442	2628	43416	71.4
<b>21fa</b>		395	440	2589	46004	56.7
<b>21ga</b>		388	596	8995	54554	<0.1
<b>21ha</b>		386	578	8606	45899	0.1
<b>21ia</b>		385	552	7858	32015	0.5
<b>21ja</b>		391	445	3104	39388	47.0
<b>21ka</b>		390	444	3119	39374	1.4
<b>21la</b>		391	442	2951	37791	7.5

Полученные данные демонстрируют зависимость фотофизических характеристик от структуры изоксазольного фрагмента в молекулах  $\beta$ -дикетонатов дифторида бора **21ba-**

**1a** (табл. 20). Было найдено, введение в положение 4 изоксазольного цикла атомов галогенов или *n*-хлорфенильного заместителя (соединения **21ja-1a**) практически не меняет положения максимумов поглощения и флуоресценции по сравнению с аналогичным BF<sub>2</sub>-комплексом **21aa**, содержащим 5-метилизоксазольный фрагмент, однако значительно понижает квантовые выходы (табл. 20). Наличие объемных *трет*-бутильной или 1-адамантильной группы в положении 5 изоксазольного кольца соединений **21ba**, **21ca** практически не изменяет фотофизические характеристики по сравнению (5-метилизоксазолил)замещенным аналогом **21aa**, однако введение в положение 5 изоксазольного цикла донорного *n*-метоксифенильного заместителя (соединение **21da**) приводит к батохромному смещению максимума флуоресценции почти на 100 нм и уменьшению квантового выхода до 0.7%. Аналогичный эффект наблюдается при введении донорных amino- (соединения **21ga-ia**) и алкокси- (соединение **21fa**) групп в изоксазольный цикл. Введение акцепторного *n*-хлорфенильного заместителя в изоксазольное кольцо (соединение **21ea**) приводит к относительно небольшому снижению квантового выхода по отношению к соединению сравнения **21aa** с сохранением положения максимумов полос поглощения и флуоресценции.

На примере соединения **21aa** было также изучено влияние различных растворителей на флуоресцентные свойства изоксазолсодержащих β-дикетонатных комплексов дифторида бора. Было показано, что для этого класса π-сопряженных систем наблюдается эффект сольватохромизма. Согласно данным табл. 21, с увеличением диэлектрической проницаемости растворителя происходит батохромный сдвиг максимумов полос флуоресценции в спектрах производного изоксазола **21aa**.

**Таблица 21.** Влияние растворителей на фотофизические свойства соединения **21aa**

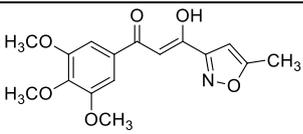
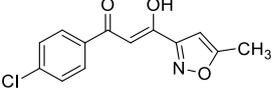
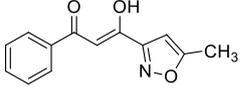
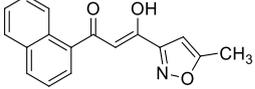
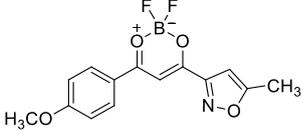
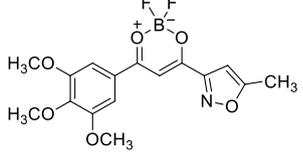
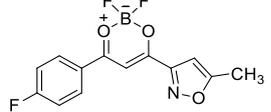
Растворитель	$\lambda^{\max}_{\text{abs}}$ , nm	$\lambda^{\max}_{\text{em}}$ , nm	$\Delta\lambda$ , cm <sup>-1</sup>
C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	394	426	1907
CHCl <sub>3</sub>	393	428	2081
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	393	438	2614
CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub>	390	447	3270
CH <sub>3</sub> CN	390	455	3663
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO	398	456	3196

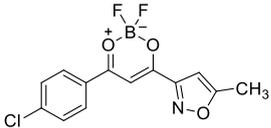
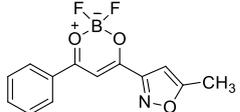
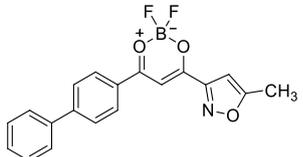
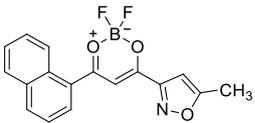
### 3.5.2. Биотестирование противораковой активности выборочной серии BF<sub>2</sub>-комплексов

Наряду с фотофизическими свойствами для ряда BF<sub>2</sub>-комплексов (**21ac**, **21af**, **21ag**, **21ah**, **21ai**, **21aj**), а также некоторых их предшественников – 1,3-дикетонов (**20ac**, **20ag**, **20ah**, **20aj**) мы также провели скрининг противораковой активности с использованием

МТТ-теста на 4 клеточных раковых линиях НСТ-116 (клетки карциномы прямой кишки человека), MCF-7 (клетки аденокарциномы молочной железы человека), A549 (клетки аденокарциномы легкого человека) и SW480 (клетки аденокарциномы толстой кишки человека). Для оценки селективности действия исследуемых соединений, было также изучена их цитотоксичность по отношению к условно нормальным клеткам фибробластов легочной ткани (WI38). Результаты биотестирования приведены в таблице 22. В целом,  $\beta$ -дикетоны и их  $\text{BF}_2$ -комплексы показали слабую цитотоксичность, за исключением соединений **21af** и **21ah**, которые оказались активны на клетках НСТ-116 в микромолярном диапазоне концентраций, причем для этих же соединений наблюдается хорошая селективность к клеткам фибробластов WI38. Комплекс дифторида бора **21ah** характеризуется лучшими результатами в данной серии соединений и может быть выбран в качестве соединения-лидера для дальнейших исследований.

**Таблица 22.** Результаты МТТ-теста для соединений **20** и **21**.

N	Формула	$\text{IC}_{50}$ , $\mu\text{M}$				
		НСТ-116	MCF-7	A549	SW480	WI38
<b>20ac</b>		>200	115.1±50	>200	-	138±35
<b>20ag</b>		45.4±27	92.7±30.5	76±17	-	63±11.5
<b>20ah</b>		42.7±30	82.3±20.4	88±30	-	80.8±20.5
<b>20aj</b>		18.4±7.5	30.7±6.4	22.6±6.1	-	26.3±3.5
<b>21aa</b>		44.6±13.7	111±26	-	75.5±17.3	65.7±24.2
<b>21ac</b>		115±100	>200	-	>200	>200
<b>21af</b>		<b>10.2±4</b>	66.2±27	64±33.5	-	43.6±9.2

<b>21ag</b>		49.6±14.2	88.6±30.2	-	40.3±10.5	61.3±26
<b>21ah</b>		<b>10.9±5.5</b>	75.6±25	86.3±37.2	-	60.5±15
<b>21ai</b>		54±11	74±20	-	31.6±4.5	32±9
<b>21aj</b>		20.5 ±3.1	36±10	-	23±3	30±6,4

Таким образом, разработан универсальный метод синтеза изоксазолсодержащих β-дикетонатов и их BF<sub>2</sub>-комплексов с использованием доступных исходных соединений, получены серии новых π-сопряженных систем на основе изоксазола с большим разнообразием заместителей. Для всех синтезированных соединений изучены фотофизические свойства, найдены корреляции между структурными параметрами и спектральными данными, такими как максимумы полос поглощения и флуоресценции, квантовый выход, коэффициент экстинкции. Найдено, что заместители, как и в арильном фрагменте, так и в изоксазольном фрагменте оказывают заметное влияние на изменение фотофизических свойств BF<sub>2</sub>-комплексов. Кроме того, низкая цитотоксичность и высокие квантовые выходы позволяют использовать данный тип флуорофоров в качестве флуоресцентных меток и красителей.

### 3.6. 5-Метил-4-ациламиноизоксазолы: синтез и изучение антимитотической активности<sup>13</sup>

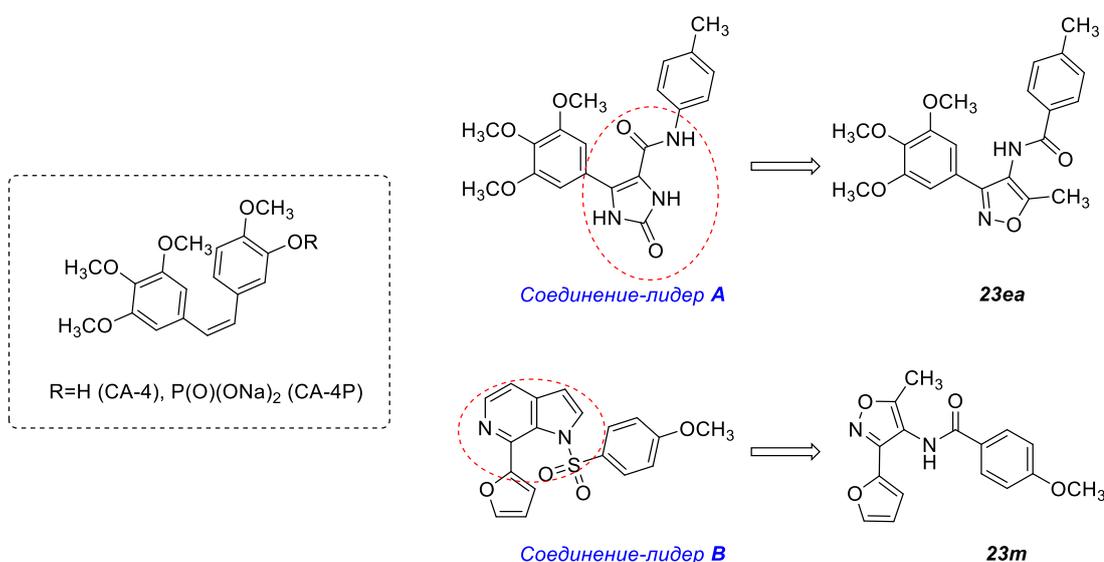
Следующим этапом исследований явилось использование производных 4-нитроизоксазола для направленного синтеза соединений противоопухолевого действия. В качестве молекулярной мишени был выбран клеточный белок тубулин, который образует микротрубочки (МТ), ответственные за различные клеточные процессы, включая митоз, клеточный транспорт, поддержание формы клеток и т. д. Нарушение процессов полимеризации или деполимеризации тубулина приводит к нарушению

<sup>13</sup> Биологические испытания выполнены на кафедре медицинской химии и тонкого органического синтеза химического факультета МГУ к.х.н. Ю.А. Грачевой, в Institute of Biological Sciences, Cell Biology and Biosystems Technology, University of Rostock д.б.н. С.А. Кузнецовым, в Центре медицинской химии, Тольяттинского государственного университета к.х.н. А.С. Буневым и в ИФАВ РАН д.х.н. Е.Ф. Шевцовой и к.м.н. П.Н. Шевцовым

жизнеспособности клеток и их пролиферации. Среди препаратов, действующих на микротрубочки, следует отметить фосфат комбретастина А-4 (СА-4Р, рис. 20), недавно одобренный Европейским агентством по лекарственным средствам и Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США препарат для лечения анапластического рака щитовидной железы и рака яичников [187].

Фосфат комбретастина А-4 является пролекарством комбретастина А-4 (СА-4), который взаимодействует с колхициновым сайтом тубулина, ингибируя полимеризацию белка. За последние десятилетия было синтезировано и протестировано большое количество аналогов комбретастина *in vitro* и *in vivo* [11, 187–190]. Многие из этих аналогов были получены путем изостерической замены двойной связи и/или ароматических колец ароматическими гетероциклами, включая пиррол, имидазол, изоксазол и др. Целью таких преобразований является улучшение активности, селективности, стабильности, фармакокинетических свойств и токсикологического профиля молекулы-лидера [11, 187–190].

В качестве соединений-лидеров для поиска активных структур среди производных изоксазола были выбраны молекулы **A** и **B**, которые, также как и комбретастин связываются с колхициновым сайтом связывания тубулина и проявляют цитотоксическую активность в наномолярном диапазоне концентраций [191, 192] (рис. 20). Соединения **A** и **B** состоят из 3 структурных субъединиц – центрального гетероциклического фрагмента и двух ароматических циклов, связанных линкерами. Мы провели биоизостерную замену центральных синтетически труднодоступных гетероциклов на фрагмент изоксазола, ожидая сохранения антимиотической активности (рис. 20).

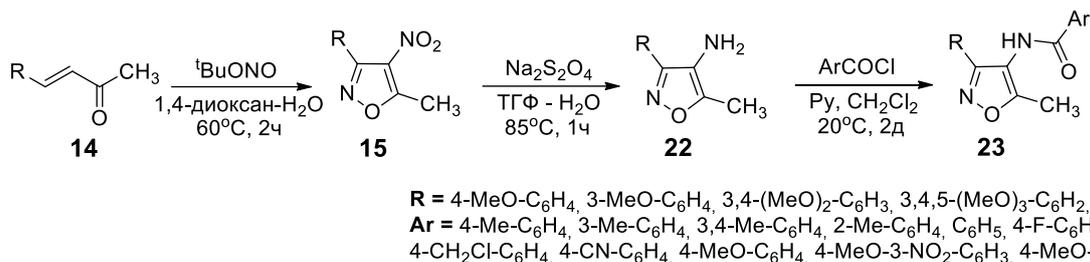


**Рисунок 20.** Комбретастин А-4 (СА-4) и фосфат комбретастина (СА-4Р), соединения-лидеры **A** [191] и **B** [192], и их аналоги **23ea** и **23m**

### 3.6.1. Синтез 4-ациламиноизоксазолов **23ba-m**

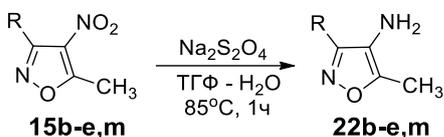
Для синтеза целевых молекул **23ae** и **23m**, а также их структурных аналогов, была использована синтетическая схема, включающая образование 4-нитроизоксазолов **15** реакцией гетероциклизации соответствующих  $\alpha,\beta$ -ненасыщенных кетонов **14**, последующее восстановление нитрогруппы и ацилирование 4-аминоизоксазолов **22** (схема 14).

**Схема 14**



Синтез 4-нитроизоксазолов **15b-e, m**, был описан в разделе 3.3, их восстановление под действием дитионита натрия позволило получить серию 4-аминоизоксазолов **22b-e, m** с хорошими выходами (60-92%) (табл. 23).

**Таблица 23.** Синтез 4-аминоизоксазолов и **22b-e, m**.



№	<b>22b</b>	<b>22c</b>	<b>22d</b>	<b>22e</b>	<b>22m</b>
R					
Выход, %*	92	90	92	90	60

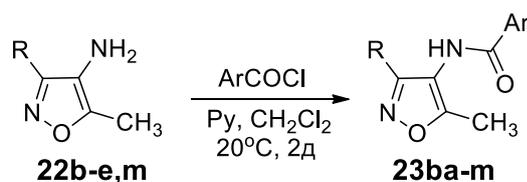
\* Выход выделенного продукта

Строение 4-аминоизоксазолов **22b-e, m** было установлено на основании данных спектроскопии ЯМР <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C с применением двумерных методик HMBC и HSQC. Состав впервые полученных соединений подтвержден данными масс-спектрометрии высокого разрешения (HRMS-ESI). В спектрах ЯМР <sup>1</sup>H изоксазолов **22b-e, m** наблюдается характеристичное смещение синглетного сигнала протонов CH<sub>3</sub>-группы в сильное поле относительно исходных 4-нитроизоксазолов ( $\Delta\delta$  0.5 м.д.), также образование аминогруппы подтверждает наличие уширенного сигнала при  $\delta$  2.75–3.00 м.д. В спектре ЯМР <sup>13</sup>C гетероциклов присутствуют характеристичный сигнал атома C(4), связанного с

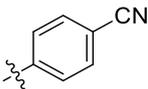
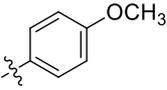
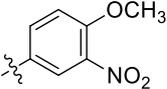
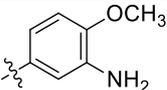
NH<sub>2</sub>-группой при  $\delta$  120.3–120.5 м.д. а также два других сигнала, относящихся к атомам C(3) и C(5), в области  $\delta$  156.5–156.6 м.д. и  $\delta$  154.8–155.0 м.д., соответственно.

Ацилирование аминогруппы 4-аминоизоксазолов **22b-e,m** проводилось под действием хлорангидридов замещенных бензойных кислот в присутствии пиридина в качестве основания. Целевые 4-ациламиноизоксазолы **23ba-m** были получены с выходами от умеренных до высоких в зависимости от легкости хроматографического выделения (табл. 24).

**Таблица 24.** Синтез целевых соединений **23ba–23m**.



R	Ar	Соединение	Выход, %*
		<b>23ba</b>	78
		<b>23bb</b>	80
		<b>23ca</b>	62
		<b>23cb</b>	62
		<b>23da</b>	54
		<b>23db</b>	66
		<b>23ea</b>	70
		<b>23eb</b>	70
		<b>23ec</b>	62
		<b>23ed</b>	68
		<b>23ee</b>	72
		<b>23ef</b>	70
		<b>23eg</b>	60

	<b>23eh</b>	60
	<b>23ei</b>	67
	<b>23ej</b>	71
	<b>23ek</b>	90
	<b>23m</b>	64

\* Выход хроматографически выделенного продукта

Строение и состав 4-ациламиноизоксазолов **23ba-m** были установлены аналогичным набором методов. В спектрах ЯМР  $^1\text{H}$  изоксазолов **23ba-m** наблюдаются характеристичный синглет протонов  $\text{CH}_3$ -группы в области 2.27–2.44 м.д, а также уширенный синглет NH-группы в диапазоне  $\delta$  7.30–8.09 м.д. В спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  гетероциклов присутствуют сигналы четвертичных атомов углерода изоксазольного цикла: сигнал атома C(4), связанного с NH-группой при  $\delta$  111.7–112.4 м.д., а также два других сигнала, относящихся к атомам C(3) и C(5), в области  $\delta$  158.8–159.2 м.д. и  $\delta$  164.4–166.6 м.д., соответственно.

### 3.6.2. Изучение противораковой активности 4-ациламиноизоксазолов **23ba-m**

В ходе первичных исследований с помощью иммунофлуоресцентной микроскопии [193] была изучена способность целевых 4-ациламиноизоксазолов **23ea** и **23m**, а также их предшественников – аминоизоксазолов **22e**, **22m**, ингибировать полимеризацию тубулина в микротрубочки в клетках эпителиальной карциномы легкого A549. Влияние соединений на пролиферацию клеток изучали с помощью прямого подсчета клеток под микроскопом после 24 часов культивирования [194] (табл. 25).

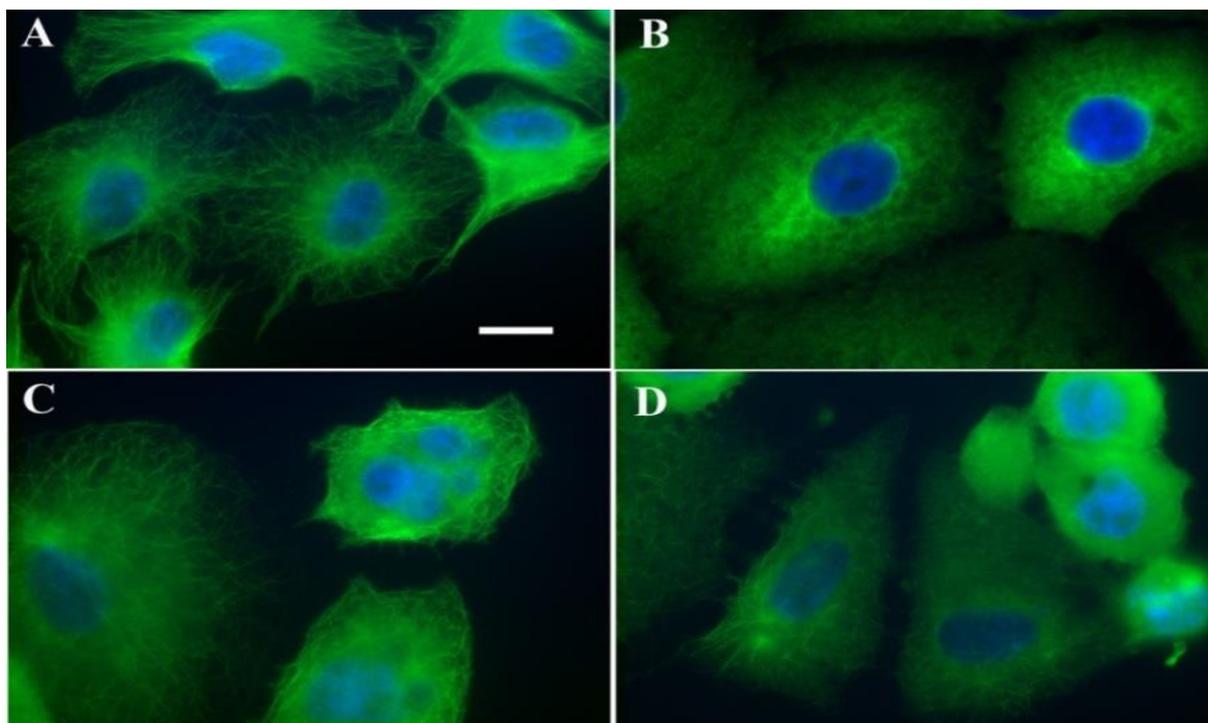
**Таблица 25.** Результаты первичного тестирования (клеточные линии A549 и LNCaP).

Соединение	Ингибирование роста клеток, <sup>1</sup> %		Действие на МТ и клетки A549 (24 ч)	Цитотоксичность, IC <sub>50</sub> , μM <sup>3</sup>		
	A549	LNCaP		A549	LNCaP	HUVEC
<b>22e</b>	0 (100 μM)	2.2±4.2 (5 μM)	Нет эффекта	n.d.	>75	n.d.
		3.0±6.3 (10 μM)				
		31.7±7.2 (20 μM)				
<b>22m</b>	0 (100 μM)	n.d.	Нет эффекта	n.d.	>75.	n.d.
<b>23ea</b>	100 (5 μM) 58 (1 μM) 8 (0.1 μM) IC <sub>50</sub> =0.99 μM <sup>2</sup>	81.3±3.7 (5 μM)	Частичная деполимеризация МТ (100 μM), округлые клетки (10 μM), апоптоз (10 μM), отделение клеток (10 μM – 42%, 100 μM – 70%)	0.271±0.046	0.335±0.033	0.346±0.024
		84.5.0±2.7 (10 μM)				
		93.1±1.1 (20 μM)				
		7.7±6.5 (5 μM)				
<b>23m</b>	7 (100 μM)	0.1±6.1 (10 μM) 29.5±11.4 (20 μM)	Нет эффекта	n.d.	n.d.	n.d.
Колхицин	100 (1 μM)	n.d.	Деполимеризация МТ (1 μM, 24ч)	0.030±0.005	n.d.	n.d.

<sup>1</sup> Клетки инкубировали с соединением в указанной концентрации в течение 24 ч, считали с помощью фазово-контрастной микроскопии с использованием гемоцитометра (в качестве отрицательного контроля использовали 0.5% ДМСО); <sup>2</sup> Значение IC<sub>50</sub> рассчитывали по кривой роста клеток; <sup>3</sup> МТТ-тест, результат трех независимых экспериментов. **A549** – клетки аденокарциномы эпителия легкого, **LNCaP** – клетки аденокарциномы предстательной железы, **HUVEC** – эндотелиальные клетки пупочной вены.

Было найдено, что 4-аминоизоксазолы **22e** и **22m** и фуранзамещенный ациламиноизоксазол **23m** не оказывают влияния на микротрубочки и на пролиферацию раковых клеток. Таким образом, замена сульфонил-6-азаиндолового каркаса в соединении-лидере **B** на 5-метил-4-изоксазолиламидный фрагмент привела к полной потере активности. Вероятнее всего, это связано с уменьшением жесткости центрального ядра в соединении **23m**, что привело к искажению взаимного расположения фурановых и *п*-метоксифенильных остатков по сравнению с таковыми в молекуле **B**.

Более интересные результаты были получены для соединения **23ea** (табл. 25 и рис. 21), которое продемонстрировало способность вызывать частичную деполимеризацию МТ в клетках A549 при высоких концентрациях (100 μM, рис. 18, D) и полностью ингибировать рост клеток при концентрации 5 мкМ (IC<sub>50</sub> = 0.99 μM). Таким образом, 4-ациламиноизоксазол **23ea**, также как и соединение-лидер **A**, оказался активным по отношению к белку тубулину.



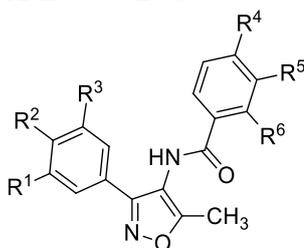
**Рисунок 21.** Иммунофлуоресцентная микроскопия клеток A549, обработанных тестируемыми или контрольными соединениями в течение 24 ч (тубулин отмечен зеленым, ДНК – синим): А – интактные МТ (0.5% ДМСО, отрицательный контроль); В – полностью деполимеризованные МТ (колхицин 1  $\mu\text{M}$ , положительный контроль); С – нормальные МТ и характерная для апоптоза фрагментация ядер (**23ea**, 10  $\mu\text{M}$ ); D – частичная деполимеризация МТ и округленные клетки (**23ea**, 100  $\mu\text{M}$ ).

Следует подчеркнуть, что различие в концентрациях при которых происходит ингибирование роста клеток и полимерации тубулина, свидетельствует о том, что тубулин является не единственной мишенью молекулы **23ea**. Так, при концентрации 10  $\mu\text{M}$ , не наблюдается деполимеризация МТ, однако происходит округление клеток, сильное отслаивание клеток от субстрата (42%, табл. 25), а также клеточный апоптоз (рис. 21С). Эти данные подтверждают предположение о том, что 4-ациламиноизоксазол **23ea**, скорее всего, действует не только на тубулин, но и на другую неустановленную молекулярную мишень, взаимодействие с которой вносит существенный вклад в цитотоксическую активность соединения.

Данные МТТ-теста соединения **23ea**, на линиях раковых клеток A549 (клетки аденокарциномы эпителия легкого) и LNCaP (клетки аденокарциномы предстательной железы человека) и клетках неракового происхождения HUVEC (эндотелиальные клетки пупочной вены человека) показали, что значения  $\text{IC}_{50}$  находятся в наномолярном диапазоне концентраций, при этом селективность к раковым клеткам не наблюдается (табл. 25).

С целью достижения большей селективности по отношению к раковым клеткам была также изучена противораковая активность аналогов 4-ациламиноизоксазола **23ea**, содержащих различные ароматические фрагменты. Варьирование заместителей в ароматическом кольце ацильного фрагмента молекулы **23ea** было проведено за счет замены *n*-метильной группы на другие заместители, различающиеся по электронным свойствам, объему и способности обеспечивать дополнительные липофильные контакты или водородные связи с белком. Изучение взаимосвязи “структура-активность” аналогов соединения **23ea** (табл. 26) показало, что удаление *n*-метильного заместителя в бензамидном фрагменте (соединение **23ee**) приводит к снижению активности по отношению к тубулину, и общей цитотоксичности. Такой же эффект наблюдался при замене метильной группы на другие заместители (соединения **23ef**, **23eg**, **23ei**) независимо от их электронных свойств, объема и других параметров. Изменение положения метильной группы в ароматическом кольце бензамидного фрагмента приводит к уменьшению активности в отношении к полимеризации тубулина в следующей последовательности: *p*-CH<sub>3</sub> ≈ *m*-CH<sub>3</sub> > *o*-CH<sub>3</sub>(≈H), при этом аналогичным образом меняется цитотоксичность по отношению к клеточной линии LNCaP (табл. 26). Интересно отметить, что введение NH<sub>2</sub>-группы в *m*-положение соединения **23ei**, которое является не активным по отношению к МТ, немного улучшает способность вызывать деполимеризацию МТ (соединение **23ek**).

**Таблица 26.** Данные иммунофлуоресцентной микроскопии и ингибирования роста клеток серии ациламиноизоксазолов **23ea** – **23db**.



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>	R <sup>6</sup>	Эффект на микротрубочки и клеточную морфологию (100 μМ 24 ч)	Ингибирование роста клеток LNCaP, %		
								5μМ	10μМ	20μМ
<b>23ea</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	10 μМ: нормальные МТ, меньше прикрепленных клеток, апоптоз, рост клеток отсутствует 100 μМ: частичная деполимеризация МТ, много округлых клеток, отслоение клеток, апоптоз	81.3±3.7	84.6±1.7	93.1±1.1
<b>23eb</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H	10 μМ: нормальные МТ, меньше прикрепленных клеток, апоптоз, рост клеток отсутствует 100 μМ: частичная деполимеризация МТ, много округлых клеток, отслоение клеток, апоптоз	83.8±1.6	84.5±2.7	90.6±1.1
<b>23ec</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	N.d.	82.3±0.8	84.7±1.5	93.4±1.4

<b>23ed</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>	Много округлых клеток, отслоение клеток, нормальные МТ, в некоторых клетках частичная дезорганизация МТ	9.9±16.3	8.3±17.3	52.3±3.5
<b>23ee</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	Много округлых клеток, отслоение клеток, нормальные МТ, в некоторых клетках частичная дезорганизация МТ	2.2±3.9	2.8±12.6	14.8±6.4
<b>23ef</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	F	H	H	Нет эффекта	1.6±14.3	8.7±5.4	63.6±4.2
<b>23eg</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Cl	H	H	10 μМ: не влияет на МТ 100 μМ: отсутствие клеток в субстрате, полное отделение клеток	75.2±0.5	90.0±0.9	98.0±1.2
<b>23eh</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CN	H	H	N.d.	1.0±5.7	0.8±5.2	24.9±4.1
<b>23ei</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	Нет эффекта	80.1±3.8	86.3±1.3	88.1±1.5
<b>23ej</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub>	H	N.d.	11.1±9.6	28.4±6.8	78.7±4.2
<b>23ek</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>	H	Нормальные МТ, только в некоторых клетках частичная дезорганизация МТ, нет изменений в клеточной морфологии.	84.7±3.2	86.6±0.3	87.7±2.1
<b>23ba</b>	H	OCH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H	H	Нет эффекта	4.0±7.4	1.9±0.8	19.2±5.0
<b>23bb</b>	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>	H	Нет эффекта	9.5±9.4	1.3±0.8	14.2±7.2
<b>23ca</b>	OCH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>	H	H	Нет эффекта	5.1±1.5	9.4±2.1	25.8±6.9
<b>23cb</b>	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	CH <sub>3</sub>	H	Нет эффекта	12.6±4.5	13.6±11.1	15.5±5.5
<b>23da</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H	H	Нет эффекта	0.2±9.7	3.1±2.5	20.6±8.4
<b>23db</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>	H	Нет эффекта	0.1±1.9	2.7±4.4	29.8±9.0
<b>Кол-хицин</b>							Полная деполимеризация МТ, (1 μМ, 24 ч)	n.d.	n.d.	n.d.

Можно также отметить, что, в целом, *n*- или *m*-метильный заместитель в бензамидной части 3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазола (**23ea** и **23eb**) является важным структурным фрагментом для обеспечения цитотоксической активности и воздействия на МТ. Удаление одной или двух метоксигрупп из 3,4,5-триметоксифенильного фрагмента приводит к резкой потере активности: соединения **23ba–23db** не оказывают воздействие на МТ, проявляют слабую цитотоксичность, либо ее отсутствие (табл. 26). Таким образом, исследование SAR показало, что 3,4,5-триметоксифенильный фрагмент в положении 3 изоксазольного цикла является ключевой структурной единицей, определяющей эффективность производных изоксазола как в отношении тубулина, так и других молекулярных мишеней.

Дополнительное биотестирование ряда активных (**23ea**, **23eb**, **23eg**, **23ek**) и малоактивных (**23ei** и **23db**) производных изоксазола на серии раковых и условно нормальных клеточных линиях выявило достаточно высокую цитотоксичность для большинства соединений (табл. 27). В целом, 3,4,5-триметоксифенилзамещенные изоксазолы **23ea**, **23eb**, **23eg**, **23ek**, **23ei** показали активность по отношению ко всем изученным клеточным линиям, при этом гетероцикл **23ea** оказался наиболее цитотоксичным как для раковых, так и для условно нормальных клеток. Следует

отметить, что цитотоксичность его близкого аналога **23eb** в отношении линии клеток аденокарциномы предстательной железы человека LNCaP ( $IC_{50} = 0.301 \mu\text{M}$ ) была примерно на порядок выше, чем в отношении условно нормальных клеток линии WI-26 VA4 ( $IC_{50} = 2.26 \mu\text{M}$ ) и HUVEC ( $IC_{50} = 5.58 \mu\text{M}$ ) и значительно выше, чем у первичных фибробластов ( $IC_{50} > 75 \mu\text{M}$ ). Таким образом, соединение **23eb** продемонстрировало значительно лучший токсикологический профиль *in vitro* по сравнению с другими изученными соединениями данной серии.

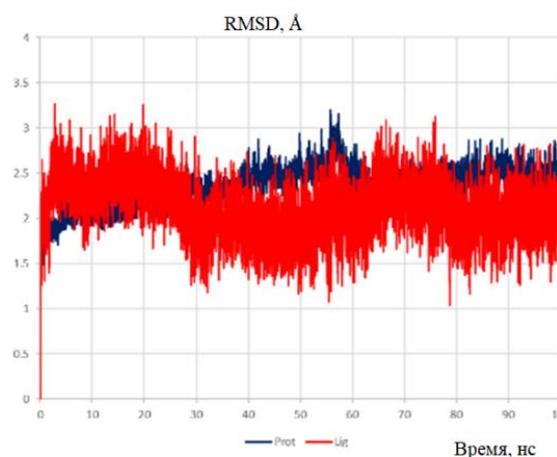
**Таблица 27.** Результаты МТТ-теста для ряда 4-ациламиноизоксазолов **23ea**, **23eb**, **23eg**, **23ei** и **23db**

	<b>23ea</b>	<b>23eb</b>	<b>23eg</b>	<b>23ei</b>	<b>23ek</b>	<b>23db</b>
	$IC_{50}, \mu\text{M}$					
<b>LNCaP</b>	0.335±0.033	0.301±0.036	0.773±0.29	4.85±0.67	1.56±0.25	n.d.
<b>A-375</b>	0.157±0.084	1.67±0.23	n.d.	2.86±0.39	1.18±0.16	n.d.
<b>A431</b>	0.319±0.43	2.68±0.53	11.11±5.78	4.00±0.62	n.d.	n.d.
<b>PC3</b>	>75	>75	n.d.	>75	>75	>75
<b>Caco-2</b>	n.d.	n.d.	8.01±1.20	10.68±4.04	3.17±0.98	n.d.
<b>HCT 116</b>	1.33±0.52	6.01±1.08	5.66±1.61	11.04±1.71	10.40±4.12	n.d.
<b>A549</b>	0.271±0.046	1.21±0.18	n.d.	2.18±0.37	1.25±0.19	>75
<b>BJ-5ta/hTERT</b>	n.d.	2.54±0.88	1.37±0.21	4.38±1.61	2.02±0.79	n.d.
<b>WI-26 VA4</b>	0.269±0.021	2.26±0.20	1.33±0.57	3.26±0.22	1.56±0.12	>75
<b>HUVEC</b>	0.346±0.024	5.58±0.52	n.d.	7.95±0.65	3.72±0.23	n.d.
<b>Primary fibroblast</b>	>75	>75	4.71±2.82	>75	>75	>75

### 3.6.3. Изучение механизма действия 4-ациламиноизоксазолов **23ba-m**

Для подтверждения вероятного механизма действия 4-ациламиноизоксазолов на примере соединения **23ea** было смоделировано его взаимодействие с центром связывания колхицина в димере  $\alpha, \beta$ -тубулина с помощью молекулярного докинга и молекулярно-динамического моделирования. График среднеквадратичных отклонений (RMSD) для неводородных атомов белка и лиганда (рис. 22), а также визуальный осмотр траектории подтверждают, что стабильность системы сохраняется в течение всего периода моделирования (100 нс), хотя лиганд немного меняет свое положение по сравнению с первоначальным положением докинга и принимает конформацию с примерно параллельными ароматическими кольцами, возможно, стабилизированными внутримолекулярной  $\pi$ - $\pi$ -стекингом.

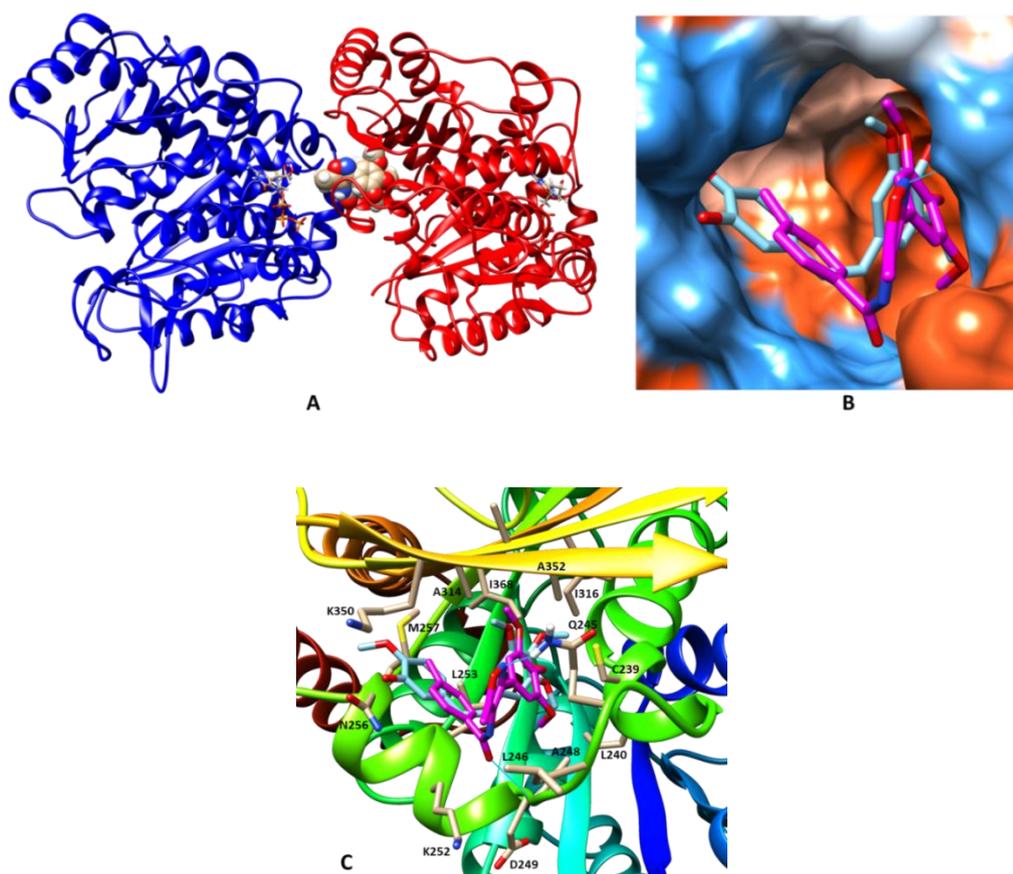
Способ связывания соединения **23ea** (рис. 23) подобен другим лигандам колхицинового сайта, таким как комбретастатин (PDB: 5LYJ)<sup>14</sup> [195]. Связывание стабилизируется пространственным соответствием, гидрофобными и полярными взаимодействиями, а также водородными связями гетероатомов изоксазола и амидной группы с остатками белка Gln245 и Asp249 (последняя связь невозможна в неактивных аминокислотах **22e**, **22m**). Триметоксифенильный фрагмент лиганда **23ea**, выполняющий роль якоря в гидрофобном субкармане, очень близок к аналогичному фрагменту у СА-4, а второе ароматическое кольцо несколько смещено из-за иных конформационных требований линкера и отсутствия полярных взаимодействий линкера тозилльной группы прототипа (молекулы А, рис. 23). Возникающие межмолекулярные взаимодействия с ароматическим кольцом ацильного фрагмента объясняют отсутствие активности соединений, содержащих *o*- и *m*-заместители, в то время как в *n*-положении более объемные и относительно полярные заместители имеют возможность заполнить дистальный подкарман белка, подобно СА-4. В целом, эти результаты показывают, что соединение **23ea** действительно может действовать как ингибитор полимеризации тубулина, связываясь с сайтом связывания колхицина. Структура сайта связывания также согласуется с паттернами SAR для этой серии соединений<sup>15</sup>.



**Рисунок 22.** График среднеквадратичных отклонений неводородных атомов белка и лиганда (**23ea**) при молекулярно-динамическом моделировании комплекса с димером  $\alpha,\beta$ -тубулина.

<sup>14</sup> <https://www.rcsb.org/structure/5lyj>

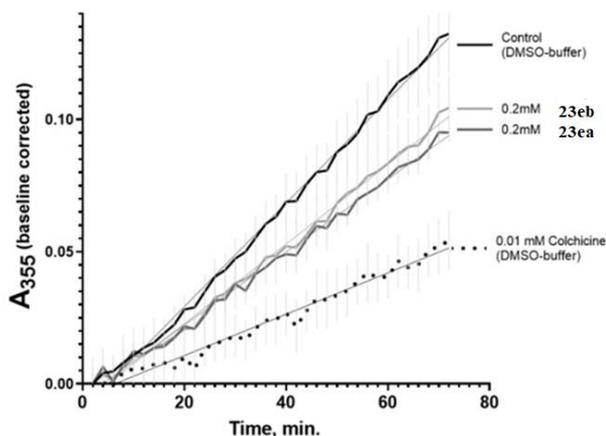
<sup>15</sup> Моделирование выполнено на кафедре медицинской химии и тонкого органического синтеза химического факультета МГУ к.х.н. Е.В. Радченко



**Рисунок 23.** Способ связывания соединения **23ea** уточнен с помощью молекулярно-динамического моделирования. (А) Общий вид димера  $\alpha,\beta$ -тубулина и расположение сайта связывания.  $\alpha$ -Субъединица показана синим цветом, а  $\beta$ -субъединица красным. Соединение **23ea** представлено моделью spacefill, молекулы GTP и GDP, связанные соответственно в  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицах, представлены моделями палочек. (В) Связывающий карман в  $\beta$ -субъединице. Лиганд **23ea** представлен моделью палочек пурпурного цвета. Водородные связи показаны голубыми линиями. Положение комбретастатина (PDB: 5LYJ, соответствует  $\beta$ -субъединице) показано моделью палочек голубого цвета. Атомы водорода удалены для удобства восприятия рисунка. Поверхность белка окрашена в соответствии с изменением гидрофобности: от гидрофильной (синий) до гидрофобной (оранжевый). (С) Детальный вид сайта связывания в  $\beta$ -субъединице. Лиганд **23ea** представлен моделью палочек пурпурного цвета, аминокислотные остатки, расположенные в пределах 3 Å от него, представлены моделями палочек бежевого цвета. Водородные связи показаны голубыми линиями. Положение комбретастатина (PDB: 5LYJ, соответствует  $\beta$ -субъединице) показано моделью палочек голубого цвета.  $\alpha$ -субъединица и атомы водорода удалены для удобства восприятия рисунка. Каркас  $\beta$ -субъединицы окрашен в радужный цвет от N-конца (синий) до С-конца (красный).

Для дальнейшего подтверждения взаимодействия соединений **23ea** и **23eb** с сайтом связывания колхицина в димере  $\alpha,\beta$ -тубулина было изучено их влияние на полимеризацию тубулина и белков, ассоциированных с микротрубочками (Тб+МАР). Полимеризацию Тб+МАР и сборку микротрубочек характеризовали путем измерения временной зависимости поглощения света при 355 нм для суспензии Тб+МАР в присутствии ДМСО (контроль), 10  $\mu$ М колхицина, 200  $\mu$ М соединений **23ea** или **23eb**

(рис. 24). Величины скорости полимеризации тубулина относительно контрольного образца (ДМСО) представлены в табл. 28. В целом, полученные результаты подтверждают, что соединения **23ea** и **23eb** действуют как ингибиторы полимеризации тубулина, что является одним из механизмов их цитотоксичности и антипролиферативного действия.



**Рисунок 24.** Влияние соединений **23ea** и **23eb** на полимеризацию Тб+МАР (сравнение с колхицином) в виде зависимости поглощения при 355 нм от времени. Каждая кривая представляет среднее значение 3 различных экспериментов, каждая точка представляет собой среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение.

**Таблица 28.** Ингибирование полимеризации Тб+МАР соединениями **23ea**, **23eb** и стандартным ингибитором колхицином.

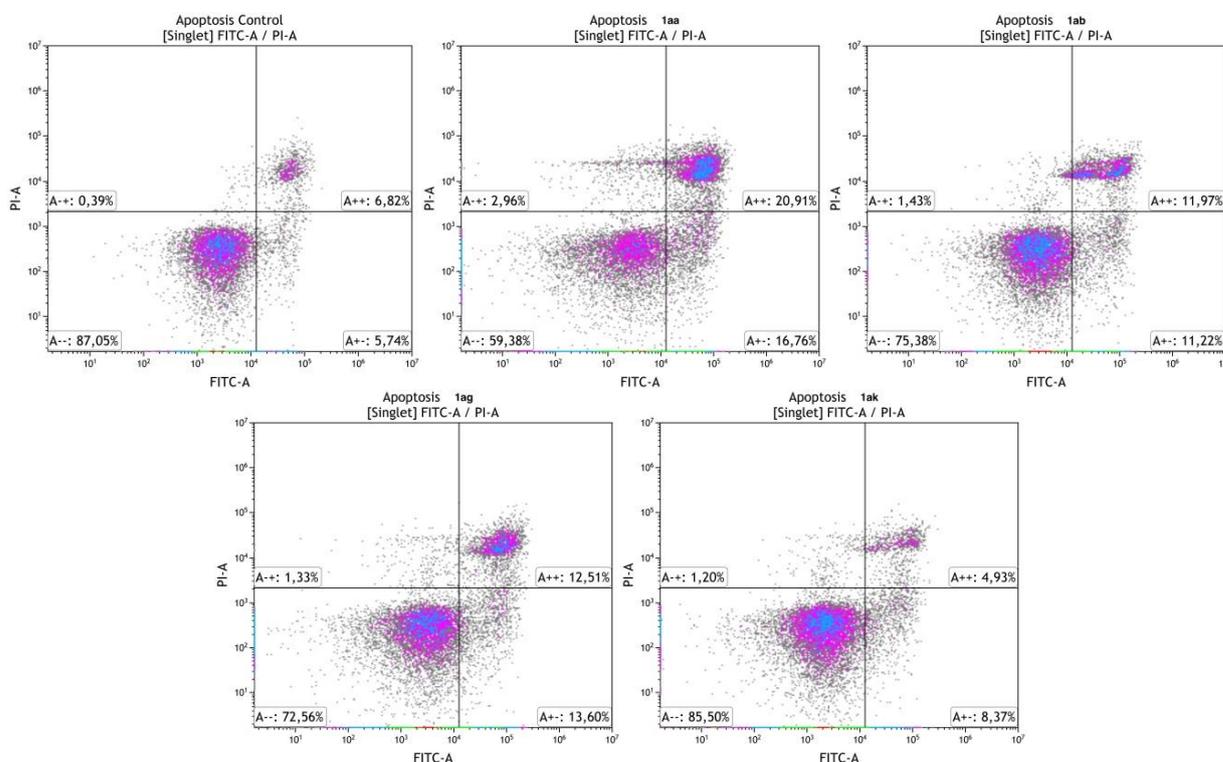
Проба	$dA_{355}/dt$ , %
Контроль (DMSO-buffer)	$100 \pm 3$
10 $\mu$ M Колхицин (DMSO-buffer)	$40 \pm 3$
200 $\mu$ M 23ea	$70 \pm 1$
200 $\mu$ M 23eb	$77 \pm 2$

#### 3.6.4. Изучение влияния 4-ациламиноизоксазолов **23ba-m** на апоптоз и клеточный цикл.

Одним из вариантов клеточного ответа на внешние раздражители является гибель клетки, которая может происходить по различным сценариям, наиболее распространенными из которых являются некроз и апоптоз. Апоптоз – это запрограммированная гибель клеток, которая обычно нарушается в злокачественных опухолях [196]. Таким образом, индуцирование апоптоза может быть также использовано в терапии рака [197].

В ходе предварительных исследований было показано, что изучаемый класс соединений кроме тубулина взаимодействует с другой мишенью, в ходе чего индуцируется апоптоз. Для выяснения возможных механизмов цитотоксичности полученных веществ, для более активных соединений **23ea,eb,eg,ek** было выполнено

исследование их влияния на клеточный цикл и индукцию апоптоза. Анализ влияния соединений **23ea,eb,eg,ek** при концентрации 1  $\mu\text{M}$  на ранний и поздний апоптоз в клетках LNCaP был проведен методом проточной цитометрии с помощью двойного окрашивания аннексином V-FITC/иодидом пропидия (AV/PI) (рис. 25 и табл. 29).



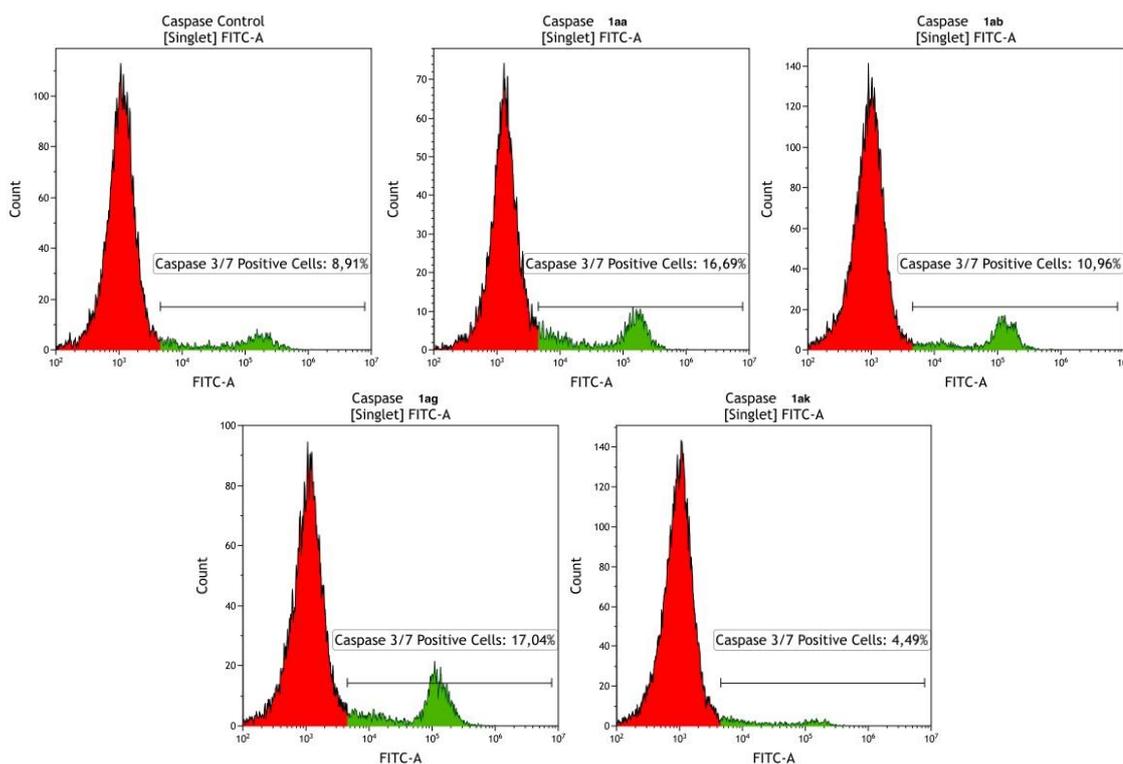
**Рисунок 25.** Апоптоз клеток LNCaP, вызванный соединениями **23ea,eb,eg,ek** (концентрация 1  $\mu\text{M}$ ). Аннексин-FITC/PI, клеточная популяция: A-- живые, A+- ранний апоптоз, A++ поздний апоптоз, A-+ мертвые. Данные слева направо: контроль, **23ea**, **23eb**, **23eg**, **23ek**.

Полученные цитометрические данные (табл. 29) свидетельствуют о том, что обработка клеток LNCaP соединениями **23ea,eb,eg** приводит к существенному увеличению доли популяции аннексин V-FITC-позитивных клеток раннего апоптоза (A+-, рис. 25), а также клеток с поздним апоптозом (A++, рис. 25) после 24-часовой инкубации. Таким образом, обработка клеток раствором изучаемых соединений приводит к 2–3 кратному увеличению доли апоптических клеток по сравнению с необработанным контролем.

**Таблица 29.** Апоптоз клеток LNCaP, вызванный соединениями **23ea,eb,eg,ek**, %

Соединение	Выжившие клетки	Ранний апоптоз	Поздний апоптоз	Умершие клетки
Контроль	87.05	5.74	6.82	0.39
<b>23ea</b>	59.38	16.76	20.91	2.96
<b>23eb</b>	75.38	11.22	11.97	1.43
<b>23eg</b>	72.56	13.60	12.51	1.33
<b>23ek</b>	85.50	8.37	4.93	1.20

Известно, что апоптоз представляет собой строго регулируемый и контролируемый биохимический процесс, в том числе, связанный с активностью ферментов каспаз [198]. Для установления пути гибели клеток была исследована возможность производных изоксазолов **23ea,eb,eg,ek** вызывать активацию каспаз 3/7. Полученные данные подтверждают, что указанные соединения активируют каспазы, что приводит к гибели клетки по типу апоптоза (рис. 26, табл. 30), что также подтверждает результаты цитометрических экспериментов.



**Рисунок 26.** Активация каспаз 3/7 соединениями **23ea,ab,ag,ak**. Инкубация с клетками LNCaP в течение 24 ч при концентрации 1  $\mu\text{M}$  (клеточная популяция: зеленый цвет – каспазы 3/7 положительные клетки, красный цвет – каспазы 3/7 отрицательный клетки). Данные слева на право: контроль, **23ea**, **23eb**, **23eg**, **23ek**.

**Таблица 30.** Активация каспаз 3/7 соединениями **23ea,ab,ag,ak** Инкубация с клетками LNCaP в течение 24 ч при концентрации 1  $\mu\text{M}$ .

Соединение	Клетки с активированными каспазами 3/7, %
Контроль	8.91
<b>23ea</b>	16.69
<b>23eb</b>	10.96
<b>23eg</b>	17.04
<b>23ek</b>	4.49

Для выяснения влияния 4-ациламиноизоксазолов на клеточный цикл, клетки карциномы толстой кишки HCT116 обрабатывали соединениями **23ea** и **23eb** в концентрациях  $2 \times \text{IC}_{50}$  в течение 24 ч. Как показано в табл. 31, после 24 часов не было зарегистрировано значительных изменений в распределении клеточного цикла. При этом

после 48 часов наблюдалось значительное увеличение клеток в G2/M-фазе, одновременно с уменьшением доли клеток в S-фазе.

**Таблица 31.** Распределение клеточного цикла в клетках HCT116, обработанных **23ea** и **23eb**.

Соединение	Время, ч	G0/G1 <sup>[a]</sup>	S <sup>[a]</sup>	G2/M <sup>[a]</sup>
Vehicle	24	78.6	15.1	6.3
	48	65.0	21.0	12.8
<b>23ea</b>	24	73.6	14.4	12.0
	48	34.9	27.7	35.8
<b>23eb</b>	24	74.5	14.7	10.6
	48	31.6	20.5	33.3

<sup>[a]</sup> Значения представляют собой проценты соответствующей фазы. Показан один эксперимент из трех с практически одинаковыми результатами.

### 3.6.5. Прогнозирование ADMET, физико-химического и PAINS профилей для 4-ациламиноизоксазолов **23ba-m**

Чтобы оценить потенциальную пригодность 4-ациламиноизоксазолов **23ba-m** для дальнейшего применения, были рассчитаны некоторые параметры ADMET и физико-химические свойства на примере нескольких соединений (табл. 32). Найдено, что молекулярные массы гетероциклов, а также спрогнозированные липофильность и растворимость в воде соответствуют потенциальным лекарственным соединениям в соответствии с общепринятыми эмпирическими правилами. Соединения **23ea**, **23eb**, **23ec**, **23eg**, **23ei**, **23ek** показали высокие спрогнозированные значения кишечной абсорбции, что делает возможным их пероральное введение. Для большинства изученных соединений **23ea**, **23eb**, **23ec**, **23eg**, **23ei**, **23ek** прогнозируется умеренная проницаемость гематоэнцефалического барьера с ожидаемой концентрацией в головном мозге около 40–60% от концентрации в плазме, что позволяет рассчитывать на значительную биодоступность гетероциклов в ЦНС. Оба параметра риска сердечной токсичности (hERG pK<sub>i</sub> и pIC<sub>50</sub> составляют примерно 4.2–5.4 логарифмических единиц) находились в нижней части своих возможных диапазонов (3–9 логарифмических единиц), что указывает на вероятное отсутствие взаимодействия с hERG. Интегральная количественная оценка лекарственного сходства (QED) также была выше 0.5, что подтверждает вероятные благоприятные свойства. Проверка на проявление ложноположительных результатов в высокопроизводительном скрининге (фильтр PAINS) не выявила каких-либо противопоказаний.

В целом предсказанные параметры ADMET, физико-химические и PAINS свойства 4-ациламиноизоксазолов с антимитотической активностью оказались вполне

приемлемыми для потенциальных соединений-лидеров на ранних стадиях разработки лекарств, хотя в дальнейшем может потребоваться дополнительная оптимизация структуры.

**Таблица 32.** Прогнозируемые физико-химические и ADMET-профили выбранных ациламиноизоксазолов.

N	MW	LogPow	pSaq	LogBB	НИА	hERG pK <sub>i</sub>	pIC <sub>50</sub>	QED
<b>23ea</b>	382.42	3.48	5.48	-0.21	77	5.43	4.41	0.69
<b>23eb</b>	382.42	3.47	5.48	0.40	77	5.37	4.41	0.69
<b>23ec</b>	396.44	3.80	5.82	-0.20	77	5.37	4.46	0.66
<b>23eg</b>	416.86	3.83	5.65	-0.37	84	5.43	4.45	0.56
<b>23ei</b>	398.42	3.15	5.23	-0.31	61	5.29	4.28	0.64
<b>23ek</b>	413.43	2.68	4.77	-0.42	67	5.24	4.17	0.57

Примечание: MW – молекулярная масса, LogPow – коэффициент распределения октанол-вода, pSaq – растворимость в воде [-log(M)], LogBB – проницаемость гематоэнцефалического барьера, НИА – кишечная абсорбция человека [%], hERG pK<sub>i</sub> – аффинность к hERG калиевому каналу [-log(M)], hERG pIC<sub>50</sub> – ингибирующая активность калиевых каналов hERG [-log(M)], QED – количественная оценка лекарственного сходства.

### 3.6.6. Инкапсулирование 4-ациламиноизоксазолов в полимерные носители на примере соединения **23ea**<sup>16</sup>

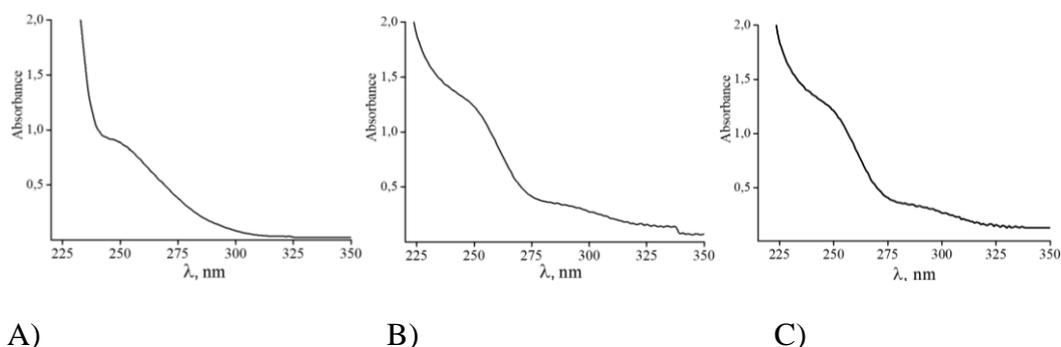
Для соединения **23ea** с целью увеличения растворимости в воде была опробована его иммобилизация полимерным носителем. В качестве полимерного носителя были предложены природные водорастворимые биосовместимые микрогели (наноконтейнеры) на основе натриевой соли альгиновой кислоты, подшитых ионами Ca<sup>2+</sup> или Mg<sup>2+</sup>. Для иммобилизации изоксазола **23ea** микрогелями было необходимо перевести нейтральную молекулу в протонированную форму с использованием 50% серной кислоты для последующего электростатического взаимодействия с функциональными (карбоксылными) группами анионных микрогелей. Поскольку изоксазолы в большинстве случаев неустойчивы к сильноокислым и сильноосновным средам, был проведен контрольный эксперимент по проверке сохранения структуры соединения **23ea** после обработки раствором серной кислоты. Контроль осуществлялся с использованием ЯМР <sup>1</sup>H спектроскопии, данные которой подтверждают, что соединение **23ea** успешно протонируется без деструкции.

Для иммобилизации изоксазола **23ea** были выбраны два полисахаридных микрогеля (наноконтейнеров) с ионами Ca<sup>2+</sup> и Mg<sup>2+</sup> с одинаковой концентрацией

<sup>16</sup> Исследования выполнены на кафедре высокомолекулярных соединений химического факультета МГУ к.х.н. В.В. Спиридоновым.

мономерных звеньев анионного полимера,  $[Alg]$  равной  $2 \times 10^{-4}$  моль  $л^{-1}$ , и мольным соотношением полимера к ионам двухвалентного металла  $[Ca^{2+}] \setminus [Mg^{2+}]$ , равным  $10 \setminus 1$ .

При взаимодействии **I-II** с протонированным изоксазолом **23ea** поддерживали массовое соотношение изоксазол/микродель = 0.3. В результате были получены образцы (Alg)- $Ca^{2+}$ -Izoxazole (**III**) и (Alg)- $Mg^{2+}$ -Izoxazole (**IV**), которые полностью растворялись в воде при концентрации 0.1 % вес. Определение содержания изоксазола **23ea** в (**III**) и (**IV**) было проведено спектрофотометрически. Типичный УФ-спектр поглощения изоксазола представлен на рис. 24. УФ-спектр содержит широкий пик поглощения с максимумом при 250 нм. Интенсивность пика поглощения при 250 нм пропорционально изменяется при варьировании концентрации гетероцикла в растворе, что позволило получить надёжный калибровочный график.



**Рисунок 27.** УФ-спектры водных растворов изоксазола **23ea** (A) концентрации  $c=1,03 \times 10^{-4}$  М в системе  $H_2O/DMCO$ ; изоксазола **23ea**, иммобилизованного в микродель (**I**) ( $1 \div 10$ ), общая концентрация тройной системы  $c=0.25$  мг/мл (B); изоксазола **23ea**, иммобилизованного в микродель (**II**), общая концентрация тройной системы  $c=0.25$  мг/мл (C).

Микродели **III** и **IV** представляют интерес для таргетной доставки лекарств и обеспечивают водорастворимую форму активного вещества. При этом такие микродели должны удовлетворять требованиям к носителям биологически активных веществ, в том числе, обладать низкой токсичностью по отношению к здоровым клеткам. Для оценки противораковой активности иммобилизованного изоксазола **23ea**, а также цитотоксичности самих микроделей для образцов **I-IV** были проведены биологические испытания с помощью МТТ теста на линии раковых клеток (НСТ116) и условно нормальных клеток (табл. 33).

Из данных таблицы 33 следует, что микродели **I** и **II** не проявляют токсичности по отношению к здоровым клеткам, но обладают противораковой активностью по отношению к линии клеток НСТ116. Так же было найдено, что изоксазолсодержащие микродели **III** и **IV** проявляют сходную активность к линиям НСТ116, но при этом

являются более токсичными. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что микрогель **IV** имеет лучший токсикологический профиль чем изоксазол **23ea** и микрогель **III**.

**Таблица 33.** Цитотоксичность водорастворимых наноконтейнеров на основе альгината, в том числе, содержащих изоксазол **23ea**, по отношению к опухолевым и нормальным клеткам.

Соединение	IC <sub>50</sub> , μM	
	НСТ116	Фибробласты человека
<b>23ea</b>	0.18	0.21
<b>(I)</b>	0.1	>50
<b>(II)</b>	3.25	>50
<b>(III)</b>	0.1	0.31
<b>(IV)</b>	0.22	3.42

\* Измерения проводились в растворе, содержащем ДМСО (конечная концентрация ДМСО < 0,5%). **НСТ 116** – клетки рака толстой кишки, **I** – полисахаридный микрогель (наноконтейнер) с ионами Ca<sup>2+</sup>, **II** – полисахаридный микрогель (наноконтейнер) с ионами Mg<sup>2+</sup>, **III** – , **III** – полисахаридный микрогель (наноконтейнер) с ионами Ca<sup>2+</sup>-изоксазол, **IV** – полисахаридный микрогель (наноконтейнер) с ионами Mg<sup>2+</sup>-изоксазол.

Таким образом, был разработан эффективный метод синтеза 4-ациламиноизоксазолов, представляющих интерес в качестве антимиотических агентов. Получена представительная серия новых соединений, среди которых найдены перспективные структуры для дальнейшего изучения. Показано, что для соединений данного структурного типа наряду с тубулином имеется дополнительная молекулярная мишень, установление которой требует дополнительных исследований. Найдено, что гетероцикл **23ea** показал высокую антимиотическую активность, а также способность влиять на полимеризацию тубулина в клетках карциномы легкого человека A549. В ходе анализа влияния структуры на активность было также выявлено соединение **23eb**, которое характеризуется хорошим токсикологическим профилем *in vitro*.

#### 4. Экспериментальная часть<sup>17</sup>

Спектры ЯМР <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>19</sup>F, <sup>31</sup>P регистрировали на спектрометрах «Bruker AM-400» (рабочие частоты 400, 101, 376 и 162 МГц, соответственно) и Agilent 400-MR (рабочие частоты 400, 101, 376 и 162 МГц, соответственно). В качестве внутреннего стандарта использовали сигналы растворителя (<sup>1</sup>H: CDCl<sub>3</sub>, δ = 7.26 м.д., DMSO-d<sub>6</sub>, δ = 2.50 м.д.; <sup>13</sup>C: CDCl<sub>3</sub>, δ = 77.16 м.д., DMSO-d<sub>6</sub>, δ = 39.52 м.д.), H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> в качестве внешнего стандарта для <sup>31</sup>P и CFCI<sub>3</sub> в качестве внешнего стандарта для <sup>19</sup>F. Спектры высокого разрешения были зарегистрированы на приборе Bruker micrOTOF II методом электрораспылительной ионизации (ESI). Измерения выполнены на положительных (напряжение на капилляре – 4500 V) или отрицательных (напряжение на капилляре 3200 V) ионах. Диапазон сканирования масс — m/z 50 — 3000 Д, калибровка — внешняя или внутренняя (Electrospray Calibrant Solution, Fluka). Использовался шприцевой ввод вещества для растворов в ацетонитриле, метаноле или воде, скорость потока — 3 мкл/мин. Газ-распылитель — азот (4 л/мин), температура интерфейса –180°C.

Контроль за ходом реакций и чистотой химических веществ осуществляли методом ТСХ (Macherey-Nagel ALUGRAM SIL G/UV<sub>254</sub>). Препаративная колоночная хроматография выполнялась с использованием силикагеля марки «Macherey-Nagel Kieselgel 60 0,04-0,063 mm/230-400 meshASTM.»

Все реагенты и растворители очищали и высушивали в соответствии со стандартными методиками [199].

В работе использовались коммерчески доступные: 1,2-этандиол, 1,3-пропандиол, 1,4-бутандиол, 1,2/1,3/1,4-фенилендиметанол, акриловая кислота, метилакрилат, акриламид, бут-3-ен-2-он, пент-1-ен-3-он, трифенилфосфин, 1-хлорацетон, пиррол-1-карбальдегид, фуран-1-карбальдегид, тиофен-1-карбальдегид, бензальдегид, 2/3/4-метоксибензальдегид, 4-метилтиобензальдегид, 4-фторбензальдегид, 4-бромбензальдегид, 4-иодбензальдегид, 4-диметиламинобензальдегид, 4-(трифторметил)бензальдегид, 4-нитробензальдегид, 3,4-диметоксибензальдегид, 3,4,5-триметоксибензальдегид, индол-3-карбальдегид, бифенил-4-карбальдегид, 1-нафталальдегид, бензофуран-2-карбальдегид, пирен-1-карбальдегид, ацетофенон, 1-([1,1'-бифенил]-4-ил)этанон, 1-(3,4,5-триметоксифенил)этанон, 2/3/4-метилбензойная кислота, бензойная кислота, 3,4-диметилбензойная кислота, 4-фторбензойная кислота, 4-(хлорметил)бензойная кислота, 4-цианобензойная кислота, 4-метоксибензойная кислота.

Тетранитрометан был синтезирован по описанной методике [200].

<sup>17</sup> Основное содержание данного раздела изложено в опубликованных работах автора, приведенных в разделе 7

## 4.1. Синтез соединений

### 4.1.1. Синтез бис(изоксазолов)

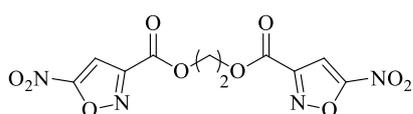
Исходные диолы **1a-f** являются коммерчески доступными соединениями, диены **2a-f** были синтезированы по описанной в литературе методике [153].

#### 4.1.1.1. Синтез бис(5-нитроизоксазолов) (**3a-f**)

##### Общая методика I

К раствору тетранитрометана (0.6 мл, 0.98 г, 5 ммоль) в 1,4-диоксане (6 мл) при 0 °С медленно добавили триэтиламин (0.56 мл, 0.40 г, 4 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 5 минут, затем медленно добавили раствор алкена (1 ммоль) в 1,4-диоксане (2 мл). Полученную смесь отогрели до комнатной температуры, после чего перемешивали при 70 °С в течение 2 часов. Растворитель отогнали при пониженном давлении, продукт очистили методом препаративной колоночной хроматографии.

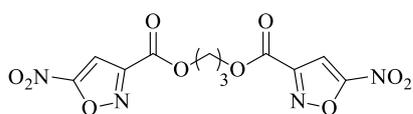
##### Этан-1,2-диил бис(5-нитроизоксазол-3-карбоксилат) (**3a**)



Бесцветные кристаллы; выход: 46 % (160 мг);  $T_{пл} = 138-141$  °С;  $R_f = 0.24$  (ПЭ-ЭА, 3:1). Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  4.81 (с, 4Н,  $2CH_2O$ ), 7.42 (с, 2Н,  $2CH$ ). Спектр ЯМР  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  64.0 ( $2CH_2O$ ), 102.4 ( $2CH$ ), 157.6 ( $2C$ ), 157.7 ( $2C$ ), 166.0 ( $2CNO_2$ ).

Вычислено для  $C_{10}H_6N_4O_{10}$ : С, 35.10; Н, 1.77; N, 16.37. Найдено: С, 35.12; Н, 1.79; N, 16.09.

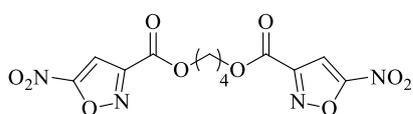
##### Пропан-1,3-диил бис(5-нитроизоксазол-3-карбоксилат) (**3b**)



Бесцветные кристаллы; выход: 55 % (200 мг);  $T_{пл} = 75-77$  °С;  $R_f = 0.14$  (ПЭ-ЭА, 4:1). Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.35 (кв,  $^3J = 6.1$  Гц, 2Н,  $CH_2$ ), 4.59 (т,  $^3J = 6.1$  Гц, 4Н,  $2CH_2O$ ), 7.43 (с, 2Н,  $2CH$ ). Спектр ЯМР  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  27.7 ( $CH_2$ ), 63.7 ( $2CH_2O$ ), 102.5 ( $2CH$ ), 157.7 ( $2C$ ), 158.0 ( $2C$ ), 165.8 ( $2CNO_2$ ).

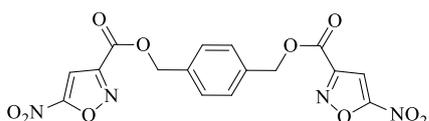
Вычислено для  $C_{11}H_8N_4O_{10}$ : С, 37.19; Н, 2.26; N, 15.73. Найдено: С, 37.57; Н, 2.07; N, 15.21.

##### Бутан-1,4-диил бис(5-нитроизоксазол-3-карбоксилат) (**3c**)



Бесцветные кристаллы; выход: 64 % (240 мг);  $T_{пл} = 123-125$  °С;  $R_f = 0.16$  (ПЭ-ЭА, 4:1). Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  1.95–2.03 (м, 4Н,  $2CH_2$ ), 4.48–4.56 (м, 4Н,  $2CH_2O$ ), 7.41 (с, 2Н,  $2CH$ ). Спектр ЯМР  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  25.2 ( $2CH_2$ ), 66.5 ( $2CH_2O$ ), 102.4 ( $2CH$ ), 157.8 ( $2C=O$ ), 158.2 ( $2C$ ), 165.9 ( $2CNO_2$ ).

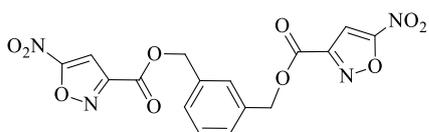
*1,4-Фениленди(метилен) бис(5-нитроизоксазол-3-карбоксилат) (3d)*



Бесцветные кристаллы; выход: 32 % (130 мг);  $T_{пл} = 150-151\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.24$  (ПЭ-ЭА, 4:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.46 (с, 4H,  $2\text{CH}_2\text{O}$ ), 7.40 (с, 2H, 2CH), 7.50 (с, 4H, 4CH(Ar)). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  NMR (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  68.3 ( $2\text{CH}_2\text{O}$ ), 102.5 (2CH), 129.4 (4CH(Ar)), 135.1 ( $2\text{C(Ar)}$ ), 157.6 ( $2\text{C=O}$ ), 158.1 (2C), 165.8 ( $2\text{CNO}_2$ ).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{Na}^+$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$ : 441.0289. Найдено: 441.0296.

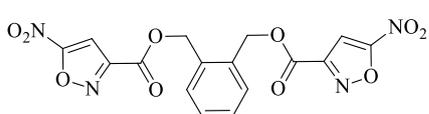
*1,3-Фениленди(метилен) бис(5-нитроизоксазол-3-карбоксилат) (3e)*



Бесцветные кристаллы; выход: 40 % (170 мг);  $T_{пл} = 108-110\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.22$  (ПЭ-ЭА, 3:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.47 (с, 4H,  $2\text{CH}_2\text{O}$ ), 7.41 (с, 2H, 2CH), 7.45–7.50 (м, 3H, 3CH(Ar)), 7.53–7.56 (м, 1H, CH(Ar)). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  NMR (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  68.3 ( $2\text{CH}_2\text{O}$ ), 102.5 (2CH), 129.1 (CH(Ar)), 129.52 ( $2\text{CH(Ar)}$ ), 129.59 (CH(Ar)), 134.9 ( $2\text{C(Ar)}$ ), 157.6 ( $2\text{C=O}$ ), 158.1 (2C), 165.8 ( $2\text{CNO}_2$ ).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{Na}^+$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$ : 441.0289. Найдено: 441.0283.

*1,2-Фениленди(метилен) бис(5-нитроизоксазол-3-карбоксилат) (3f)*

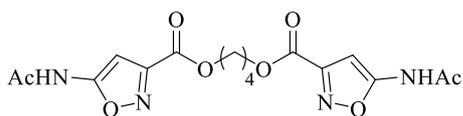


Бесцветные кристаллы; выход: 22 % (92 мг);  $T_{пл} = 112-114\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.56$  (ПЭ-ЭА, 3:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.62 (с, 4H,  $2\text{CH}_2\text{O}$ ), 7.40 (с, 2H, 2CH), 7.43–7.49 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.52–7.59 (м, 2H, 2CH(Ar)). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  NMR (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  66.3 ( $2\text{CH}_2\text{O}$ ), 102.5 (2CH), 120.1 ( $2\text{CH(Ar)}$ ), 131.3 ( $2\text{CH(Ar)}$ ), 133.3 ( $2\text{C(Ar)}$ ), 157.5 ( $2\text{C=O}$ ), 158.0 (2C), 165.8 ( $2\text{CNO}_2$ ).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{Na}^+$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$ : 441.0289. Найдено: 441.0285.

*4.1.1.2. Синтез бутан-1,4-диил бис(5-ацетамидоиксазол-3-карбоксилата) (5)*

К раствору бис(5-нитроизоксазола) **3c** (370 мг, 1 ммоль) в смеси ТГФ (8 мл) –  $\text{H}_2\text{O}$  (8 мл) добавили  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  (1050 мг, 6 ммоль). Смесь нагрели до  $90\text{ }^\circ\text{C}$ , оставили перемешиваться при данной температуре в течение 1 часа, затем охладили до комнатной температуры. Реакционную смесь сконцентрировали при пониженном давлении, остаток растворили в  $\text{Ac}_2\text{O}$  (5.00 мл, 5.40 г, 53.0 ммоль) и добавили церия (III) хлорид (493 мг, 2.0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 24 часов, затем вылили в воду и нейтрализовали насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$  (до pH 7–8). Продукт экстрагировали  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4×20 мл). Объединенные органические слои сушили над  $\text{MgSO}_4$ , растворитель отогнали при пониженном давлении, продукт очистили методом препаративной колоночной хроматографии.

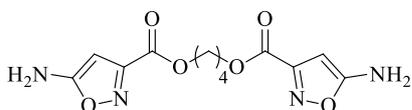


Бесцветные кристаллы; выход: 46 % (180 мг);  $T_{пл} = 225-226\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.34$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH, 20:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, DMSO):  $\delta$  1.77–1.85 (м, 2H, 2CH<sub>2</sub>), 2.12 (с, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 4.30–4.41 (м, 2H, 2CH<sub>2</sub>O), 6.47 (с, 2H, 2CH), 11.94 (с, 2H, 2NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  23.0 (2CH<sub>3</sub>), 25.1 (2CH<sub>2</sub>), 65.4 (2CH<sub>2</sub>O), 89.0 (2CH), 157.0 (2C), 159.9 (2C=O), 162.9 (2C), 167.6 (2C=O).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}_8^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ]<sup>+</sup>: 395.1197. Найдено: 395.1192.

#### 4.1.1.3. Синтез 1,4-фениленди(метилен) бис(5-аминоизоксазол-3-карбоксилата) (**4d**)

К раствору бис(5-нитроизоксазола) **3d** (418 мг, 1 ммоль) в смеси ТГФ (8 мл) – H<sub>2</sub>O (8 мл) добавили Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (1050 мг, 6 ммоль). Смесь нагрели до 90 °С, оставили перемешиваться при данной температуре в течение 1 часа, затем охладили до комнатной температуры. Далее в смесь добавили H<sub>2</sub>O (8 мл) и конц. HCl (3.7 мл), нагрели до 60 °С и перемешивали 15 минут, после чего охладили и нейтрализовали NaHCO<sub>3</sub> до pH 7–8. Реакционную смесь вылили в воду и экстрагировали EtOAc (4×20 мл). Объединенные органические слои промыли насыщенным раствором NaCl и сушили над MgSO<sub>4</sub>, продукт очистили методом препаративной колоночной хроматографии.



Бесцветные кристаллы; выход: 32 % (120 мг);  $T_{пл} = 150-151\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.24$  (ПЭ-ЭА, 4:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  5.35 (с, 4H, 2CH<sub>2</sub>O), 5.38 (с, 2H, 2CH), 7.47 (с, 4H, 4CH(Ar)). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  NMR (100 МГц, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  67.8 (2CH<sub>2</sub>O), 79.2 (2CH), 129.7 (4CH(Ar)), 137.2 (2C(Ar)), 158.1 (2C=O), 161.7 (2C), 173.8 (2C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_6\text{Na}^+$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ]<sup>+</sup>: 381.0806. Найдено: 381.0802.

#### 4.1.2. Синтез 4-нитроизоксазол-5-аминов

Исходные алкены **8d–g** являются описанными в литературе соединениями и были получены по известным методикам [201–204]. 5-Нитроизоксазолы **9a–f** были получены согласно описанным методикам в [152], 5-аминоизоксазолы **10a–f** – в [154].

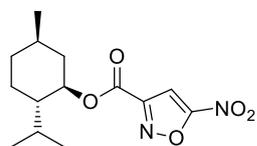
##### 4.1.2.1. Синтез исходных 5-нитроизоксазолов **9a–g** и изоксазол-5-аминов **10a–g**

#### Общая методика II

К раствору тетранитрометана (0.6 мл, 0.98 г, 5 ммоль) в 1,4-диоксане (4 мл) при 0 °С медленно добавили триэтиламин (0.56 мл, 0.40 г, 4 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 5 минут, затем медленно добавили раствор (1R,2S,5R)-2-изопропил-5-метилциклогексил акрилата (0.42 г, 2 ммоль) в 1,4-диоксане (0.5 мл). Полученную смесь отогрели до комнатной температуры, после чего перемешивали при

70 °С в течение 2 часов. Растворитель отогнали при пониженном давлении, продукт очистили методом препаративной колоночной хроматографии [152].

*(1R,2S,5R)-2-изопропил-5-метилциклогексил-5-нитроизоксазол-3-карбоксилат (9g)*



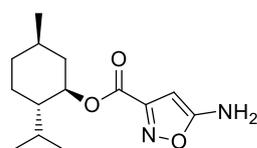
Бесцветные кристаллы; выход: 67% (400 мг);  $T_{пл} = 101-102\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.20$  (ПЭ- $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 2:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.77 (д,  $^3J = 7.0$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 0.84–0.89 (м, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 0.90 (д,  $^3J = 7.0$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 0.93 (д,  $^3J = 6.6$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.03–1.14 (м, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 1.13–1.22 (м, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 1.49–1.62 (м, 2H, 2CH), 1.68–1.78 (м, 2H, 2 $\text{CH}_2$ ), 1.83–1.92 (м, 1H, CH), 2.06–2.14 (м, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 5.00 (тд,  $^3J = 4.4$  Гц,  $^3J = 11.0$  Гц, 1H, CHO), 7.38 (с, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  16.4 ( $\text{CH}_3$ ), 20.7 ( $\text{CH}_3$ ), 22.0 ( $\text{CH}_3$ ), 23.5 ( $\text{CH}_2$ ), 26.5 (CH), 31.6 (CH), 34.1 ( $\text{CH}_2$ ), 40.6 ( $\text{CH}_2$ ), 46.9 (CH), 78.1 (CH), 102.5 (CH), 157.4 (C=O), 158.6 (C), 165.6 (CNO<sub>2</sub>).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5\text{K}^+$  [ $\text{M} + \text{K}$ ]<sup>+</sup>: 335.1004. Найдено: 335.1005.

### Общая методика III

К раствору *(1R,2S,5R)-2-изопропил-5-метилциклогексил-5-нитроизоксазол-3-карбоксилата* (266 мг, 0.9 ммоль) в смеси  $\text{MeOH-H}_2\text{O}$  (6 мл) добавили  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  (588 мг, 2.7 ммоль). Смесь оставили перемешиваться при комнатной температуре в течение 1 часа. Реакционную смесь сконцентрировали при пониженном давлении, вылили в воду и экстрагировали  $\text{EtOAc}$  ( $4 \times 10$  мл). Объединенные органические слои сушили над  $\text{MgSO}_4$ , растворитель отогнали при пониженном давлении, продукт очистили методом препаративной колоночной хроматографии [154].

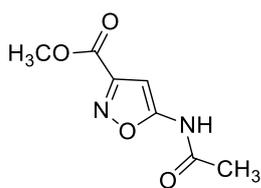
*(1R,2S,5R)-2-изопропил-5-метилциклогексил 5-аминоизоксазол-3-карбоксилат (10g)*



Бесцветные кристаллы; выход: 40% (100 мг);  $T_{пл} = 110-111\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.29$  (ПЭ-ЭА, 3:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.77 (д,  $^3J = 7.0$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 0.84–0.90 (м, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 0.89 (д,  $^3J = 7.0$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 0.91 (д,  $^3J = 6.6$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.03–1.19 (м, 2H, 2 $\text{CH}_2$ ), 1.46–1.60 (м, 2H, 2CH), 1.65–1.75 (м, 2H, 2 $\text{CH}_2$ ), 1.87–1.99 (м, 1H, CH), 2.04–2.13 (м, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 4.71 (уш. с, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 4.93 (тд,  $^3J = 4.4$  Гц,  $^3J = 11.0$  Гц, 1H, CHO), 5.52 (с, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  16.4 ( $\text{CH}_3$ ), 20.8 ( $\text{CH}_3$ ), 22.1 ( $\text{CH}_3$ ), 23.5 ( $\text{CH}_2$ ), 26.4 (CH), 31.6 (CH), 34.2 ( $\text{CH}_2$ ), 40.7 ( $\text{CH}_2$ ), 46.9 (CH), 76.2 (CH), 80.8 (CH), 157.9 (C=O), 160.2 (C), 169.7 (CNH<sub>2</sub>).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}^+$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ]<sup>+</sup>: 289.1523. Найдено: 289.1531.

#### 4.1.2.2. Синтез метил 5-(ацетиламино)изоксазол-3-карбоксилата (**12**)

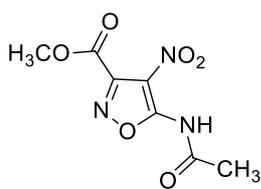


К раствору 5-аминоизоксазола **10a** (50 мг, 0.35 ммоль) и  $\text{As}_2\text{O}$  (0.07 мл, 76 мг, 0.74 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (2 мл) добавили хлорид церия (III) (86 мг, 0.35 ммоль). Смесь перемешивали 24 часа, после чего вылили в воду и нейтрализовали раствором  $\text{NaHCO}_3$  до pH 7–8. Продукт экстрагировали  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $4 \times 10$  мл). Объединенные органические слои сушили над  $\text{MgSO}_4$ , растворитель отогнали при пониженном давлении, продукт очистили методом препаративной колоночной хроматографии.

Светло-желтые кристаллы; выход: 91% (57 мг);  $T_{\text{пл}} = 151\text{--}154$  °C;  $R_f = 0.16$  (ПЭ–ЭА, 6:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.24 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.93 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.72 (с, 1H, CH), 9.73 (уш. с, 1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  23.4 ( $\text{CH}_3$ ), 52.9 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 89.3 (CH), 157.0 (C), 160.2 (C=O), 162.3 (C-NH), 166.8 (C=O).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4\text{K}^+$  [ $\text{M} + \text{K}$ ] $^+$ : 223.0116. Найдено: 223.0117.

#### 4.1.2.3. Синтез метил 5-ацетиламино-4-нитроизоксазол-3-карбоксилата (**13**)



К раствору 5-аминоизоксазола **9a** (50 мг, 0.35 ммоль) в  $\text{As}_2\text{O}$  (2 мл) добавили аммоний церий (IV) нитрат (49 мг, 0.088 ммоль). Смесь перемешивали 24 часа, после чего вылили в воду и нейтрализовали раствором  $\text{NaHCO}_3$  до pH 7–8. Продукт экстрагировали  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $4 \times 10$  мл). Объединенные органические слои сушили над  $\text{MgSO}_4$ , растворитель отогнали при пониженном давлении, продукт очистили методом препаративной колоночной хроматографии.

Бесцветные кристаллы; выход: 40% (32 мг);  $T_{\text{пл}} = 154\text{--}156$  °C;  $R_f = 0.18$  (ПЭ–ЭА, 4:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.45 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.03 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 9.65 (уш. с, 1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  24.7 ( $\text{CH}_3$ ), 54.2 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 112.8 (CNO<sub>2</sub>), 150.4 (C), 157.6 (C=O), 160.4 (C), 165.9 (C=O).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_7\text{H}_7\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}^+$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$ : 252.0227. Найдено: 252.0223.

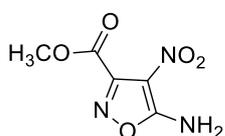
#### 4.1.2.4. Синтез 4-нитроизоксазол-5-аминов **11a-g**

##### Общая методика IV

К раствору 5-аминоизоксазола **10** (0.25 ммоль) в  $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$  (2 мл) добавили нитрат аммония (20 мг, 0.25 ммоль). Смесь перемешивали 12 часов, после чего вылили в воду и нейтрализовали раствором  $\text{NaHCO}_3$  до pH 7–8. Продукт экстрагировали  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $4 \times 10$  мл). Объединенные органические слои сушили над  $\text{MgSO}_4$ , растворитель отогнали при

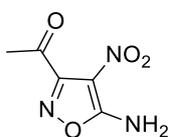
пониженном давлении, продукт очистили методом препаративной колоночной хроматографии.

*Метил 5-амино-4-нитроизоксазол-3-карбоксилат (11a).*



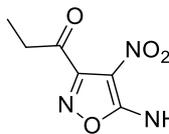
Бесцветные кристаллы, выход: 70% (33 мг),  $T_{пл} = 141\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $R_f = 0.56$  (ПЭ–ЭА, 2:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  3.95 (с, 3H, Me). Сигнал  $\text{NH}_2$ -группы заслонен сигналом растворителя. Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  53.9 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 109.1 ( $\text{CNO}_2$ ), 151.2 (C), 159.1 (C), 166.3 (C). HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_3\text{O}_5\text{H}^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 188.0305. Найдено: 188.0305.

*1-(5-Амино-4-нитроизоксазол-3-ил)этанон (11b)*



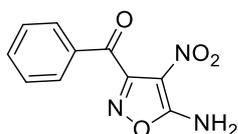
Желтые кристаллы; выход: 78% (33 мг);  $T_{пл} = 137\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.24$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-CH}_3\text{OH}$ , 30:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.62 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.01 (уш. с, 2H,  $\text{NH}_2$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  30.3 ( $\text{CH}_3$ ), 109.4 ( $\text{CNO}_2$ ), 156.4 (C), 166.0 (C), 190.1 ( $\text{C=O}$ ). HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_3\text{O}_4\text{Na}^+$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$ : 194.0172. Найдено: 194.0175.

*1-(5-Амино-4-нитроизоксазол-3-ил)пропан-1-он (11c)*



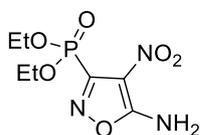
Желтые кристаллы; выход: 35% (16 мг);  $T_{пл} = 132\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.29$  (ПЭ–ЭА, 2:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.23 (т,  $^3J = 7.2$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.94 (к,  $^3J = 7.2$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.76 (уш. с, 2H,  $\text{NH}_2$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.0 ( $\text{CH}_3$ ), 36.8 ( $\text{CH}_2$ ), 109.6 ( $\text{CNO}_2$ ), 156.5 (C), 165.6 (C), 193.2 ( $\text{C=O}$ ). HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_3\text{O}_4^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 186.0509. Найдено: 186.0512.

*(5-Амино-4-нитроизоксазол-3-ил)(фенил)метанон (11d)*



Бесцветные кристаллы; выход: 64% (37 мг);  $T_{пл} = 136\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.17$  (ПЭ–ЭА, 2:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.35-7.45 (м, 2H, 2CH), 7.50-7.60 (м, H, CH), 7.79-7.90 (м, 2H, 2CH). Сигнал  $\text{NH}_2$ -группы заслонен сигналом растворителя. Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  110.0 ( $\text{CNO}_2$ ), 128.9 (2CH), 129.8 (2CH), 134.8 (C), 135.1 (CH), 155.8 (C), 165.9 (C), 184.5 ( $\text{C=O}$ ). HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_3\text{O}_4^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 234.0509. Найдено: 234.0508.

*Диэтил (5-Амино-4-нитроизоксазол-3-ил)фосфонат (11e)*

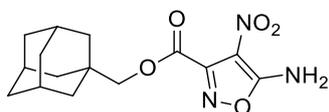


Светло-желтые кристаллы; выход: 80% (53 мг);  $T_{пл} = 98\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.18$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-CH}_3\text{OH}$ , 40:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.40 (дт,  $^3J_{\text{HH}} = 7.1$  Гц,  $^4J_{\text{PH}} = 0.6$  Гц, 6H, 2 $\text{CH}_3$ ), 4.37 (м, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ), 7.49 (уш. с, 2H,  $\text{NH}_2$ ).

Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  16.2 ( $J_{\text{CP}} = 6.8$  Гц,  $2\text{CH}_3$ ), 65.2 ( $J_{\text{CP}} = 6.5$  Гц,  $2\text{CH}_2$ ), 112.0 ( $J_{\text{CP}} = 16.0$  Гц,  $\text{CH}$ ), 150.8 ( $J_{\text{CP}} = 215.0$  Гц,  $\text{C}$ ), 166.5 ( $J_{\text{CP}} = 7.6$  Гц,  $\text{C}$ ). Спектр ЯМР  $^{31}\text{P}$  (162 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -0.04.

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_6\text{PNa}^+ [\text{M} + \text{Na}]^+$ : 288.0356. Найдено: 288.0353.

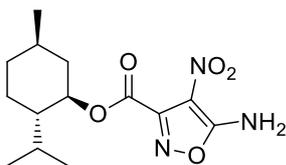
*Адамантан-1-илметил 5-амино-4-нитроизоксазол-3-карбоксилат (11f)*



Бесцветные кристаллы; выход: 55% (44 мг);  $T_{\text{пл}} = 177$  °С;  $R_f = 0.36$  (ПЭ–ЭА, 4:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  1.53–1.56 (м, 6H,  $3\text{CH}_2(\text{Ad})$ ), 1.56–1.64 (м, 3H,  $3\text{CH}_2(\text{Ad})$ ), 1.64–1.71 (м, 3H,  $3\text{CH}_2(\text{Ad})$ ), 1.92–1.96 (м, 3H,  $3\text{CH}(\text{Ad})$ ), 3.97 (с, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ). Сигнал  $\text{NH}_2$ -группы заслонен сигналом растворителя. Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  28.0 ( $3\text{CH}(\text{Ad})$ ), 33.4 ( $\text{C}(\text{Ad})$ ), 36.8 ( $3\text{CH}_2(\text{Ad})$ ), 39.0 ( $3\text{CH}_2(\text{Ad})$ ), 76.8 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 109.2 ( $\text{CNO}_2$ ), 151.6 ( $\text{C}$ ), 158.7( $\text{C}$ ), 166.1 ( $\text{CNH}_2$ ).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5\text{Na}^+ [\text{M} + \text{Na}]^+$ : 344.1217. Найдено: 344.1218.

*(1R,2S,5R)-2-Изопропил-5-метилциклогексил 5-амино-4-нитроизоксазол-3-карбоксилат (11g)*



Бесцветные кристаллы; выход: 66% (51 мг);  $T_{\text{пл}} = 112$  °С;  $R_f = 0.22$  (ПЭ–ЭА, 4:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  0.78 (д,  $^3J = 6.9$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 0.83–0.89 (м, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 0.86 (д,  $^3J = 7.0$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 0.90 (д,  $^3J = 6.6$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.01–1.17 (м, 2H,  $2\text{CH}_2$ ), 1.41–1.56 (м, 2H,  $2\text{CH}$ ), 1.64–1.72 (м, 2H,  $2\text{CH}_2$ ), 1.90–1.98 (м, 1H,  $\text{CH}$ ), 2.15–2.21 (м, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 4.99 (тд,  $^3J = 4.4$  Гц,  $^3J = 11.0$  Гц, 1H,  $\text{CHO}$ ). Сигнал  $\text{NH}_2$ -группы заслонен сигналом растворителя. Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  16.1 ( $\text{CH}_3$ ), 20.7 ( $\text{CH}_3$ ), 22.0 ( $\text{CH}_3$ ), 23.3 ( $\text{CH}_2$ ), 26.0 ( $\text{CH}$ ), 31.6 ( $\text{CH}$ ), 34.1 ( $\text{CH}_2$ ), 40.3 ( $\text{CH}_2$ ), 46.9 ( $\text{CH}$ ), 78.5 ( $\text{CH}$ ), 109.2 ( $\text{CNO}_2$ ), 151.8 ( $\text{C=O}$ ), 158.2 ( $\text{C}$ ), 166.0 ( $\text{CNH}_2$ ).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_5\text{K}^+ [\text{M} + \text{K}]^+$ : 350.1113. Найдено: 350.1106.

*4.1.3. Синтез 5-метил-4-нитроизоксазолов*

Ароматические альдегиды: 1-метил-1,2,3,4-тетрагидрохиолин-6-карбальдегид [205, 206], 6-метоксибензофуран-2-карбальдегид [207], трет-бутил 2-формил-1H-пиррол-1-карбоксилат [208], бензофуран-2-карбальдегид [209] и нафто[2,1-b]фуран-2-карбальдегид [209] были получены по описанным методикам.  $\beta$ -Арилзамещенные винилкетоны **14a–c**, **14g**, **14i** [210], **14d,14e** [211], **14f** [212], **14h**, **14j** [213] были получены реакцией Виттига (методика Va) [214]. Винилкетоны **14k**, **14o** [215], **14l**, **14n** [216], **14m** [217], **14q** [218] – были получены реакцией Виттига (методика Vb) [215]. Винилкетоны **14r–u** [219, 220]

были получены реакцией альдольно-кетоновой конденсации (методика Vc) [219]. Ирид фосфора для реакции Виттига был получен по известной методике [221].

#### 4.1.3.1. $\beta$ -Арилзамещенных винилкетонов

##### Общая методика Va

Раствор илида фосфора (1.6 г, 5 ммоль) и ароматического альдегида (5 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 мл) перемешивали 2 суток при комнатной температуре. Растворитель отогнали при пониженном давлении, продукт очистили методом препаративной колоночной хроматографии [214].

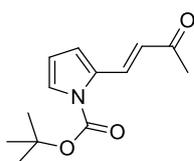
##### Общая методика Vb

Раствор илида фосфора (1.9 г, 6 ммоль) и ароматического альдегида (5 ммоль) в толуоле (10 мл) перемешивали 6 часов при 80 °С. Растворитель отогнали при пониженном давлении, продукт очистили методом препаративной колоночной хроматографии [215].

##### Общая методика Vc

К раствору ароматического альдегида (3.2 ммоль) и ароматического метилкетона (3.2 ммоль) в MeOH (6 мл) при 0 °С медленно добавили NaOH (135 мг, 3.4 ммоль) растворенный в MeOH (8 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24–72 ч. За ходом реакции наблюдали с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ). После полного исчезновения исходного альдегида в реакционной смеси выпавший осадок отфильтровали и промыли 5 мл холодного метанола [219].

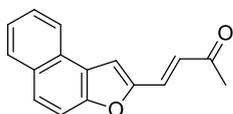
#### *трет*-Бутил 2-[(1E)-3-оксобут-1-ен-1-ил]-1H-пиррол-1-карбоксилат (**14l'**)



Бесцветные кристаллы; выход: 92% (1080 мг);  $T_{\text{пл}} = 41\text{--}43\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.20$  (ПЭ–ЭА, 10:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.63 (с, 9H, 3 $\text{CH}_3$ ), 2.35 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 6.21–6.25 (м, 1H, CH), 6.48 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=), 6.74–6.77 (м, 1H, CH), 7.41 (дд,  $^3J = 3.2$  Гц,  $^4J = 1.7$  Гц, 1H, CH), 8.24 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  26.8 ( $\text{CH}_3$ ), 28.1 (3 $\text{CH}_3$ ), 85.0 (C), 111.8 (CH), 115.4 (CH), 125.5 (CH), 126.2 (CH=), 131.4 (C), 134.2 (CH=), 149.1 (COO-), 198.7 (C=O).

HRMS-(ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_3\text{Na}^+$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$ : 258.1101. Найдено: 258.1110.

#### (3E)-4-Нафто[2,1-b]фуран-2-илбут-3-ен-2-он (**14p**)



Светло-желтые кристаллы; выход: 98% (1160 мг);  $T_{\text{пл}} = 120\text{--}122\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.25$  (ПЭ–ЭА, 5:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.38 (с, 3H,

CH<sub>3</sub>), 6.86 (д, <sup>3</sup>J = 15.8 Гц, 1H, CH=), 7.40 (с, 1H, CH), 7.43 (д, <sup>3</sup>J = 15.8 Гц, 1H, CH=), 7.48–7.54 (м, 1H, CH), 7.57–7.63 (м, 2H, 2CH), 7.75–7.81 (м, 1H, CH), 7.90–7.95 (м, 1H, CH), 8.05–8.11 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 28.4 (CH<sub>3</sub>), 111.1 (CH), 112.2 (CH), 123.5 (CH), 124.2 (C), 125.2 (CH), 125.8 (CH), 127.1 (CH), 127.5 (C), 128.1 (CH), 129.0 (CH), 129.5 (CH), 130.4 (C), 151.9 (C), 153.8 (C), 197.7 (C=O).

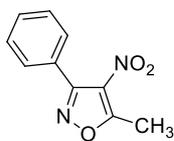
HRMS-(ESI) m/z рассчитано для C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>Na<sup>+</sup> [M + Na]<sup>+</sup>: 259.0730. Найдено: 259.0735.

#### 4.1.3.2. Синтез 5-метил-4-нитроизоксазолов **15a-u**

##### Общая методика VI

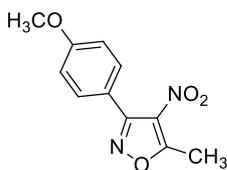
α,β-Непредельный кетон **14** (4 ммоль) растворили в смеси 1,4-диоксан (1.75 мл) – H<sub>2</sub>O (5.25 мл). Полученную смесь нагрели до 60 °С и добавили к ней t-BuONO (5 мл, 40 ммоль) в течение 1 часа. Полученную смесь перемешивали при 60 °С еще 1 час, после чего вылили в воду. Продукт экстрагировали CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4×25 мл). Объединенные органические слои сушили над MgSO<sub>4</sub>, растворитель отогнали при пониженном давлении, продукт очистили методом препаративной колоночной хроматографии

##### 5-Метил-4-нитро-3-фенилизоксазол (**15a**) [222]



Бесцветные кристаллы; выход: 70% (571 мг); T<sub>пл</sub> = 92–93 °С; R<sub>f</sub> = 0.62 (ПЭ–ЭА, 10:1). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.89 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 7.47–7.56 (м, 3H, 3CH(Ar)), 7.60–7.63 (м, 2H, 2CH(Ar)). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 13.9 (CH<sub>3</sub>), 125.9 (C(Ar)), 128.5 (2CH(Ar)), 129.2 (2CH(Ar)), 129.6 (CNO<sub>2</sub>), 130.7 (CH(Ar)), 157.7 (C), 172.8 (C).

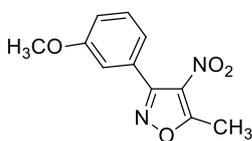
##### 5-Метил-3-(4-метоксифенил)-4-нитроизоксазол (**15b**) [223]



Светло-желтые кристаллы; выход: 76% (711 мг); T<sub>пл</sub> = 127–129 °С; R<sub>f</sub> = 0.41 (ПЭ–ЭА, 10:1). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.85 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.86 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.96–7.02 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.55–7.60 (м, 2H, 2CH(Ar)). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 14.3 (CH<sub>3</sub>), 55.5 (CH<sub>3</sub>O), 114.1 (2CH(Ar)), 118.0 (C(Ar)), 129.7 (CNO<sub>2</sub>), 130.9 (2CH(Ar)), 157.4 (C), 161.6 (C(Ar)), 172.9 (C).

Вычислено для C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C, 56.41; H, 4.30; N, 11.96. Найдено: C, 56.47; H, 4.44; N, 11.65.

##### 5-Метил-3-(3-метоксифенил)-4-нитроизоксазол (**15c**)

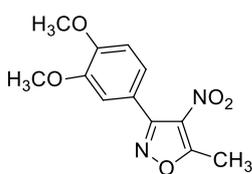


Светло-желтое масло; выход: 65% (608 мг); R<sub>f</sub> = 0.25 (ПЭ–ЭА, 10:1). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.87 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.84 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 7.07 (ддд, <sup>3</sup>J = 8.3 Гц, <sup>4</sup>J = 1.0 Гц, <sup>4</sup>J = 2.6 Гц, 1H, CH(Ar)), 7.14

(дд,  $^4J = 1.2$  Гц,  $^4J = 2.6$  Гц, 1H, CH(Ar)), 7.18 (ддд,  $^3J = 7.6$  Гц,  $^4J = 1.2$  Гц,  $^4J = 1.0$  Гц, 1H, CH(Ar)), 7.40 (дд,  $^3J = 8.3$  Гц,  $^3J = 7.6$  Гц, 1H, CH(Ar)). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 55.5 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 114.6 (CH(Ar)), 116.8 (CH(Ar)), 121.7 (CH(Ar)), 127.1 (C(Ar)), 129.7 (CH(Ar)), 129.7 ( $\text{CNO}_2$ ), 157.7 (C(Ar)), 159.6 (C), 172.8 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_4^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 235.0713. Найдено: 235.0714.

*3-(3,4-Диметоксифенил)-5-метил-4-нитроизоксазол (15d)*

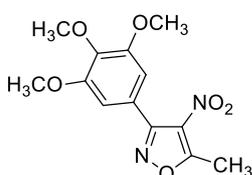


Бесцветные кристаллы; выход: 68% (718 мг);  $T_{\text{пл}} = 153\text{--}155$  °C;  $R_f = 0.33$  (ПЭ–ЭА, 3:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.86 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.90 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.94 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.96 (д,  $^3J = 8.4$  Гц, 1H, CH(Ar)), 7.15 (д,  $^4J = 2.0$  Гц, 1H, CH(Ar)), 7.23 (дд,  $^3J = 8.4$  Гц,  $^4J = 2.0$

Гц, 1H, CH(Ar)). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.3 ( $\text{CH}_3$ ), 56.07 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 56.12 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 110.9 (CH(Ar)), 112.2 (CH(Ar)), 118.0 (C(Ar)), 122.7 (CH(Ar)), 129.8 ( $\text{CNO}_2$ ), 148.9 (C(Ar)), 151.2 (C(Ar)), 157.4 (C), 173.0 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_5^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 265.0819. Найдено: 265.0821.

*5-Метил-4-нитро-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол (15e)*

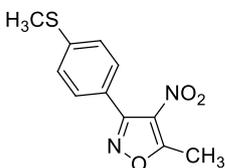


Бесцветные кристаллы; выход: 71% (835 мг);  $T_{\text{пл}} = 160\text{--}162$  °C;  $R_f = 0.16$  (ПЭ–ЭА, 7:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.85 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.86 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.89 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.84 (с, 2H,  $2\text{CH(Ar)}$ ).

Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 56.3 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 61.0 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 106.8 ( $2\text{CH(Ar)}$ ), 120.9 (C(Ar)), 129.7 ( $\text{CNO}_2$ ), 140.2 (C(Ar)), 153.2 ( $2\text{C(Ar)}$ ), 157.5 (C), 173.0 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_6^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 295.0925. Найдено: 295.0926.

*5-Метил-3-[4-(метилтио)фенил]-4-нитроизоксазол (15f)*



Оранжевые кристаллы; выход: 78% (780 мг);  $T_{\text{пл}} = 109\text{--}111$  °C;  $R_f = 0.41$  (ПЭ–ЭА, 10:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.53 (с, 3H,  $\text{SCH}_3$ ), 2.88 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.29–7.35 (м, 2H,  $2\text{CH(Ar)}$ ), 7.51–7.56 (м, 2H,  $2\text{CH(Ar)}$ ).

Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.3 ( $\text{CH}_3$ ), 15.2 ( $\text{SCH}_3$ ), 122.0 (C(Ar)), 125.7 ( $2\text{CH(Ar)}$ ), 129.7 ( $2\text{CH(Ar)}$ ), 129.6 ( $\text{CNO}_2$ ), 142.8 (C(Ar)), 157.4 (C), 173.0 (C).

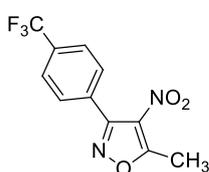
HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 251.0485. Найдено: 251.0487.

*5-Метил-4-нитро-3-(4-фторфенил)изоксазол (15g)*



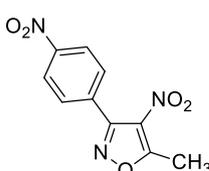
Бесцветные кристаллы; выход: 56 % (497 мг);  $T_{пл} = 99-102\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.63$  (ПЭ-ЭА, 10:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.87 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.14–7.21 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.57–7.66 (м, 2H, 2CH(Ar)). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 115.8 ( $^3J_{\text{CF}} = 22$  Гц, 2CH(Ar)), 122.0 ( $^4J_{\text{CF}} = 4$  Гц, C(Ar)), 129.7 (CNO<sub>2</sub>), 131.6 ( $^2J_{\text{CF}} = 8.8$  Гц, 2CH(Ar)), 157.0 (C), 164.5 ( $^1J_{\text{CF}} = 251$  Гц, C(Ar)), 173.1 (C). Спектр ЯМР  $^{19}\text{F}$  (376 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  –109.2 (тт,  $^3J_{\text{HF}} = 8.5$  Гц,  $^4J_{\text{HF}} = 5.1$  Гц). Вычислено для  $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{FN}_2\text{O}_3$ : С, 54.06; Н, 3.18; N, 12.61. Найдено: С, 53.96; Н, 3.12; N, 12.51.

*5-Метил-4-нитро-3-[4-(трифторметил)фенил]изоксазол (15h)*



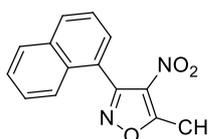
Бесцветные кристаллы; выход: 70 % (762 мг);  $T_{пл} = 131-133\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.29$  (ПЭ-ЭА, 10:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.91 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.70–7.82 (м, 4H, 4CH(Ar)). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 123.8 (к,  $J_{\text{CF}} = 272$  Гц,  $\text{CF}_3$ ), 125.6 (к,  $J_{\text{CF}} = 3.9$  Гц, 2CH(Ar)), 129.7 (к,  $J_{\text{CF}} = 1.3$  Гц, C(Ar)), 129.7 (CNO<sub>2</sub>), 130.0 (2CH(Ar)), 132.8 (к,  $J_{\text{CF}} = 33$  Гц, C(Ar)), 156.9 (C), 173.3 (C). Спектр ЯМР  $^{19}\text{F}$  (376 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  –63.1. Вычислено для  $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3$ : С, 48.57; Н, 2.59; N, 10.29. Найдено: С, 48.53; Н, 2.59; N, 10.32.

*5-Метил-4-нитро-3-(4-нитрофенил)изоксазол (15i)*



Светло-желтые кристаллы; выход: 67 % (667 мг);  $T_{пл} = 152-153\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.16$  (ПЭ-ЭА, 7:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.93 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.79–7.85 (м, 2H, 2CH(Ar)), 8.32–8.38 (м, 2H, 2CH(Ar)). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.3 ( $\text{CH}_3$ ), 123.7 (2CH(Ar)), 129.7 (CNO<sub>2</sub>), 130.8 (2CH(Ar)), 132.3 (C(Ar)), 149.3 (C(Ar)NO<sub>2</sub>), 156.3 (C), 173.6 (C).

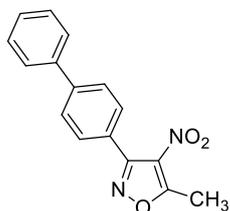
*5-Метил-3-(нафталин-1-ил)-4-нитроизоксазол (15j) [223]*



Бесцветные кристаллы; выход: 64% (650 мг);  $T_{пл} = 97-98\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.12$  (ПЭ-ЭА, 10:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.95 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.48 (ддд,  $^3J = 8.2$  Гц,  $^3J = 6.9$  Гц,  $^4J = 1.6$  Гц, 1H, CH(Ar)), 7.53 (ддд,  $^3J = 8.1$  Гц,  $^3J = 6.7$  Гц,  $^4J = 1.5$  Гц, 1H, CH(Ar)), 7.54–7.61 (м, 3H, 3CH(Ar)), 7.95 (уш. д,  $^3J = 8.2$  Гц, 1H, CH(Ar)), 8.01–8.08 (м, 1H, CH(Ar)). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 123.6 (C(Ar)), 124.4 (CH(Ar)), 125.0 (CH(Ar)), 126.6 (CH(Ar)), 127.3 (CH(Ar)), 128.3 (CH(Ar)), 128.8 (CH(Ar)), 130.9 (CNO<sub>2</sub>), 131.1 (CH(Ar)), 131.5 (C(Ar)), 133.4 (C(Ar)), 157.3 (C), 172.5 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{14}H_{11}N_2O_3^+$   $[M + H]^+$ : 255.0764. Найдено: 255.0769.

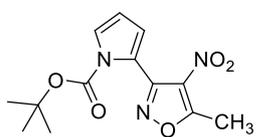
**3-Бифенил-4-ил-5-метил-4-нитроизоксазол (15k)**



Светло-желтые кристаллы; выход: 42 % (470 мг);  $T_{пл} = 108-109$  °C;  $R_f = 0.4$  (ПЭ–ЭА, 3:1). Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.88 (с, 3 H,  $CH_3$ ), 7.38–7.44 (м, 1H,  $CH(Ar)$ ), 7.46–7.51 (м, 2H,  $2CH(Ar)$ ), 7.64–7.68 (м, 1H,  $CH(Ar)$ ), 7.70–7.75 (м, 4H,  $4CH(Ar)$ ). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  14.2 ( $CH_3$ ), 124.7 ( $C(Ar)$ ), 127.2 ( $2CH(Ar)$ ), 127.3 ( $2CH(Ar)$ ), 128.0 ( $CH(Ar)$ ), 129.0 ( $2CH(Ar)$ ), 129.6 ( $CNO_2$ ), 129.8 ( $2CH(Ar)$ ), 140.1 ( $C(Ar)$ ), 143.6 ( $C(Ar)$ ), 157.5 (C), 172.9 (C).

Вычислено для  $C_{16}H_{12}N_2O_3$ : C, 68.56; H, 4.32; N, 9.99. Найдено: C, 68.36; H, 4.36; N, 9.30.

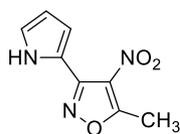
**трет-Бутил 2-(5-метил-4-нитроизоксазол-3-ил)-1H-пиррол-1-карбоксилат (15l')**



Бесцветные кристаллы; выход: 30 % (352 мг);  $T_{пл} = 77-79$  °C;  $R_f = 0.32$  (ПЭ–ЭА, 10:1). Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  1.47 (с, 9H,  $3CH_3$ ), 2.84 (с, 3H,  $CH_3$ ), 6.29 (т,  $^3J = 3.4$  Гц, 1H, CH), 6.56 (дд,  $^3J = 3.4$  Гц,  $^4J = 1.8$  Гц, 1H, CH), 7.47 (дд,  $^3J = 3.4$  Гц,  $^4J = 1.8$  Гц, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  14.0 ( $CH_3$ ), 27.7 ( $3CH_3$ ), 85.0 (C), 111.2 (CH), 118.0 (C), 118.3 (CH), 124.8 (CH), 130.8 ( $CNO_2$ ), 148.5 ( $COO^-$ ), 152.6 (C), 171.3 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{13}H_{16}N_3O_5^+$   $[M + H]^+$ : 294.1084. Найдено: 294.1076.

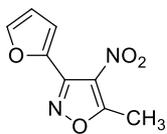
**5-метил-4-нитро-3-(1H-пиррол-2-ил)изоксазол (15l)**



Желтые кристаллы; выход: 96% (185 мг);  $T_{пл} = 147-149$  °C;  $R_f = 0.27$  (ПЭ–ЭА, 5:1). Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.86 (с, 3H,  $CH_3$ ), 6.37 (ддд,  $^4J = 3.8$  Гц,  $^3J = 2.7$  Гц,  $^3J = 2.7$  Гц, 1H, CH), 7.04 (ддд,  $^4J = 1.5$  Гц,  $^3J = 2.7$  Гц,  $^3J = 2.7$  Гц, 1H, CH), 7.19 (ддд,  $^4J = 3.8$  Гц,  $^3J = 2.7$  Гц,  $^3J = 1.5$  Гц, 1H, CH), 9.77 (уш. с, 1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  14.6 ( $CH_3$ ), 110.7 (CH), 114.5 (CH), 116.8 (C), 122.2 (CH), 129.1 ( $CNO_2$ ), 149.5 (C), 173.8 (C).

Вычислено для  $C_8H_7N_3O_3$ : C, 49.74; H, 3.65; N, 21.75. Найдено: C, 49.80; H, 3.62; N, 21.75.

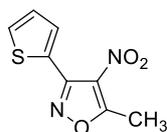
**5-Метил-4-нитро 3-(фуран-2-ил)изоксазол (15m)**



Бесцветные кристаллы; выход: 49% (380 мг);  $T_{пл} = 95-97$  °C;  $R_f = 0.28$  (ПЭ–ЭА, 10:1). Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.87 (с, 3 H,  $CH_3$ ), 6.59 (дд,  $^3J = 1.8$  Гц,  $^3J = 3.6$  Гц, 1H, CH), 7.43 (дд,  $^3J = 3.5$  Гц,  $^4J = 0.7$  Гц, 1H, CH), 7.64 (дд,  $^3J = 1.8$  Гц,  $^4J = 0.7$  Гц, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  14.3 ( $CH_3$ ), 112.1 (CH), 117.2 (CH), 128.8 ( $CNO_2$ ), 140.2 (C), 145.5 (CH), 148.5 (C), 173.2 (C).

Вычислено для  $C_8H_6N_3O_4$ : С, 49.58; Н, 3.25; N, 14.41. Найдено: С, 49.49; Н, 3.12; N, 14.43.

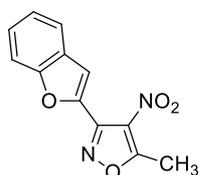
**5-Метил-4-нитро-3-(тиофен-2-ил)изоксазол (15n)**



Бесцветные кристаллы; выход: 47% (395 мг);  $T_{пл} = 67-69\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.35$  (ПЭ-ЭА, 10:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.87 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.18 (дд,  $^3J = 3.8$  Гц,  $^3J = 5.1$  Гц, 1H, CH), 7.56 (дд,  $^4J = 1.1$  Гц,  $^3J = 5.1$  Гц, 1H, CH), 7.88 (дд,  $^4J = 1.1$  Гц,  $^3J = 3.8$  Гц, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.4 ( $\text{CH}_3$ ), 125.8 (C), 127.9 (CH), 129.3 ( $\text{CNO}_2$ ), 130.1 (CH), 132.0 (CH), 152.0 (C), 173.5 (C).

Вычислено для  $C_8H_6N_3O_3S$ : С, 45.82; Н, 2.85; N, 13.19, С, 15.40. Найдено: С, 45.71; Н, 2.88; N, 13.33, С, 15.25.

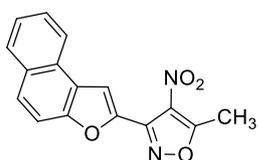
**3-(1-Бензофуран-2-ил)-5-метил-4-нитроизоксазол (15o)**



Светло-желтые кристаллы; выход: 62% (605 мг);  $T_{пл} = 202-204\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.38$  (ПЭ-ЭА, 5:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.92 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.29–7.34 (м, 1H, CH), 7.41–7.47 (м, 1H, CH), 7.58–7.63 (м, 1H, CH), 7.69–7.74 (м, 1H, CH), 7.82–7.86 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.4 ( $\text{CH}_3$ ), 112.0 (CH), 113.6 (CH), 122.6 (CH), 123.8 (CH), 127.3 (CH), 127.6 (C), 129.4 ( $\text{CNO}_2$ ), 141.7 (C), 148.9 (C), 155.5 (C), 173.6 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{12}H_8N_2O_4Na^+$   $[M + Na]^+$ : 267.0376. Найдено: 267.0379.

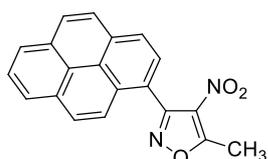
**5-Метил-3-нафто[2,1-b]фуран-2-ил-4-нитроизоксазол (15p)**



Светло-оранжевые кристаллы; выход: 58% (682 мг);  $T_{пл} = 204-206\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.38$  (ПЭ-ЭА, 5:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.93 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.52–7.58 (м, 1H, CH), 7.63–7.69 (м, 1H, CH), 7.71–7.77 (м, 1H, CH), 7.84–7.88 (м, 1H, CH), 7.95–8.00 (м, 1H, CH), 8.21–8.26 (м, 1H, CH), 8.32–8.36 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.4 ( $\text{CH}_3$ ), 112.56 (CH), 112.62 (CH), 123.3 (C), 123.6 (CH), 125.5 (CH), 127.4 (CH), 128.0 (C), 128.7 (CH), 129.1 (CH), 129.4 ( $\text{CNO}_2$ ), 130.6 (C), 141.1 (C), 148.9 (C), 153.7 (C), 173.7 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{16}H_{11}N_2O_4^+$   $[M + H]^+$ : 295.0713. Найдено: 295.0714.

**5-Метил-4-нитро-3-пирен-1-илизоксазол (15q)**

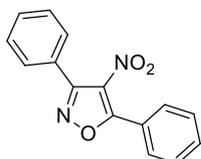


Оранжевые кристаллы; выход: 62% (814 мг);  $T_{пл} = 160-162\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.28$  (ПЭ-ЭА, 5:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.03 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.86–7.92 (м, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 8.02–8.08 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 8.08–8.20 (м, 3H,  $3\text{CH}(\text{Ar})$ ), 8.20–8.30 (м, 3H,  $3\text{CH}(\text{Ar})$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.4 ( $\text{CH}_3$ ), 120.1 (C(Ar)), 123.7 (CH(Ar)), 124.49 (C(Ar)), 124.54 (CH(Ar)),

124.8 (C(Ar)), 126.1 (CH(Ar)), 126.2 (CH(Ar)), 126.5 (CH(Ar)), 127.4 (CH(Ar)), 127.5 (CH(Ar)), 129.04 (CH(Ar)), 129.10 (CH(Ar)), 130.1 (C(Ar)), 130.8 (C(Ar)), 131.1 (CNO<sub>2</sub>), 131.3 (C(Ar)), 133.0 (C(Ar)), 157.9 (C), 172.7 (C).

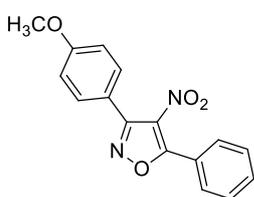
HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>20</sub>H<sub>13</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 329.0921. Найдено: 329.0918.

#### 4-Нитро-3,5-дифенилизоксазол (**15r**) [101]



Бесцветные кристаллы; выход: 43% (458 мг); T<sub>пл</sub> = 55–57 °C; R<sub>f</sub> = 0.41 (ПЭ–ЭА, 5:1). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.48–7.66 (м, 8H, 8CH(Ar)), 7.89–7.93 (м, 2H, 2CH(Ar)).

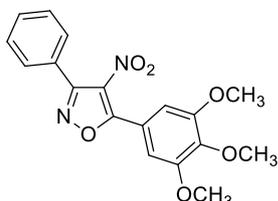
#### 3-(4-Метоксифенил)-4-нитро-5-фенилизоксазол (**15s**)



Бесцветные кристаллы; выход: 42% (497 мг); T<sub>пл</sub> = 121–122 °C; R<sub>f</sub> = 0.26 (ПЭ–ЭА, 8:1). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.88 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 7.00–7.05 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.54–7.66 (м, 5H, 5CH(Ar)), 7.88–7.93 (м, 2H, 2CH(Ar)). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 55.5 (CH<sub>3</sub>O), 114.1 (2CH(Ar)), 118.0 (C(Ar)), 124.8 (C(Ar)), 128.9 (2CH(Ar)), 129.0 (CNO<sub>2</sub>), 129.1 (2CH(Ar)), 130.5 (2CH(Ar)), 132.7 (C(Ar)), 158.1 (C), 161.8 (C(Ar)), 168.3 (C).

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Na<sup>+</sup> [M + Na]<sup>+</sup>: 319.0789. Найдено: 319.0797.

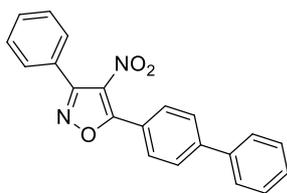
#### 4-Нитро-5-(3,4,5-триметоксифенил)-3-фенилизоксазол (**15t**)



Бесцветные кристаллы; выход: 28% (399 мг); T<sub>пл</sub> = 100–102 °C; R<sub>f</sub> = 0.37 (ПЭ–ЭА, 4:1). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.94 (с, 6H, 2CH<sub>3</sub>O), 3.97 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 7.24 (с, 2H, 2CH(Ar)), 7.48–7.60 (м, 3H, 3CH(Ar)), 7.62–7.67 (м, 2H, 2CH(Ar)). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 56.5 (2CH<sub>3</sub>O), 61.2 (CH<sub>3</sub>O), 106.6 (2CH), 119.4 (C), 126.1 (C), 128.88 (2CH), 128.90 (2CH), 129.5 (CNO<sub>2</sub>), 131.0 (CH), 142.1 (C), 153.5 (2C), 158.9 (C), 167.8 (C).

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 357.1081. Найдено: 357.1079.

#### 5-([1,1'-Бифенил]-4-ил)-4-нитро-3-фенилизоксазол (**15u**)



Светло-желтые кристаллы; выход: 34% (465 мг); T<sub>пл</sub> = 206–207 °C; R<sub>f</sub> = 0.14 (ПЭ–CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 2:1). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.41–7.46 (м, 1H, CH), 7.48–7.58 (м, 5H, 5CH), 7.65–7.69 (м, 4H, 4CH), 7.78–7.82 (м, 2H, 2CH), 8.01–8.05 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 123.4 (C(Ar)), 126.1 (C(Ar)), 127.4 (2CH), 127.7 (2CH), 128.6 (CH), 128.9 (2CH), 129.0 (2CH), 129.2 (2CH), 129.2 (CNO<sub>2</sub>), 129.5 (2CH), 131.0 (CH), 139.6 (C(Ar)), 145.6 (C(Ar)), 158.7 (C), 168.2 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{22}H_{17}N_2O_4^+$   $[M + H]^+$ : 343.1077. Найдено: 343.1066.

#### 4.1.4. Синтез 5-стирил-4-нитроизоксазолов

5-Стирил-4-нитроизоксазолы **16aa**, **16ae**, **16ag** описаны в [163, 224].

##### 4.1.4.1. Синтез 4-нитростирилизоксазолов **16aa–od**

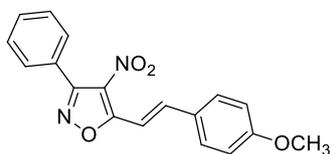
#### Общая методика VIIa

К раствору 4-нитроизоксазола (0.2 ммоль) в EtOH (1 мл) добавили ароматический альдегид (0.2 ммоль) и несколько капель пиперидина. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Выпавший осадок отфильтровали и промыли холодным EtOH (2×5 мл), продукт получали в химически чистом виде без дополнительной очистки.

#### Общая методика VIIb

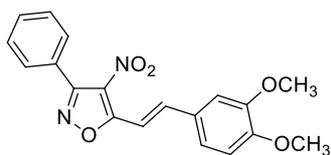
К раствору 4-нитроизоксазола (0.2 ммоль) в EtOH (1 мл) добавили ароматический альдегид (0.2 ммоль) и несколько капель пиперидина. Смесь перемешивали при 80 °С в течение 2 часов. Выпавший осадок отфильтровали и промыли холодным EtOH (2×5 мл), продукт получали в химически чистом виде без дополнительной очистки.

##### (E) 5-(4-Метоксистирил)-4-нитро-3-фенилизоксазол (**16aa**) [224]



Желтые кристаллы; выход: 82% (53 мг);  $T_{пл}$  = 159–161 °С. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.88 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 6.95–7.02 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.47–7.58 (м, 3H, 3CH(Ar)), 7.58 (д,  $^3J$  = 16.4 Гц, 1H, CH=), 7.62–7.68 (м, 4H, 4CH(Ar)), 7.83 (д,  $^3J$  = 16.4 Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  55.7 ( $CH_3O$ ), 108.6 (CH=), 114.8 (2CH(Ar)), 126.3 (C(Ar)), 126.8 (CNO<sub>2</sub>), 127.4 (C(Ar)), 128.6 (2CH(Ar)), 129.5 (2CH(Ar)), 130.5 (2CH(Ar)), 130.8 (CH(Ar)), 143.2 (CH=), 158.5 (C), 162.4 (C(Ar)), 168.6 (C).

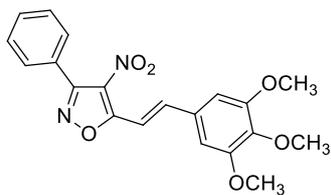
##### 5-[(E)-2-(3,4-Диметоксифенил)винил]-4-нитро-3-фенилизоксазол (**16ab**)



Оранжево-красные кристаллы; выход: 74% (52 мг);  $T_{пл}$  = 164–166 °С. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.95 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 3.98 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 6.91–6.96 (м, 1H, CH(Ar)), 7.15–7.20 (м, 1H, CH(Ar)), 7.24–7.29 (м, 1H, CH(Ar)), 7.47–7.55 (м, 3H, 3CH(Ar)), 7.56 (д,  $^3J$  = 16.4 Гц, 1H, CH=), 7.61–7.67 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.81 (д,  $^3J$  = 16.4 Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  56.19 ( $CH_3O$ ), 56.21 ( $CH_3O$ ), 108.7 (CH), 109.8 (CH), 111.3 (CH), 123.8 (CH), 126.2 (C(Ar)), 126.7 (CNO<sub>2</sub>), 127.6 (CH), 128.6 (2CH(Ar)), 129.5 (2CH(Ar)), 130.8 (CH), 143.5 (CH), 149.6 (C(Ar)), 152.2 (C(Ar)), 158.5 (C), 168.5 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{19}H_{17}N_2O_5^+$   $[M + H]^+$ : 353.1132. Найдено: 353.1136.

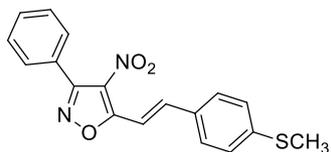
*4-Нитро-5-[(E)-2-(3,4,5-триметоксифенил)винил]-3-фенилизоксазол (16ac)*



Оранжевые кристаллы; выход: 72% (55 мг);  $T_{пл} = 142-144$  °C. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.93 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 3.95 (с, 6H, 2 $CH_3O$ ), 6.89 (с, 2H, 2CH(Ar)), 7.46–7.57 (м, 3H, 3CH(Ar)), 7.58 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=), 7.62–7.68 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.79 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  56.5 (2 $CH_3O$ ), 61.2 ( $CH_3O$ ), 105.8 (2CH(Ar)), 110.1 (CH=), 126.1 (C(Ar)), 127.1 (CNO<sub>2</sub>), 128.6 (2CH(Ar)), 129.5 (2CH(Ar)), 130.0 (C(Ar)), 130.8 (CH), 141.3 (C(Ar)), 143.5 (CH), 153.8 (2C(Ar)), 158.5 (C), 168.1 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{20}H_{18}N_2O_6$  [M]: 382.1159. Найдено: 382.1152.

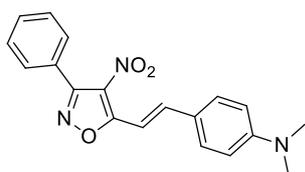
*5-[(E)-2-[4-(Метилтио)фенил]винил]-4-нитро-3-фенилизоксазол (16ad)*



Желто-оранжевые кристаллы; выход: 89% (60 мг);  $T_{пл} = 171-173$  °C. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.54 (с, 3H,  $CH_3S$ ), 7.27–7.32 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.48–7.56 (м, 3H, 3CH(Ar)), 7.57–7.61 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.62–7.66 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.66 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=), 7.81 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  15.2 ( $CH_3S$ ), 109.8 (CH=), 126.1 (2CH(Ar)), 126.2 (C(Ar)), 127.1 (CNO<sub>2</sub>), 128.6 (2CH(Ar)), 128.9 (2CH(Ar)), 129.5 (2CH(Ar)), 130.8 (CH(Ar)), 131.0 (C(Ar)), 142.9 (CH=), 143.8 (C(Ar)), 158.5 (C), 168.2 (C).

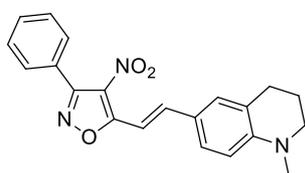
HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{18}H_{15}N_2O_3S^+$   $[M + H]^+$ : 339.0798. Найдено: 339.0793.

*(E)-N,N-Диметил-4-(2-(4-нитро-3-фенилизоксазол-5-ил)винил)анилин (16ae) [224]*



Черные кристаллы; выход: 52% (35 мг);  $T_{пл} = 197-198$  °C. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.08 (с, 6H, 2 $CH_3$ ), 6.67–6.77 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.45–7.55 (м, 4H, CH= + 3CH(Ar)), 7.55–7.61 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.62–7.67 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.81 (д,  $^3J = 16.2$  Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  40.3 (2 $CH_3$ ), 105.3 (CH=), 112.0 (2CH(Ar)), 122.5 (C(Ar)), 125.6 (CNO<sub>2</sub>), 126.7 (C(Ar)), 128.5 (2CH(Ar)), 129.5 (2CH(Ar)), 130.6 (CH(Ar)), 130.8 (2CH(Ar)), 144.4 (CH=), 152.6 (C(Ar)), 158.5 (C), 169.3(C).

*1-Метил-6-[(E)-2-(4-нитро-3-фенилизоксазол-5-ил)винил]-1,2,3,4-тетрагидрохиналин (16af)*

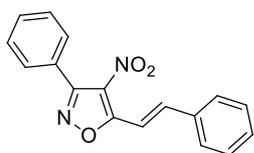


Темно-коричневые кристаллы; выход: 64% (46 мг);  $T_{пл} = 168-169$  °C. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  1.96–2.04 (м, 2H,

CH<sub>2</sub>), 2.78–2.83 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.01 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.36–3.40 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.57 (д, <sup>3</sup>J = 8.7 Гц, 1H, CH(Ar)), 7.30–7.34 (м, 1H, CH(Ar)), 7.40 (дд, <sup>3</sup>J = 8.7 Гц, <sup>4</sup>J = 2.1 Гц 1H, CH(Ar)), 7.45 (д, <sup>3</sup>J = 16.4 Гц, 1H, CH=), 7.47–7.56 (м, 3H, 3CH(Ar)), 7.62–7.67 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.77 (д, <sup>3</sup>J = 16.4 Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 21.9 (CH<sub>2</sub>), 27.9 (CH<sub>2</sub>), 38.9 (CH<sub>3</sub>), 51.4 (CH<sub>2</sub>), 104.6 (CH(Ar)), 110.5 (CH=), 122.3 (C(Ar)), 122.9 (C(Ar)), 125.4 (CNO<sub>2</sub>), 126.8 (C(Ar)), 128.5 (2CH(Ar)), 129.2 (CH(Ar)), 129.5 (2CH(Ar)), 130.1 (CH(Ar)), 130.5 (CH(Ar)), 144.7 (CH=), 149.5 (C(Ar)), 158.5 (C), 169.4 (C).

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 362.1499. Найдено: 362.1494.

*(E)*-4-Нитро-5-стирил-3-фенилизоксазол (**16ag**) [163, 224]



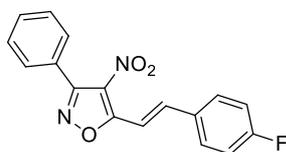
Светло-желтые кристаллы; выход: 82% (48 мг); T<sub>пл</sub> = 177–179 °С.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.41–7.59 (м, 6H, 6CH(Ar)), 7.61–

7.77 (м, 5H, CH= + 4CH(Ar)), 7.88 (д, <sup>3</sup>J = 16.5 Гц, 1H, CH=). Спектр

ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 111.0 (CH=), 126.1 (C(Ar)), 127.4 (CNO<sub>2</sub>), 128.60 (2CH(Ar)), 128.63 (2CH(Ar)), 129.3 (2CH(Ar)), 129.5 (2CH(Ar)), 130.9 (CH(Ar)), 131.3 (CH(Ar)), 134.5 (C(Ar)), 143.4 (CH=), 158.5 (C), 168.1 (C).

4-Нитро-3-фенил-5-[(*E*)-2-(4-фторфенил)винил]изоксазол (**16ah**)



Розовые кристаллы; выход: 68% (42 мг); T<sub>пл</sub> = 182–184 °С. Спектр

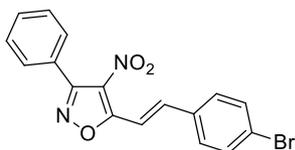
ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.11–7.22 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.47–7.59

(м, 3H, 3CH(Ar)), 7.59–7.73 (м, 5H, 4CH(Ar)+CH=), 7.83 (д, <sup>3</sup>J = 16.4

Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 110.8 (д, J<sub>CF</sub> = 3.1 Гц, CH=), 116.6 (д, J<sub>CF</sub> = 22.2 Гц, 2CH(Ar)), 126.0 (C(Ar)), 127.4 (CNO<sub>2</sub>), 128.6 (2CH(Ar)), 129.5 (2CH(Ar)), 130.6 (д, J<sub>CF</sub> = 8.6 Гц, 2CH(Ar)), 130.8 (C(Ar)), 130.9 (CH(Ar)), 142.0 (CH=), 158.5 (C), 164.5 (д, J<sub>CF</sub> = 253.5 Гц, C(Ar)), 167.9 (C). Спектр ЯМР <sup>19</sup>F (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ –107.61

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 311.0826. Найдено: 311.0827.

5-[(*E*)-2-(4-Бромфенил)винил]-4-нитро-3-фенилизоксазол (**16ai**)



Светло-желтые кристаллы; выход: 62 % (46 мг); T<sub>пл</sub> = 193–195 °С.

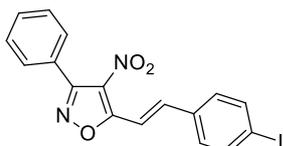
Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.48–7.57 (м, 4H, 4CH(Ar)),

7.59–7.66 (м, 5H, 5CH(Ar)), 7.69 (д, <sup>3</sup>J = 16.4 Гц, 1H, CH=), 7.80 (д,

<sup>3</sup>J = 16.4 Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 111.6 (CH=), 125.8 (C(Ar)), 126.0 (C(Ar)), 127.6 (CNO<sub>2</sub>), 128.7 (2CH(Ar)), 129.5 (2CH(Ar)), 129.9 (2CH(Ar)), 130.9 (CH(Ar)), 132.6 (2CH(Ar)), 133.4 (C(Ar)), 141.9 (CH=), 158.6 (C), 167.7 (C).

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 371.0026. Найдено: 371.0021.

5-[(E)-2-(4-Йодфенил)винил]-4-нитро-3-фенилизоксазол (**16aj**)

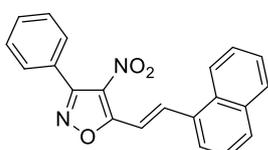


Светло-желтые кристаллы; выход: 65 % (54 мг);  $T_{пл} = 199–200\text{ }^\circ\text{C}$ .

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.37–7.43 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.48–7.57 (м, 3H, 3CH(Ar)), 7.61–7.66 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.70 (д,  $^3J = 16.6$  Гц, 1H, CH=), 7.78 (д,  $^3J = 16.6$  Гц, 1H, CH=), 7.78–7.86 (м, 2H, 2CH(Ar)). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  97.9 (C(Ar)), 111.7 (CH=), 126.0 (C(Ar)), 127.6 (CNO<sub>2</sub>), 128.7 (2CH(Ar)), 129.5 (2CH(Ar)), 129.9 (2CH(Ar)), 130.9 (CH(Ar)), 134.0 (C(Ar)), 138.6 (2CH(Ar)), 142.0 (CH=), 158.6 (C), 167.7 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{IN}_2\text{O}_3^+$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 418.9887. Найдено: 418.9878.

5-[(E)-2-(1-Нафтил)винил]-4-нитро-3-фенилизоксазол (**16ak**)

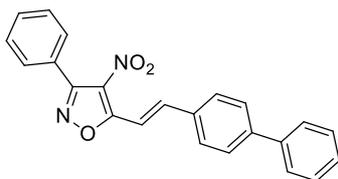


Желтые кристаллы; выход: 68 % (46 мг);  $T_{пл} = 165–167\text{ }^\circ\text{C}$ . Спектр

ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.49–7.62 (м, 5H, 5CH(Ar)), 7.62–7.71 (м, 3H, 3CH(Ar)), 7.81 (д,  $^3J = 16.3$  Гц, 1H, CH=), 7.90–7.95 (м, 1H, CH(Ar)), 7.96–8.02 (м, 2H, 2CH(Ar)), 8.23–8.29 (м, 1H, CH(Ar)), 8.72 (д,  $^3J = 16.3$  Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  113.1 (CH=), 123.1 (CH(Ar)), 125.7 (CH(Ar)), 125.8 (CH(Ar)), 126.1 (C(Ar)), 126.4 (CH(Ar)), 127.5 (CH(Ar)), 128.0 (CNO<sub>2</sub>), 128.7 (2CH(Ar)), 129.1 (CH(Ar)), 129.5 (2CH(Ar)), 130.9 (CH(Ar)), 131.61 (C(Ar)), 131.66 (C(Ar)), 131.8 (CH(Ar)), 133.9 (C(Ar)), 140.0 (CH=), 158.6 (C), 168.0 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_3^+$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 343.1077. Найдено: 343.1074.

5-[(E)-2-Бифенил-4-илвинил]-4-нитро-3-фенилизоксазол (**16al**)

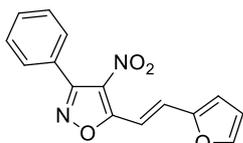


Желтые кристаллы; выход: 88 % (65 мг);  $T_{пл} = 207–208\text{ }^\circ\text{C}$ .

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.38–7.44 (м, H, CH(Ar)), 7.45–7.59 (м, 5H, 5CH(Ar)), 7.62–7.68 (м, 4H, 4CH(Ar)), 7.69–7.79 (м, 5H, 4CH(Ar)+CH=), 7.91 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  110.8 (CH=), 126.2 (C(Ar)), 127.2 (2CH(Ar)), 128.0 (2CH(Ar)), 128.3 (CH(Ar)), 128.6 (2CH(Ar)), 129.14 (2CH(Ar)), 129.15 (2CH(Ar)), 129.5 (2CH(Ar)), 130.9 (CH(Ar)), 133.5 (C(Ar)), 140.0 (C(Ar)), 143.0 (CH=), 144.1 (C(Ar)), 158.6 (C), 168.1 (C), (уширенный сигнал CNO<sub>2</sub> не наблюдается).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{23}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_3^+$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 369.1234. Найдено: 369.1230.

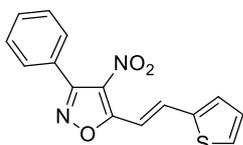
*4-Нитро-3-фенил-5-[(E)-2-(2-фурил)винил]изоксазол (16am)*



Желтые кристаллы; выход: 70 % (40 мг);  $T_{пл} = 151-153$  °С. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  6.55–6.60 (м, 1H, CH), 6.79–6.83 (м, 1H, CH), 7.47–7.56 (м, 3H, 3CH(Ar)), 7.57–7.60 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.60–7.67 (м, 3H, CH+2CH=). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  108.6 (CH=), 113.2 (CH), 117.1 (CH), 126.2 (C(Ar)), 127.2 (CNO<sub>2</sub>), 128.6 (2CH(Ar)), 128.9 (CH), 129.5 (2CH(Ar)), 130.8 (CH(Ar)), 146.2 (CH=), 151.2 (C), 158.5 (C), 168.0(C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{15}H_{10}N_2O_4Na^+ [M + Na]^+$ : 305.0533. Найдено: 305.0535.

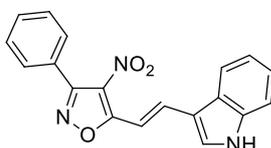
*4-нитро-5-[(E)-2-(2-тиофен)винил] -3-фенилизоксазол (16an)*



Желтые кристаллы; выход: 90 % (66 мг);  $T_{пл} = 156-158$  °С. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.10–7.18 (м, 1H, CH), 7.40–7.45 (м, 1H, CH), 7.45–7.58 (м, 5H, 3CH(Ar)+CH+CH=), 7.60–7.67 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.97 (д,  $^3J = 16.1$  Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  109.7 (CH=), 126.1 (C(Ar)), 127.0 (CNO<sub>2</sub>), 128.6 (2CH(Ar)), 128.8 (CH), 129.5 (2CH(Ar)), 130.5 (CH), 130.8 (CH), 132.4 (CH), 135.8 (CH=), 140.2 (C), 158.5 (C), 167.9 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{15}H_{11}N_2O_3S^+ [M + H]^+$ : 299.0485. Найдено: 299.0479.

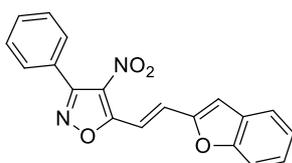
*3-[(E)-2-(4-Нитро-3-фенилизоксазол-5-ил)винил]-1H-индол (16ao)*



Оранжево-красные кристаллы; выход: 70 % (46 мг);  $T_{пл} = 220-221$  °С. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.33–7.40 (м, 2H, 2CH), 7.45–7.58 (м, 4H, 3CH(Ar)+CH), 7.64–7.68 (м, 2H, 2CH), 7.68–7.71 (м, 1H, CH), 7.76 (д,  $^3J = 16.3$  Гц, 1H, CH=), 8.05–8.09 (м, 1H, CH), 8.12 (д,  $^3J = 16.3$  Гц, 1H, CH=), 8.63 (уш. с, 1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  106.8 (CH), 112.2 (CH), 115.0 (C), 120.8 (CH), 122.6 (CH), 124.2 (CH), 125.2 (C), 125.7 (CNO<sub>2</sub>), 126.6 (C), 128.5 (2CH(Ar)), 129.5 (2CH(Ar)), 130.5 (CH), 130.6 (CH), 137.35 (C), 137.38 (CH=), 158.5 (C), 169.5 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{19}H_{14}N_3O_3^+ [M + H]^+$ : 332.1030. Найдено: 332.1028.

*5-[(E)-2-(1-Бензофуран-2-ил)винил]-4-нитро-3-фенилизоксазол (16ap)*

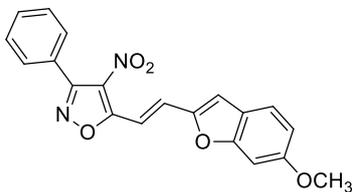


Желто-оранжевые кристаллы; выход: 86 % (57 мг);  $T_{пл} = 217-218$  °С. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.11 (с, 1H, CH), 7.26–7.32 (м, 1H, CH), 7.40–7.46 (м, 1H, CH), 7.48–7.60 (м, 4H, 4CH), 7.62–7.68 (м, 3H, 3CH), 7.70 (д,  $^3J = 16.1$  Гц, 1H, CH=), 7.82 (д,  $^3J = 16.1$  Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  111.3 (CH=), 111.8 (CH), 113.3 (CH), 122.2 (CH), 123.9 (CH), 125.1 (CNO<sub>2</sub>), 126.1 (C), 127.5 (CH), 128.56 (C), 128.66

(2CH(Ar)), 129.2 (CH=), 129.5 (2CH(Ar)), 130.9 (CH(Ar)), 152.4 (C), 156.2 (C), 158.6 (C), 167.5 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{19}H_{13}N_2O_4^+$  [M + H]<sup>+</sup>: 333.0870. Найдено: 333.0869.

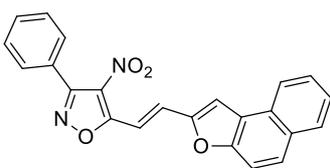
5-[(E)-2-(6-Метокси-1-бензофуран-2-ил)винил]-4-нитро-3-фенилизоксазол (**16aq**)



Оранжево-красные кристаллы; выход: 76 % (55 мг);  $T_{пл} = 189–190$  °С. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.90 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 6.88–6.94 (м, 1H, CH), 7.04 (с, 1H, CH), 7.05–7.09 (м, 1H, CH), 7.46–7.56 (м, 4H, 3CH(Ar)+CH), 7.63–7.67 (м, 3H, 2CH(Ar)+CH=), 7.70 (д,  $^3J = 16.1$  Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  55.9 ( $CH_3O$ ), 95.6 (CH), 109.6 (CH=), 113.80 (CH), 113.83 (CH), 122.0 (C), 122.5 (CH), 126.2 (C), 127.2 (CNO<sub>2</sub>), 128.6 (2CH(Ar)), 129.1 (CH=), 129.5 (2CH(Ar)), 130.8 (CH(Ar)), 151.9 (C), 157.7 (C), 158.6 (C), 160.7 (C), 167.8 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{20}H_{14}N_2O_5$  [M]: 362.0897. Найдено: 362.0897.

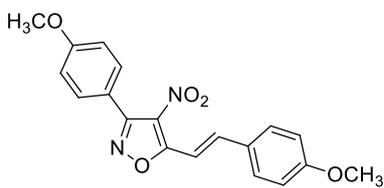
5-[(E)-2-Нафто[2,1-b]фуран-2-илвинил]-4-нитро-3-фенилизоксазол (**16ar**)



Оранжевые кристаллы; выход: 88 % (67 мг);  $T_{пл} = 228–230$  °С. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.47–7.74 (м, 9H, 9CH), 7.78 (д,  $^3J = 16.3$  Гц, 1H, CH=), 7.85 (д,  $^3J = 16.3$  Гц, 1H, CH=), 7.85–7.91 (м, 1H, CH), 7.94–8.00 (м, 1H, CH), 8.14–8.20 (м, 1H, CH(Ar)). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  110.3 (CH), 112.3 (CH), 112.4 (CH), 123.6 (CH), 124.5 (C), 125.6 (CH), 126.2 (CH), 126.7 (CNO<sub>2</sub>), 127.4 (CH), 127.7 (C), 128.7 (2CH(Ar)), 129.05 (CH), 129.09 (CH), 129.4 (CH), 129.5 (2CH(Ar)), 130.7 (C), 130.9 (CH), 152.0 (C), 154.6 (C), 158.7 (C), 167.7 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{23}H_{15}N_2O_4^+$  [M + H]<sup>+</sup>: 383.1026. Найдено: 383.1020.

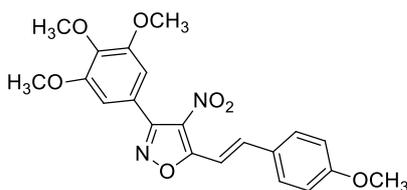
3-(4-Метоксифенил)-5-[(E)-2-(4-метоксифенил)винил]-4-нитроизоксазол (**16ba**)



Желтые кристаллы; выход: 96 % (68 мг);  $T_{пл} = 159–161$  °С. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.88 (с, 6H, 2 $CH_3O$ ), 6.94–6.99 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.00–7.04 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.56 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=), 7.58–7.67 (м, 4H, 4CH(Ar)), 7.81 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  55.5 ( $CH_3O$ ), 55.6 ( $CH_3O$ ), 108.7 (CH=), 114.1 (2CH(Ar)), 114.8 (2CH(Ar)), 118.3 (C(Ar)), 126.7 (CNO<sub>2</sub>), 127.4 (C(Ar)), 130.5 (2CH(Ar)), 131.0 (2CH(Ar)), 143.1 (CH=), 158.1 (C), 161.6 (C(Ar)), 162.3 (C(Ar)), 168.6 (C).

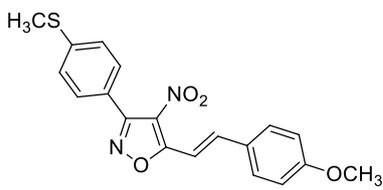
HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{19}H_{17}N_2O_5^+$  [M + H]<sup>+</sup>: 353.1132. Найдено: 353.1125.

5-[(E)-2-(4-Метоксифенил)винил]-4-нитро-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол (**16ea**)



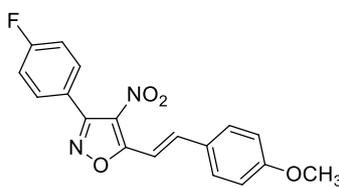
Желтые кристаллы; выход: 60 % (49 мг);  $T_{\text{пл}} = 169\text{--}170\text{ }^{\circ}\text{C}$ .  
Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.89 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.91 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.93 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.88 (с, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 6.98–7.01 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.57 (д,  $^3J = 16.5$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{)$ , 7.63–7.67 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.83 (д,  $^3J = 16.5$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{)$ . Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  55.7 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 56.4 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 61.1 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 106.9 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 108.5 ( $\text{CH}=\text{)$ , 114.8 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 121.3 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 126.7 ( $\text{CNO}_2$ ), 127.3 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 130.5 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 140.2 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 143.4 ( $\text{CH}=\text{)$ , 153.3 ( $2\text{C}(\text{Ar})$ ), 158.2 (C), 162.4 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 168.7 (C).  
HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_7^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 413.1343. Найдено: 413.1345.

3-[4-(Метилтио)фенил]-5-[(E)-2-(4-Метоксифенил)винил]-4-нитроизоксазол (**16fa**)



Желтые кристаллы; выход: 88 % (65 мг);  $T_{\text{пл}} = 173\text{--}175\text{ }^{\circ}\text{C}$ .  
Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.54 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{S}$ ), 3.88 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.95–7.00 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.31–7.36 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.56 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{)$ , 7.55–7.59 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.61–7.66 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.81 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{)$ . Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  15.3 ( $\text{CH}_3\text{S}$ ), 55.7 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 108.6 ( $\text{CH}=\text{)$ , 114.8 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 122.4 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 125.7 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 126.7 ( $\text{CNO}_2$ ), 127.4 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 129.8 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 130.5 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 142.6 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 143.3 ( $\text{CH}=\text{)$ , 158.0 (C), 162.4 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 168.7 (C).  
HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 369.0904. Найдено: 369.0898.

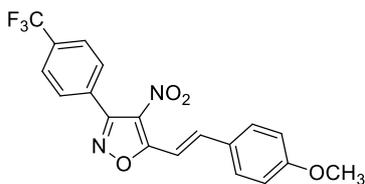
5-[(E)-2-(4-Метоксифенил)винил]-4-нитро-3-(4-фторфенил)изоксазол (**16ga**)



Желтые кристаллы; выход: 88 % (60 мг);  $T_{\text{пл}} = 178\text{--}180\text{ }^{\circ}\text{C}$ .  
Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.88 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.94–7.02 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.15–7.24 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.57 (д,  $^3J = 16.3$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{)$ , 7.61–7.70 (м, 4H,  $4\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.83 (д,  $^3J = 16.3$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{)$ . Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  55.7 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 108.5 ( $\text{CH}=\text{)$ , 114.9 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 115.9 (д,  $J_{\text{CF}} = 22.2$  Гц,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 122.4 (д,  $J_{\text{CF}} = 3.1$  Гц,  $\text{C}(\text{Ar})$ ), 126.6 ( $\text{CNO}_2$ ), 127.3 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 130.6 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 131.7 (д,  $J_{\text{CF}} = 8.6$  Гц,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 143.5 ( $\text{CH}=\text{)$ , 157.7 (C), 162.5 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 164.3 (д,  $J_{\text{CF}} = 251$  Гц,  $\text{C}(\text{Ar})$ ), 168.7 (C). Спектр ЯМР  $^{19}\text{F}$  (376 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  –109.33.

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{FN}_2\text{O}_4^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 341.0932. Найдено: 341.0931.

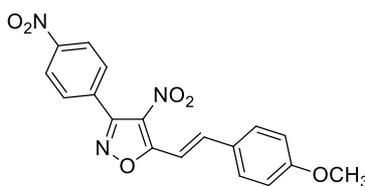
5-[(E)-2-(4-Метоксифенил)винил]-4-нитро-3-[4-(трифторметил)фенил]изоксазол (**16ha**)



Желтые кристаллы; выход: 94 % (73 мг);  $T_{пл} = 206–208$  °С. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.89 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 6.95–7.04 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.59 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H,  $CH=$ ), 7.63–7.69 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.74–7.82 (м, 4H, 4CH(Ar)), 7.86 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H,  $CH=$ ). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  55.7 ( $CH_3O$ ), 108.2 ( $CH=$ ), 114.9 (2CH(Ar)), 123.9 (к,  $J_{CF} = 272.6$  Гц,  $CF_3$ ), 125.6 (к,  $J_{CF} = 3.6$  Гц, 2CH(Ar)), 126.5 ( $CNO_2$ ), 127.2 (C(Ar)), 130.02 (C(Ar)), 130.08 (2CH(Ar)), 130.7 (2CH(Ar)), 132.7 (к,  $J_{CF} = 33.4$  Гц, C(Ar)), 143.9 ( $CH=$ ), 157.5 (C), 162.6 (C(Ar)), 168.9 (C). Спектр ЯМР  $^{19}F$  (376 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  –62.99.

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{19}H_{13}F_3N_2O_4$  [M]: 390.0822. Найдено: 390.0821.

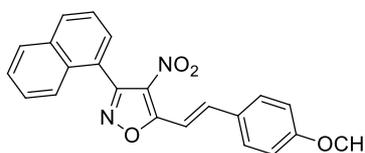
5-[(E)-2-(4-Метоксифенил)винил]-4-нитро-3-(4-нитрофенил)изоксазол (**16ia**)



Ярко-оранжевые кристаллы; выход: 86 % (63 мг);  $T_{пл} = 208–210$  °С. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.89 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 6.96–7.02 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.58 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H,  $CH=$ ), 7.64–7.69 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.82–7.87 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.87 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H,  $CH=$ ), 8.34–8.40 (м, 2H, 2CH(Ar)). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  55.7 ( $CH_3O$ ), 108.0 ( $CH=$ ), 114.9 (2CH(Ar)), 123.7 (2CH(Ar)), 126.4 ( $CNO_2$ ), 127.1 (C(Ar)), 130.76 (2CH(Ar)), 130.83 (2CH(Ar)), 132.7 (C(Ar)), 144.3 ( $CH=$ ), 149.3 (C(Ar)), 157.0 (C), 162.7 (C(Ar)), 169.1 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{18}H_{14}N_3O_6^+$  [M + H] $^+$ : 368.0877. Найдено: 368.0875.

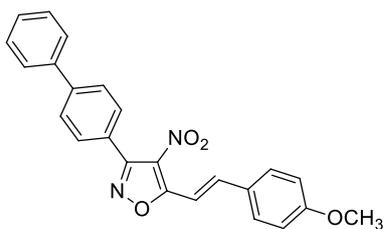
5-[(E)-2-(4-Метоксифенил)винил]-3-(1-нафтил)-4-нитроизоксазол (**16ja**)



Желтые кристаллы; выход: 90 % (67 мг);  $T_{пл} = 177–179$  °С. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.90 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 6.97–7.04 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.47–7.64 (м, 4H, 4CH(Ar)), 7.64–7.72 (м, 4H, 3CH(Ar))+ $CH=$ ), 7.88–7.97 (м, 2H,  $CH(Ar)+CH=$ ), 8.01–8.06 (м, 1H,  $CH(Ar)$ ). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  55.7 ( $CH_3O$ ), 108.6 ( $CH=$ ), 114.9 (2CH(Ar)), 124.0 (C(Ar)), 124.6 (CH(Ar)), 125.1 (CH(Ar)), 126.6 (CH(Ar)), 127.3 (CH(Ar)), 127.4 (C(Ar)), 127.9 ( $CNO_2$ ), 128.2 (CH(Ar)), 128.8 (CH(Ar)), 130.6 (2CH(Ar)), 131.0 (CH(Ar)), 131.7 (C(Ar)), 133.5 (C(Ar)), 143.5 ( $CH=$ ), 157.9 (C), 162.5 (C(Ar)), 168.2 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{22}H_{17}N_2O_4^+$  [M + H] $^+$ : 373.1183. Найдено: 373.1183.

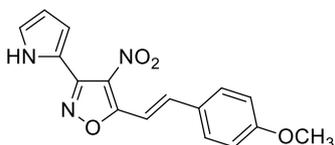
*3-Бифенил-4-ил-5-[(E)-2-(4-Метоксифенил)винил]-4-нитроизоксазол (16ka)*



Желтые кристаллы; выход: 80 % (64 мг);  $T_{пл} = 201-203\text{ }^{\circ}\text{C}$ .  
Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.89 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.96–7.02 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.37–7.44 (м, 1H, CH(Ar)), 7.45–7.52 (м, 2H, CH(Ar)), 7.60 (д,  $^3J = 16.5$  Гц, 1H, CH=), 7.63–7.69 (м, 4H, 4CH(Ar)), 7.71–7.76 (м, 4H, 4CH(Ar)), 7.84 (д,  $^3J = 16.5$  Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  55.7 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 108.6 (CH=), 114.9 (2CH(Ar)), 125.1 (C(Ar)), 126.8 (CNO<sub>2</sub>), 127.3 (2CH(Ar)), 127.4 (3CH(Ar)), 128.1 (C(Ar)), 129.1 (2CH(Ar)), 130.0 (2CH(Ar)), 130.5 (2CH(Ar)), 140.3 (C(Ar)), 143.3 (CH=), 143.6 (C(Ar)), 158.3 (C), 162.4 (C(Ar)), 168.7 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_4^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ]<sup>+</sup>: 399.1339. Найдено: 399.1337.

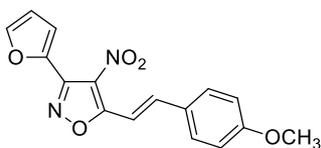
*5-[(E)-2-(4-Метоксифенил)винил]-4-нитро-3-(1H-пиррол-2-ил)изоксазол (16la)*



Желтые кристаллы; выход: 76 % (47 мг);  $T_{пл} = 170-172\text{ }^{\circ}\text{C}$ .  
Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.88 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.35–6.42 (м, 1H, CH), 6.93–7.02 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.02–7.08 (м, 1H, CH), 7.18–7.24 (м, 1H, CH), 7.59 (д,  $^3J = 16.5$  Гц, 1H, CH=), 7.62–7.67 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.81 (д,  $^3J = 16.5$  Гц, 1H, CH=), 9.86 (уш. с, 1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  55.7 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 108.7 (CH=), 110.7 (CH), 114.5 (CH), 114.8 (2CH(Ar)), 117.1 (C), 122.0 (CH), 126.1 (CNO<sub>2</sub>), 127.4 (C), 130.6 (2CH(Ar)), 143.5 (CH=), 150.0 (C), 162.4 (C), 169.4 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_4^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ]<sup>+</sup>: 312.0979. Найдено: 312.0979.

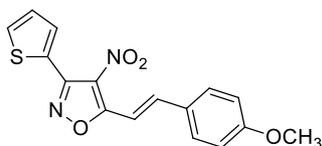
*5-[(E)-2-(4-Метоксифенил)винил]-4-нитро-3-(2-фуран)изоксазол (16ma)*



Желтые кристаллы; выход: 84 % (52 мг);  $T_{пл} = 175-177\text{ }^{\circ}\text{C}$ .  
Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.87 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.61 (дд,  $^3J = 3.6$  Гц,  $^4J = 1.8$  Гц, 1H, CH), 6.94–7.00 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.47 (дд,  $^3J = 3.6$  Гц,  $^4J = 0.8$  Гц, 1H, CH), 7.56 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=), 7.61–7.66 (м, 3H, 2CH), 7.67 (дд,  $^3J = 1.8$  Гц,  $^4J = 0.8$  Гц, 1H, CH), 7.82 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  55.7 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 108.3 (CH=), 112.1 (CH), 114.8 (2CH(Ar)), 117.2 (CH), 127.3 (C), 130.6 (2CH(Ar)), 140.5 (C), 143.6 (CH=), 145.4 (CH), 149.1 (C), 162.5 (C), 168.9 (C), (уширенный сигнал CNO<sub>2</sub> не наблюдается).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_5^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ]<sup>+</sup>: 313.0819. Найдено: 313.0816.

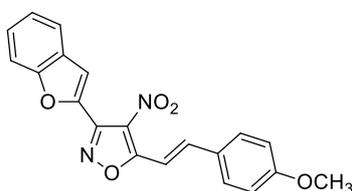
5-[(E)-2-(4-Метоксифенил)винил]-4-нитро-3-(2-тиофен)изоксазол (**16na**)



Желтые кристаллы; выход: 86 % (56 мг);  $T_{пл} = 186-187\text{ }^{\circ}\text{C}$ .  
Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.88 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.94–7.02 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.20 (дд,  $^3J = 5.0$  Гц,  $^3J = 3.7$  Гц 1H, CH), 7.570 (д,  $^3J = 16.3$  Гц, 1H, CH=), 7.575 (дд,  $^3J = 5.0$  Гц,  $^4J = 1.1$  Гц 1H, CH), 7.61–7.67 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.81 (д,  $^3J = 16.3$  Гц, 1H, CH=), 7.92 (дд,  $^3J = 3.7$  Гц,  $^4J = 1.1$  Гц, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  55.7 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 108.5 (CH=), 114.8 (2CH(Ar)), 126.1 (C(Ar)), 127.0 (CNO<sub>2</sub>), 127.3 (C(Ar)), 127.9 (CH), 130.0 (CH), 130.6 (2CH(Ar)), 132.0 (CH), 143.4 (CH=), 152.7 (C), 162.4 (C(Ar)), 169.2 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}^+ [\text{M} + \text{H}]^+$ : 329.0591. Найдено: 329.0590.

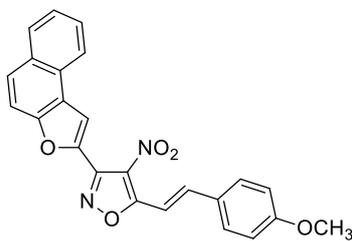
3-(1-Бензофуран-2-ил)-5-[(E)-2-(4-Метоксифенил)винил]-4-нитроизоксазол (**16oa**)



Оранжевые кристаллы; выход: 86 % (62 мг);  $T_{пл} = 184-186\text{ }^{\circ}\text{C}$ .  
Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.87 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.94–7.01 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.28–7.35 (м, 1H, CH), 7.40–7.47 (м, 1H, CH), 7.58 (д,  $^3J = 16.5$  Гц, 1H, CH=), 7.60–7.68 (м, 3H, 2CH(Ar)+CH), 7.70–7.75 (м, 1H, CH), 7.84 (д,  $^3J = 16.5$  Гц, 1H, CH=), 7.85–7.86 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  55.7 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 108.1 (CH=), 112.0 (CH), 113.6 (CH), 114.9 (2CH(Ar)), 122.5 (CH), 123.7 (CH), 126.2 (CNO<sub>2</sub>), 127.1 (CH), 127.2 (C), 127.7 (C), 130.7 (2CH(Ar)), 142.0 (C), 143.9 (CH=), 149.5 (C), 155.4 (C), 162.6 (C(Ar)), 169.2 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_5^+ [\text{M} + \text{H}]^+$ : 363.0975. Найдено: 363.0971.

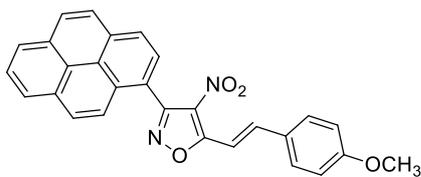
5-[(E)-2-(4-Метоксифенил)винил]-3-нафто[2,1-*b*]фуран-2-ил-4-нитроизоксазол (**16pa**)



Оранжевые кристаллы; выход: 90 % (74 мг);  $T_{пл} = 239-240\text{ }^{\circ}\text{C}$ .  
Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.88 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.96–7.02 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.52–7.56 (м, 1H, CH), 7.61 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=), 7.64–7.69 (м, 3H, 2CH(Ar)+CH), 7.73–7.78 (м, 1H, CH), 7.84–7.88 (м, 1H, CH), 7.87 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=), 7.95–8.00 (м, 1H, CH), 8.22–8.27 (м, 1H, CH), 8.34–8.37 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  55.7 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 108.3 (CH=), 112.60 (CH), 112.64 (CH), 114.9 (2CH(Ar)), 123.4 (C), 123.6 (CH), 125.4 (CH), 127.30 (C), 127.31 (CH), 128.0 (C), 128.6 (CH), 129.1 (CH), 130.65 (C), 130.68 (2CH(Ar)), 141.4 (C), 143.9 (CH=), 149.5 (C), 153.7 (C), 162.6 (C(Ar)), 169.3 (C), broad signal of CNO<sub>2</sub> was not found.

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_5^+ [\text{M} + \text{H}]^+$ : 413.1132. Найдено: 413.1130.

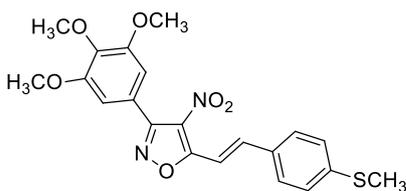
5-[(*E*)-2-(4-Метоксифенил)винил]-4-нитро-3-пирен-1-илизоксазол (**16qa**)



Оранжевые кристаллы; выход: 88 % (78 мг);  $T_{пл} = 230-232$  °С. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.90 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 6.97–7.04 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.66–7.75 (м, 3H, 3CH(Ar)), 7.91–7.96 (м, 2H, CH(Ar)), 7.96 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=), 8.02–8.30 (м, 8H, 7CH(Ar))+CH=). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  55.7 ( $CH_3O$ ), 108.7 (CH=), 114.9 (2CH(Ar)), 120.5 (C(Ar)), 123.9 (CH(Ar)), 124.6 (CH(Ar)+C(Ar)), 124.7 (C(Ar)), 126.1 (CH(Ar)), 126.2 (CH(Ar)), 126.5 (CH(Ar)), 127.42 (CH(Ar)+C(Ar)), 127.48 (CH(Ar)), 128.1 (CNO<sub>2</sub>), 129.0 (CH(Ar)), 129.1 (CH(Ar)), 130.2 (C(Ar)), 130.6 (2CH(Ar)), 130.8 (C(Ar)), 131.3 (C(Ar)), 133.0 (C(Ar)), 143.6 (CH=), 158.4 (C), 162.5 (C(Ar)), 168.4 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{28}H_{18}N_2O_4K^+$  [M + K]<sup>+</sup>: 485.0898. Найдено: 485.0896.

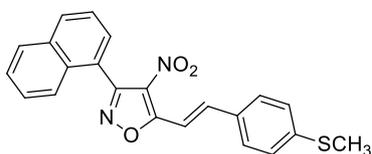
5-[(*E*)-2-[4-(Метилтио)фенил]винил]-4-нитро-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол (**16ed**)



Желтые кристаллы; выход: 62 % (53 мг);  $T_{пл} = 160-161$  °С. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.54 (с, 3H,  $CH_3S$ ), 3.91 (с, 6H, 2 $CH_3O$ ), 3.93 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 6.88 (с, 2H, 2CH(Ar)), 7.27–7.31 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.57–7.62 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.65 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=), 7.81 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  15.1 ( $CH_3S$ ), 56.4 (2 $CH_3O$ ), 61.1 ( $CH_3O$ ), 106.9 (2CH(Ar)), 109.8 (CH=), 121.1 (C(Ar)), 126.1 (2CH(Ar)), 127.0 (CNO<sub>2</sub>), 128.9 (2CH(Ar)), 130.9 (C(Ar)), 140.3 (C(Ar)), 143.0 (CH=), 143.9 (C(Ar)), 153.3 (2C(Ar)), 158.2 (C), 168.4 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{21}H_{21}N_2O_6S^+$  [M + H]<sup>+</sup>: 429.1115. Найдено: 429.1119.

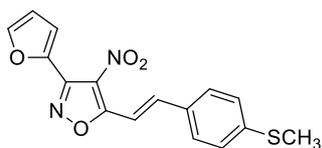
5-[(*E*)-2-[4-(Метилтио)фенил]винил]-3-(1-нафтил)-4-нитроизоксазол (**16jd**)



Желтые кристаллы; выход: 74 % (57 мг);  $T_{пл} = 209-211$  °С. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.55 (с, 3H,  $CH_3S$ ), 7.29–7.34 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.47–7.65 (м, 7H, 7CH(Ar)), 7.74 (д,  $^3J = 16.5$  Гц, 1H, CH=), 7.90 (д,  $^3J = 16.5$  Гц, 1H, CH=), 7.93–7.97 (м, 1H, CH(Ar)), 8.02–8.07 (м, 1H, CH(Ar)). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  15.2 ( $CH_3S$ ), 109.9 (CH=), 123.9 (C(Ar)), 124.6 (CH(Ar)), 125.1 (CH(Ar)), 126.1 (2CH(Ar)), 126.6 (CH(Ar)), 127.3 (CH(Ar)), 128.28 (CH(Ar)), 128.34 (CNO<sub>2</sub>), 128.8 (CH(Ar)), 129.0 (2CH(Ar)), 131.0 (C(Ar)), 131.1 (CH(Ar)), 131.7 (C(Ar)), 133.5 (C(Ar)), 143.1 (CH=), 143.9 (C(Ar)), 158.0 (C), 167.8 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{22}H_{16}N_2O_3SNa^+$  [M + Na]<sup>+</sup>: 411.0774. Найдено: 411.0769.

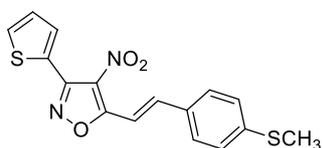
5-*-(E)*-2-[4-(Метилтио)фенил]винил}-4-нитро 3-(фуран-2-ил)изоксазол (**16md**)



Желто-оранжевые кристаллы; выход: 88 % (58 мг);  $T_{пл} = 157-159$  °С. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.53 (с, 3H,  $CH_3S$ ), 6.61 (дд,  $^3J = 3.5$  Гц,  $^4J = 1.8$  Гц 1H, CH), 7.24–7.31 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.47 (д,  $^3J = 3.5$  Гц, 1H, CH), 7.54–7.60 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.63 (д,  $^3J = 16.5$  Гц, 1H, CH=), 7.64–7.65 (м, 1H, CH), 7.80 (д,  $^3J = 16.5$  Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  15.1 ( $CH_3S$ ), 109.5 (CH=), 112.1 (CH), 117.3 (CH), 126.0 (2CH(Ar)), 129.0 (2CH(Ar)), 130.8 (C), 140.3 (C), 143.2 (CH), 143.9 (C), 145.5 (CH), 149.1 (C), 168.6 (C), (уширенный сигнал  $CNO_2$  не наблюдается).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{16}H_{13}N_2O_4S^+$   $[M + H]^+$ : 329.0591. Найдено: 329.0584.

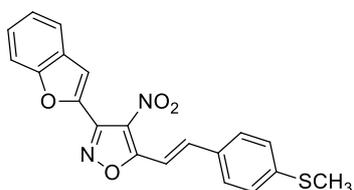
5-*-(E)*-2-[4-(Метилтио)фенил]винил}-4-нитро-3-(тиофен-2-ил)изоксазол (**16nd**)



Желтые-оранжевые кристаллы; выход: 90 % (62 мг);  $T_{пл} = 164-165$  °С. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.54 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 7.20 (дд,  $^3J = 5.1$  Гц,  $^3J = 3.8$  Гц 1H, CH), 7.26–7.31 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.56–7.61 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.58 (дд,  $^3J = 5.1$  Гц,  $^4J = 1.1$  Гц 1H, CH), 7.64 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=), 7.79 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=), 7.92 (дд,  $^3J = 3.8$  Гц,  $^4J = 1.1$  Гц, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  15.1 ( $CH_3S$ ), 109.7 (CH=), 125.96 (C), 126.04 (2CH(Ar)), 126.5 ( $CNO_2$ ), 127.9 (CH), 129.0 (2CH(Ar)), 130.1 (CH), 130.9 (C), 132.1 (CH), 143.0 (CH=), 143.9 (C(Ar)), 152.7 (C), 168.8 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{16}H_{13}N_2O_3S_2^+$   $[M + H]^+$ : 345.0362. Найдено: 345.0361.

3-(1-Бензофуран-2-ил)-5-*-(E)*-2-[4-(Метилтио)фенил]винил}-4-нитроизоксазол (**16od**)



Желтые кристаллы; выход: 90 % (68 мг);  $T_{пл} = 200-202$  °С. Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.54 (с, 3H,  $CH_3S$ ), 7.27–7.31 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.32 (ддд,  $^3J = 7.8$  Гц,  $^3J = 7.2$  Гц,  $^4J = 1.0$  Гц, 1H, CH), 7.44 (ддд,  $^3J = 8.3$  Гц,  $^3J = 7.2$  Гц,  $^4J = 1.2$  Гц, 1H, CH), 7.58–7.64 (м, 3H, 2CH(Ar)+CH), 7.66 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=), 7.73 (ддд,  $^3J = 7.8$  Гц,  $^4J = 12$  Гц,  $^4J = 0.8$  Гц, 1H, CH), 7.84 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=), 7.87 (д,  $^4J = 1.0$  Гц, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  15.1 ( $CH_3S$ ), 109.4 (CH=), 112.0 (CH), 113.7 (CH), 122.6 (CH), 123.8 (CH), 126.0 (2CH(Ar)), 126.8 ( $CNO_2$ ), 127.2 (CH), 127.7 (C), 129.0 (2CH(Ar)), 130.8 (C), 141.9 (C), 143.5 (CH=), 144.1 (C), 149.5 (C), 155.5 (C), 168.9 (C).

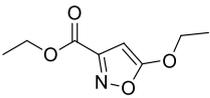
HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{20}H_{15}N_2O_4S^+$   $[M + H]^+$ : 379.0747. Найдено: 379.0753.

#### 4.1.5. Синтез изоксазолсодержащих комплексов с $BF_2$

##### 4.1.5.1. Синтез исходных изоксазолов

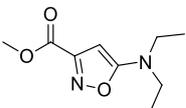
Исходные сложные эфиры **18a-e** [181, 225–227] были синтезированы по описанной методике [181]. Сложные эфиры **18f-i** (**18h** [184]) были получены по разработанным нами методам [184]. Гетероциклы **18j-k** [228, 229] были синтезированы по описанным методам [185, 186]

##### Этил 5-этоксизоксазол-3-карбоксилат (**18f**)

 Бесцветное масло; выход: 91 % (337 мг);  $R_f = 0.22$  (ПЭ–ЭА, 8:1).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  1.35 (т,  $^3J = 7.2$  Гц, 3H,  $CH_3$ ), 1.42 (т,  $^3J = 7.1$  Гц, 3H,  $CH_3$ ), 4.25 (кв,  $^3J = 7.1$  Гц, 2H,  $CH_2O$ ), 4.36 (кв,  $^3J = 7.2$  Гц, 2H,  $CH_2O$ ), 5.58 (с, 1H, CH);  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  14.1 ( $CH_3$ ), 14.3 ( $CH_3$ ), 62.1 ( $CH_2O$ ), 69.0 ( $CH_2O$ ), 78.3 (CH), 157.8 (C), 160.0 (C), 174.4 (C).

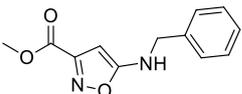
HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_8H_{11}NO_4Na^+$  [ $M + Na$ ] $^+$ : 208.0580. Найдено: 208.0587.

##### Метил 5-(диэтиламино)изоксазол-3-карбоксилат (**18g**)

 Бесцветное масло; выход: 88 % (348 мг);  $R_f = 0.30$  (ПЭ–ЭА, 4:1).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  1.20 (т,  $^3J = 7.2$  Гц, 6H,  $2CH_3$ ), 3.36 (кв,  $^3J = 7.2$  Гц, 4H,  $2CH_2N$ ), 3.92 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 5.28 (с, 1H, CH);  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  12.9 ( $2CH_3$ ), 43.8 ( $2CH_2$ ), 52.3 ( $CH_3O$ ), 76.4 (CH), 156.9 (C), 161.2 (C), 170.7 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_9H_{15}N_2O_3^+$  [ $M + H$ ] $^+$ : 199.1077. Найдено: 199.1077.

##### Метил 5-(бензиламино)изоксазол-3-карбоксилат (**18i**)

 Белые кристаллы; выход: 82 % (380 мг);  $T_{пл}$ : 199–200 °C;  $R_f = 0.23$  (ПЭ–ЭА, 3:1).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.85 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 4.35 (д,  $^3J = 6.0$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 5.35 (с, 1H, CH), 5.61 (уш. т,  $^3J = 6.0$  Гц, 1H, NH), 7.22–7.35 (м, 5H,  $5CH(Ar)$ );  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  48.2 ( $CH_2N$ ), 52.6 ( $CH_3O$ ), 78.3 (CH), 127.3 ( $2CH(Ar)$ ), 127.9 (CH(Ar)), 128.8 ( $2CH(Ar)$ ), 137.2 (C(Ar)), 156.9 (C), 161.0 (C), 171.1 (C).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{12}H_{13}N_2O_3^+$  [ $M + H$ ] $^+$ : 233.0921. Найдено: 233.0921.

##### 4.1.5.2. Синтез исходных изоксазолсодержащих $\beta$ -дикетон

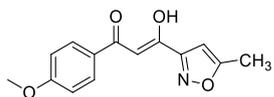
##### Общая методика VI.

К суспензии NaH (120 мг, 3 ммоль) в THF (5 мл) добавить арилметилкетон (1 ммоль) и оставить перемешиваться в течение 5 минут при 0 °C. Затем добавить сложный эфир (1.2 ммоль) и кипятить реакционную смесь в течение 2 часов. После завершения реакции, реакционную смесь вылить в воду (20 мл) и экстрагировать EtOAc

(20 мл×2). Объединённые органические фракции промыть 1М HCl, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, насыщенным раствором NaCl и оставить сушиться над MgSO<sub>4</sub>. Растворитель отогнать при пониженном давлении, продукт очистить методом препаративной колоночной хроматографии.

*(2Z)*-3-Гидрокси-3-(5-метилизоксазол-3-ил)-1-(4-метоксифенил)проп-2-ен-1-он

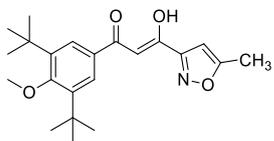
**(20aa)**



Светло-желтые кристаллы; выход: 92 % (238 мг); T<sub>пл</sub>: 119–121 °C; R<sub>f</sub> = 0.29 (ПЭ–ЭА, 6:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.51 (д, <sup>4</sup>J = 0.9 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.88 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.45 (уш. кв, <sup>4</sup>J = 0.9 Гц, 1H, CH<sub>isx</sub>), 6.95–6.98 (м, 2H, 2CH(Ar)), 6.99 (с, 1H, CH=), 7.95–8.00 (м, 2H, 2CH(Ar)), 16.08 (уш. с, 1H, OH); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 12.5 (CH<sub>3</sub>), 55.6 (CH<sub>3</sub>O), 94.1 (CH=), 100.6 (CH<sub>isx</sub>), 114.2 (2CH(Ar)), 126.8 (C(Ar)), 129.6 (2CH(Ar)), 161.3 (C<sub>isx</sub>), 163.7 (C(Ar)), 171.1 (C<sub>isx</sub>), 177.4 (C-O), 184.8 (C=O).

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 260.0917. Найдено: 260.0922.

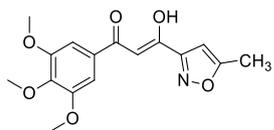
*(2Z)*-1-(3,5-ди-*tert*-Бутил-4-метоксифенил)-3-гидрокси-3-(5-метилизоксазол-3-ил)проп-2-ен-1-он **(20ab)**



Белые кристаллы; выход: 90 % (334 мг); T<sub>пл</sub>: 96–98 °C; R<sub>f</sub> = 0.26 (ПЭ–ЭА, 20:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.47 (с, 18H, 6CH<sub>3</sub>), 2.51 (д, <sup>4</sup>J = 0.9 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.73 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.46 (уш. кв, <sup>4</sup>J = 0.9 Гц, 1H, CH<sub>isx</sub>), 6.98 (с, 1H, CH=), 7.88 (с, 2H, 2CH(Ar)), 16.16 (уш. с, 1H, OH); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 12.5 (CH<sub>3</sub>), 32.1 (6CH<sub>3</sub>), 36.1 (2C), 64.6 (CH<sub>3</sub>O), 94.6 (CH=), 100.7 (CH<sub>isx</sub>), 126.3 (2CH(Ar)), 128.8 (C(Ar)), 144.7 (2C(Ar)), 161.4 (C<sub>isx</sub>), 164.4 (C(Ar)), 171.1 (C<sub>isx</sub>), 177.9 (C-O), 185.6 (C=O).

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>22</sub>H<sub>29</sub>BF<sub>2</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 420.2156. Найдено: 420.2140.

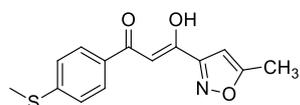
*(2Z)*-3-Гидрокси-3-(5-метилизоксазол-3-ил)-1-(3,4,5-триметоксифенил)проп-2-ен-1-он **(20ac)**



Желтые кристаллы; выход: 88 % (281 мг); T<sub>пл</sub>: 117–119 °C; R<sub>f</sub> = 0.15 (ПЭ–ЭА, 6:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.52 (д, <sup>4</sup>J = 0.9 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.93 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 3.94 (с, 6H, 2CH<sub>3</sub>O), 6.47 (уш. кв, <sup>4</sup>J = 0.9 Гц, 1H, CH), 7.00 (с, 1H, CH=), 7.22 (с, 2H, 2CH(Ar)), 16.07 (уш. с, 1H, OH); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 12.5 (CH<sub>3</sub>), 56.5 (2CH<sub>3</sub>O), 61.1 (CH<sub>3</sub>O), 94.6 (CH=), 100.7 (CH<sub>isx</sub>), 104.8 (2CH(Ar)), 129.6 (C(Ar)), 142.6 (C(Ar)), 153.4 (2C(Ar)), 161.2 (C<sub>isx</sub>), 171.2 (C<sub>isx</sub>), 177.9 (C-O), 184.7 (C=O).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{16}H_{18}NO_6^+$   $[M + H]^+$ : 320.1129. Найдено: 320.1121.

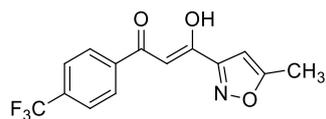
(2*Z*)-3-Гидрокси-3-(5-метилизоксазол-3-ил)-1-[4-(метилтио)фенил]проп-2-ен-1-он  
(20ad)



Желтые кристаллы; выход: 86 % (237 мг);  $T_{пл}$ : 111–113 °C;  $R_f = 0.29$   
(ПЭ–ЭА, 6:1).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.51 (д,  $^4J = 0.8$  Гц, 3H,  $CH_3$ ), 2.54 (с, 3H,  $CH_3S$ ), 6.46 (уш. кв,  $^3J = 0.8$  Гц, 1H,  $CH_{isx}$ ), 7.02 (с, 1H,  $CH=$ ), 7.26–7.31 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.86–7.96 (м, 2H, 2CH(Ar)), 15.95 (уш. с, 1H, OH);  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  12.5 ( $CH_3$ ), 14.8 ( $CH_3S$ ), 94.4 ( $CH=$ ), 100.6 ( $CH_{isx}$ ), 125.2 (2CH(Ar)), 127.7 (2CH(Ar)), 130.2 (C(Ar)), 146.0 (C(Ar)), 161.3 ( $C_{isx}$ ), 171.2 ( $C_{isx}$ ), 178.6 (C-O), 183.7 (C=O).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{14}H_{14}SNO_3^+$   $[M + H]^+$ : 276.0689. Найдено: 276.0686.

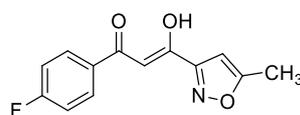
(2*Z*)-3-Гидрокси-3-(5-метилизоксазол-3-ил)-1-[4-(трифторметил)фенил]проп-2-ен-1-он (20ae)



Белые кристаллы; выход: 84 % (249 мг);  $T_{пл}$ : 92–94 °C;  $R_f = 0.49$   
(ПЭ–ЭА, 7:1).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.52 (д,  $^4J = 0.9$  Гц, 3H,  $CH_3$ ), 6.49 (уш. кв,  $^4J = 0.9$  Гц, 1H,  $CH_{isx}$ ), 7.10 (с, 1H,  $CH=$ ), 7.71–7.77 (м, 2H, 2CH(Ar)), 8.05–8.11 (м, 2H, 2CH(Ar)), 15.62 (уш. с, 1H, OH);  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  12.5 ( $CH_3$ ), 95.6 ( $CH=$ ), 100.6 ( $CH_{isx}$ ), 123.8 ( $^1J_{CF} = 272.6$  Гц,  $CF_3$ ), 125.9 ( $^3J_{CF} = 3.7$  Гц, 2CH(Ar)), 127.7 (2CH(Ar)), 134.2 ( $^2J_{CF} = 32.7$  Гц, C(Ar)), 137.4 (C(Ar)), 161.3 ( $C_{isx}$ ), 171.6 ( $C_{isx}$ ), 181.0 (C-O), 184.1 (C=O).  $^{19}F$  NMR (376 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  -63.10.

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{14}H_{11}F_3NO_3^+$   $[M + H]^+$ : 298.0686. Найдено: 298.0687.

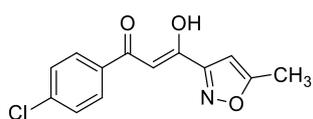
(2*Z*)-3-Гидрокси-3-(5-метилизоксазол-3-ил)-1-(4-фторфенил)проп-2-ен-1-он (20af)



Светло-желтые кристаллы; выход: 86 % (212 мг);  $T_{пл}$ : 100–102 °C;  $R_f = 0.41$  (ПЭ–ЭА, 6:1).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.51 (д,  $^4J = 0.9$  Гц, 3H,  $CH_3$ ), 6.47 (уш. кв,  $^4J = 0.9$  Гц, 1H,  $CH_{isx}$ ), 7.02 (с, 1H,  $CH=$ ), 7.13–7.20 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.97–8.04 (м, 2H, 2CH(Ar)), 15.86 (уш. с, 1H, OH);  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  12.5 ( $CH_3$ ), 94.7 ( $CH=$ ), 100.6 ( $CH_{isx}$ ), 116.1 ( $^3J_{CF} = 22.1$  Гц, 2CH(Ar)), 130.0 ( $^2J_{CF} = 9.2$  Гц, 2CH(Ar)), 130.6 ( $^4J_{CF} = 3.1$  Гц, C(Ar)), 161.2 ( $C_{isx}$ ), 165.8 ( $^1J_{CF} = 254.9$  Гц, C(Ar)), 171.3 ( $C_{isx}$ ), 178.9 (C-O), 183.3 (C=O).  $^{19}F$  NMR (376 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  -105.3 (тт,  $^3J_{HF} = 8.5$  Гц,  $^4J_{HF} = 5.3$  Гц).

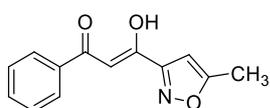
HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{13}H_{10}FNO_3Na^+$   $[M + Na]^+$ : 270.0537. Найдено: 270.0542.

*(2Z)*-3-Гидрокси-3-(5-метилизоксазол-3-ил)-1-(4-хлорфенил)проп-2-ен-1-он (**20ag**)



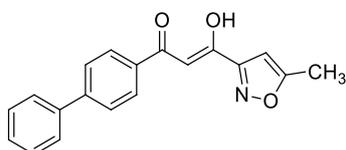
Светло-оранжевые кристаллы; выход: 90 % (237 мг);  $T_{пл}$ : 98–100 °C;  $R_f = 0.43$  (ПЭ–ЭА, 6:1).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.49 (д,  $^4J = 0.8$  Гц, 3H,  $CH_3$ ), 6.45 (уш. кв,  $^4J = 0.8$  Гц, 1H,  $CH_{isx}$ ), 7.00 (с, 1H,  $CH=$ ), 7.40–7.46 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.86–7.92 (м, 2H, 2CH(Ar)), 15.74 (уш. с, 1H, OH);  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  12.5 ( $CH_3$ ), 94.8 ( $CH=$ ), 100.6 ( $CH_{isx}$ ), 128.7 (2CH(Ar)), 129.2 (2CH(Ar)), 132.6 (C(Ar)), 139.3 (C(Ar)), 161.2 ( $C_{isx}$ ), 171.4 ( $C_{isx}$ ), 179.6 (C-O), 182.5 (C=O). HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{13}H_{11}ClNO_3^+$  [ $M + H$ ] $^+$ : 264.0422. Найдено: 264.0427.

*(2Z)*-3-Гидрокси-3-(5-метилизоксазол-3-ил)-1-фенилпроп-2-ен-1-он (**20ah**)



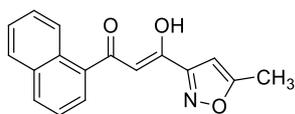
Розовые кристаллы; выход: 88 % (202 мг);  $T_{пл}$ : 95–97 °C;  $R_f = 0.35$  (ПЭ–ЭА, 7:1).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.51 (д,  $^4J = 0.9$  Гц, 3H,  $CH_3$ ), 6.47 (д,  $^4J = 0.9$  Гц, 1H,  $CH_{isx}$ ), 7.07 (с, 1H,  $CH=$ ), 7.46–7.52 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.54–7.62 (м, 1H, CH(Ar)), 7.97–8.01 (м, 2H, 2CH(Ar)), 15.86 (уш. с, 1H, OH);  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  12.0 ( $CH_3$ ), 94.4 ( $CH=$ ), 100.1 ( $CH_{isx}$ ), 126.9 (2CH(Ar)), 128.4 (2CH(Ar)), 132.5 (CH(Ar)), 133.7 (C(Ar)), 160.9 ( $C_{isx}$ ), 170.8 ( $C_{isx}$ ), 179.0 (C-O), 183.4 (C=O). HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{13}H_{12}NO_3^+$  [ $M + H$ ] $^+$ : 230.0812. Найдено: 230.0817.

*(2Z)*-1-Бифенил-4-ил-3-гидрокси-3-(5-метилизоксазол-3-ил)проп-2-ен-1-он (**20ai**)



Желтые кристаллы; выход: 90 % (275 мг);  $T_{пл}$ : 156–158 °C;  $R_f = 0.40$  (ПЭ–ЭА, 6:1).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.52 (д,  $^4J = 0.7$  Гц, 3H,  $CH_3$ ), 6.48 (уш. кв,  $^4J = 0.7$  Гц, 1H, CH), 7.11 (с, 1H,  $CH=$ ), 7.38–7.44 (м, 1H, CH(Ar)), 7.45–7.51 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.62–7.67 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.69–7.73 (м, 2H, 2CH(Ar)), 8.04–8.09 (м, 2H, 2CH(Ar)), 15.91 (уш. с, 1H, OH);  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  12.5 ( $CH_3$ ), 94.9 ( $CH=$ ), 100.7 ( $CH_{isx}$ ), 127.4 (2CH(Ar)), 127.5 (2CH(Ar)), 128.0 (2CH(Ar)), 128.4 (CH(Ar)), 129.1 (2CH(Ar)), 133.0 (C(Ar)), 139.9 (C(Ar)), 145.8 (C(Ar)), 161.4 ( $C_{isx}$ ), 171.3 ( $C_{isx}$ ), 179.5 (C-O), 183.5 (C=O). HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{19}H_{16}NO_3^+$  [ $M + H$ ] $^+$ : 306.1125. Найдено: 306.1122.

*(2Z)*-3-Гидрокси-3-(5-метилизоксазол-3-ил)-1-(1-нафтил)проп-2-ен-1-он (**20aj**)

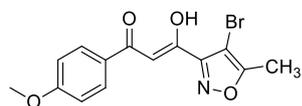


Светло-коричневые кристаллы; выход: 82 % (229 мг);  $T_{пл}$ : 52–54 °C;  $R_f = 0.38$  (ПЭ–ЭА, 6:1).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.51 (д,  $^4J = 0.8$  Гц, 3H,  $CH_3$ ), 6.49 (уш. кв,  $^4J = 0.8$  Гц, 1H,  $CH_{isx}$ ), 6.95 (с, 1H,  $CH=$ ), 7.49–7.63 (м, 3H, 3CH(Ar)), 7.84–7.93 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.97–8.03 (м, 1H, CH(Ar)), 8.53–8.58 (м, 1H, CH(Ar)), 15.91 (уш. с, 1H, OH);  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  12.4 ( $CH_3$ ), 99.8 ( $CH=$ ), 100.6 ( $CH_{isx}$ ), 124.8 (CH(Ar)), 125.6 (CH(Ar)), 126.5 (CH(Ar)), 127.6

(CH(Ar)), 128.0 (CH(Ar)), 128.7 (CH(Ar)), 130.2 (C(Ar)), 132.6 (CH(Ar)), 133.4 (C(Ar)), 133.9 (C(Ar)), 160.9 (C<sub>isx</sub>), 171.3 (C<sub>isx</sub>), 177.5 (C-O), 189.2 (C=O).

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>3</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 280.0968. Найдено: 280.0965.

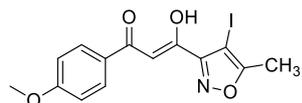
*(2Z)*-3-(4-Бром-5-метилизоксазол-3-ил)-3-гидрокси-1-(4-метоксифенил)проп-2-ен-1-он (**20ba**)



Светло-розовые кристаллы; выход: 82 % (277 мг); T<sub>пл</sub>: 105–107 °С; R<sub>f</sub> = 0.41 (ПЭ–ЭА, 5:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.51 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.89 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.96–7.00 (м, 3H, 2CH(Ar) + CH=), 7.95–7.99 (м, 2H, 2CH(Ar)), 15.95 (уш. с, 1H, OH); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 11.5 (CH<sub>3</sub>), 55.6 (CH<sub>3</sub>O), 90.4 (C<sub>isx</sub>-Br), 95.2 (CH=), 114.2 (2CH(Ar)), 126.5 (C(Ar)), 129.7 (2CH(Ar)), 157.1 (C), 163.9 (C(Ar)), 169.6 (C), 177.5 (C), 184.1 (C).

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>BrNO<sub>4</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 338.0022. Найдено: 338.0018.

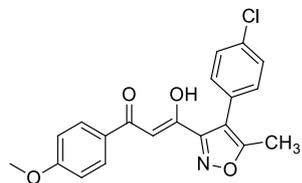
*(2Z)*-3-Гидрокси-3-(5-метил-4-йодизоксазол-3-ил)-1-(4-метоксифенил)проп-2-ен-1-он (**20ca**)



Светло-розовые кристаллы; выход: 84 % (323 мг); T<sub>пл</sub>: 136–138 °С; R<sub>f</sub> = 0.43 (ПЭ–ЭА, 4:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.56 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.88 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.91–7.01 (м, 3H, 2CH(Ar) + CH=), 7.91–7.99 (м, 2H, 2CH(Ar)), 15.90 (уш. с, 1H, OH); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 12.7 (CH<sub>3</sub>), 54.8 (C<sub>isx</sub>-I), 55.6 (CH<sub>3</sub>O), 94.9 (CH=), 114.2 (2CH(Ar)), 126.2 (C(Ar)), 129.6 (2CH(Ar)), 158.7 (C), 163.8 (C(Ar)), 173.1 (C), 178.9 (C), 183.1 (C).

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>INO<sub>4</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 385.9884. Найдено: 385.9874.

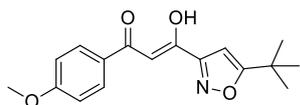
*(2Z)*-3-Гидрокси-3-[5-метил-4-(4-хлорфенил)изоксазол-3-ил]-1-(4-метоксифенил)проп-2-ен-1-он (**20da**)



Светло-желтые кристаллы; выход: 81 % (299 мг); T<sub>пл</sub>: 137–139 °С; R<sub>f</sub> = 0.25 (ПЭ–ЭА, 5:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.44 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.88 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.85 (с, 1H, CH=), 6.92–6.98 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.27–7.32 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.39–7.45 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.86–7.91 (м, 2H, 2CH(Ar)), 15.87 (уш. с, 1H, OH); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 11.5 (CH<sub>3</sub>), 56.6 (CH<sub>3</sub>O), 95.6 (CH=), 114.2 (2CH(Ar)), 115.8 (C), 126.7 (C), 128.0 (C(Ar)), 128.8 (2CH(Ar)), 129.6 (2CH(Ar)), 131.4 (2CH(Ar)), 134.3 (C), 158.1 (C), 163.8 (C), 168.3 (C), 173.6 (C), 184.2 (C).

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>ClNO<sub>4</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 370.0841. Найдено: 370.0831.

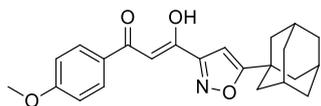
(2Z)-3-(5-трет-Бутилизоксазол-3-ил)-3-гидрокси-1-(4-метоксифенил)проп-2-ен-1-он (20ea)



Белые кристаллы; выход: 94 % (283 мг);  $T_{пл}$ : 100–102 °C;  $R_f = 0.33$  (ПЭ–ЭА, 8:1).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  1.39 (с, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 3.89 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.43 (с, 1H, CH<sub>isx</sub>), 6.96–6.99 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.00 (с, 1H, CH=), 7.95–8.00 (м, 2H, 2CH(Ar)), 16.11 (уш. с, 1H, OH);  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  28.9 (3CH<sub>3</sub>), 33.1 (C), 55.6 (CH<sub>3</sub>O), 94.1 (CH=), 97.5 (CH<sub>isx</sub>), 114.2 (2CH(Ar)), 126.9 (C(Ar)), 129.7 (2CH(Ar)), 160.9 (C<sub>isx</sub>), 163.8 (C(Ar)), 177.6 (C-O), 183.0 (C<sub>isx</sub>), 184.7 (C=O).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{17}H_{19}NO_4Na^+$   $[M + Na]^+$ : 324.1206. Найдено: 324.1207.

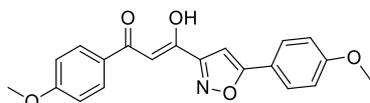
(2Z)-3-[5-(1-Адамантил)изоксазол-3-ил]-3-гидрокси-1-(4-метоксифенил)проп-2-ен-1-он (20fa)



Белые кристаллы; выход: 78 % (296 мг);  $T_{пл}$ : 130–132 °C;  $R_f = 0.31$  (ПЭ–ЭА, 10:1).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  1.74–1.85 (м, 6H, 3CH<sub>2</sub>), 1.98–2.03 (м, 6H, 3CH<sub>2</sub>), 2.07–2.13 (м, 3H, 3CH), 3.88 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.39 (с, 1H, CH<sub>isx</sub>), 6.95–6.99 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.00 (с, 1H, CH=), 7.95–8.00 (м, 2H, 2CH(Ar)), 16.12 (уш. с, 1H, OH);  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  28.1 (3CH), 35.1 (C), 36.5 (3CH<sub>2</sub>), 40.8 (3CH<sub>2</sub>), 55.6 (CH<sub>3</sub>O), 94.2 (CH=), 96.9 (CH<sub>isx</sub>), 114.2 (2CH(Ar)), 126.9 (C(Ar)), 129.7 (2CH(Ar)), 160.8 (C<sub>isx</sub>), 163.7 (C(Ar)), 177.7 (C-O), 182.9 (C<sub>isx</sub>), 184.7 (C=O).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{23}H_{26}NO_4^+$   $[M + H]^+$ : 380.1856. Найдено: 380.1849.

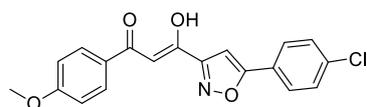
(2Z)-3-Гидрокси-1-(4-метоксифенил)-3-[5-(4-метоксифенил)изоксазол-3-ил]проп-2-ен-1-он (20ga)



Белые кристаллы; выход: 82 % (288 мг);  $T_{пл}$ : 150–152 °C;  $R_f = 0.16$  ( $CHCl_3$ ).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.87 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 3.89 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.86 (с, 1H, CH<sub>isx</sub>), 6.95–7.03 (м, 4H, 4CH(Ar)), 7.05 (с, 1H, CH=), 7.73–7.80 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.96–8.03 (м, 2H, 2CH(Ar)), 16.14 (уш. с, 1H, OH);  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  55.5 (CH<sub>3</sub>O), 55.6 (CH<sub>3</sub>O), 94.2 (CH=), 96.9 (CH<sub>isx</sub>), 114.2 (2CH(Ar)), 114.6 (2CH(Ar)), 119.8 (C(Ar)), 126.8 (C(Ar)), 127.6 (2CH(Ar)), 129.7 (2CH(Ar)), 161.6 (C(Ar)), 161.7 (C<sub>isx</sub>), 163.8 (C(Ar)), 172.5 (C<sub>isx</sub>), 177.3 (C-O), 184.7 (C=O).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{20}H_{17}NO_5^+$   $[M + H]^+$ : 352.1179. Найдено: 352.1179.

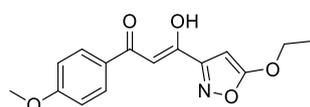
*(2Z)*-3-Гидрокси-1-(4-метоксифенил)-3-[5-(4-хлорфенил)изоксазол-3-ил]проп-2-ен-1-он (**20ha**)



Белые кристаллы; выход: 72 % (256 мг);  $T_{пл}$ : 191–193 °C;  $R_f = 0.16$  ( $CHCl_3$ ).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.89 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 6.94–7.02 (м, 3H,  $2CH(Ar) + CH$ ), 7.05 (с, 1H,  $CH=$ ), 7.44–7.51 (м, 2H,  $2CH(Ar)$ ), 7.73–7.79 (м, 2H,  $2CH(Ar)$ ), 7.96–8.03 (м, 2H,  $2CH(Ar)$ ), 16.11 (уш. с, 1H, OH);  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  55.7 ( $CH_3O$ ), 94.3 ( $CH=$ ), 98.7 ( $CH_{isx}$ ), 114.3 ( $2CH(Ar)$ ), 125.5 ( $C(Ar)$ ), 126.8 ( $C(Ar)$ ), 127.3 ( $2CH(Ar)$ ), 129.6 ( $2CH(Ar)$ ), 129.8 ( $2CH(Ar)$ ), 136.9 ( $C(Ar)$ ), 161.9 ( $C_{isx}$ ), 163.9 ( $C(Ar)$ ), 170.4 ( $C_{isx}$ ), 177.0 ( $C-O$ ), 184.9 ( $C=O$ ).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{19}H_{15}ClNO_4^+$  [ $M + H$ ] $^+$ : 356.0684. Найдено: 356.0684.

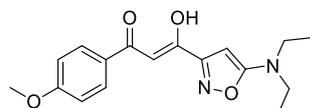
*(2Z)*-3-Гидрокси-1-(4-метоксифенил)-3-(5-этоксиизоксазол-3-ил)проп-2-ен-1-он (**20ia**)



Белые кристаллы; выход: 74 % (214 мг);  $T_{пл}$ : 116–118 °C;  $R_f = 0.17$  (ПЭ–ЭА, 5:1).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  1.49 (т,  $^3J = 7.1$  Гц, 3H,  $CH_3$ ), 3.88 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 4.31 (кв,  $^3J = 7.1$  Гц, 2H,  $CH_2O$ ), 5.68 (с, 1H,  $CH_{isx}$ ), 6.94 (с, 1H,  $CH=$ ), 6.95–6.99 (м, 2H,  $2CH(Ar)$ ), 7.94–7.99 (м, 2H,  $2CH(Ar)$ ), 16.04 (уш. с, 1H, OH);  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  14.5 ( $CH_3$ ), 56.6 ( $CH_3O$ ), 69.0 ( $CH_2O$ ), 76.5 ( $CH_{isox}$ ), 93.6 ( $CH=$ ), 114.2 ( $2CH(Ar)$ ), 126.8 ( $C(Ar)$ ), 129.7 ( $2CH(Ar)$ ), 162.8 ( $C_{isx}$ ), 163.8 ( $C(Ar)$ ), 174.5 ( $C_{isx}$ ), 177.6 ( $C-O$ ), 184.6 ( $C=O$ ).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{15}H_{16}NO_5^+$  [ $M + H$ ] $^+$ : 290.1023. Найдено: 290.1029.

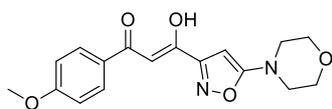
*(2Z)*-3-Гидрокси-3-[5-(диэтиламино)изоксазол-3-ил]-1-(4-метоксифенил)проп-2-ен-1-он (**20ja**)



Светло-оранжевые кристаллы; выход: 71 % (224 мг);  $T_{пл}$ : 72–74 °C;  $R_f = 0.29$  (ПЭ–ЭА, 5:1).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  1.22 (т,  $^3J = 7.2$  Гц, 6H,  $2CH_3$ ), 3.38 (кв,  $^3J = 7.2$  Гц, 4H,  $2CH_2$ ), 3.87 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 5.33 (с, 1H,  $CH_{isx}$ ), 6.90 (с, 1H,  $CH=$ ), 6.92–6.98 (м, 2H,  $2CH(Ar)$ ), 7.92–7.98 (м, 2H,  $2CH(Ar)$ ), 16.13 (уш. с, 1H, OH);  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  13.2 ( $2CH_3$ ), 44.1 ( $2CH_2$ ), 55.6 ( $CH_3O$ ), 75.0 ( $CH_{isx}$ ), 93.9 ( $CH=$ ), 114.2 ( $2CH(Ar)$ ), 127.1 ( $C(Ar)$ ), 129.6 ( $2CH(Ar)$ ), 162.2 ( $C_{isx}$ ), 163.6 ( $C(Ar)$ ), 170.9 ( $C_{isx}$ ), 178.5 ( $C-O$ ), 184.5 ( $C=O$ ).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{17}H_{21}N_2O_4^+$  [ $M + H$ ] $^+$ : 317.1496. Найдено: 317.1489.

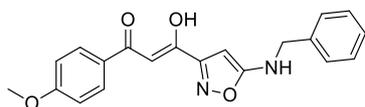
(2Z)-3-Гидрокси-1-(4-метоксифенил)-3-(5-морфолин-4-илизоксазол-3-ил)проп-2-ен-1-ол (**20ka**)



Светло-оранжевые кристаллы; выход: 72 % (238 мг);  $T_{пл}$ : 202–204 °C;  $R_f = 0.20$  ( $CH_2Cl_2$ –ЭА, 30:1).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.35–3.41 (м, 4H, 2 $CH_2$ ), 3.80–3.85 (м, 4H, 2 $CH_2$ ), 3.88 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 5.51 (с, 1H,  $CH_{isx}$ ), 6.92 (с, 1H,  $CH=$ ), 6.93–6.99 (м, 2H, 2 $CH(Ar)$ ), 7.93–7.99 (м, 2H, 2 $CH(Ar)$ ), 16.08 (уш. с, 1H, OH);  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  46.8 (2 $CH_2$ ), 55.7 ( $CH_3O$ ), 66.0 (2 $CH_2$ ), 77.6 ( $CH_{isx}$ ), 94.0 ( $CH=$ ), 114.2 (2 $CH(Ar)$ ), 127.0 (C(Ar)), 129.7 (2 $CH(Ar)$ ), 162.3 (C $_{isx}$ ), 163.8 (C(Ar)), 171.9 (C $_{isx}$ ), 177.9 (C-O), 184.7 (C=O).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{17}H_{19}N_2O_5^+$  [ $M + H$ ] $^+$ : 331.1288. Найдено: 331.1289.

(2Z)-3-[5-(Бензиламино)изоксазол-3-ил]-3-гидрокси-1-(4-метоксифенил)проп-2-ен-1-ол (**20la**)



Белые кристаллы; выход: 52 % (182 мг);  $T_{пл}$ : 121–123 °C;  $R_f = 0.36$  (ПЭ–ЭА, 2:1).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.87 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 4.40 (д,  $^3J = 5.7$  Гц, 2H,  $CH_2$ ), 5.12 (уш. т,  $^3J = 5.7$  Гц, 1H, NH), 5.47 (с, 1H,  $CH_{isx}$ ), 6.90 (с, 1H,  $CH=$ ), 6.93–6.99 (м, 2H, 2 $CH(Ar)$ ), 7.28–7.41 (м, 5H, 5 $CH(Ar)$ ), 7.91–7.98 (м, 2H, 2 $CH(Ar)$ ), 16.08 (уш. с, 1H, OH);  $^{13}C$  NMR (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  48.7 ( $CH_2NH$ ), 56.6 ( $CH_3O$ ), 76.7 ( $CH_{isx}$ ), 94.0 ( $CH=$ ), 114.2 (2 $CH(Ar)$ ), 127.0 (C(Ar)), 127.5 (2 $CH(Ar)$ ), 128.1 (CH(Ar)), 129.0 (2 $CH(Ar)$ ), 129.6 (2 $CH(Ar)$ ), 137.1 (C(Ar)), 162.2 (C $_{isx}$ ), 163.7 (C(Ar)), 170.9 (C $_{isx}$ ), 178.0 (C-O), 184.6 (C=O).

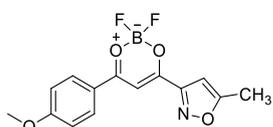
HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $C_{20}H_{19}FN_2O_4^+$  [ $M + H$ ] $^+$ : 351.1339. Найдено: 351.1341.

#### 4.1.5.3. Синтез целевых $BF_2$ -комплексов

##### Общая методика VII.

К раствору  $\beta$ -дикетона **20** (0.5 ммоль) в  $CH_2Cl_2$  (2.5 мл) в атмосфере Ar добавить  $BF_3 \cdot Et_2O$  (2 ммоль) и оставить перемешиваться при 40 °C в течение 6 часов. После завершения реакции, реакционную смесь вылить в  $CH_2Cl_2$ , промыть водой и оставить сушиться над  $MgSO_4$ . Растворитель отогнать при пониженном давлении, продукт очистить методом препаративной колоночной хроматографии.

2,2-Дифтор-4-(5-метилизоксазол-3-ил)-6-(4-метоксифенил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-иум-2-уид (**21aa**)

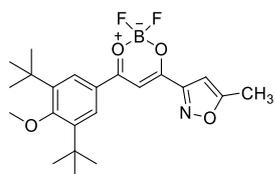


Ярко-желтые кристаллы; выход: 92 % (141 мг);  $T_{пл}$ : 205–207 °C;  $R_f = 0.39$  ( $CHCl_3$ – $CH_2Cl_2$ , 8:1).  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.55 (д,  $^4J =$

0.6 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.95 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.64 (уш. кв, <sup>4</sup>J = 0.6 Гц, 1H, CH<sub>isx</sub>), 7.02–7.07 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.38 (с, 1H, CH=), 8.17–8.22 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 12.6 (CH<sub>3</sub>), 56.1 (CH<sub>3</sub>O), 94.3 (CH=), 101.5 (CH<sub>isx</sub>), 115.1 (2CH(Ar)), 123.6 (C(Ar)), 132.7 (2CH(Ar)), 159.3 (C<sub>isx</sub>), 168.9 (C(Ar)), 172.3 (C<sub>isx</sub>), 172.5 (C-O), 184.4 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -139.14, -139.08.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>BF<sub>2</sub>NO<sub>4</sub> [M]: 308.0903. Найдено: 308.0899.

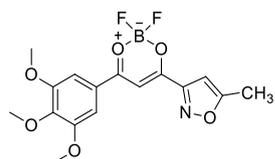
*6-(3,5-ди-трет-Бутил-4-метоксифенил)-2,2-дифтор-4-(5-метилизоксазол-3-ил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-иум-2-уид (21ab)*



Светло-коричневые кристаллы; выход: 91 % (191 мг); T<sub>пл</sub>: 172–174 °C; R<sub>f</sub> = 0.58 (CHCl<sub>3</sub>–CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 8:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.47 (с, 18H, 6CH<sub>3</sub>), 2.56 (д, <sup>4</sup>J = 0.8 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.76 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.64 (уш. кв, <sup>4</sup>J = 0.8 Гц, 1H, CH<sub>isx</sub>), 7.38 (с, 1H, CH=), 8.08 (с, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 12.6 (CH<sub>3</sub>), 31.9 (6CH<sub>3</sub>), 36.3 (2C), 64.9 (CH<sub>3</sub>O), 94.7 (CH=), 101.5 (CH<sub>isx</sub>), 125.7 (C(Ar)), 128.9 (2CH(Ar)), 145.9 (2C(Ar)), 159.3 (C<sub>isx</sub>), 168.1 (C(Ar)), 172.4 (C<sub>isx</sub>), 172.8 (C-O), 185.8 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -138.76, -138.70.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>BF<sub>2</sub>NO<sub>4</sub> [M]: 420.2156. Найдено: 420.2140.

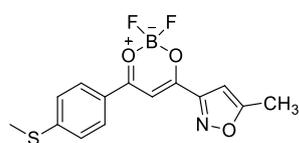
*2,2-Дифтор-4-(5-метилизоксазол-3-ил)-6-(3,4,5-триметоксифенил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-иум-2-уид (21ac)*



Оранжевые кристаллы; выход: 87 % (160 мг); T<sub>пл</sub>: 206–208 °C; R<sub>f</sub> = 0.46 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>–ЭА, 25:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.55 (д, <sup>4</sup>J = 0.8 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.96 (с, 6H, 2CH<sub>3</sub>O), 4.01 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.61 (уш. кв, <sup>4</sup>J = 0.8 Гц, 1H, CH<sub>isx</sub>), 7.37 (с, 1H, CH=), 7.39 (с, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 12.6 (CH<sub>3</sub>), 55.7 (2 CH<sub>3</sub>O), 61.4 (CH<sub>3</sub>O), 94.8 (CH=), 101.5 (CH<sub>isx</sub>), 107.3 (2CH(Ar)), 125.7 (C(Ar)), 146.2 (C(Ar)), 153.4 (2C(Ar)), 159.2 (C<sub>isx</sub>), 172.6 (C<sub>isx</sub>), 172.3 (C-O), 184.6 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -138.40, -138.34.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>BF<sub>2</sub>NO<sub>6</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 368.1112. Найдено: 368.1111.

*2,2-Дифтор-4-(5-метилизоксазол-3-ил)-6-(4-(метилтио)фенил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-иум-2-уид (21ad)*

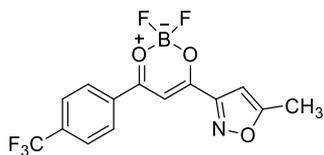


Оранжевые кристаллы; выход: 92 % (149 мг); T<sub>пл</sub>: 209–211 °C; R<sub>f</sub> = 0.35 (CHCl<sub>3</sub>–CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 2:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.55 (д, <sup>4</sup>J = 0.9 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.57 (с, 3H, CH<sub>3</sub>S), 6.62 (уш. кв, <sup>4</sup>J = 0.9 Гц, 1H, CH<sub>isx</sub>), 7.32–7.37 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.41 (с, 1H, CH=), 8.05–8.11 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR

(100 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  12.6 (CH<sub>3</sub>), 14.7 (CH<sub>3</sub>S), 94.6 (CH=), 101.5 (CH<sub>isx</sub>), 125.3 (2CH(Ar)), 126.9 (C(Ar)), 130.0 (2CH(Ar)), 152.1 (C(Ar)), 159.2 (C<sub>isx</sub>), 172.5 (C<sub>isx</sub>), 173.3 (C-O), 184.6 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  -138.69, -138.63.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>BF<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>S<sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 324.0674. Найдено: 324.0669.

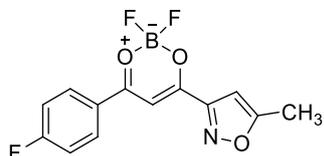
*2,2-Дифтор-4-(5-метилизоксазол-3-ил)-6-(4-(трифторметил)фенил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-иум-2-уид (21ae)*



Светло-желтые кристаллы; выход: 85 % (147 мг); T<sub>пл</sub>: 164–166 °C; R<sub>f</sub> = 0.55 (CHCl<sub>3</sub>–CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 8:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  2.57 (д, <sup>4</sup>J = 0.8 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 6.65 (уш. кв, <sup>4</sup>J = 0.8 Гц, 1H, CH), 7.52 (с, 1H, CH=), 7.81–7.87 (м, 2H, 2CH(Ar)), 8.26–8.32 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  12.5 (CH<sub>3</sub>), 95.7 (CH=), 101.5 (CH<sub>isx</sub>), 123.3 (<sup>1</sup>J<sub>CF</sub> = 273.2 Гц, CF<sub>3</sub>), 126.4 (<sup>3</sup>J<sub>CF</sub> = 3.7 Гц, 2CH(Ar)), 129.9 (2CH(Ar)), 134.5 (C(Ar)), 136.9 (<sup>2</sup>J<sub>CF</sub> = 33.2 Гц, C(Ar)), 158.8 (C<sub>isx</sub>), 173.1 (C<sub>isx</sub>), 176.6 (C-O), 184.1 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  -137.13, -137.06, -63.48.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>BF<sub>5</sub>NO<sub>3</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 346.0671. Найдено: 346.0666.

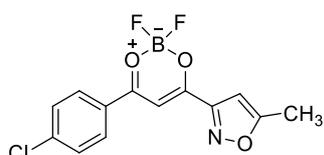
*2,2-Дифтор-4-(5-метилизоксазол-3-ил)-6-(4-фторфенил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-иум-2-уид (21af)*



Белые кристаллы; выход: 83 % (122 мг); T<sub>пл</sub>: 194–196 °C; R<sub>f</sub> = 0.39 (CHCl<sub>3</sub>–CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 8:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  2.56 (д, <sup>4</sup>J = 0.8 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 6.63 (уш. кв, <sup>4</sup>J = 0.8 Гц, 1H, CH<sub>isx</sub>), 7.23–7.31 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.44 (с, 1H, CH=), 8.20–8.28 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  12.6 (CH<sub>3</sub>), 94.8 (CH=), 101.5 (CH<sub>isx</sub>), 117.1 (<sup>3</sup>J<sub>CF</sub> = 22.8 Гц, 2CH(Ar)), 127.6 (<sup>4</sup>J<sub>CF</sub> = 2.5 Гц, C(Ar)), 129.9 (<sup>2</sup>J<sub>CF</sub> = 9.8 Гц, 2CH(Ar)), 159.0 (C<sub>isx</sub>), 167.9 (<sup>1</sup>J<sub>CF</sub> = 261.5 Гц, C(Ar)-F), 172.8 (C<sub>isx</sub>), 174.8 (C-O), 184.3 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  -138.09 (с), -138.02 (с), -98.18 (тт, <sup>3</sup>J<sub>HF</sub> = 8.2 Гц, <sup>4</sup>J<sub>HF</sub> = 5.3 Гц).

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>BF<sub>2</sub>NO<sub>3</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 296.0703. Найдено: 296.0704.

*2,2-Дифтор-4-(5-метилизоксазол-3-ил)-6-(4-хлорфенил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-иум-2-уид (21ag)*

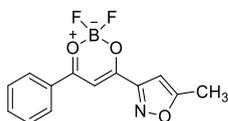


Белые кристаллы; выход: 88 % (137 мг); T<sub>пл</sub>: 178–180 °C; R<sub>f</sub> = 0.57 (CHCl<sub>3</sub>–CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 8:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  2.57 (д, <sup>4</sup>J = 0.7 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 6.64 (уш. кв, <sup>4</sup>J = 0.7 Гц, 1H, CH<sub>isx</sub>), 7.46 (с, 1H, CH=), 7.53–7.60 (м, 2H, 2CH(Ar)), 8.10–8.16 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  12.6 (CH<sub>3</sub>), 95.1 (CH=), 101.5 (CH<sub>isx</sub>), 129.7 (C(Ar)), 130.0 (2CH(Ar)), 130.9

(2CH(Ar)), 143.4 (C(Ar)), 159.0 (C<sub>isx</sub>), 172.8 (C<sub>isx</sub>), 175.2 (C-O), 184.4 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -137.80, -137.74.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>BF<sub>2</sub>ClNO<sub>3</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 312.0407. Найдено: 312.0409.

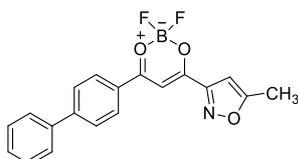
*2,2-Дифтор-4-(5-метилизоксазол-3-ил)-6-фенил-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-иум-2-уид (21ah)*



Светло-желтые кристаллы; выход: 90 % (125 мг); T<sub>пл</sub>: 172–174 °С; R<sub>f</sub> = 0.48 (CHCl<sub>3</sub>–CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 8:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.55 (д, <sup>4</sup>J = 0.8 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 6.62 (уш. кв, <sup>4</sup>J = 0.8 Гц, 1H, CH<sub>isx</sub>), 7.48 (с, 1H, CH=), 7.54–7.62 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.72–7.78 (м, 1H, CH(Ar)), 8.15–8.22 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 12.5 (CH<sub>3</sub>), 95.1 (CH=), 101.5 (CH<sub>isx</sub>), 129.5 (2CH(Ar)), 129.7 (2CH(Ar)), 131.3 (C(Ar)), 136.5 (CH(Ar)), 159.0 (C<sub>isx</sub>), 172.7 (C<sub>isx</sub>), 174.7 (C-O), 185.8 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -137.98, -137.92.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>BF<sub>2</sub>NO<sub>3</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 278.0797. Найдено: 278.0803.

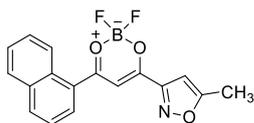
*6-([1,1'-Бифенил]-4-ил)-2,2-дифтор-4-(5-метилизоксазол-3-ил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-иум-2-уид (21ai)*



Ярко-желтые кристаллы; выход: 92 % (162 мг); T<sub>пл</sub>: 200–202 °С; R<sub>f</sub> = 0.41 (CHCl<sub>3</sub>–CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 8:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.56 (д, <sup>4</sup>J = 0.9 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 6.63 (уш. кв, <sup>4</sup>J = 0.9 Гц, 1H, CH<sub>isx</sub>), 7.42–7.54 (м, 4H, 3CH(Ar) + CH=), 7.65–7.70 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.78–7.83 (м, 2H, 2CH(Ar)), 8.24–8.29 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 12.6 (CH<sub>3</sub>), 95.1 (CH=), 101.5 (CH<sub>isx</sub>), 127.5 (2CH(Ar)), 128.0 (2CH(Ar)), 129.28 (CH(Ar)), 129.30 (2CH(Ar)), 129.9 (C(Ar)), 130.5 (2CH(Ar)), 139.0 (C(Ar)), 149.3 (C(Ar)), 159.1 (C<sub>isx</sub>), 172.6 (C<sub>isx</sub>), 174.2 (C-O), 185.2 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -138.15, -138.09.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>BF<sub>2</sub>NO<sub>3</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 354.1111. Найдено: 354.1103.

*2,2-Дифтор-4-(5-метилизоксазол-3-ил)-6-(нафталин-1-ил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-иум-2-уид (21aj)*

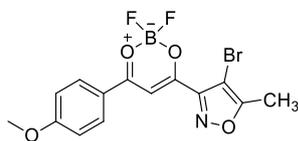


Желто-оранжевые кристаллы; выход: 93 % (152 мг); T<sub>пл</sub>: 188–190 °С; R<sub>f</sub> = 0.52 (CHCl<sub>3</sub>–CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 8:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.57 (д, <sup>4</sup>J = 0.9 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 6.67 (уш. кв, <sup>4</sup>J = 0.9 Гц, 1H, CH<sub>isx</sub>), 7.46 (с, 1H, CH=), 7.57–7.65 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.68–7.74 (м, 1H, CH(Ar)), 7.93–7.98 (м, 1H, CH(Ar)), 8.12–8.15 (м, 1H, CH(Ar)), 8.15–8.19 (м, 1H, CH(Ar)), 8.62–8.67 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 12.6 (CH<sub>3</sub>), 99.4 (CH=), 101.5 (CH<sub>isx</sub>), 124.8 (CH(Ar)), 125.4 (CH(Ar)), 127.4 (CH(Ar)), 129.3 (2CH(Ar)), 129.9 (C(Ar)), 130.5 (C(Ar)), 131.6 (CH(Ar)), 134.1 (C(Ar)),

136.5 (CH(Ar)), 159.1 (C<sub>isx</sub>), 172.7 (C<sub>isx</sub>), 174.2 (C-O), 185.8 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -137.40, -137.34.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>17</sub>H<sub>13</sub>BF<sub>2</sub>NO<sub>3</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 328.0954. Найдено: 328.0948.

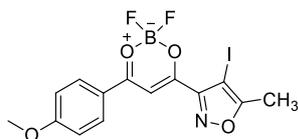
*4-(4-Бром-5-метилизоксазол-3-ил)-2,2-дифтор-6-(4-метоксифенил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-иум-2-уид (21ba)*



Желтые кристаллы; выход: 85 % (164 мг); T<sub>пл</sub>: 198–200 °C; R<sub>f</sub> = 0.37 (CHCl<sub>3</sub>–CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 3:2). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.54 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.95 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 7.01–7.08 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.34 (с, 1H, CH=), 8.15–8.22 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 11.7 (CH<sub>3</sub>), 56.1 (CH<sub>3</sub>O), 91.4 (C<sub>isx</sub>-Br), 95.5 (CH=), 115.2 (2CH(Ar)), 123.5 (C(Ar)), 132.8 (2CH(Ar)), 155.5 (C<sub>isx</sub>), 167.1 (C(Ar)), 170.9 (C<sub>isx</sub>), 171.7 (C-O), 184.7 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -138.96, -138.90.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>BrBF<sub>2</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 386.0008. Найдено: 386.0001.

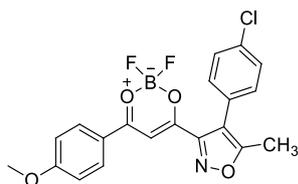
*2,2-Дифтор-4-(4-йод-5-метилизоксазол-3-ил)-6-(4-метоксифенил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-иум-2-уид (21ca)*



Желтые кристаллы; выход: 91 % (197 мг); T<sub>пл</sub>: 199–201 °C; R<sub>f</sub> = 0.40 (CHCl<sub>3</sub>–CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 3:2). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.60 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.95 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 7.01–7.07 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.35 (с, 1H, CH=), 8.15–8.22 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 12.9 (CH<sub>3</sub>), 55.6 (C<sub>isx</sub>-I), 56.1 (CH<sub>3</sub>O), 95.3 (CH=), 115.1 (2CH(Ar)), 123.6 (C(Ar)), 132.8 (2CH(Ar)), 157.2 (C<sub>isx</sub>), 167.0 (C(Ar)), 172.0 (C-O), 174.5 (C<sub>isx</sub>), 184.6 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -138.99, -138.93.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>BF<sub>2</sub>INO<sub>4</sub>Na<sup>+</sup> [M + Na]<sup>+</sup>: 455.9689. Найдено: 455.9688.

*2,2-Дифтор-4-(5-метил-4-(4-хлорфенил)изоксазол-3-ил)-6-(4-метоксифенил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-иум-2-уид (21da)*

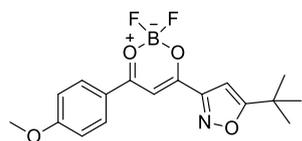


Желтые кристаллы; выход: 85 % (177 мг); T<sub>пл</sub>: 155–157 °C; R<sub>f</sub> = 0.22 (CHCl<sub>3</sub>–CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 6:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.48 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.94 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.99–7.05 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.24–7.30 (м, 3H, 2CH(Ar)) + CH=), 7.39–7.45 (м, 2H, 2CH(Ar)), 8.10–8.16 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 11.6 (CH<sub>3</sub>), 56.1 (CH<sub>3</sub>O), 95.7 (CH=), 115.1 (2CH(Ar)), 116.8 (C), 123.5 (C), 126.7 (C), 128.9 (2CH(Ar)), 131.4 (2CH(Ar)), 132.7

(2CH(Ar)), 134.7 (C), 155.9 (C<sub>isx</sub>), 166.9 (C), 169.6 (C<sub>isx</sub>), 173.3 (C-O), 184.3 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -139.79, -139.72.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>BF<sub>2</sub>ClNO<sub>4</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 418.0827. Найдено: 418.0820.

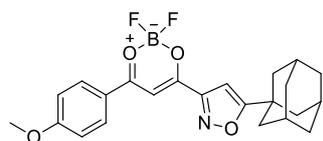
4-(5-(*трет-Бутил*)изоксазол-3-ил)-2,2-дифтор-6-(4-метоксифенил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-ум-2-уид (**21ea**)



Ярко-желтые кристаллы; выход: 96 % (167 мг); T<sub>пл</sub>: 189–191 °C; R<sub>f</sub> = 0.32 (CHCl<sub>3</sub>–CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 12:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.40 (с, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 3.94 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.58 (с, 1H, CH<sub>isx</sub>), 7.01–7.06 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.37 (с, 1H, CH=), 8.15–8.21 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 28.8 (3CH<sub>3</sub>), 33.2 (C), 56.0 (CH<sub>3</sub>O), 94.2 (CH=), 98.4 (CH<sub>isx</sub>), 115.1 (2CH(Ar)), 123.6 (C(Ar)), 132.7 (2CH(Ar)), 158.8 (C<sub>isx</sub>), 166.9 (C(Ar)), 172.3 (C-O), 184.2 (C<sub>isx</sub>), 184.3 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -139.06, -138.99.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>BF<sub>2</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 350.1373. Найдено: 350.1362.

4-(5-((3*r*,5*r*,7*r*)-Адамантан-1-ил)изоксазол-3-ил)-2,2-дифтор-6-(4-метоксифенил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-ум-2-уид (**21fa**)



Светло-желтые кристаллы; выход: 88 % (188 мг); T<sub>пл</sub>: 282–284 °C; R<sub>f</sub> = 0.40 (CHCl<sub>3</sub>–CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 12:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.74–1.86 (м, 6H, 3CH<sub>2</sub>), 1.97–2.04 (м, 6H, 3CH<sub>2</sub>), 2.08–2.15 (м, 3H, 3CH), 3.95 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.55 (с, 1H, CH<sub>isx</sub>), 7.01–7.07 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.38 (с, 1H, CH=), 8.16–8.22 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 28.0 (3CH), 35.2 (C), 36.4 (3CH<sub>2</sub>), 40.8 (3CH<sub>2</sub>), 56.1 (CH<sub>3</sub>O), 94.2 (CH=), 98.0 (CH<sub>isx</sub>), 115.1 (2CH(Ar)), 123.7 (C(Ar)), 132.7 (2CH(Ar)), 158.8 (C<sub>isx</sub>), 166.8 (C(Ar)), 172.8 (C-O), 184.0 (C<sub>isx</sub>), 184.3 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -139.17, -139.11.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>BF<sub>2</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 428.1843. Найдено: 428.1833.

2,2-Дифтор-6-(4-метоксифенил)-4-(5-(4-метоксифенил)изоксазол-3-ил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-ум-2-уид (**21ga**)

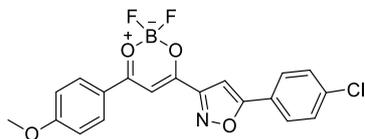


Желтые кристаллы; выход: 89 % (178 мг); T<sub>пл</sub>: 232–234 °C; R<sub>f</sub> = 0.29 (CHCl<sub>3</sub>–CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 1:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.88 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 3.96 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 7.00 (с, 1H, CH<sub>isx</sub>), 7.01–7.04 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.04–7.08 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.43 (с, 1H, CH=), 7.75–7.80 (м, 2H, 2CH(Ar)), 8.20–8.25 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 55.6 (CH<sub>3</sub>O), 56.1 (CH<sub>3</sub>O), 94.4 (CH=), 97.6 (CH<sub>isx</sub>), 114.8 (2CH(Ar)), 115.1 (2CH(Ar)), 119.2 (C(Ar)), 123.6 (C(Ar)), 127.8

(2CH(Ar)), 132.8 (2CH(Ar)), 159.9 (C<sub>isx</sub>), 161.9 (C(Ar)), 166.9 (C(Ar)), 172.3 (C-O), 172.7 (C<sub>isx</sub>), 184.5 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -139.02, -138.96.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>BF<sub>2</sub>NO<sub>5</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 400.1166. Найдено: 400.1157.

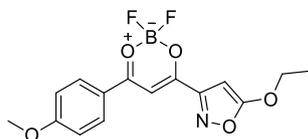
*2,2-Дифтор-6-(4-метоксифенил)-4-(5-(4-хлорфенил)изоксазол-3-ил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-иум-2-уид (21ha)*



Желтые кристаллы; выход: 87 % (176 мг); T<sub>пл</sub>: 246–248 °C; R<sub>f</sub> = 0.35 (CHCl<sub>3</sub>–CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 6:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.96 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 7.03–7.09 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.12 (с, 1H, CH<sub>isx</sub>), 7.44 (с, 1H, CH=), 7.48–7.53 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.75–7.80 (м, 2H, 2CH(Ar)), 8.19–8.25 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 56.1 (CH<sub>3</sub>O), 94.5 (CH=), 99.3 (CH<sub>isx</sub>), 115.2 (2CH(Ar)), 123.9 (C(Ar)), 124.9 (C(Ar)), 127.4 (2CH(Ar)), 129.8 (2CH(Ar)), 132.9 (2CH(Ar)), 137.5 (C(Ar)-Cl), 159.9 (C<sub>isx</sub>), 167.1 (C(Ar)), 171.5 (C-O), 171.7 (C<sub>isx</sub>), 184.7 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -138.99, -138.93.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>BF<sub>2</sub>ClNO<sub>4</sub>Na<sup>+</sup> [M + Na]<sup>+</sup>: 426.0490. Найдено: 426.0481.

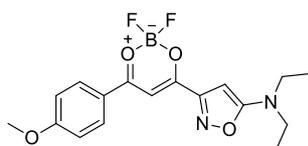
*2,2-Дифтор-6-(4-метоксифенил)-4-(5-этоксиизоксазол-3-ил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-иум-2-уид (21ia)*



Желтые кристаллы; выход: 86 % (145 мг); T<sub>пл</sub>: 186–188 °C; R<sub>f</sub> = 0.20 (CHCl<sub>3</sub>–CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 8:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.51 (т, <sup>3</sup>J = 7.1 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.94 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 4.34 (кв, <sup>3</sup>J = 7.1 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.82 (с, 1H, CH<sub>isx</sub>), 7.00–7.07 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.31 (с, 1H, CH=), 8.14–8.22 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 14.5 (CH<sub>3</sub>), 56.1 (CH<sub>3</sub>O), 69.5 (CH<sub>2</sub>), 77.5 (CH<sub>isx</sub>), 93.8 (CH=), 115.1 (2CH(Ar)), 123.6 (C(Ar)), 132.8 (2CH(Ar)), 160.5 (C<sub>isx</sub>), 167.0 (C(Ar)), 172.3 (C<sub>isx</sub>), 175.1 (C-O), 184.3 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -139.00, -138.94.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>BF<sub>2</sub>NO<sub>5</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 338.1009. Найдено: 338.1012.

*2,2-Дифтор-4-(5-(диэтиламино)изоксазол-3-ил)-6-(4-метоксифенил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-иум-2-уид (21ja)*



Красные кристаллы; выход: 84 % (153 мг); T<sub>пл</sub>: 143–145 °C; R<sub>f</sub> = 0.41 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.24 (т, <sup>3</sup>J = 7.2 Гц, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 3.41 (кв, <sup>3</sup>J = 7.2 Гц, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 3.94 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 5.49 (с, 1H, CH<sub>isx</sub>), 7.00–7.05 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.28 (с, 1H, CH=), 8.14–8.20 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 13.1 (CH<sub>3</sub>), 44.2 (CH<sub>2</sub>), 56.0 (CH<sub>3</sub>O), 75.8 (CH<sub>isx</sub>), 93.9 (CH=),

114.9 (2CH(Ar)), 123.7 (C(Ar)), 132.4 (2CH(Ar)), 159.8 (C<sub>isx</sub>), 166.6 (C(Ar)), 171.1 (C<sub>isx</sub>), 173.8 (C-O), 183.8 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -139.18, -139.12.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 365.1482. Найдено: 365.1479.

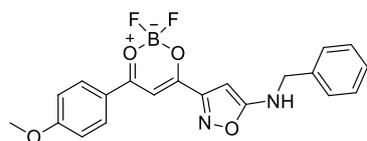
*2,2-Дифтор-6-(4-метоксифенил)-4-(5-морфолинизоксазол-3-ил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-иум-2-уид (21ka)*



Оранжевые кристаллы; выход: 85 % (161 мг); T<sub>пл</sub>: 231–233 °C; R<sub>f</sub> = 0.25 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>–ЭА, 30:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.38–3.44 (м, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 3.81–3.86 (м, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 3.94 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 5.65 (с, 1H, CH<sub>isx</sub>), 7.00–7.07 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.29 (с, 1H, CH=), 8.14–8.21 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 46.7 (2CH<sub>2</sub>), 56.0 (CH<sub>3</sub>O), 65.9 (2CH<sub>2</sub>), 78.3 (CH<sub>isx</sub>), 94.0 (CH=), 115.0 (2CH(Ar)), 123.7 (C(Ar)), 132.6 (2CH(Ar)), 160.0 (C<sub>isx</sub>), 166.7 (C(Ar)), 172.3 (C<sub>isx</sub>), 173.0 (C-O), 184.1 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -139.09, -139.03.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 379.1274. Найдено: 379.1274.

*4-(5-(Бензиламино)изоксазол-3-ил)-2,2-Дифтор-6-(4-метоксифенил)-2H-1,3,2-диоксаборинин-1-иум-2-уид (21la)*



Оранжевые кристаллы; выход: 72 % (143 мг); T<sub>пл</sub>: 148–150 °C; R<sub>f</sub> = 0.40 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>–ЭА, 60:1). <sup>1</sup>H NMR (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.93 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 4.42 (д, <sup>3</sup>J = 6.0 Гц, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.34 (уш. т, <sup>3</sup>J = 6.0 Гц, 1H, NH), 5.60 (с, 1H, CH<sub>isx</sub>), 6.99–7.04 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.27 (с, 1H, CH=), 7.30–7.41 (м, 5H, 5CH(Ar)), 8.12–8.18 (м, 2H, 2CH(Ar)); <sup>13</sup>C NMR (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 48.6 (CH<sub>2</sub>), 56.0 (CH<sub>3</sub>O), 77.5 (CH<sub>isx</sub>), 94.0 (CH=), 115.0 (2CH(Ar)), 123.7 (C(Ar)), 127.5 (2CH(Ar)), 128.3 (CH(Ar)), 129.1 (2CH(Ar)), 132.6 (2CH(Ar)), 136.8 (C(Ar)), 159.9 (C<sub>isx</sub>), 168.7 (C(Ar)), 171.4 (C<sub>isx</sub>), 173.1 (C-O), 184.0 (C=O). <sup>19</sup>F NMR (376 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ -138.95, -138.88.

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 399.1326. Найдено: 399.1325.

#### 4.1.6. Синтез N-ацил-4-аминоизоксазолов

Хлорангидриды карбоновых кислот были получены по известной в литературе методике [230] и сразу были введены в реакцию ацилирования (методика IX).

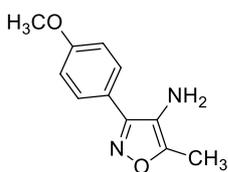
##### 4.1.6.1. Синтез 4-аминоизоксазолов 22b-m

#### Общая методика VIII

К раствору 4-нитроизоксазола (2 ммоль) в смеси ТГФ (16 мл) – H<sub>2</sub>O (16 мл) добавили Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (2.09 мг, 12 ммоль). Смесь перемешивали при 90 °C в течение 1 часа, после чего охладили до комнатной температуры. Далее в смесь добавили H<sub>2</sub>O (16 мл) и

конц. HCl (7.4 мл), нагрели до 60 °С и перемешивали 15 минут, после чего охладили и нейтрализовали NaHCO<sub>3</sub> до pH 7–8. Реакционную смесь вылили в воду и экстрагировали CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4×20 мл). Объединенные органические слои промыли насыщенным раствором NaCl и сушили над MgSO<sub>4</sub>. Растворитель отогнали при пониженном давлении, продукт получили в химически чистом виде без дополнительной очистки.

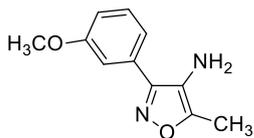
**5-Метил-3-(4-Метоксифенил)-изоксазол-4-амин (22b)**



Желтые кристаллы; выход: 92% (375 мг);  $T_{пл} = 78$  °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  2.33 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.75 (уш. с, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.83 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.95–7.00 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.67–7.72 (м, 2H, 2CH(Ar)). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  10.5 (CH<sub>3</sub>), 55.4 (CH<sub>3</sub>O), 114.5 (2CH(Ar)), 120.3 (CNH<sub>2</sub>), 121.7 (C(Ar)), 129.0 (2CH(Ar)), 154.9 (C), 156.5 (C), 160.6 (C).

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 205.0972. Найдено: 205.0977.

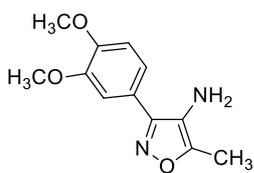
**5-Метил-3-(3-метоксифенил)изоксазол-4-амин (22c)**



Желтое масло; выход: 90% (367 мг). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  2.35 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.84 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.96–7.01 (м, 1H, CH(Ar)), 7.28–7.32 (м, 1H, CH(Ar)), 7.32–7.35 (м, 1H, CH(Ar)), 7.35–7.41 (м, 1H, CH(Ar)). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  10.5 (CH<sub>3</sub>), 55.5 (CH<sub>3</sub>O), 112.8 (CH(Ar)), 115.7 (CH(Ar)), 119.9 (CH(Ar)), 120.5 (CNH<sub>2</sub>), 130.2 (CH(Ar)), 130.5 (C(Ar)), 155.0 (C), 156.6 (C), 160.0 (C).

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> [M + H]<sup>+</sup>: 205.0972. Найдено: 205.0975.

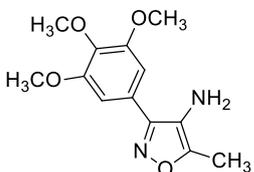
**3-(3,4-Диметоксифенил)-5-метилизоксазол-4-амин (22d)**



Оранжевые кристаллы; выход: 92% (430 мг);  $T_{пл} = 148$  °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  2.35 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.78 (уш. с, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.92 (с, 6H, 2CH<sub>3</sub>O), 6.95 (д, <sup>3</sup>J = 8.1 Гц, 1H, CH(Ar)), 7.31–7.37 (м, 2H, 2CH(Ar)). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  10.5 (CH<sub>3</sub>), 56.05 (CH<sub>3</sub>O), 56.11 (CH<sub>3</sub>O), 110.6 (CH(Ar)), 111.3 (CH(Ar)), 120.23 (CH(Ar)), 120.36 (CNH<sub>2</sub>), 122.0 (C(Ar)), 149.4 (C), 150.2 (C), 154.8 (C), 156.5 (C).

HRMS (ESI) m/z рассчитано для C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Na<sup>+</sup> [M + Na]<sup>+</sup>: 257.0897. Найдено: 257.0899.

**5-Метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-амин (22e)**

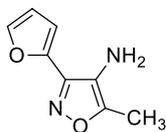


Оранжевые кристаллы; выход: 90% (475 мг);  $T_{пл} = 154$  °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  2.35 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.86 (уш. с, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.86 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 3.87 (с, 6H, 2CH<sub>3</sub>O), 7.00 (с, 2H, 2CH(Ar)). Спектр

ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  10.5 ( $\text{CH}_3$ ), 56.4 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 61.0 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 104.8 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 120.4 ( $\text{CNH}_2$ ), 124.7 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 139.1 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 153.8 ( $2\text{C}(\text{Ar})$ ), 154.8 ( $\text{C}$ ), 156.5 ( $\text{C}$ ).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_4^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 265.1183. Найдено: 265.1187.

#### 5-Метил-3-(фуран-2-ил)изоксазол-4-амин (**22m**)



Желтые кристаллы; выход: 60% (197 мг);  $T_{\text{пл}} = 92$  °С. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.35 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.00 (уш. с, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 6.54 (дд,  $^3J = 3.4$  Гц,  $^3J = 1.8$  Гц, 1H, CH), 6.94 (д,  $^3J = 3.4$  Гц, 1H, CH), 7.57 (д,  $^3J = 1.8$  Гц, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  10.3 ( $\text{CH}_3$ ), 109.8 (CH), 111.7 (CH), 120.3 ( $\text{CNH}_2$ ), 143.5 (CH), 145.0 (C), 148.8 (C), 154.6 (C).

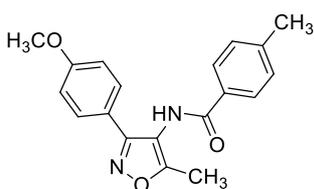
HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_8\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_2^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 165.0659. Найдено: 165.0662.

#### 4.1.6.2. Синтез 4-ациламиноизоксазолов **23ba-m**

##### Общая методика IX

К раствору 4-аминоизоксазола (0.4 ммоль) и пиридина (0.072 мл, 0.8 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2.5 мл) добавили  $\text{RCOCl}$  (0.6 ммоль) в 0.5 мл  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 дней. Реакционную смесь вылили в воду, нейтрализовали раствором  $\text{NaHCO}_3$  до pH 7–8 и экстрагировали  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4×20 мл). Объединенные органические слои промыли насыщенным раствором  $\text{NaCl}$  и сушили над  $\text{MgSO}_4$ . Растворитель отогнали при пониженном давлении, продукт получили в химически чистом виде без дополнительной очистки.

#### *N*-(5-Метил-3-(4-Метоксифенил)изоксазол-4-ил)-4-метилбензамид (**23ba**)



Бесцветные кристаллы; выход: 78% (126 мг);  $T_{\text{пл}} = 144$  °С;  $R_f = 0.32$  (ПЭ–ЭА, 2:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.39 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.42 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.80 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.88–6.93 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.24–7.29 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.40 (уш. с, 1H, NH), 7.56–7.61 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.73–7.78 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.8 ( $\text{CH}_3$ ), 21.7 ( $\text{CH}_3$ ), 55.4 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 112.1 (CNH), 114.5 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 120.6 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 127.5 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 129.0 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 129.7 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 130.5 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 143.1 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 158.9 (C), 161.0 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 166.1 (C), 166.4 (C=O).

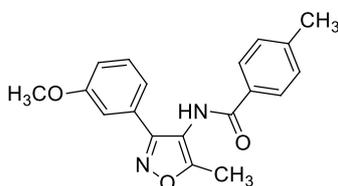
HRMS-(ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 323.1390. Найдено: 323.1387.

*N*-(5-Метил-3-(4-метоксифенил)изоксазол-4-ил)-3-метилбензамид (**23bb**)



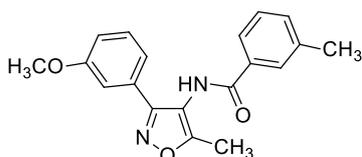
Бесцветные кристаллы; выход: 80% (129 мг);  $T_{пл} = 142\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.18$  (ПЭ–ЭА, 3:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.38 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.40 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.80 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.87–6.92 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.29–7.41 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.47 (уш. с, 1H, NH), 7.55–7.63 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.61–7.65 (м, 1H, CH(Ar)), 7.67–7.71 (м, 1H, CH(Ar)). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.8 ( $\text{CH}_3$ ), 21.5 ( $\text{CH}_3$ ), 55.4 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 112.1 (CNH), 114.5 (2CH(Ar)), 120.6 (C(Ar)), 124.3 (CH(Ar)), 128.3 (CH(Ar)), 128.9 (CH(Ar)), 129.1 (2CH(Ar)), 133.25 (CH(Ar)), 133.30 (C(Ar)), 139.0 (C(Ar)), 158.9 (C), 161.0 (C(Ar)), 166.1 (C), 166.8 (C=O). HRMS-(ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 323.1390. Найдено: 323.1388.

*N*-(5-Метил-3-(3-метоксифенил)изоксазол-4-ил)-4-метилбензамид (**23ca**)



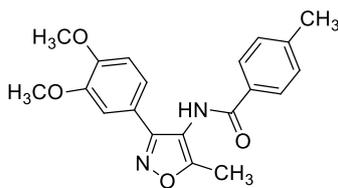
Бесцветные кристаллы; выход: 62% (80 мг);  $T_{пл} = 122\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.20$  (ПЭ–ЭА, 3:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.27 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.38 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.67 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.91 (ддд,  $^3J = 8.2$  Гц,  $^4J = 1.3$  Гц,  $^4J = 2.4$  Гц, 1H, CH(Ar)), 7.12–7.26 (м, 5H, 5CH(Ar)), 7.67–7.71 (м, 2H, CH(Ar)), 7.95 (уш. с, 1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.5 ( $\text{CH}_3$ ), 21.6 ( $\text{CH}_3$ ), 55.2 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 112.36 (CNH), 112.43 (CH(Ar)), 116.2 (CH(Ar)), 119.8 (CH(Ar)), 127.5 (2CH(Ar)), 129.39 (C(Ar)), 129.46 (2CH(Ar)), 129.9 (CH(Ar)), 130.2 (C(Ar)), 143.0 (C(Ar)), 159.2 (C), 159.8 (C(Ar)), 166.4 (C), 166.8 (C=O). HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 323.1390. Найдено: 323.1388.

*N*-(5-Метил-3-(3-метоксифенил)изоксазол-4-ил)-3-метилбензамид (**23cb**)



Бесцветные кристаллы; выход: 62% (80 мг);  $T_{пл} = 110\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.17$  (ПЭ–ЭА, 3:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.32 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.33 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.66 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.85–6.91 (м, 1H, CH(Ar)), 7.09–7.15 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.16–7.36 (м, 4H, 4CH(Ar)), 7.50–7.57 (м, 1H, CH(Ar)), 7.60 (уш. с, 1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.9 ( $\text{CH}_3$ ), 21.5 ( $\text{CH}_3$ ), 55.4 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 112.3 (CNH), 112.6 (CH(Ar)), 116.4 (CH(Ar)), 120.0 (CH(Ar)), 124.3 (CH(Ar)), 128.2 (CH(Ar)), 128.9 (CH(Ar)), 129.5 (C(Ar)), 130.1 (CH(Ar)), 133.3 (CH(Ar)), 139.0 (C(Ar)), 159.2 (C), 160.0 (2C(Ar)), 166.3 (C), 166.7 (C=O). HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 323.1390. Найдено: 323.1384.

*N*-(3-(3,4-Диметоксифенил)-5-метилизоксазол-4-ил)-4-метилбензамид (**23da**)



Бесцветные кристаллы; выход: 54% (78 мг);  $T_{пл} = 188\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.21$  (ПЭ–ЭА, 2:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.41 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.42 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.76 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.86 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.84 (д,  $^3J = 8.1$  Гц, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.17–7.23 (м, 2H, 2 $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.24–7.29 (м, 2H, 2 $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.40 (уш. с, 1H, NH), 7.74–7.79 (м, 2H, 2 $\text{CH}(\text{Ar})$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.8 ( $\text{CH}_3$ ), 21.7 ( $\text{CH}_3$ ), 55.94 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 56.00 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 110.6 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 111.3 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 112.1 (CNH), 120.4 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 120.8 (C(Ar)), 127.4 (2 $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 129.7 (2 $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 130.4 (C(Ar)), 143.2 (C(Ar)), 149.3 (C(Ar)), 150.5 (C(Ar)), 159.0 (C), 166.3 (C) 166.5 (C=O).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 353.1496. Найдено: 353.1491.

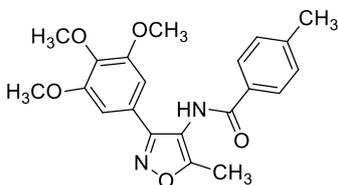
*N*-(3-(3,4-Диметоксифенил)-5-метилизоксазол-4-ил)-3-метилбензамид (**23db**)



Бесцветные кристаллы; выход: 66% (93 мг);  $T_{пл} = 108\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.21$  (ПЭ–ЭА, 2:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.40 (с, 6H, 2 $\text{CH}_3$ ), 3.76 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.86 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.84 (д,  $^3J = 8.2$  Гц, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.17–7.23 (м, 2H, 2 $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.31–7.41 (м, 2H, 2 $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.47 (уш. с, 1H, NH), 7.62–7.67 (м, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.69–7.73 (м, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.8 ( $\text{CH}_3$ ), 21.5 ( $\text{CH}_3$ ), 55.91 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 55.99 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 110.5 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 111.3 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 112.1 (CNH), 120.4 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 120.8 (C(Ar)), 124.3 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 128.2 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 128.9 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 133.23 (C(Ar)), 133.31 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 139.0 (C(Ar)), 149.3 (C(Ar)), 150.5 (C(Ar)), 159.0 (C), 166.3 (C), 166.8 (C=O).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 353.1496. Найдено: 353.1490.

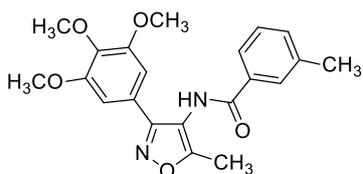
4-Метил-*N*-(5-метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил)бензамид (**23ea**)



Бесцветные кристаллы; выход: 70% (107 мг);  $T_{пл} = 190\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.18$  (ПЭ–ЭА, 2:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.43 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.44 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.72 (с, 6H, 2 $\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.84 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.89 (с, 2H, 2 $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.27 (д,  $^3J = 8.0$  Гц, 2H, 2 $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.34 (уш. с, 1H, NH), 7.79 (д,  $^3J = 8.0$  Гц, 2H, 2 $\text{CH}(\text{Ar})$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.7 ( $\text{CH}_3$ ), 21.7 ( $\text{CH}_3$ ), 56.1 (2 $\text{CH}_3\text{O}$ ), 61.0 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 104.8 (2 $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 112.2 (CNH), 123.6 (C(Ar)), 127.4 (2 $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 129.7 (2 $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 130.3 (C(Ar)), 139.3 (C(Ar)), 143.4 (C(Ar)), 153.6 (2C(Ar)), 159.2 (C), 166.59 (C), 166.66 (C=O).

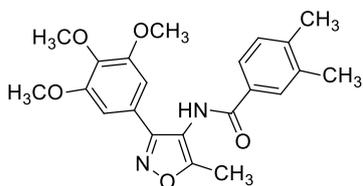
HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5\text{K}^+$  [ $\text{M} + \text{K}$ ] $^+$ : 421.1160. Найдено: 421.1155.

*3-Метил-N-(5-метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил)бензамид (23eb)*



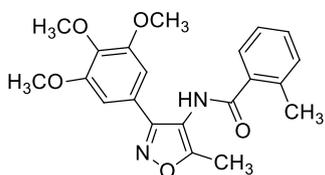
Бесцветные кристаллы; выход: 70% (107 мг);  $T_{пл} = 152\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.18$  (ПЭ–ЭА, 2:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.41 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.43 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.70 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.83 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.87 (с, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.32–7.42 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.47 (уш. с, 1H, NH), 7.65–7.70 (м, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.71–7.74 (м, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.7 ( $\text{CH}_3$ ), 21.5 ( $\text{CH}_3$ ), 56.1 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 61.0 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 104.8 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 112.2 (CNH), 123.6 (C(Ar)), 124.3 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 128.1 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 128.9 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 133.1 (C(Ar)), 133.4 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 139.1 (C(Ar)), 139.3 (C(Ar)), 153.6 ( $2\text{C}(\text{Ar})$ ), 159.1 (C), 166.6 (C), 167.0 (C(O)). HRMS-(ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5^+$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 383.1601. Найдено: 383.1594.

*3,4-Диметил-N-(5-метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил)бензамид (23ec)*



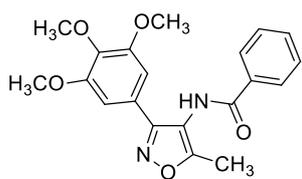
Бесцветные кристаллы; выход: 62% (98 мг);  $T_{пл} = 154\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.20$  (ПЭ–ЭА, 2:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.30 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.32 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.39 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.69 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.82 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.87 (с, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.20 (д,  $^3J = 7.8$  Гц, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.52 (уш. с, 1H, NH), 7.61 (дд,  $^3J = 7.8$  Гц,  $^4J = 1.8$  Гц, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.67–7.71 (м, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.6 ( $\text{CH}_3$ ), 19.86 ( $\text{CH}_3$ ), 20.03 ( $\text{CH}_3$ ), 56.0 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 61.0 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 104.8 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 112.2 (CNH), 123.6 (C(Ar)), 124.7 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 128.7 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 130.1 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 130.6 (C(Ar)), 137.5 (C(Ar)), 139.2 (C(Ar)), 142.0 (C(Ar)), 153.6 ( $2\text{C}(\text{Ar})$ ), 159.1 (C), 166.6 (C), 166.9 (C=O). HRMS-(ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5^+$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 397.1758. Найдено: 397.1759.

*2-Метил-N-(5-метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил)бензамид (23ed)*



Бесцветные кристаллы; выход: 68% (104 мг);  $T_{пл} = 166\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.15$  (ПЭ–ЭА, 3:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.43 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.47 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.73 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.76 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.84 (с, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.17–7.24 (м, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.25–7.29 (м, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.30 (уш. с, 1H, NH), 7.34–7.40 (м, H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.44–7.48 (м, H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.8 ( $\text{CH}_3$ ), 20.1 ( $\text{CH}_3$ ), 56.1 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 60.9 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 105.0 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 112.1 (CNH), 123.5 (C(Ar)), 126.0 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 126.8 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 131.0 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 131.6 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 134.9 (C(Ar)), 136.9 (C(Ar)), 139.3 (C(Ar)), 153.5 ( $2\text{C}(\text{Ar})$ ), 159.2 (C), 166.3 (C), 169.1 (C=O). HRMS-(ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5^+$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 383.1601. Найдено: 383.1597.

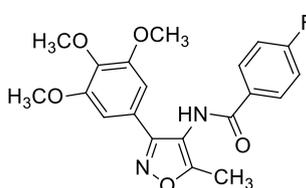
*N*-(5-Метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил)бензамид (**23ee**)



Бесцветные кристаллы; выход: 72% (106 мг);  $T_{\text{пл}} = 150\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.13$  (ПЭ–ЭА, 2:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.38 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.66 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.81 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.85 (с, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.42–7.50 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.53–7.61 (м, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.69 (уш. с, 1H, NH), 7.87–7.92 (м, 2H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.4 ( $\text{CH}_3$ ), 55.9 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 60.8 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 104.5 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 112.0 (CNH), 123.4 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 127.2 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 128.9 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 132.5 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 132.9 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 139.0 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 153.4 ( $2\text{C}(\text{Ar})$ ), 158.8 (C), 166.5 (C), 166.7 (C=O).

HRMS-(ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5^+$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 369.1445. Найдено: 369.1439.

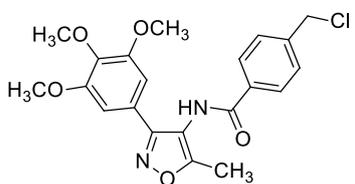
*N*-(5-Метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил)-4-фторбензамид (**23ef**)



Бесцветные кристаллы; выход: 70% (108 мг);  $T_{\text{пл}} = 178\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.15$  (ПЭ–ЭА, 2:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.38 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.65 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.81 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.81 (с, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.10–7.17 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.72 (уш. с, 1H, NH), 7.90–7.97 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.6 ( $\text{CH}_3$ ), 56.0 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 61.0 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 104.7 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 112.1 (CNH), 116.1 (д,  $^2J_{\text{CF}} = 21.8$  Гц,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 123.6 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 129.3 (д,  $^4J_{\text{CF}} = 2.7$  Гц,  $\text{C}(\text{Ar})$ ), 129.9 (д,  $^3J_{\text{CF}} = 8.8$  Гц,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 139.2 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 153.5 ( $2\text{C}(\text{Ar})$ ), 159.0 (C), 165.4 (д,  $^1J_{\text{CF}} = 253.4$  Гц,  $\text{C}(\text{Ar})$ ), 165.8 (C), 166.7 (C=O). Спектр ЯМР  $^{19}\text{F}$  (376 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  -106.05.

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{FN}_2\text{O}_5^+$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 387.1351. Найдено: 387.1346.

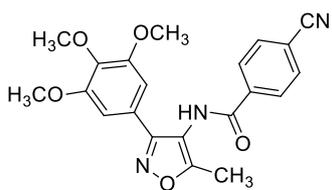
*N*-(5-Метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил)-4-(хлорметил)бензамид (**23eg**)



Бесцветные кристаллы; выход: 60% (100 мг);  $T_{\text{пл}} = 170\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.17$  (ПЭ–ЭА, 1:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.38 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.66 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.81 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 4.62 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.82 (с, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.46–7.51 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.70 (уш. с, 1H, NH), 7.87–7.91 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.6 ( $\text{CH}_3$ ), 45.3 ( $\text{CH}_2$ ), 56.1 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 61.0 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 104.7 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 112.1 (CNH), 123.5 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 127.9 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 129.1 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 133.0 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 139.2 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 142.1 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 153.2 ( $2\text{C}(\text{Ar})$ ), 159.1 (C), 166.3 (C), 166.7 (C=O).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{ClN}_2\text{O}_5^+$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 417.1212. Найдено: 417.1205.

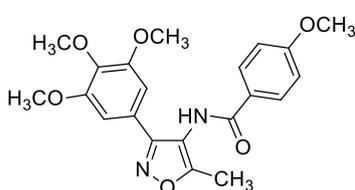
*N*-(5-Метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил)-4-цианобензамид (**23eh**)



Бесцветные кристаллы; выход: 60% (94 мг);  $T_{пл} = 198\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.26$  (ПЭ–ЭА, 1:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.43 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.67 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.81 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.78 (с, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.77 (уш. с, 1H, NH), 7.77–7.81 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 8.02–8.07 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.8 ( $\text{CH}_3$ ), 56.1 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 61.0 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 104.7 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 111.7 (CNH), 116.2 (C), 117.8 (C), 123.4 (C(Ar)), 128.2 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 132.8 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 137.0 (C(Ar)), 139.2 (C(Ar)), 153.5 ( $2\text{C}(\text{Ar})$ ), 159.0 (C), 165.0 (C), 166.8 (C=O).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5^+$  [ $\text{M} + \text{K}$ ] $^+$ : 394.1397. Найдено: 394.1392.

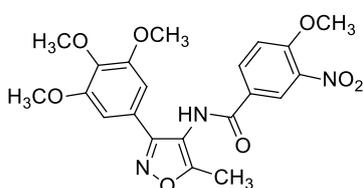
*N*-(5-Метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил)-4-метоксибензамид (**23ei**)



Бесцветные кристаллы; выход: 67% (107 мг);  $T_{пл} = 180\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.08$  (ПЭ–ЭА, 2:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.38 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.67 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.82 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.86 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.86 (с, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 6.90–6.95 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.52 (уш. с, 1H, NH), 7.83–7.88 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.6 ( $\text{CH}_3$ ), 55.6 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 56.1 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 61.0 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 104.7 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 112.3 (CNH), 114.2 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 123.6 (C(Ar)), 125.2 (C(Ar)), 129.3 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 139.2 (C(Ar)), 153.5 ( $2\text{C}(\text{Ar})$ ), 159.1 (C), 163.1 (C(Ar)), 166.3 (C), 166.6 (C=O).

HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5\text{K}^+$  [ $\text{M} + \text{K}$ ] $^+$ : 437.1109. Найдено: 437.1106.

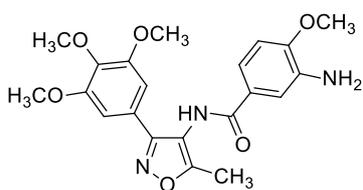
*N*-(5-Метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил)-4-метокси-3-нитробензамид (**23ej**)



Бесцветные кристаллы; выход: 71% (126 мг);  $T_{пл} = 188\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.12$  (ПЭ–ЭА, 2:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.37 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.64 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.78 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 4.02 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 6.78 (с, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.15 (д,  $^3J = 8.9$  Гц, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 8.09 (уш. с, 1H, NH), 8.15 (дд,  $^3J = 8.9$  Гц,  $^4J = 2.2$  Гц, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 8.41 (д,  $^4J = 2.2$  Гц, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.6 ( $\text{CH}_3$ ), 56.0 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 57.1 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 61.1 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 104.6 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 112.0 (CNH), 113.9 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 123.6 (C(Ar)), 124.8 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 125.2 (C(Ar)), 134.0 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 139.0 (C(Ar)), 139.2 (C(Ar)), 153.4 ( $2\text{C}(\text{Ar})$ ), 155.8 (C(Ar)), 158.9 (C), 164.4 (C), 166.8 (C=O).

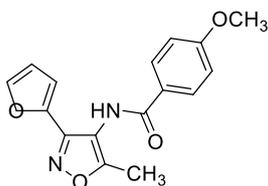
HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_8^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 444.1401. Найдено: 444.1399.

3-Амино-N-(5-метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил)-4-метоксибензамид (**23ek**)



Бесцветные кристаллы; выход: 90% (74 мг);  $T_{\text{пл}} = 208\text{ }^{\circ}\text{C}$ .  
Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  2.34 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.67 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.70 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.83 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 4.94 (с, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 6.89 (д,  $^3J = 8.2$  Гц, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.02 (с, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.22–7.29 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 9.65 (уш. с, 1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  10.7 ( $\text{CH}_3$ ), 55.5 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 55.8 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 60.1 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 104.5 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 109.5 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 113.0 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 113.3 (CNH), 116.0 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 123.6 (C), 125.8 (C), 137.6 (C), 138.7 (C(Ar)), 149.2 (C(Ar)), 153.1 ( $2\text{C}(\text{Ar})$ ), 159.1 (C), 166.2 (C), 166.8 (C=O).  
HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_6\text{Na}^+$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$ : 436.1479. Найдено: 436.1471.

N-(5-Метил-3-(фуран-2-ил)изоксазол-4-ил)-4-метоксибензамид (**23m**)



Бесцветные кристаллы; выход: 64% (78 мг);  $T_{\text{пл}} = 136\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.20$  (ПЭ–ЭА, 3:1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.39 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.86 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.46 (дд,  $^3J = 3.5$  Гц,  $^3J = 1.8$  Гц, 1H, CH), 6.84 (д,  $^3J = 3.5$  Гц, 1H, CH), 6.92–6.97 (м, 2H,  $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.48 (д,  $^3J = 1.8$  Гц, 1H, CH), 7.82–7.92 (м, 3H,  $2\text{CH}(\text{Ar}) + \text{NH}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  12.0 ( $\text{CH}_3$ ), 55.6 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 111.0 (CH), 111.8 (CH), 111.9 (CNH), 114.1 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 125.6 (C), 129.4 ( $2\text{CH}(\text{Ar})$ ), 143.6 (C), 143.9 (CH), 151.0 (C), 162.9 (C), 165.4 (C), 165.7 (C=O).  
HRMS (ESI)  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 299.1026. Найдено: 299.1021.

## 4.2. Биологические испытания

### 4.2.1. Нейропротекторная активность

#### 4.2.1.1. Электрофизиологическая оценка

Электрофизиологические эксперименты *in vitro* проводили с использованием техники patch-clamp с локальной фиксацией потенциала [155, 231]. В качестве тест-системы использовали свежесыведенные одиночные нейроны Пуркинье из мозжечка 12-15-дневных крыс Вистар. Трансмембранные токи индуцировали активацией AMPA-рецептора раствором их частичного агониста каиновой кислоты с использованием быстрой суперфузии растворов, где 30 мкл агонистического буфера (концентрация агониста варьировалась в пределах  $10^{-6}$ – $10^{-4}$  М) добавляли к постоянному потоку буфера для промывки нейронов. Данный эксперимент (для контроля и для каждой концентрации соединения) проводили три раза. Трансмембранные токи для отдельных нейронов регистрировали с помощью боросиликатных микроэлектродов мощностью 2.5–5.5 МВт в

конфигурации целых клеток на приборе EPC-9 фирмы НЕКА, Германия. Данные обрабатывались программой Pulsfit фирмы НЕКА, Германия. Циклотиазид (СТЗ) как хорошо известный положительный аллостерический модулятор AMPA-рецептора использовали в качестве эталонного лиганда.

#### *4.2.1.2. Молекулярное моделирование*

Структура димерного лиганд-связывающего домена GluA2 AMPA-рецептора была получена из Protein Data Bank (PDB: 4FAT) [232]. После удаления ионов и малых молекул (за исключением двух молекул агониста глутамата, связанных с рецептором) белок был в состоянии покоя во время моделирования молекулярной динамики в течение 100 нс (протокол моделирования см. ниже). Наиболее часто встречающуюся структуру идентифицировали по группировке кадров на устойчивом участке траектории (40–100 нс). Структура лиганда была преобразована в 3D-модель и предоптимизирована в силовом поле MMFF94 с использованием программного обеспечения Avogadro 1.2.0 [233], а затем структуры лиганда и белка были подготовлены для молекулярного докинга с помощью AutoDock Tools 1.5.6 [234]. Молекулярный докинг к положительному сайту связывания аллостерического модулятора проводили с помощью программы AutoDock Vina 1.1.2 [235] (размер сетки 22 Å 29 Å 40 Å, полнота = 16). Была выбрана позиция с лучшим значением скоринговой функции и положением лиганда, комплексная модель была построена с использованием программного обеспечения USCF Chimera 1.15 [236].

Моделирование молекулярной динамики проводилось с использованием силового поля CHARMM36/CGenFF 4.4 [237, 238] в программном обеспечении GROMACS 2021.2 [239]. Первоначальные модели систем были построены с использованием модулей Ligand Reader & Modeler и Solution Builder веб-сервиса CHARMM-GUI [240, 241]. Молекула белка была помещена в прямоугольный бокс с водой в модели TIP3P; расстояние от белка до границы бокса было не менее 10 Å. Индивидуальные, случайно выбранные молекулы воды были заменены ионами калия и хлора для обеспечения электронейтральности системы и общей концентрации KCl около 0.15 М. Для каждой системы на CPU выполнялась молекулярно-механическая минимизация (до 5000 шагов), с последующим уравниванием в течение 125 пс при температуре 300 К и постоянном объеме с использованием термостата v-rescale на графическом процессоре NVIDIA GeForce RTX 3080. Моделирование проводилось на GPU при постоянном давлении 1 атм и температуре 300 К с использованием термостата v-rescale и баростата Парринелло-Рахмана. Движения атомов водорода ограничивались с помощью алгоритма LINCS. Для анализа и

визуализации результатов использовали программу CPTRAJ [242] в пакете AmberTools 21 [243] и UCSF Chimera.

#### 4.2.1.3. Прогнозирование ADMET, физико-химического и PAINS профилей

Липофильность (LogPow) и растворимость в воде (pSaq) оценивали с помощью нейросетевой модели ALogPS 3.0, реализованной на платформе OCHEM [244]. Всасывание в кишечнике человека (HIA) [245], проницаемость гематоэнцефалического барьера (LogBB) [246, 247] и риск сердечной токсичности, опосредованной hERG (канальное средство pKi и ингибирующая активность pIC<sub>50</sub>) [248] оценивали с помощью интегрированного онлайн-сервиса для прогнозирования свойств ADMET (ADMET Prediction Service) [249]. Этот сервер реализует прогностические модели QSAR на основе точных и репрезентативных обучающих наборов, фрагментарных дескрипторов и искусственных нейронных сетей. Количественная оценка значений лекарственного сходства (QED) [250] была рассчитана, а оповещения о интерференционных соединениях (PAINS) были проверены с использованием программного обеспечения RDKit версии 2020.03.4 [251].

#### 4.2.2. Антибактериальная активность

Для антибактериальных исследований были использованы два грамположительных штамма: *Bacillus subtilis* ATCC 6633 и *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 и один грамотрицательный штамм *Escherichia coli* ATCC 25922. Противогрибковые свойства исследуемых соединений оценивали на штаммах *Aspergillus niger* INA 00760 и *Candida albicans* ATCC 2091. Для антибактериального анализа к стерильному расплавленному агару Мюллера-Хинтона (100 мл) добавляли суспензию бактерий в физиологическом растворе (3 мл) с мутностью 0.5 по МакФарланду, полученную смесь разливали по чашкам Петри. Для колоний грибов и дрожжей готовили среду Сабуро с 0.2% глюкозы и обрабатывали клеточной суспензией, получая 10<sup>6</sup> CFU (Colony Forming Unit, CFU – показатель количества жизнеспособных микроорганизмов в единице объема) в 100 мл полученной среды.

Антимикробное тестирование полученных соединений проводили *in vitro* методом диско-диффузионного метода, согласно которому все анализируемые вещества наносили в количестве 100 мкг на диски с различными бактериальными и грибковыми культурами и выдерживали при температуре 37 °С в течение суток. Зоны ингибирования роста культур измеряли по истечении 24 часов. В качестве положительного контроля использовали

стандартные диски с антибиотиком, содержащие 30 мкг ванкомицина (для *B. subtilis* и *MRSA*), 10 мкг гентамицина (для *E. coli*) и 40 мкг флуконазола (для *A. niger* и *C. albicans*).

#### 4.2.3. Противоопухолевая активность

##### 4.2.3.1. Клеточные культуры

Клетки эпидермальной карцинома A431, клетки рака легкого A549, эпителиоподобные клетки легкого WI-26 VA4, клетки фибробластов BJ-5ta/hTERT, клетки колоректального рака HCT 116, клетки аденокарциномы простаты PC-3, клетки карцинома простаты LNCaP, клеточная линия меланомы A375 и клетки колоректальной аденокарциномы Caco-2 были приобретены в ATCC. Первичные фибробласты и HUVEC были приобретены у Cell Application Inc. Клетки A431, первичные фибробласты, A549 и A375 содержались в среде Advanced DMEM (Gibco) с добавлением 5% фетальной телячьей сыворотки (FBS; Gibco), пенициллина (100 МЕ/мл), стрептомицин (100 мкг/мл) и GlutaMax (3 мМ; Gibco). Клетки HCT 116 поддерживали в среде McCoу 5A (Gibco) с добавлением 10% FBS (Gibco), пенициллина (100 МЕ/мл), стрептомицина (100 мкг/мл) и GlutaMax (1,5 мМ; Gibco). Клетки WI-26 VA4 и Caco-2 поддерживали в Advanced MEM (Gibco) с добавлением 5% FBS (Gibco), пенициллина (100 МЕ/мл), стрептомицина (100 мкг/мл) и GlutaMax (1,87 мМ; Гибко). Клетки PC-3 поддерживали в среде F12-K (Gibco) с добавлением 10% FBS (Gibco), пенициллина (100 МЕ/мл), стрептомицина (100 мкг/мл) и GlutaMax (2,0 мМ; Gibco). Клетки LNCaP поддерживали в Advanced RPMI-1640 (Gibco) с добавлением 5% FBS (Gibco), пенициллина (100 МЕ/мл), стрептомицина (100 мкг/мл) и GlutaMax (2 мМ; Gibco). Клетки HUVEC поддерживали в среде 200 (Gibco) с добавлением 50×LSGS (Gibco), пенициллина (100 МЕ/мл) и стрептомицина (100 мкг/мл). Культивирование всех клеточных линий проводили во влажной атмосфере 95% воздуха/5% CO<sub>2</sub> при 37°C. Субконфлюэнтные монослои в логарифмической фазе роста собирали путем кратковременной обработки раствором TrypLE Express (Gibco) в фосфатно-солевом буфере (PBS; Capricorn Scientific) и трижды промывали бессывороточным PBS. Количество жизнеспособных клеток определяли по исключению трипанового синего.

##### 4.2.3.2. МТТ анализ

Влияние синтезированных соединений на жизнеспособность клеток определяли с помощью колориметрического теста МТТ. Все исследуемые клетки разбавляли питательной средой до 3.5×10<sup>4</sup> клеток/мл и аликвоты (7×10<sup>3</sup> клеток на 200 мкл) помещали в отдельные лунки 96-луночных планшетов (Eppendorf) и инкубировали в

течение 24 часов. На следующий день клетки обрабатывали синтезированными соединениями отдельно в концентрации 5–20 мкМ (или в концентрации 200 мкМ и разбавляли до различных концентраций для определения  $IC_{50}$ ) и инкубировали в течение 72 ч при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Каждое соединение тестировали три раза. После инкубации клетки обрабатывали 40 мкл раствора МТТ (5 мг/мл в PBS) и инкубировали в течение 4 часов. После дополнительных 4 ч инкубации среду с МТТ удаляли и добавляли ДМСО (150 мкл) для растворения кристаллов формазана. Планшеты встряхивали в течение 10 мин. Оптическую плотность каждой лунки определяли при 560 нм с помощью считывателя микропланшетов GloMax Multi+ (Promega). Каждое из тестируемых соединений оценивали на цитотоксичность в трех отдельных экспериментах.

#### *4.2.3.3. Анализ пролиферации*

В планшеты на 6 ячеек поместили 2 мл раствора, содержащего 80 000 клеток A549 на ячейку. После отстаивания в течение 24 часов добавили 10 мкл растворов испытуемых соединений до следующих конечных концентраций: 100 мкМ (**22e**, **22m**, **23ea**, **23m**), 5 мкМ (**23ea**), 1 мкМ (**23ea** и колхицин) и 0.1 мкМ (**22ea**). В качестве контроля использовали 0.5% ДМСО. Через 24 ч ячейки дважды промывали PBS, клетки отделяли от субстрата трипсинизацией, ресуспендировали в 1 мл среды и подсчитывали непосредственно методом фазово-контрастной микроскопии на гемоцитометре. Эксперименты повторяли три раза, и значения  $IC_{50}$  определяли путем подгонки сигмовидной кривой с использованием программного обеспечения на базе Excel.

#### *4.2.3.4. Анализ апоптоза*

Для исследования возможности апоптоза клетки помещали в планшет на 6 ячеек (Eppendorf) и оставляли расти в течение ночи. После достижения клетками субконфлюэнтности среду заменяли тестируемыми соединениями (1 мкМ). Экспонированные клетки помещали при 37°C в инкубатор с 5% CO<sub>2</sub> на 24 часа. Культивируемые клетки дважды промывали PBS и ресуспендировали в буфере для связывания (набор Annexin V-FITC; Invitrogen) в концентрации  $1 \times 10^6$  мл<sup>-1</sup>. К 100 мкл суспензии клеток добавляли аннексин FITC (5 мкл) и PI (2 мкл) и инкубировали 15 мин при комнатной температуре (25°C) в темноте. После инкубации в каждую ячейку добавляли 400 мкл буфера для связывания и окрашенные клетки анализировали в течение 1 часа с использованием программы CytoFlex (Beckham Culture) и CytExpert 2.1. Поскольку окрашивание аннексином V-FITC предшествует потере целостности мембраны, которая сопровождается более позднюю стадию, идентифицированную с помощью PI, положительная реакция на аннексин FITC и отрицательная реакция на PI

указывают на ранний апоптоз, в то время как жизнеспособные клетки являются отрицательными по аннексину V-FITC и отрицательными по PI. Клетки, находящиеся в стадии позднего апоптоза или мертвые, являются как аннексин V-FITC-, так и PI-положительными.

#### *4.2.3.5. Анализ каспаз 3/7*

Для обнаружения активации каспаз 3/7 клетки помещали в в планшет на 6 ячеек (Eppendorf) и оставляли для роста в течение ночи. После достижения клетками субконфлюэнтности среду заменяли тестируемыми соединениями (1 мкМ). Экспонированные клетки помещали в инкубатор с 5% CO<sub>2</sub> при 37°C на 24 часа. Культивируемые клетки дважды промывали PBS и ресуспендировали в 1 мл свежего PBS в концентрации 1 × 10<sup>6</sup> мл<sup>-1</sup>. Реагент CellEvent™ Caspase-3/7 Green Detection добавляли к клеточной суспензии до конечной концентрации 4 мкМ и инкубировали в течение 30 мин при 37°C в 5% CO<sub>2</sub>. После инкубации окрашенные клетки анализировали в течение 20 мин с помощью CytoFlex (Beckham Culture) и программы CytExpert 2.1.

#### *4.2.3.6. Иммунофлуоресцентное окрашивание клеточных МТ и ядер*

Клетки A549 культивировали в планшетах на 12 ячеек на небольших покровных стеклах (диаметром 11 мм) при плотности 20000 клеток на покровное стекло. Клетки инкубировали с тестируемыми соединениями в концентрациях 10 и 100 мкМ в течение 24 часов. 0.5% ДМСО служил в качестве отрицательного контроля. Клетки фиксировали и окрашивали [252]. Фиксированные клетки отмечали моноклональными антителами мыши в разведении 1:300 (Sigma-Aldrich) с последующей инкубацией с Alexa Fluor488-меченым иммуноглобулином G коз в разведении 1:300 (Invitrogen). Для анализа влияния соединения на индукцию апоптоза ядра клеток окрашивали Hoechst 33258 (Sigma-Aldrich) в концентрации 5 мкг/мл. Изображения всех образцов были получены с использованием инвертированного микроскопа Nikon Diaphot 300 (Nikon GmbH), оснащенного охлаждаемой камерой с зарядовой связью (SenSys; Photometrics).

#### *4.2.3.7. Полимеризация Tb+MAP*

Неочищенную фракцию Tb+MAP выделяли из ткани головного мозга мыши методом полимеризации-деполимеризации. Полимеризацию Tb+MAP проводили по ранее опубликованному методу [253]. Полимеризацию Tb+MAP и сборку МТ характеризовали путем измерения временной зависимости поглощения света при 355 нм для суспензии Tb+MAP в присутствии только ДМСО (контроль), 10 мкМ колхицина или 200 мкМ

соединений **23ea** или **23eb** на многорежимный считыватель пластин EnVision (PerkinElmer).

#### 4.2.3.8. Анализ клеточного цикла

Для анализа клеточного цикла клетки НСТ116 ( $1 \times 10^6$ ) высевали в планшетах на 6 ячеек и обрабатывали **23ea** или **23eb** в концентрациях  $2 \times IC_{50}$  (см. МТТ-тесты) в течение 24–48 часов. По окончании инкубации клетки собирали трипсинизацией, промывали PBS, центрифугировали, фиксировали 70%-ным этанолом и инкубировали 3 ч при  $-20^{\circ}\text{C}$ . Аликвоту осадка (200 мкл) промывали PBS, окрашивали 200 мкл Muse Cell Cycle Reagent и инкубировали 30 мин при комнатной температуре в темноте. Распределение клеточного цикла анализировали с помощью проточной цитометрии на анализаторе клеток Muse (Merck).

### 4.3. Фотофизические исследования

Все эксперименты проводили при комнатной температуре. Для приготовления растворов использовались перегнанные растворители. Спектры УФ регистрировали на приборе “Agilent Cary 60”, спектры флуоресценции регистрировали на приборе “Horiba Jobin Yvon Fluoromax-2”. Спектры растворов регистрировали в кварцевой кювете (Hellma,  $l = 1$  см). Квантовые выходы люминесценции определяли по стандартной методике [254].

Исследование связывания катионов металлов проводили путем добавления алиquot стандартных растворов перхлоратов металлов в ацетонитриле ( $M(ClO_4)_n \cdot xH_2O$ ,  $C = 0.01M$ ) непосредственно в кювету с раствором лиганда с использованием микрошприца марки Hamilton (максимальный объем 10 мкл) для достижения требуемой общей концентрации катиона металла, после чего регистрировали спектр. 1,4-фениленди(метилен) бис(5-аминоизоксазол-3-карбоксилат

## 5. Заключение и выводы

1. С учетом данных компьютерного моделирования был получен 1,4-фениленди(метилен) бис(5-аминоизоксазол-3-карбоксилат), который оказался эффективным положительным модулятором АМРА рецептора с активностью в субнаномолярном диапазоне концентраций и максимумом потенцирования 170% при  $10^{-11}$  М.
2. Разработан хемоселективный метод синтеза 3-EWG-5-амино-4-нитроизоксазолов на основе реакции нитрования 5-аминоизоксазолов под действием нитрата аммония в трифторуксусном ангидриде без использования защиты аминогруппы. Показано, что 4-нитро-5-аминоизоксазолы представляют интерес для разработки препаратов с

антибактериальным действием. Найдено, что метиловый эфир 5-ацетиламино-4-нитроизоксазол-3-карбоновой кислоты проявляет антибактериальную активность, сопоставимую с известными стандартами.

3. Найден новый реагент гетероциклизации  $\alpha,\beta$ -ненасыщенных (арил-/гетарил)винилкетонів – *трет*-бутилнитрит в смеси диоксан-вода, с использованием которого разработан препаративный метод синтеза 3-арил-/гетарил-4-нитроизоксазолов, позволяющий получать библиотеки соединений с высокими выходами в граммовых количествах.

4. Разработан синтетический подход к изоксазолсодержащим флуорофорам двух структурных типов: 3-арил\гетарил-4-нитро-5-стирилизоксазолов и  $VF_2$ -комплексов  $\beta$ -дикетонів. Для больших серий новых флуорофоров проведено систематическое изучение фотофизических свойств и найдены основные закономерности зависимости спектральных параметров (квантовый выход, коэффициент экстинкции и др.) от структуры. Показано, что изоксазолсодержащие флуорофоры проявляют сольватохромизм, сенсорные свойства и противораковую активность.

5. Проведен направленный синтез большой серии новых 3-арил-4-ацетиламино-5-метилизоксазолов в качестве ингибиторов полимеризации белка тубулина. Показано, что производные изоксазола, содержащие триметоксифенильный фрагмент в положении 3 гетероцикла проявляют цитотоксичность по отношению к различным опухолевым клеточным линиям в микромолярном и субмикромолярном диапазоне концентраций. Показано, что соединение-лидер – (3-метил-*N*-(5-метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил)бензамид) проявляет цитотоксичность по отношению к андроген-чувствительной аденокарциноме простаты человека (линия LNCaP) в концентрации  $IC_{50}=0.301 \mu M$  и высокую селективность. Продемонстрирована возможность инкапсулирования 5-метил-4-ацетиламиноизоксазолов в полисахаридные мицеллы-«наноконтейнеры», что представляет интерес для таргетной доставки лекарственных препаратов и улучшения их токсикологического профиля.

## 6. Список литературы

1. Jarvenpaa J., Rahnasto-Rilla M., Lahtela-Kakkonen M., Küblbeck J. Profiling the regulatory interplay of BET bromodomains and Sirtuins in cancer cell lines // *Biomed. Pharmacotherapy*, 2022, Vol. 147, P. 112652.
2. Knegtel R., Charrier J-D., Durrant S., Davis C., O'Donnell M., Storck P., MacCormick S., Kay D., Pinder J., Virani A., Twin H., Griffiths M., Reaper P., Littlewood P., Young S., Golec J., Pollard J. Rational Design of 5-(4-(Isopropylsulfonyl)phenyl)-3-(3-(4-((methylamino)methyl)phenyl)isoxazol-5-yl)pyrazin-2-amine (VX-970, M6620): Optimization of Intra- and Intermolecular Polar Interactions of a New Ataxia Telangiectasia Mutated and Rad3- Related (ATR) Kinase Inhibitor // *J. Med. Chem.*, 2019, Vol. 62, P. 5547–5561.
3. Viriyakosol S., Kapoor M., Okamoto S., Covell J., Soltow Q.A., Trzoss M., Shaw K.J., Fierera J. APX001 and Other Gwt1 Inhibitor Prodrugs Are Effective in Experimental *Coccidioides immitis* Pneumonia // *Antimic. Agents Chemother.*, 2019, Vol. 63, P. e01715–01718.
4. Kumar H.P., Kumara H.K., Suhas R., Gowda D. Multitarget-directed therapeutics: (Urea/thiourea)<sub>2</sub> derivatives of diverse heterocyclic-Lys conjugates // *Arch. Pharm.*, 2021, Vol. 354, e2000468.
5. Trefzger O.S., Barbosa N.V., Scapolatempo R.L., Neves A.R., Ortale M.L.F.S, Carvalho D.B., Honorato A.M., Fragoso M.R., Shuiguemoto C.Y.K., Perdomo R.T., Matos M.F.C., Chang M.R., Arruda C.C.P., Baroni A.C.M. Design, synthesis, antileishmanial, and antifungal biological evaluation of novel 3,5-disubstituted isoxazole compounds based on 5-nitrofurans scaffolds // *Arch. Pharm.*, 2019, Vol. 353, e1900241.
6. Yin W., Wu T., Liu L., Jiang H., Zhang Y., Cui H., Sun Y., Qin Q., Sun Y., Gao Z., Zhao L., Su X., Zhao D., Cheng M. Species-Selective Targeting of Fungal Hsp90: Design, Synthesis, and Evaluation of Novel 4,5-Diarylisoazole Derivatives for the Combination Treatment of Azole-Resistant Candidiasis // *J. Med. Chem.*, 2022, Vol. 65, P. 5539–5564.
7. Tzitzoglaki C., McGuire K., Lagarias P., Konstantinidi A., Hoffmann A., Fokina N.A., Ma C., Papanastasiou I.P., Schreiner P.R., Vázquez S., Schmidtke M., Wang J., Busath D.D., Kolocouris A. Chemical Probes for Blocking of Influenza A M2 Wild-type and S31N Channels // *ACS Chem. Biol.*, 2020, Vol. 15, P. 2331–2337.
8. Drynda A., Obmińska-Mrukowicz B., Zaczyńska E., Zimecki M., Kochanowska I., Ryng S., Mączyński M. 5-Amino-3-methyl-4-isoxazolecarboxylic acid hydrazide derivatives with in vitro immunomodulatory activities // *Chem. Biol. Drug. Des.*, 2017, Vol. 89, P. 705–713.

9. Zhu P., Zhang J., Yang Y., Wang L., Zhou J., Zhang H. Design, synthesis and biological evaluation of isoxazole-containing biphenyl derivatives as small-molecule inhibitors targeting the programmed cell death-1/ programmed cell death-ligand 1 immune checkpoint // *Molecular Diversity*, 2022, Vol. 26, P. 245–264.
10. Rastegari A., Safavi M., Vafadarnejad F., Najafi Z., Hariri R., Bukhari S.N.A., Iraj A., Edraki N., Firuzi O., Saeedi M., Mahdavi M., Akbarzadeh T. Synthesis and evaluation of novel arylisoxazoles linked to tacrine moiety: in vitro and in vivo biological activities against Alzheimer's disease // *Molecular Diversity*, 2022, Vol. 26, P. 409–428.
11. Shuai W., Wang G., Zhang Y., Bu F., Zhang S., Miller D.D., Li W., Ouyang L., Wang Y. Recent Progress on Tubulin Inhibitors with Dual Targeting Capabilities for Cancer Therapy // *J. Med. Chem.*, 2021, Vol. 64, P. 7963–7990.
12. Coulup S.K., Georg G.I. Revisiting microtubule targeting agents:  $\alpha$ -Tubulin and the pironetin binding site as unexplored targets for cancer therapeutics // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2019, Vol. 29, P. 1865–1873.
13. Bhat R., Tummalapalli S.R., Rotella D.P. Progress in the Discovery and Development of Heat Shock Protein 90 (Hsp90) Inhibitors // *J. Med. Chem.*, 2014, Vol. 57, P. 8718–8728.
14. Li L., Wang L., You Q-D., Xu X-L. Heat Shock Protein 90 Inhibitors: An Update on Achievements, Challenges, and Future Directions // *J. Med. Chem.*, 2020, Vol. 63, P. 1798–1822.
15. Luan Y., Li J., Bernatchez J.A., Li R. Kinase and Histone Deacetylase Hybrid Inhibitors for Cancer Therapy // *J. Med. Chem.*, 2019, Vol. 62, P. 3171–3183.
16. Zhang X-H, Ma Q., Wu H-P., Khamis M.Y., Li Y-H., Ma L-Y., Liu H-M. A Review of Progress in Histone Deacetylase 6 Inhibitors Research: Structural Specificity and Functional Diversity // *J. Med. Chem.*, 2021, Vol. 64, P. 1362–1391.
17. Hewings D.S., Rooney T.P.C., Jennings L.E., Hay D.A., Schofield C.J., Brennan P.E., Knapp S., Conway S.J. Progress in the Development and Application of Small Molecule Inhibitors of Bromodomain–Acetyl-lysine Interactions // *J. Med. Chem.*, 2012, Vol. 55, P. 9393–9413.
18. Duan Y., Guan Y., Qin W., Zhai X., Yu B., Liu H. Targeting Brd4 for cancer therapy: inhibitors and degraders // *MedChemComm.*, 2018, Vol. 9, P. 1779–1802.
19. Chernysheva N.B., Maksimenko A.S., Andreyanov F.A., Kislyi V.P., Strelenko Y.A., Khrustalev V.N., Semenova M.N., Semenov V.V. Regioselective synthesis of 3,4-diaryl-5-unsubstituted isoxazoles, analogues of natural cytostatic combretastatin A4 // *Eur. J. Med. Chem.*, 2018, Vol. 146, P. 511–518.
20. Stroylov V.S., Svitanko I.V., Maksimenko A.S., Kislyia V.P., Semenova M.N., Semenov V.V. Computational modeling and target synthesis of monomethoxy-substituted o-

- diphenylisoxazoles with unexpectedly high antimitotic microtubule destabilizing activity // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2020, Vol. 30, P. 127608.
21. Liu N., Dong X., Xue N., Wub R., He Q., Yang B., Hu Y. Synthesis and biological evaluation of 3,4-diaryl-5-aminoisoxazole derivatives // *Bioorg. Med. Chem.*, 2009, Vol. 17, P. 6279–6285.
  22. Tsyganov D.V., Khrustalev V.N., Konyushkin L.D., Raihstat M.M., Firgang S.I., Semenov R.V., Kiselyov A.S., Semenova M.N., Semenov V.V. 3-(5-)-Amino-o-diarylisoxazoles: Regioselective synthesis and antitubulin activity // *Eur. J. Med. Chem.*, 2014, Vol. 73, P. 112–125.
  23. Sun C.-M., Lin L.-G., Yu H.-J., Cheng C.-Y., Tsai Y.-C., Chu C.-W., Din Y.-H., Chauc Y.-P., Don M.-J. Synthesis and cytotoxic activities of 4,5-diarylisoxazoles // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2007, Vol. 17, P. 1078–1081.
  24. Roman B.I., Ryck T.D., Dierickx L., Vanhoecke B.W.A., Katritzky A.R., Bracke M., Stevens C.V. Exploration of the SAR of anti-invasive chalcones: Synthesis and biological evaluation of conformationally restricted analogues // *Bioorg. Med. Chem.*, 2012, Vol. 20, P. 4812–4819.
  25. Wang G., Liu W., Huang Y., Li Y., Peng Z. Design, synthesis and biological evaluation of isoxazole-naphthalene derivatives as anti-tubulin agents // *Arab. J. Chem.*, 2020, Vol. 13, P. 5765–5775.
  26. Lee H.K., Yun E., Min J.H., Yoon K.S., Choung D.-H., Lee S. Convenient Synthesis of an Isoxazole Compound, KRIBB3, as an Anticancer Agent // *Synth. Commun.*, 2012, Vol. 42, P. 1890–1894.
  27. Lee S., Kim J.N., Min J.H., Yoon K.S., Shin K.D., Kwon B.-M., Han D.C. Synthesis and Biological Evaluation of KRIBB3 Analogues on a Proliferation of HCT-116 Colorectal Cancer Cells // *Bull. Korean Chem. Soc.*, 2010, Vol. 31, P. 3800–3802.
  28. Lee S., Kim J.N., Lee H.K., Yoon K.S., Shin K.D., Kwon B.-M., Han D.C. Biological evaluation of KRIBB3 analogs as a microtubule polymerization inhibitor // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2011, Vol. 21, P. 977–979.
  29. Tsyganov D.V., Semenova M.N., Konyushkin L.D., Ushkarov V.I., Raihstata M.M., Semenov V.V. A convenient synthesis of cis-restricted combretastatin analogues with pyrazole and isoxazole cores // *Mendeleev Commun.*, 2019, Vol. 29, P. 163–165.
  30. Semenova M.N., Demchuk D.V., Tsyganov D.V., Chernysheva N.B., Samet A.V., Silyanova E.A., Kislyi V.P., Maksimenko A.S., Varakutin A.E., Konyushkin L.D., Raihstat M.M., Kiselyov A.S., Semenov V.V. The sea urchin embryo model as a reliable in vivo phenotypic screen to characterize selective antimitotic molecules. Comparative evaluation of

- combretapyrazoles, -isoxazoles, -1,2,3-triazoles, and -pyrroles as tubulin binding agents // ACS Comb. Scien., 2018, Vol. 20, P. 700–721.
31. Wana M., Xu L., Hua L., Li A., Li S., Lu W., Pang Y., Cao C., Liu X., Jiao P. Synthesis and evaluation of novel isoxazolyl chalcones as potential anticancer agents // Bioorg. Chem., 2014, Vol. 54, P. 38–43.
32. Kamal A., Reddy V.S., Shaik A.B., Kumar G.B., Vishnuvardhan M.V.P.S., Polepalli S., Jain N. Synthesis of (Z)-(arylamino)-pyrazolyl/isoxazolyl-2-propenones as Tubulin Targeting Anticancer Agents and Apoptotic Inducers // Org. Biomol. Chem., 2015, Vol. 13, P. 3416–3431.
33. Simoni D., Rizzi M., Rondanin R., Baruchello R., Marchetti P., Invidiata F.P., Labbozzetta M., Poma P., Carina V., Notarbartolo M., Alaimoc A., D'Alessandro N. Antitumor effects of curcumin and structurally b-diketone modified analogs on multidrug resistant cancer cells // Bioorg. Med. Chem. Lett., 2008, Vol. 18, P. 845–849.
34. Amolins M.V., Peterson L.B., Blagg B.S.J. Synthesis and evaluation of electron-rich curcumin analogues // Bioorg. Med. Chem., 2009, Vol. 17, P. 360–367.
35. Chakraborti S., Das L., Kapoor N., Das A., Dwivedi V., Poddar A., Chakraborti G., Janik M., Basu G., Panda D., Chakrabarti P., Surolia A., Bhattacharyya B. Curcumin Recognizes a Unique Binding Site of Tubulin // J. Med. Chem., 2011, Vol. 54, P. 6183–6196.
36. Chakraborti S., Dhar G., Dwivedi V., Das A., Poddar A., Chakraborti G., Basu G., Chakrabarti P., Surolia A., Bhattacharyya B. Stable and Potent Analogues Derived from the Modification of the Dicarboxyl Moiety of Curcumin // Biochemistry, 2013, Vol. 52, P. 7449–7460.
37. Balaji N.V., Ramani M.V., Viana A.G., Sanglard L.P., White J., Mulabagal V., Lee C., Gana T.J., Egiebor N.O., Subbaraju G.V., Tiwari A.K. Design, synthesis and in vitro cell-based evaluation of the anti-cancer activities of hispolon analogs // Bioorg. Med. Chem., 2015, Vol. 23, P. 2148–2158.
38. Nelson K.M., Dahlin J.L., Bisson J., Graham J., Pauli G.F., Walters M.A. The Essential Medicinal Chemistry of Curcumin // J. Med. Chem., 2017, Vol. 60, P. 1620–1637.
39. Choi M.J., No E.S., Thorat D.A., Jang J.W., Yang H., Lee J., Choo H., Kim S.J., Lee C.S., Ko S.Y., Lee J., Nam G., Pae A.N. Synthesis and Biological Evaluation of Aryloxazole Derivatives as Antimitotic and Vascular-Disrupting Agents for Cancer Therapy // J. Med. Chem., 2013, Vol. 56, P. 9008–9018.
40. Eid A.M., Hawash M., Amer J., Jarrar A., Qadri S., Alnimer I., Sharaf A., Zalmoot R., Hammoudie O., Hameedi S., Mousa A. Synthesis and Biological Evaluation of Novel

- Isoxazole-Amide Analogues as Anticancer and Antioxidant Agents // *BioMed Res. Int.*, 2021, Vol. 2021, P. 6633297.
41. Saeedi M., Hashemi M., Mahdavi M., Rafinejad A., Najafi Z., Mirfazli S.S., Mohammadian R., Karimpour-Razkenari E., Ardestani S.K., Safavi M., Akbarzadeh T. Synthesis and Anticancer Activity of N-(di/trimethoxyaryl)-5-arylisoxazole-3-carboxamide // *Polycyc. Arom. Comp.*, 2019, Vol. 40, P. 1568–1580.
  42. Shaik A., Bhandare R.R., Palleapati K., Nissankararao S., Kancharlapalli V., Shaik S. Antimicrobial, Antioxidant, and Anticancer Activities of Some Novel Isoxazole Ring Containing Chalcone and Dihydropyrazole Derivatives // *Molecules*, 2020, Vol. 25, P. 1047.
  43. Chen M., Liu J., Tian Z., Liu X., Zhang S. Synthesis, cytotoxic activity and binding model analysis of novel isoxazole-docetaxel analogues with C3'-N modification // *Med. Chem. Research*, 2018, Vol. 27, P. 1355–1365.
  44. Kuzniewski C.N., Glauser S., Gaugar F.Z., Schiess R., Rodriguez-Salarichs J., Vetterli S., Horlacher O.P., Gertsch J., Redondo-Horcajo M., Canales A., Jimenez-Barbero J., Diaz J.F., Altmann K.-H. Synthesis, Profiling and Bioactive Conformation of *trans*-Cyclopropyl Epothilones // *Helvetica Chimica Acta*, 2019, Vol. 102, Art.N E1900078.
  45. Kamal A., Reddy J.S., Ramaiah M.J., Dastagiri D., Bharathi E.V., Azhar M.A., Sultana F., Pushpavalli S.N.C.V.L., Pal-Bhadra M., Juvekar A., Sen S., Zingde S. Design, synthesis and biological evaluation of 3,5-diaryl-isoxazoline/isoxazole-pyrrolobenzodiazepine conjugates as potential anticancer agents // *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, Vol. 45, P. 3924–3937.
  46. Kamal A., Bharathi E.V., Reddy J.S., Ramaiah M.J., Dastagiri D., Reddy M.K., Viswanath A., Reddy T.L., Shaik T.B., Pushpavalli S.N.C.V.L., Bhadra M.P. Synthesis and biological evaluation of 3,5-diaryl isoxazoline/isoxazole linked 2, 3-dihydroquinazolinone hybrids as anticancer agents // *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, Vol. 46, P. 691–703.
  47. Suman P., Murthy T.R., Rajkumar K., Srikanth D., Dayakar C., Kishor C., Addlagatta A., Kalivendi S.V., Raju B.C. Synthesis and structureactivity relationships of pyridinyl-1H-1,2,3-triazolyldihydroisoxazoles as potent inhibitors of tubulin polymerization // *Eur. J. Med. Chem.*, 2015, Vol. 90, P. 603–619.
  48. Madhavalatha B., Bhattacharjee D., Sabitha G., Reddy B.V.S., Yadav J.S., Jain N., Reddy B.J.M. Synthesis and In Vitro Anticancer Activity of Novel 1,3,4-Oxadiazole-Linked 1,2,3-Triazole/Isoxazole Hybrids // *J. Het. Chem.*, 2018, Vol. 55, P. 863–870.
  49. Kumar P.R., Yennam S., Raghavulu K., Velatooru L.R., Kotla S.R., Penugurthi V., Hota P.K., Behera M., Shree A.J. Synthesis of Novel Diaziridinyl Quinone Isoxazole Hybrids and Evaluation of Their Anti-Cancer Activity as Potential Tubulin-Targeting Agents // *Drug Research*, 2019, Vol. 69, P. 406–414.

50. Prior I.A., Lewis P.D., Mattos C.. A Comprehensive Survey of Ras Mutations in Cancer // *Cancer Res.*, 2012, Vol. 72, P. 2457–2467.
51. Lucescu L., Ghinet A., Shova S., Magnez R., Thuru X., Farce A., Rigo B., Belei D., Dubois J., Bîcu E. Exploring isoxazoles and pyrrolidinones decorated with the 4,6-dimethoxy-1,3,5-triazine unit as human farnesyltransferase inhibitors // *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 2019, e1800227.
52. Azizian J., Mohammadi M.K., Firuzi O., Razzaghi-asl N., Miri R. Synthesis, biological activity and docking study of some new isatin Schiff base derivatives // *Med. Chem. Res.*, 2012, Vol. 21, P. 3730–3740.
53. Lv Y., Li M., Liu T., Tong L., Peng T., Wei L., Ding J., Xie H., Duan W. Discovery of a New Series of Naphthamides as Potent VEGFR-2 Kinase Inhibitors // *ACS Med. Chem. Lett.*, 2014, Vol. 5, P. 592–597.
54. Mohareb R.M., Manhi F.M., Mahmoud M.A.A., Abdelwahab A. Uses of dimedone to synthesis pyrazole, isoxazole and thiophene derivatives with antiproliferative, tyrosine kinase and Pim-1 kinase inhibitions // *Med. Chem. Res.*, 2020, Vol. 29, P. 1536–1551.
55. Westwood M., Joore M., Whiting P., Asselt T., Ramaekers B., Armstrong N., Misso K., Severens J., Kleijnen J. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase (EGFR-TK) mutation testing in adults with locally advanced or metastatic non-small cell lung cancer: a systematic review and cost-effectiveness analysis // *Health Tech. Assessment*, 2014, Vol. 18, P. 1366–5278.
56. Забелин М.В., Каприн А.Д., Костин А.А., Гамеева Е.В., Варламова С.Е.. Ингибиторы EGFR в лечении колоректального рака // *Исследования и практика в медицине*, 2018, т. 5, с. 77–84
57. Othman D.I.A., Selim K.B., El-Sayed M. A.–A., Tantawy A.S., Amen Y., Shimizu K., Okauchia T., Kitamura M. Design, Synthesis and Anticancer Evaluation of New Substituted Thiophene-Quinoline Derivatives // *Bioorg. Med. Chem.*, 2019, Vol. 27, e115026
58. Warda M.T., Shehata I.A., El-Ashmawy M.B., El-Gohary N.S. New series of isoxazole derivatives targeting EGFR-TK: Synthesis, molecular modeling and antitumor evaluation // *Bioorg. Med. Chem.*, 2020, Vol. 28, e115674
59. Babaei M.A., Kamalidehghan B., Saleem M., Huri H.Z., Ahmadipour F. Receptor tyrosine kinase (c-Kit) inhibitors: a potential therapeutic target in cancer cells // *Drug Design, Development and Therapy*, 2016, Vol. 10, P. 2443–2459.

60. Wang Q., Liu F., Wang B., Zou F., Chen C., Liu X., Wang A., Qi S., Wang W., Qi Z., Zhao Z., Hu Z., Wang W., Wang L., Zhang S., Wang Y., Liu L., Liu Q. Discovery of N-(3-((1-Isonicotinoylpiperidin-4-yl)oxy)-4-methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)benzamide (CHMFL-KIT-110) as a Selective, Potent, and Orally Available Type II c-KIT Kinase Inhibitor for Gastrointestinal Stromal Tumors (GISTs) // *J. Med. Chem.*, 2016, Vol. 59, P. 3964 – 3979
61. Puccini A., Marín-Ramos N.I., Bergamo F., Schirripa M., Lonardi S., Lenz H.-J., Loupakis F., Battaglin F. Safety and Tolerability of c-MET Inhibitors in Cancer // *Drug Safety*, 2019, Vol. 42, P. 211–233
62. Jiang X., Liu H., Song Z., Peng X., Ji Y., Yao Q., Geng M., Ai J., Zhang A. Discovery and SAR study of c-Met kinase inhibitors bearing an 3-amino-benzo[d]isoxazole or 3-aminoindazole scaffold // *Bioorg. Med. Chem.*, 2015, Vol. 23, P. 564–578
63. Law M.E., Corsino P.E., Narayan S., Law B.K. Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors as Anticancer Therapeutics // *Molec. Pharmacology*, 2015, Vol. 88, P. 846–852
64. Sroor F.M., Abdelmoniem A.M., Abdelhamid I.A. Facile Synthesis, Structural Activity Relationship, Molecular Modeling and In Vitro Biological Evaluation of New Urea Derivatives with Incorporated Isoxazole and Thiazole Moieties as Anticancer Agents // *ChemistrySelect*, 2019, Vol. 4, P. 10113–10121
65. Reddy S.T., Mendonza J.J., Krishna V., Makani K., Bhadra M.P., Uppuluri V.M. Synthesis of some novel methyl  $\beta$ -orsellinate based 3, 5-disubstituted isoxazoles and their anti-proliferative activity: Identification of potent leads active against MCF-7 breast cancer cell// *Bioorg. Chem.*, 2020, Vol. 105, e104374
66. Moger M., Pradhan A., Singh A., Govindaraju D.R.C., Hindupur R.M., Pati H.N. Synthesis and antiproliferative properties of isoxazole analogs containing dibenzosuberane moiety // *Med. Chem. Res.*, 2016, Vol. 25, P. 449 – 455
67. Yang J., Liu X., Bhalla K., Kim C.N., Ibrado A.M., Cai J., Peng T.-I., Jones D.P., Wang X. Prevention of Apoptosis by Bcl-2: Release of Cytochrome c from Mitochondria Blocked // *Science*, 1997, Vol. 275, P. 1129–1132
68. Dadmal T.L., Appalanaidu K., Kumbhare R.M., Mondal T., Ramaiah M.J., Bhadra M.P. Synthesis and biological evaluation of triazole and isoxazole tagged Benzothiazole/Benzoxazole derivatives as potent cytotoxic agents // *New J. Chem.*, 2018, Vol. 42, P. 15546 – 15551

69. Festjens N., Berghe T.V., Cornelis S., Vandenabeele P. RIP1, a kinase on the crossroads of a cell's decision to live or die // *Cell Death Different.*, 2007, Vol. 14, P. 400–410
70. Harris P.A., Marinis J.M., Lich J.D., Berger S.B., Chirala A., Cox J.A., Eidam P.M., Finger J.N., Gough P.J., Jeong J.U., Kang J., Kasparcova V., Leister L.K., Mahajan M.K., Miller G., Nagilla R., Ouellette M.T., Reilly M.A., Rendina A.R., Rivera E.J., Sun H.H., Thorpe J.H., Totoritis R.D., Wang W., Wu D., Zhang D., Bertin J., Marquis R.W. Identification of a RIP1 Kinase Inhibitor Clinical Candidate (GSK3145095) for the Treatment of Pancreatic Cancer // *ACS Med. Chem. Lett.*, 2019, Vol. 10, P. 857–862
71. Lin Y., Xu J., Lan H. Tumor-associated macrophages in tumor metastasis: biological roles and clinical therapeutic applications // *J. Hematol. Oncol.*, 2019, Vol. 12, P. 76–92
72. Im D., Jung K., Yang S., Aman W., Hah J.M. Discovery of 4-arylamido 3-methyl isoxazole derivatives as novel FMS kinase inhibitors // *Eur. J. Med. Chem.*, 2015, Vol. 102, P. 600–610
73. Zhu C., Wei Y., Wei X. AXL receptor tyrosine kinase as a promising anti-cancer approach: functions, molecular mechanisms and clinical applications // *Molecular Cancer*, 2019, Vol. 18, P. 153–175
74. Xu C., Han Y., Xu S., Wang R., Yue M., Tian Y., Li X., Zhao Y., Gong P. Design, synthesis and biological evaluation of new Axl kinase inhibitors containing 1,3,4-oxadiazole acetamide moiety as novel linker // *Eur. J. Med. Chem.*, 2020, Vol. 186, e111867
75. Ho T., Chan A., Ganesan A. Thirty years of HDAC inhibitors: 2020 hindsight // *J. Med. Chem.*, 2020, Vol. 63, P. 12460–12484
76. Shen S., Hadley M., Ustinova K., Pavlicek J., Knox T., Noonepalle S., Tavares M.T., Zimprich C.A., Zhang G., Robers M.B., Bařinka C., Kozikowski A.P., Villagra A. Discovery of a New Isoxazole-3-hydroxamate-Based Histone Deacetylase 6 Inhibitor SS-208 with Antitumor Activity in Syngeneic Melanoma Mouse Models // *J. Med. Chem.*, 2019, Vol. 62, P. 8557–8577
77. Gaisina I.N., Tueckmantel W., Ugolkov A., Shen S., Hoffen J., Dubrovskiy O., Mazar A., Schoon R.A., Billadeau D., Kozikowski A.P. Identification of HDAC6-Selective Inhibitors of Low Cancer Cell Cytotoxicity // *ChemMedChem*, 2016, Vol. 11, P. 81–92
78. Reddy C.B.R., Reddy S.R., Suthindhiran K., Sivakumar A. HDAC and NF-κB mediated cytotoxicity induced by novel N-Chloro blactams and benzisoxazole derivatives // *Chem.-Bio. Interactions*, 2016, Vol. 246, P. 69–76

79. Ashwini N., Garg M., Mohan C.D., Fuchs J.E., Rangappa S., Anusha S., Swaroop T.R., Rakesh K.S., Kanojia D., Madan V., Bender A., Koeffler H.P., Basappa, Rangappa K.S. Synthesis of 1,2-Benzisoxazole Tethered 1,2,3-Triazoles That Exhibit Anticancer Activity in Acute Myeloid Leukemia Cell Lines by Inhibiting Histone Deacetylases, and Inducing p21 and Tubulin Acetylation // *Bioorg. Med. Chem.*, 2015, Vol. 23, 6157–6165
80. Liu Z., Wang P., Chen H., Wold E.A., Tian B., Brasier A.R., Zhou J. Drug Discovery Targeting Bromodomain-Containing Protein 4 (BRD4) // *J. Med. Chem.*, 2017, Vol. 60, P. 4533–4558
81. Dawson M.A., Prinjha R.K., Dittmann A., Giotopoulos G., Bantscheff M., Chan W.-I., Robson S.C., Chung C.-W., Hopf C., Savitski M.M., Huthmacher C., Gudgin E., Lugo D., Beinke S., Chapman T.D., Roberts E.J., Soden P.E., Auger K.R., Mirguet O., Doehner K., Delwel R., Burnett A.K., Jeffrey P., Drewes G., Lee K., Huntly B.J.P., Kouzarides T. Inhibition of BET recruitment to chromatin as an effective treatment for MLL-fusion leukaemia // *Nature*, 2011, Vol. 478, P. 529–533
82. Zuber J., Shi J., Wang E., Rappaport A.R., Herrmann H., Sison E.A., Magoon D., Qi J., Blatt K., Wunderlich M., Taylor M.J., Johns C., Chicas A., Mulloy J.C., Kogan S.C., Brown P., Valent P., Bradner J.E., Lowe S.V., Vakoc C.R. RNAi screen identifies Brd4 as a therapeutic target in acute myeloid leukaemia // *Nature*, 2011, Vol. 478, P. 524–528
83. Hu Q., Wang C., Xiang Q., Wang R., Zhang C., Zhang M., Xue X., Luo G., Liu X., Wu X., Zhang Y., Wu D., Xu Y. Discovery and optimization of novel N-benzyl-3,6-dimethylbenzo[d] isoxazol-5-amine derivatives as potent and selective TRIM24 bromodomain inhibitors with potential anti-cancer activities // *Bioorg. Chem.*, 2020, Vol. 94, e103424
84. Zhang M., Zhang Y., Song M., Xue X., Wang J., Wang C., Zhang C., Li C., Xiang Q., Zou L., Wu X., Wu C., Dong B., Xue W., Zhou Y., Chen H., Wu D., Ding K., Xu Y. Structure-Based Discovery and Optimization of Benzo[d]isoxazole Derivatives as Potent and Selective BET Inhibitors for Potential Treatment of Castration-Resistant Prostate Cancer (CRPC) // *J. Med. Chem.*, 2018, Vol. 61, P. 3037–3058
85. Hewings D.S., Fedorov O., Filippakopoulos P., Martin S., Picaud S., Tumber A., Wells C., Olcina M.M., Freeman K., Gill A., Ritchie A.J., Sheppard D.W., Russell A.J., Hammond E.M., Knapp S., Brennan P.E., Conway S.J. Optimization of 3,5-Dimethylisoxazole Derivatives as Potent Bromodomain Ligands // *Med. Chem.*, 2013, Vol. 56, P. 3217–3227

86. Zhang Z., Hou S., Chen H., Ran T., Jiang F., Bian Y., Zhang D., Zhi Y., Wang L., Zhang L., Li H., Zhang Y., Tang W., Lu T., Chen Y. Targeting epigenetic reader and eraser: Rational design, synthesis and in vitro evaluation of dimethylisoxazoles derivatives as BRD4/HDAC dual inhibitors // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2016, Vol. 26, P. 2931–2935
87. Xue X., Zhang Y., Wang C., Zhang M., Xiang Q., Wang J., Wang A., Li C., Zhang C., Zou L., Wang R., Wu S., Lu Y., Chen H., Ding K., Li G., Xu Y. Benzoxazinone-containing 3,5-dimethylisoxazole derivatives as BET bromodomain inhibitors for treatment of castration-resistant prostate cancer // *Eur. J. Med. Chem.*, 2018, Vol. 152, P. 542–559
88. Yang Y., Fang L., Chen P., Zhang H., Zhou J. Identification of 3,5-Dimethylisoxazole Derivatives as BRD4 Inhibitors for the Treatment of Colorectal Cancer // *ACS Med. Chem. Lett.*, 2020, Vol. 11, P. 2174–2181
89. Brose N., Rosenmund C. Move over protein kinase C, you've got company: alternative cellular effectors of diacylglycerol and phorbol esters // *J. Cell Science*, 2002, Vol. 115, P. 4399–4411
90. Wagner E., Wietrzyk J., Psurski M., Becan L., Turlej E. Synthesis and Anticancer Evaluation of Novel Derivatives of Isoxazolo[4,5-e][1,2,4]triazepine Derivatives and Potential Inhibitors of Protein Kinase C // *ACS Omega*, 2021, Vol. 6, P. 119–134
91. Amaral C.L., Freitas L.B., Tamura R.E., Tavares M.R., Pavan I.C.B., Bajgelman M.C., Simabuco F.M. S6Ks isoforms contribute to viability, migration, docetaxel resistance and tumor formation of prostate cancer cells // *BMC Cancer*, 2016, Vol. 16, P. 602–611
92. Aktaş D.A., Akinalp G., Sanli F., Yucel M.A., Gambacorta N., Nicolotti O., Karatas O.F., Algul O., Burmaoglu S. Design, synthesis and biological evaluation of 3,5-diaryl isoxazole derivatives as potential anticancer agents // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2020, Vol. 30, e127427
93. Dennis E.A., Cao J., Hsu J.-H., Magrioti V., Kokotos G. Phospholipase A2 Enzymes: Physical Structure, Biological Function, Disease Implication, Chemical Inhibition, and Therapeutic Intervention // *Chem. Rev.*, 2011, Vol. 111, P. 6130–6185
94. Pedada S.R., Yarla N.S., Tambade P.J., Dhananjaya B.L., Bishayee A., Arunasree K.M., Philip G.H., Dharmapuri G., Aliev G., Putta S., Rangaiah G. Synthesis of new secretory phospholipase A2-inhibitory indole containing isoxazole derivatives as anti-inflammatory and anticancer agents // *Eur. J. Med. Chem.*, 2016, Vol. 112, P. 289–297

95. Tomala M.D., Magiera-Mularz K., Kubica K., Krzanik S., Zieba B., Musielak B., Pustula M., Popowicz G.M., Sattler M., Dubin G., Skalniak L., Holak T.A. Identification of small-molecule inhibitors of USP2a // *Eur. J. Med. Chem.*, 2018, Vol. 150, P. 261–267
96. Ji Z., Dai Y., Abad-Zapatero C., Albert D.H., Bouska J.J., Glaser K.B., Marcotte P.A., Soni N.B., Magoc T.J., Stewart K.D., Wei R.-Q., Davidsen S.K., Michaelides M.R. Exploration of diverse hinge-binding scaffolds for selective Aurora kinase inhibitors // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2012, Vol. 22, P. 4528 – 4531
97. Karandikar S., Soni R., Soman S.S., Umar S., Suresh B. 1,2-Benzisoxazole-3-acetamide derivatives as dual agents for DPP-IV inhibition and anticancer activity // *Synth. Comm.*, 2018, Vol. 48, P. 2877 – 2887
98. Bavetsias V., Linardopoulos S. Aurora Kinase inhibitors: Current Status and Outlook // *Front. Oncol.*, 2015, Vol. 5, P. 278–288
99. Juillerat-Jeanneret L. Dipeptidyl Peptidase IV and Its Inhibitors: Therapeutics for Type 2 Diabetes and What Else? // *J. Med. Chem.*, 2014, Vol. 57, P. 2197–2212
100. Pippione A.C., Carnovale I.M., Bonanni D., Sini M., Goyal P., Marini E., Pors K., Adinolfi S., Zonari D., Festuccia C., Wahlgren W.Y., Friemann R., Bagnati R., Boschi D., Oliaro-Bosso S., Lolli M.L. Potent and selective aldo-keto reductase 1C3 (AKR1C3) inhibitors based on the benzoisoxazole moiety: application of a bioisosteric scaffold hopping approach to flufenamic acid // *Eur. J. Med. Chem.*, 2018, Vol. 150, P. 930–945
101. Tumma R., Vamaraju H.B. Design, synthesis, molecular docking, and biological evaluation of pyrazole 1-carbothiamide incorporated isoxazole derivatives // *Asian J. Pharm. Clinical Res.*, 2019, Vol. 12, P. 245 – 250
102. Radhika T., Vijay A., Harinadha B.V., Madhavareddy B. Design, Synthesis, Molecular Docking Studies, and Biological Evaluation of Pyrazoline Incorporated Isoxazole Derivatives // *Russ. J. Bioorg. Chem.*, 2020, Vol. 46, P. 429–437.
103. Arooj M., Sakkiah S., Cao G.P., Lee K.W. An Innovative Strategy for Dual Inhibitor Design and Its Application in Dual Inhibition of Human Thymidylate Synthase and Dihydrofolate Reductase Enzymes // *PLoS ONE*, 2013, Vol. 8, e60470
104. Supuran C.T., Alterio V., Fiore A.D., D'Ambrosio K., Carta F., Monti S.M., De Simone G. Inhibition of carbonic anhydrase IX targets primary tumors, metastases, and cancer stem cells: Three for the price of one // *Med. Res. Rev.*, 2018, P. 1–38.

105. D'Ascenzio m., Secci D., Carradori S., Zara S., Guglielmi P., Cirilli R., Pierini M., Poli G., Tuccinardi T., Angeli A., Supuran C.T. 1,3-Dipolar Cycloaddition, HPLC Enantioseparation, and Docking Studies of Saccharin/Isoxazole and Saccharin/Isoxazoline Derivatives as Selective Carbonic Anhydrase IX and XII Inhibitors // *J. Med. Chem.*, 2020, Vol. 63, P. 2470–2488
106. Ghorab M.M., Bashandy M.S., Alsaied M.S. Novel thiophene derivatives with sulfonamide, isoxazole, benzothiazole, quinoline and anthracene moieties as potential anticancer agents // *Acta Pharm.*, 2014, Vol. 64, P. 419–431
107. Ravula S., Bobbala R.R., Kolli B. Synthesis of novel isoxazole functionalized pyrazolo[3,4-b] pyridine derivatives; their anticancer activity // *J. Het. Chem.*, 2020, Vol. 57, P. 2535–2538
108. Zhang C.-H., Chen K., Jiao Y., Li L.-L., Li Y.-P., Zhang R.-J., Zheng M.-W., Zhong L., Huang S.-Z., Song C.-L., Lin W.-T., Yang J., Xiang R., Peng B., Han J.-H., Lu G.-W., Wei Y.-Q., Yang S.-Y. From Lead to Drug Candidate: Optimization of 3-(Phenylethynyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-amine Derivatives as Agents for the Treatment of Triple Negative Breast Cancer // *J. Med. Chem.*, 2016, Vol. 59, P. 9788–9805
109. Kumar R.N., Dev G.J., Ravikumar N., Swaroop D.K., Debanjan B., Bharath G., Narsaiah B., Jain S.N., Rao A.G. Synthesis of novel triazole/isoxazole functionalized 7-(trifluoromethyl) pyrido [2,3-d]pyrimidine derivatives as promising anticancer and antibacterial agents // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2016, Vol. 26, P. 2927–2930
110. Venkatesha E., Narsimhab S., Kumarb N.S., Reddy N.V. One Pot Synthesis and Antitumor Activity of Isoxazole-Pyrimido[4,5-c]isoquinolines // *Russ. J. Gen. Chem.*, 2020, Vol. 90, P. 2444–2450
111. Wang A., Li X., Chen C., Wu H., Qi Z., Hu C., Yu K., Wu J., Liu J., Liu X., Hu Z., Wang W., Wang W., Wang W., Wang L., Wang B., Liu Q., Li L., Ge J., Ren T., Zhang S., Xia R., Liu J., Liu Q. Discovery of 1-(4-(4-Amino-3-(4-(2-morpholinoethoxy)-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)phenyl)-3-(5-(tertbutyl)isoxazol-3-yl)urea (CHMFL-FLT3-213) as a Highly Potent Type II FLT3 Kinase Inhibitor Capable of Overcoming a Variety of FLT3 Kinase Mutants in FLT3-ITD Positive AML // *J. Med. Chem.*, 2017, Vol. 60, P. 8407–8424
112. Hamama W.S., Ibrahim M.E., Zoorob H.H.. Efficient Regioselective Synthesis and Potential Antitumor Evaluation of Isoxazolo[5,4-b]pyridines and Related Annulated Compounds // *Archiv der Pharmazie*, 2012, Vol. 345, P. 468–475

113. Wagner E., Al-Kadasi K., Becan L., Sawka-Dobrowolskab W. Synthesis and Pharmacological Screening of Derivatives of Isoxazolo[4,3-d]pyrimidine and Isoxazolo[4,5-d]pyrimidine // *J. Het. Chem.*, 2010, Vol. 47, P. 677–682
114. Wagner E., Becan L. Synthesis of New Isoxazolo[4,5-d]pyrimidines as Antitumor Agents // *J. Het. Chem.*, 2018, Vol. 55, P. 1880–1885
115. Hamama W.S., Ibrahim M.E., Zoorob H.H. Synthesis and In Vitro Antitumor Activity of New Isoxazolo[5,4-d]Pyrimidine Systems // *J. Het. Chem.*, 2016, Vol. 53, P. 2007–2012
116. Reddy K.R., Rao P.S., Dev G.J., Poornachandra Y., Kumar S.G., Rao P.S., Narsaiah B. Synthesis of novel 1,2,3-triazole/isoxazole functionalized 2H-Chromene derivatives and their cytotoxic activity // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2014, Vol. 24, P. 1661–1663
117. Abdellatif K.R.A., Abdelgawad M.A., Elshemya H.A.H., Kahka N.M., El Amird D.M. Design, Synthesis, Antioxidant and Anticancer Activity of New Coumarin Derivatives Linked with Thiazole, Isoxazole or Pyrazole Moiety // *Lett. Drug Des. Discovery*, 2017, Vol. 14, P. 773–781
118. Azhi L.B., Popovski E., Hari A.J., Imeri F., Ibrahim I., Mikhova B. Mladenovska K.I. Potential antiproliferative effect of isoxazolo- and thiazolo coumarin derivatives on breast cancer mediated bone and lung metastases // *Acta Pharm.*, 2015, Vol. 65, P. 53–63
119. Jashari A., Imeri F., Ballazhi L., Shabani A., Mikhova B., Dräger G., Popovski E., Huwiler A. Synthesis and cellular characterization of novel isoxazolo- and thiazolohydrazinylidene-chroman-2,4-diones on cancer and non-cancer cell growth and death // *Bioorg. Med. Chem.*, 2014, Vol. 22, P. 2655–2661
120. Wang Y., Liu H., Lu P., Mao R., Xue X., Fan C., She J. Design, Synthesis, and In Vitro Evaluation of Novel 3, 7-Disubstituted Coumarin Derivatives as Potent Anticancer Agents // *Chem. Biol. Drug. Des.*, 2015; Vol. 86, P. 637–647
121. Jin P.-P., Liu X.-C., Liu D.-Q., Huang Z.-B., Shi D.-Q. An Efficient Synthesis of Chromeno[4,3-d]isoxazolo[5,4-b]pyridin-6-one Derivatives // *J. Het. Chem.*, 2015, Vol. 52, P. 1625 – 1630
122. Ibrahim M.E., Hamama W.S., Metwalli A.E., Zoorob H.H.. Chemoselective Synthesis of Enamino-Coumarin Derivatives Identified as Potent Antitumor Agents // *J. Het. Chem.*, 2016, Vol. 53, P. 1318 – 1323
123. Shakeel-u-Rehman, Masood-ur-Rahman, Tripathi V.K., Singh J., Ara T., Koul S., Farooq S., Kaul A. Synthesis and biological evaluation of novel isoxazoles and triazoles linked 6-

- hydroxycoumarin as potent cytotoxic agents // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2014, Vol. 24, P. 4243–4246
124. Shi W., Hu J., Bao N., Li D., Chen L., Sun J. Design, synthesis and cytotoxic activities of scopoletin-isoxazole and scopoletin-pyrazole hybrids // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2017, Vol. 27, P. 147–151
  125. Maloney A., Workman P. HSP90 as a new therapeutic target for cancer therapy: the story unfolds // *Expert. Opin. Biol. Ther.*, 2002, Vol. 2, P. 3–24
  126. Didelot C., Lanneau D., Brunet M., Joly A.-L., De Thonel A., Chiosis G., Garrido C. Anti-Cancer Therapeutic Approaches Based on Intracellular and Extracellular Heat Shock Proteins // *Curr. Med. Chem.*, 2007, Vol. 14, P. 2839–2847
  127. Dymock B.W., Barril X., Brough P.A., Cansfield J.E., Massey A., McDonald E., Hubbard R.E., Surgenor A., Roughley S.D., Webb P., Workman P., Wright L., Drysdale M.L. Novel, Potent Small-Molecule Inhibitors of the Molecular Chaperone Hsp90 Discovered through Structure-Based Design // *J. Med. Chem.*, 2005, Vol. 48, P. 4212–4215
  128. Brough P.A., Aherne W., Barril X., Borgognoni J., Boxall K., Cansfield J.E., Cheung K.-M.J., Collins I., Davies N.G.M., Drysdale M.J., Dymock B., Eccles S.A., Finch H., Fink A., Hayes A., Howes R., Hubbard R.E., James K., Jordan A.M., Lockie A., Martins V., Massey A., Matthews T.P., McDonald E., Northfield C.J., Pearl L.H., Prodromou C., Ray S., Raynaud F.I., Roughley S.D., Sharp S.Y., Surgenor A., Walmsley D.L., Webb P., Wood M., Workman P., Wright L. 4,5-Diarylisoxazole Hsp90 Chaperone Inhibitors: Potential Therapeutic Agents for the Treatment of Cancer // *J. Med. Chem.*, 2008, Vol. 51, P. 196–218
  129. Biamonte M.A., de Water R.V., Arndt J.W., Scannevin R.H., Perret D., Lee W.-C. Heat Shock Protein 90: Inhibitors in Clinical Trials // *J. Med. Chem.*, 2010, Vol. 53, P. 3–17
  130. Chiang N.J., Wu S.-N., Kao C.-A., Huang Y.-M., Chen L.-T. Stimulation of electroporation-induced inward currents in glioblastoma cell lines by the heat shock protein inhibitor AUY922 // *Clin. Exp. Pharm. Phys.*, 2014, Vol. 41, P. 830–837
  131. Taniguchi H., Hasegawa H., Sasaki D., Ando K., Sawayama Y., Imanishi D., Taguchi J., Imaizumi Y., Hata T., Tsukasaki K., Uno N., Morinaga Y., Yanagihara K., Miyazaki Y. Heat shock protein 90 inhibitor NVP-AUY922 exerts potent activity against adult T-cell leukemia–lymphoma cells // *Cancer Science*, 2014, Vol. 105, P. 1601–1608

132. Huang J., Sun C., Zhang T., Pan L., Wang S., He Q., Li D. Potent antitumor activity of HSP90 inhibitor AUY922 in adrenocortical carcinoma // *Tumor Biology*, 2014, Vol. 35, P. 8193–8199
133. Kim S.H., Kang J.G., Kim C.S., Ihm S.-H., Gi Choi M., Yoo H.J., Lee S.J. Novel Heat Shock Protein 90 Inhibitor NVP-AUY922 Synergizes With the Histone Deacetylase Inhibitor PXD101 in Induction of Death of Anaplastic Thyroid Carcinoma Cells // *J. Clinical Endocrin. Metab.*, 2015, Vol. 100, P. 253–261
134. Hashida S., Yamamoto H., Shien K., Ohtsuka T., Suzawa K., Maki Y., Furukawa M., Soh J., Asano H., Tsukuda K., Miyoshi S., Kanazawa S., Toyooka S. Hsp90 inhibitor NVP-AUY922 enhances the radiation sensitivity of lung cancer cell lines with acquired resistance to EGFR-tyrosine kinase inhibitors // *Onc. Rep.*, 2015, Vol. 33, P.1499–1504
135. Steinmann S., Gali-Muhtasi H., Huebner K., Al-Halabi R., Merhi R.A., Aman P., Agaimy A., Haller F., Schneider-Stock R. Hsp90 inhibition by AUY922 as an effective treatment strategy against myxoid liposarcoma // *Cancer Letters*, 2015, Vol. 367, P. 147–156
136. Baruchello R., Simoni D., Grisolia G., Barbato G., Marchetti P., Rondanin R., Mangiola S., Giannini G., Brunetti T., Alloatti D., Gallo G., Ciacci A., Vesci L., Castorina M., Milazzo F.M., Cervoni M.L., Guglielmi M.B, Barbarino M., Foderà R., Pisano C., Cabri W. Novel 3,4-Isoxazolidiamides as Potent Inhibitors of Chaperone Heat Shock Protein 90† // *J. Med. Chem.*, 2011, Vol. 54, P. 8592–8604
137. Jung J., Kwon J., Hong S., Moon A.-N., Jeong J., Kwon S., Kim J.-a., Lee M., Lee H., Lee J.H., Lee L. Discovery of novel heat shock protein (Hsp90) inhibitors based on luminespib with potent antitumor activity // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2020, Vol. 30, e127165
138. Meng T., Zhang D., Xie Z., Yu T., Wu S., Wyder L., Regenass U., Hilpert K., Huang M., Geng M., Shen J. Discovery and Optimization of 4,5-Diarylisoaxazoles as Potent Dual Inhibitors of Pyruvate Dehydrogenase Kinase and Heat Shock Protein 90 // *J. Med. Chem.*, 2014, Vol. 57, P. 9832–9843
139. Brasca M.G., Mantegani S., Amboldi N., Bindi S., Caronni D., Casale E., Ceccarelli W., Colombo N., De Ponti A., Donati D., Ermoli A., Fachin G., Felder E.R., Ferguson R.D., Fiorelli C., Guanci M., Isacchi A., Pesenti E., Polucci P., Riceputi L., Sola F., Visco C., Zuccotto F., Fogliatto G. Discovery of NMS-E973 as novel, selective and potent inhibitor of heat shock protein 90 (Hsp90) // *Bioorg. Med. Chem.*, 2013, Vol. 21, P. 7047–7063

140. Fogliatto G., Gianellini L., Brasca M.G., Casale E., Ballinari D., Ciomei M., Degrassi A., De Ponti A., Germani M., Guanci M., Paolucci M., Polucci P., Russo M., Sola F., Valsasina B., Visco C., Zuccotto F., Donati D., Felder E., Pesenti E., Galvani A., Mantegani S., Isacchi A. NMS-E973, a Novel Synthetic Inhibitor of Hsp90 with Activity against Multiple Models of Drug Resistance to Targeted Agents, Including Intracranial Metastases // *Clin. Cancer Res.*, 2013, Vol. 19, P. 3520–3532
141. Taldone T., Zatorska D., Patel P.D., Zong H., Rodina A., Ahn J.H., Moulick K., Guzman M.L., Chiosis G. Design, synthesis, and evaluation of small molecule Hsp90 probes // *Bioorg. Med. Chem.*, 2011, Vol.19, P. 2603–2614
142. Geng K., Liu H., Song Z., Zhang C., Zhang M., Yang H., Cao J., Geng M., Shen A., Zhang A. Design, synthesis and pharmacological evaluation of ALK and Hsp90 dual inhibitors bearing resorcinol and 2,4-diaminopyrimidine motifs // *Eur. J. Med. Chem.*, 2018, Vol. 152, P. 76–86
143. Zhu S., Shen Q., Gao Y., Wang L., Fang Y., Chen Y., Lu W. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of HSP90 Inhibitor–SN38 Conjugates for Targeted Drug Accumulation // *J. Med. Chem.*, 2020, Vol. 63, P. 5421–5441
144. Gopalsamy A., Shi M., Golas J., Vogan E., Jacob J., Johnson M., Lee F., Nilakantan R., Petersen R., Svenson K., Chopra R., Tam M.S., Wen Y., Ellingboe J., Arndt K., Boschelli F. Discovery of Benzisoxazoles as Potent Inhibitors of Chaperone Heat Shock Protein 90 // *J. Med. Chem.*, 2008, Vol. 51, P. 373–375
145. Musso L., Cincinelli R., Giannini G., Manetti F., Dallavalle S. Synthesis of 5,6-dihydro-4H-benzo[d]isoxazol-7-one and 5,6-dihydro-4H-isoxazolo[5,4-c]pyridin-7-one Derivatives as Potential Hsp90 Inhibitors // *Chem. Biol. Drug Design*, 2015, Vol. 86, P. 1030–1035
146. Benites J., Valderrama J.A., Ramos M., Muccioli G.G., Calderon P.B. Targeting Akt as strategy to kill cancer cells using 3-substituted 5-anilinobenzo[c]isoxazolequinones: A preliminary study // *Biomed. Pharmacotherapy*, 2018, Vol. 97, P. 778–783
147. Bargiotti A., Musso L., Dallavalle S., Merlini L., Gallo G., Ciacci A., Giannini G., Cabri W., Penco S., Vesci L., Castorina M., Milazzo F.M., Cervoni M.L., Barbarino M., Pisano C., Giommarelli C., Zuco V., De Cesare M., Zunino F. Isoxazolo(aza)naphthoquinones: A new class of cytotoxic Hsp90 inhibitors // *Eur. J. Med. Chem.*, 2012, Vol. 53, P. 64–75
148. Shin S.C., El-Damasy A.K., Lee J.H., Seo S.H., Kim J.H., Seo Y.H., Lee Y., Yu J.H., Bang E.K., Kim E.E., Keum G. Structural Basis for Design of New Purine-Based

Inhibitors Targeting the Hydrophobic Binding Pocket of Hsp90 // *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, Vol. 21, P. 9377

149. Sysak A., Obminska-Mrukowicz B. Isoxazole ring as a useful scaffold in a search for new therapeutic agents // *Eur. J. Med. Chem.*, 2017, Vol. 137, P. 292–309.
150. Giomi D., Cordero F.M., Machetti F. // *Comprehensive Heterocyclic Chemistry III*. 2008, Vol. 4, P. 367–473.
151. Cordero F.M., Giomi D., Lascialfari L. Chapter 5.7 – Five-Membered Ring Systems: With O and N Atoms // *Prog. Heterocycl. Chem.*, 2015, Vol. 27, P. 321–350.
152. Volkova Y.A., Averina E.B., Vasilenko D.A., Sedenkova K.N., Grishin Y.K., Bruheim P., Kuznetsova T.S., Zefirov N.S. Unexpected Heterocyclization of Electrophilic Alkenes by Tetranitromethane in the Presence of Triethylamine. Synthesis of 5-Nitroisoxazoles // *J. Org. Chem.*, 2019, Vol. 84, P. 3192–3200.
153. Sun M., Hong C.-Y., Pan C.-Y. A unique aliphatic tertiary amine chromophore: Fluorescence, polymer structure, and application in cell imaging // *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, Vol. 134, P. 20581–20584.
154. Averina E.B., Vasilenko D.A., Samoilenko Y.V., Grishin Y.K., Rybakov V.B., Kuznetsova T.S., Zefirov N.S. Chemoselective Reduction of Functionalized 5-Nitroisoxazoles: Synthesis of 5-Amino- and 5-[Hydroxy(tetrahydrofuran-2-yl)amino]isoxazoles // *Synthesis*, 2014, Vol. 46, P. 1107–1113.
155. Temnyakova N.S., Vasilenko D.A., Lavrov M.I., Karlov D.S., Grishin Y.K., Zamoyski V.L., Grigoriev V.V., Averina E.B., Palyulin V.A. Novel bivalent positive allosteric AMPA receptor modulator of bis-amide series // *Mend. Comm.*, 2021, Vol. 31, P. 216–218.
156. Nazarova A.A., Sedenkova K.N., Karlov D.S., Lavrov M.I., Grishin Y.K., Kuznetsova T.S., Zamoyski V.L., Grigoriev V.V., Averina E.B., Palyulin V.A. Bivalent AMPA receptor positive allosteric modulators of the bis(pyrimidine) series // *Med. Chem. Commun.*, 2019, Vol. 10, P. 1615–1619.
157. Radchenko E.V., Tarakanova A.S., Karlov D.S., Lavrov M.I., Palyulin V.A. Ligands of the AMPA-subtype glutamate receptors: Mechanisms of action and novel chemotypes // *Biomed. Khim.*, 2021, Vol. 67, P. 187–200.
158. Zimecki M., Bachor U., Maczynski M. Isoxazole derivatives as regulators of immune functions // *Molecules*, 2018, Vol. 23, P. 2724.

159. Pérez J.D., Wunderlin D.A. Flash vacuum pyrolysis of some 4-nitroisoxazoles // *J. Org. Chem.*, 1987, Vol. 52, P. 3637–3640.
160. Nepali K., Lee H.-Y., Liou J.-P. Nitro-Group-Containing Drugs // *J. Med. Chem.*, 2019, Vol. 62, P. 2851–2893.
161. Meketa M.L., Weinreb S.M., Nakao Y., Fusetani N. Application of a  $6\pi$ -1-Azatriene Electrocyclization Strategy to the Total Synthesis of the Marine Sponge Metabolite Ageladine A and Biological Evaluation of Synthetic Analogues // *J. Org. Chem.*, 2007, Vol. 72, P. 4892–4899.
162. Katla j., Kanvah S. Styrylisoxazole based Fluorescent Probes for the Detection of Hydrogen Sulfide // *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2018, Vol. 17, P. 42–50.
163. Kawai H., Tachi K., Tokunaga E., Shiro M., Shibata N. Trifluoromethylation of Aromatic Isoxazoles: Regio- and Diastereoselective Route to 5-Trifluoromethyl-2-isoxazolines // *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2011, Vol. 50, P. 7803–7806.
164. Tanaka K., Chujo Y. Recent progress of optical functional nanomaterials based on organoboron complexes with  $\beta$ -diketonate, ketoiminate and diiminate // *NPG Asia Materials*, 2015, Vol. 7, e223
165. Abdelrahman M.S., Mohamed H.A. Boron Difluoride Complex Dyes: Synthesis and Photophysical Properties // *J. Text. Color. Polym. Sci.*, 2020, Vol. 17, P. 43–55
166. Chen P.-Z., Niu L.-Y., Chen Y.-Z., Yang Q.-X. Difluoroboron  $\beta$ -diketonate dyes: Spectroscopic properties and applications // *Coord. Chem. Rev.*, 2017, P. 360–196
167. Jiang X.-D., Shao Z., Sun C., Yue S., Shang R., Yamamoto Y. Development of aryl-containing dipyrrolyldiketone difluoroboron complexes (BONEPYs): Tune the hydrogen bond  $o\text{-C-H}\cdots\text{F}$  for fluoride recognition // *Chin. Chem. Lett.*, 2020, Vol. 31, P. 1317–1321
168. Sugiura S., Kobayashi Y., Yasuda N., Maeda H. Multiply aryl-substituted dipyrrolyldiketone boron complexes exhibiting anion-responsive emissive properties // *Chem. Commun.*, 2019, Vol. 55, P. 8242–8245
169. Kaname S., Haketa Y., Yasuda N., Maeda H. Cyclic Anion-Responsive  $\pi$ -Electronic Molecules That Overcome Energy Losses Induced by Conformation Changes // *Org. Lett.*, 2018, Vol. 20, P. 3268–3272

170. Watanabe Y., Haketa Y., Nakamura K., Kaname S., Yasuda N., Maeda H. Arylethynyl Groups That Modulate Anion-Binding and Assembling Modes of Rod- and Fan-Shaped p-Electronic Systems // *Chem. Eur. J.*, 2020, Vol. 26, P. 6767–6772
171. Kuno A., Fujiwara M., Haketa Y., Maeda H. Arylpyrrolyldiketone Boron Complexes Exhibiting Various Anion-Binding Modes Based on Dynamic Conformation Changes // *Chem. Asian J.*, 2019, Vol. 14, P. 1777–1785
172. Mamiya M., Suwa Y., Okamoto H., Yamaji M. Preparation and photophysical properties of fluorescent difluoroboronated  $\beta$ -diketones having phenanthrene moieties studied by emission and transient absorption measurements // *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2016, Vol. 15, P. 278–286
173. Liu C., Zhang H., Zhao J. Synthesis, characterization and properties of furancontaining difluoroboron complexes // *RSC Adv.*, 2016, Vol. 6, P. 92341–92348
174. Stefane B. Selective Addition of Organolithium Reagents to  $\text{BF}_2$ -Chelates of  $\beta$ -Ketoesters // *Org. Lett.*, 2010, Vol. 12, P. 2900–2903
175. DeRosa C.A., Kolpaczynska M., Kerr C., Daly M.L., Morris W.A., Fraser C.A. Oxygen-Sensing Difluoroboron Thienyl Phenyl  $\beta$ -Diketonate Polylactides // *ChemPlusChem*, 2017, Vol. 82, P. 399–406
176. Kolpaczynska M., DeRosa C.A., Morris W.A., Fraser C.L. Thienyl Difluoroboron  $\beta$ -Diketonates in Solution and Polylactide Media // *Aust. J. Chem.*, 2016, Vol. 69, P. 537–545
177. Poon C.-T., Lam W.H., Yam V.W.-W. Synthesis, Photochromic, and Computational Studies of Dithienylethene-Containing  $\beta$ -Diketonate Derivatives and Their Near-Infrared Photochromic Behavior Upon Coordination of a Boron (III) Center // *Chem. Eur. J.*, 2013, Vol. 19, P. 3467–3476
178. Fan L., Wang D., Liu H., Wang D.-J., Yin G.-D. Preparation and photophysical properties of thienothiophene functionalized difluoroboron bis- $\beta$ -diketonate complexes // *Spectrochimica Acta Part A*, 2018, Vol. 204, P. 525–531
179. Liu H., Yang J.-H., Lin L., Wang D.-J., Fan L., Hu Y.-J. Synthesis, characterization, and photoluminescence properties of difluoroboron complexes with bis- $\beta$ -diketone ligands // *Res. Chem. Intermed.*, 2016, Vol. 42, P. 2857–2866

180. Jimenez R., Duarte F., Nuti S., Campo J.A., Lodeiro C., Cano M., Cuerva C. Thermo-chromic and acidochromic properties of polymer films doped with pyridyl- $\beta$ -diketonate boron(III) complexes // *Dyes Pigm.*, 2020, Vol. 177, e108272
181. Baraldi P.G., Simoni D., Moroder F., Manfredini S., Mucchi L., Dalla Vecchia F., Orsolini P. Synthesis of 2-(5'-substituted isoxazol-3'-yl)-4-oxo-3-thiazolidinylalkanoic acids // *J. Heterocyclic Chem.*, 1982, Vol. 19, P. 557–560
182. Huang D., Huang M., Liu W., Liu A., Liu X., Chen X., Wang, X. Design, synthesis and biological evaluation of 1H-pyrazole-5-carboxamide derivatives as potential fungicidal and insecticidal agents // *Chem. Pap.*, 2017, Vol. 71, P. 2053–2061
183. Lorton C., Roblin A., Retailleau P., Voituriez A. Synthesis of Functionalized Cyclobutenes and Spirocycles via Asymmetric P(III)/P(V) Redox Catalysis // *Adv. Synth. Catal.*, 2021, Vol. 363, P. 4805–4810
184. Vasilenko D.A., Dronov S.E., Parfiryev D.U., Sadovnikov K.S., Sedenkova K.N., Grishin Y.K., Rybakov V.B., Kuznetsova T.S., Averina E.B. 5-Nitroisoxazoles in S<sub>N</sub>Ar reactions: access to polysubstituted isoxazole derivatives // *Org. Biomol. Chem.*, 2021, Vol. 19, P. 6447–6454
185. Duan J., Zhang L.H., Dolbier W.R. A Convenient New Method for the Bromination of Deactivated Aromatic Compounds // *Synlett*, 1999, P. 1245–1246
186. Datta R.L., Chatterjee N.R. Halogenation. XVIII. Direct ionization by means of iodine and nitric acid // *J. Am. Chem. Soc.*, 1919, Vol. 41, P. 292–295
187. Spano V., Barreca M., Rocca R., Bortolozzi R., Bai R., Carbone A., Raimondi M.V., Piccionello A.P., Montalbano A, Alcaro S., Hamel E., Viola G., Barraja P. Insight on [1,3]thiazolo[4,5-e]isoindoles as tubulin polymerization inhibitors // *Eur. J. Med. Chem.*, 2021, Vol. 212, 113122.
188. Seddigi Z.S., Malik M.S., Saraswati A.P., Ahmed S.A., Babalghith A.O., Lamfon H.A., Kamal A. Recent advances in combretastatin based derivatives and prodrugs as antimitotic agents // *Med. Chem. Comm.*, 2017, Vol. 8, P. 1592–1603.
189. Wang G., Liu W., Peng Z., Huang Y., Gong Z., Li Y. Design, synthesis, molecular modeling, and biological evaluation of pyrazole-naphthalene derivatives as potential anticancer agents on MCF-7 breast cancer cells by inhibiting tubulin polymerization // *Bioorg. Chem.*, 2020, Vol. 103, 104141

190. Oskuei S.R., Mirzaei S., Jafari-Nik M.R., Hadizadeh F., Eivsand F., Mosaffa F., Ghodsi R. Design, synthesis and biological evaluation of novel imidazole-chalcone derivatives as potential anticancer agents and tubulin polymerization inhibitors // *Bioorg. Chem.*, 2021, Vol. 112, 104904
191. Li Y.-W., Liu J., Liu N., Shi D., Zhou X.-T., Lv J.-G., Zhu J., Zheng C.-H., Zhou Y.-J. Imidazolone–amide bridges and their effects on tubulin polymerization in cis-locked vinylogous combretastatin-A4 analogues: Synthesis and biological evaluation // *Bioorg. Med. Chem.*, 2011, Vol. 19, P. 3579–3584.
192. Lee H.-Y., Pan S.-L., Su M.-C., Liu Y.-M., Kuo C.-C., Chang Y.-T., Wu J.-S., Nien C.-Y., Mehndiratta S., Chang C.-Y., Wu S.-Y., Lai M.-J., Chang J.-Y., Liou J.-P., Furanylazaindoles: Potent Anticancer Agents in Vitro and in Vivo // *J. Med. Chem.*, 2013, Vol. 56, P. 8008–8018.
193. Zefirova O.N., Nurieva E.V., Wobith B., Schulz S., Zefirov N.A., Kuznetsov S.A. *Pure Appl. Chem.* 2020, Vol. 92, 1217.
194. Zefirov N.A., Evteeva Y.A., Krasnoperova A.I., Mamaeva A.V., Milaeva E.R., Kuznetsov S.A., Zefirova O.N. Tubulin targeted antimetabolic agents based on adamantane lead compound: synthesis, SAR and molecular modeling // *Mendeleev Commun.*, 2020, Vol. 30, P. 421–423
195. Gaspari R., Prota A.E., Bargsten K., Cavalli A., Steinmetz M. O., Structural Basis of cis- and trans-Combretastatin Binding to Tubulin // *Chem*, 2017, Vol. 2, P. 102–113.
196. Khan K.H., Blanco-Codecido M., Molife L.R. Cancer therapeutics: Targeting the apoptotic pathway // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2014, Vol. 90, P. 200–219.
197. Dar'in D., Kantin G., Kalinin S., Sharonova T., Bunev A., Ostapenko G.I., Nocentini A., Sharoyko V., Supuran S.T., Krasavin M. Investigation of 3-sulfamoyl coumarins against cancer-related IX and XII isoforms of human carbonic anhydrase as well as cancer cells leads to the discovery of 2-oxo-2H-benzo[h]chromene-3-sulfonamide – A new caspase-activating proapoptotic agent // *Eur. J. Med. Chem.*, 2021, Vol. 222, 113589.
198. Carneiro B.A., El-Deiry W.S. Targeting apoptosis in cancer therapy // *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 2020, Vol. 17, 395.
199. Perrin D., Armarego W., Perrin Perrin D. Purification of laboratory chemicals // Oxford et al.:Pergamon Press, Int. Ed., 1966, P. 362.

200. Казанский Б.А. Синтез органических препаратов // Москва: Изд. Иностранной литературы, 1952, Сб. 3, С. 411-413.
201. Linton B., Reutershan M., Aderman C., Richardson E., Brownell K., Ashley C., Evans C., Miller S. Asymmetric michael addition of  $\alpha$ -nitro ketones using catalytic peptides // *Tetrahedron Lett.*, 2007, Vol. 48, P. 1993–1997.
202. Ford-Moore A., Williams J. The reaction between trialkyl phosphites and alkyl halides // *J. Chem. Soc. (Resumed)*, 1947, Vol. 0, P. 1465–1467.
203. Wieland H. Zur kenntnissder pseudonitrosite // *LiebigsAnn. Chem.*, 1903, Vol. 328, P. 227–268.
204. Ovchinnikov I.V., Popov N.A., Makhova N.N., Khmel'nitskii L.I., Shlyapochnikov V.A. Nitroformonitrile oxide in the reaction of 1,3-dipolar cycloaddition // *Mendeleev Commun.*, 1995, Vol. 5, P. 231–232.
205. Rauckman B.S., Tidwell M.Y., Johnson J.V., Roth B. 2,4-Diamino-5-benzylpyrimidines and Analogues as Antibacterial Agents. 10. 2,4-Diamino-5-(6-quinolylmethyl)- and -[(tetrahydro-6-quinolyl)methyl]pyrimidine Derivatives. Further Specificity Studies // *J. Med. Chem.*, 1989, Vol. 32, P. 1927–1935.
206. Mayer R.J., Hampel N., Mayer P., Ofial A.R., Mayr H. Synthesis, Structure, and Properties of Amino-Substituted Benzhydrylium Ions – A Link between Ordinary Carbocations and Neutral Electrophiles // *Eur. J. Org. Chem.*, 2019, P. 412–421.
207. Chen W., Zhou Z.-H., Chen H.-B. Efficient synthesis of chiral benzofuryl  $\beta$ -amino alcohols via a catalytic asymmetric Henry reaction // *Org. Biomol. Chem.*, 2017, Vol. 15, P. 1530–1536.
208. Flack T., Romain C., White A. J. P., Haycock P. R., Barnard A. Design, Synthesis, and Conformational Analysis of Oligobenzanilides as Multifacial  $\alpha$ -Helix Mimetics // *Org. Lett.*, 2019, Vol. 21, P. 4433–4438.
209. Langhals H., Pust S. Fluoreszenzfarbstoffe mit grossen Stokes-Shifts - eine einfache Synthese von [2,2'-Bipyridin]-3,3'-diol // *Chem. Ber.*, 1986, Vol. 118, P. 4674–4681.
210. Li L., Zhao M.-N., Ren Z.-H., Li J.-L., Guan Z.-H. Cu(OAc)<sub>2</sub>/TFA-Promoted Formal [3+3] Cycloaddition/Oxidation of Enamines and Enones for Synthesis of Multisubstituted Aromatic Amines // *Org. Lett.*, 2012, Vol. 14, P. 3506–3509.
211. Adeva M., Sahagún H., Caballero E., Clairac R. P.-L., Medarde M., Tomé F. Open Analogues of Arcyriaflavin A. Synthesis through Diels-Alder Reaction between

- Maleimides and 1-Aryl-3-tert-butyl-dimethylsiloxy-1,3-butadienes // *J. Org. Chem.*, 2000, Vol. 65, P. 3387–3394.
212. Kim M., Jung H., Aragonès A.C., Díez-Pérez I., Ahn K.-H., Chung W.-J., Kim D., Koo S.. Role of Ring Ortho Substituents on the Configuration of Carotenoid Polyene Chains // *Org. Lett.*, 2018, Vol. 20, P. 493–496.
213. Zhang S.-L., Deng Z.-Q. Copper-catalyzed retro-aldol reaction of  $\beta$ -hydroxy ketones or nitriles with aldehydes: chemo- and stereoselective access to (E)-enones and (E)-acrylonitriles // *Org. Biomol. Chem.*, 2016, Vol. 14, P. 7282–7294.
214. Pesciaioli F., Vincentiis F., Galzerano P., Bencivenni G., Bartoli G., Mazzanti A., Melchiorre P. Organocatalytic Asymmetric Aziridination of Enones // *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2008, Vol. 47, P. 8703–8706.
215. Shih J.-L., Nguyen T. S., May J. A.. Organocatalyzed Asymmetric Conjugate Addition of Heteroaryl and Aryl Trifluoroborates: a Synthetic Strategy for Discoipyrrole D // *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2015, Vol. 54, P. 9931–9935.
216. Le P.Q., Nguyen T.S., May J.A. A General Method for the Enantioselective Synthesis of *r*-Chiral Heterocycles // *Org. Lett.*, 2012, Vol. 4, P. 6104–6107.
217. Babu Syamala L.V.R., Khopade T.M., Warghude P.K., Bhat R.G. An access to  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated ketones via dual cooperative catalysis // *Tetrahedron Lett.*, 2019, Vol. 60, P. 88–91.
218. Magoulas G.E., Bariamis S.E., Athanassopoulos C.M., Haskopoulos A., Dedes P.G., Krokidis M.G., Karamanos N.K., Kletsas D., Papaioannou D., Maroulis G. Syntheses, antiproliferative activity and theoretical characterization of acitretin-type retinoids with changes in the lipophilic part // *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, Vol. 46, P. 721–737.
219. Amir M., Kumar H., Khan S.A. Synthesis and pharmacological evaluation of pyrazoline derivatives as new anti-inflammatory and analgesic agents // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2008, Vol. 18, P. 918–922.
220. Attar S., O'Brien Z., Alhaddad H., Golden M.L., Calderón-Urrea A. Ferrocenyl chalcones versus organic chalcones: A comparative study of their nematocidal activity // *Bioorg. Med. Chem.*, 2011, Vol. 19, P. 2055–2073
221. Ramirez F., Dershowitz S. Phosphinemethylenes. II. Triphenylphosphineacylmethylenes // *J. Org. Chem.*, 1957, Vol. 22, P. 41–45.

222. Duranti E., Balsamini C., Spadoni G., Staccioli L. Reaction of Secondary Acetylenic Bromides with Sodium Nitrite: Synthesis of 3,5-Alkyl(aryl)-4-nitroisoxazoles // *J. Org. Chem.*, 1988, Vol. 53, P. 2870–2872.
223. Xia X., Zhu O., Wang J., Chen J., Cao W., Zhu B., Wu X. Direct Asymmetric Vinylogous Mannich Addition of 3,5-Disubstituted-4-nitroisoxazoles to Isatin-Derived Imines Catalyzed by a Bifunctional Phase-Transfer-Catalyst // *J. Org. Chem.*, 2018, Vol. 83, P. 14617–14625.
224. Musante C. Some  $\beta$ -nitro derivatives of isoxazole. Reaction with hydrazine and aromatic aldehydes // *Gazzetta Chimica Italiana*, 1943, Vol. 73, P. 355–365.
225. Bracken C., Baumann M. Development of a Continuous Flow Photoisomerization Reaction Converting Isoxazoles into Diverse Oxazole Products // *J. Org. Chem.*, 2020, Vol. 85, P. 2607–2617.
226. Пат 2006/132197 (A2) Япония. Heterocyclic compound having type II1 beta hydroxysteroid dehydrogenase inhibitory activity/ N. Kurose, S. Tanaka, K. Nishi; заявитель и правообладатель SHIONOGI CO., LTD. – Япония. – 83с.: ил.
227. Li L., Huang S., Mao K., Lv L, Li Z. Synthesis of isoxazoles via cyclization of  $\alpha$ -fluoro enones with sodium azide // *Tetrahedron Lett.*, 2021, Vol. 71, P. 153052.
228. Lindsay-Scott P.J., Clarke A., Richardson J. Two-Step Cyanomethylation Protocol: Convenient Access to Functionalized Aryl- and Heteroarylacetonitriles // *Org. Lett.*, 2015, P. 17, P. 476–479.
229. Пат 2021/009068 (A1) Нидерланды. N-Substituted-3,4-(fused 5-ring)-5-phenylpyrrolidine-2-one compounds as inhibitors of ISOQC and/or enzyme/ B. Evers, P.E. Brennan; заявитель и правообладатель SCENIC IMMUNOLOGY B.V. – Нидерланды. – 492с.: ил.
230. Опалева Е.Н., Догадина А.В., Ионин Б.И. Реакция диалкилфосфитов с галогенсодержащими алкен(ин)ами в присутствии фтористого калия // *Журн. общ. химии.*, 1995, Т.65, С. 1467–1471.
231. Lavrov M.I., Karlov D.S., Voronina T.A., Grigoriev V.V., Ustyugov A.A., Bachurin S.O., Palyulin V.A. Novel positive allosteric modulators of AMPA receptors based on 3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonane scaffold // *Mol. Neurobiol.*, 2020, Vol. 57, P. 191–199.

232. Harms J.E., Benveniste M., Maclean J.K.F., Partin K.M., Jamieson C. Functional analysis of a novel positive allosteric modulator of AMPA receptors derived from a structure-based drug design strategy // *Neuropharmacology*, 2013, Vol. 64, P. 45–52.
233. Hanwell M.D., Curtis D.E., Lonie D.C., Vandermeersch T., Zurek E., Hutchison G.R. Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform // *J. Cheminform.*, 2012, Vol. 4, P. 17.
234. Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K., Goodsell D.S., Olson A.J. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility // *J. Comput. Chem.*, 2009, Vol. 30, P. 2785–2791.
235. Trott O., Olson A.J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading // *J. Comput. Chem.*, 2010, Vol. 31, P. 455–461.
236. Pettersen E.F., Goddard T.D., Huang C.C., Couch G.S., Greenblatt D.M., Meng E.C., Ferrin T.E. UCSF Chimera—A visualization system for exploratory research and analysis // *J. Comput. Chem.*, 2004, Vol. 25, P. 1605–1612.
237. Huang J., MacKerell A.D. CHARMM36 all-atom additive protein force field: Validation based on comparison to NMR data // *J. Comput. Chem.*, 2013, Vol. 34, P. 2135–2145.
238. Vanommeslaeghe K., Hatcher E., Acharya C., Kundu S., Zhong S., Shim J., Darian E., Guvench O., Lopes P., Vorobyov I. CHARMM general force field: A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields // *J. Comput. Chem.*, 2010, Vol. 31, P. 671–690.
239. Abraham M.J., Murtola T., Schulz R., Páll S., Smith J.C., Hess B., Lindahl E. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers // *SoftwareX*, 2015, Vol. 1–2, P. 19–25.
240. Jo S., Kim T., Iyer V.G., Im W. CHARMM-GUI: A web-based graphical user interface for CHARMM // *J. Comput. Chem.*, 2008, Vol. 29, P. 1859–1865.
241. Lee J., Cheng X., Swails J.M., Yeom M.S., Eastman P.K., Lemkul J.A., Wei S., Buckner J., Jeong J.C., Qi Y. CHARMM-GUI input generator for NAMD, GROMACS, AMBER, OpenMM, and CHARMM/OpenMM simulations using the CHARMM36 additive force field // *J. Chem. Theory Comput.*, 2016, Vol. 12, P. 405–413.
242. Roe D.R., Cheatham T.E. PTRAJ and CPPTRAJ: Software for processing and analysis of molecular dynamics trajectory data // *J. Chem. Theory Comput.*, 2013, Vol. 9, P. 3084–3095.

243. Salomon-Ferrer R., Case D.A., Walker R.C. An overview of the Amber biomolecular simulation package // *WIREs Comput. Mol. Sci.*, 2013, Vol. 3, P. 198–210.
244. Sushko I., Novotarskyi S., Körner R., Pandey A.K., Rupp M., Teetz W., Brandmaier S., Abdelaziz A., Prokopenko V.V., Tanchuk V.Y. Online chemical modeling environment (OCHEM): Web platform for data storage, model development and publishing of chemical information // *J. Comput.-Aided Mol. Des.*, 2011, Vol. 25, P. 533–554.
245. Radchenko E.V., Dyabina A.S., Palyulin V.A., Zefirov N.S. Prediction of human intestinal absorption of drug compounds // *Russ. Chem. Bull.*, 2016, Vol. 65, P. 576–580.
246. Dyabina A.S., Radchenko E.V., Palyulin V.A., Zefirov N.S. Prediction of blood-brain barrier permeability of organic compounds // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2016, Vol. 470, P. 371–374.
247. Radchenko E.V., Dyabina A.S., Palyulin V.A. Towards deep neural network models for the prediction of the blood-brain barrier permeability for diverse organic compounds // *Molecules*, 2020, Vol. 25, P. 5901.
248. Radchenko E.V., Rulev Y.A., Safanyaev A.Y., Palyulin V.A., Zefirov N.S. Computer-aided estimation of the hERG-mediated cardiotoxicity risk of potential drug components // *Dokl. Biochem. Biophys.*, 2017, Vol. 473, P. 128–131.
249. ADMET Prediction Service. Available online: <http://qsar.chem.msu.ru/admet/> (accessed on 10 October 2021).
250. Bickerton G.R., Paolini G.V., Besnard J., Muresan S., Hopkins A.L. Quantifying the chemical beauty of drugs // *Nat. Chem.*, 2012, Vol. 4, P. 90–98.
251. RDKit: Open-Source Cheminformatics Software. Available online: <https://www.rdkit.org/> (accessed on 10 October 2021).
252. Al-Haddad A., Shonn M.A., Redlich B., Blocker A., Burkhardt J.K., Yu H., Hammer J.A., Weiss D.G., Steffen W., Griffiths G., Kuznetsov S.A. Myosin Va Bound to Phagosomes Binds to F-Actin and Delays Microtubule-dependent Motility // *Mol. Bio. Cell*, Vol. 12, P. 2742–2755.
253. Bachurin S.O., Makhaeva G.F., Shevtsova E.F., Aksinenko A.Y., Grigoriev V.V., Shevtsov P.N., Goreva T.V., Epishina T.A., Kovaleva N.V., Pushkareva E.A., Boltneva N.P., Lushchekina S.V., Gabrelyan A.V., Zamoyski V.L., Dubova L.G., Rudakova E.V., Fisenko V.P., Bovina E.V., Richardson R.J. Conjugation of Aminoadamantane and  $\gamma$ -Carboline Pharmacophores Gives Rise to Unexpected Properties of Multifunctional Ligands // *Molecules*, 2021, Vol. 26, P. 5527.

254. Brouwer A.M. Standards for photoluminescence quantum yield measurements in solution (IUPAC Technical Report) // *Pure Appl. Chem.*, 2011, Vol. 83, P. 2213–2228.

## 7. Список работ, опубликованных автором по теме диссертации

1. Vasilenko D.A., **Sadovnikov K.S.**, Sedenkova K.N., Kurova A.V., Grishin Y.K., Kuznetsova T.S., Rybakov V.B., Volkova Y.A., Averina E.B. Synthesis of 4-Nitroisoxazoles via NO/NO<sub>2</sub> Mediated Heterocyclization of Aryl Substituted  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Ketones // *Synthesis*, **2020**, 52, 1398–1406 (<https://doi.org/10.1055/s-0039-1690053>, IF = 3.157 (WOS, 2020)).
2. **Sadovnikov K.S.**, Vasilenko D.A., Sedenkova K.N., Rybakov V.B., Grishin Y.K., Alferova V.A., Kuznetsova T.S., Averina E.B. Straightforward chemoselective 4-nitration of 5-aminoisoxazole // *Mendeleev Communications*, **2020**, 30, 487–489 (<https://doi.org/10.1016/j.mencom.2020.07.027>, IF = 1.786 (WOS, 2020)).
3. Vasilenko D.A., **Sadovnikov K.S.**, Sedenkova K.N., Karlov D.S., Radchenko E.V., Grishin Y.K., Rybakov V.B., Kuznetsova T.S., Zamoyski V.L., Grigoriev V.V., Palyulin V.A., Averina E.B. A Facile Approach to Bis(isoxazoles), Promising Ligands of the AMPA Receptor // *Molecules*, **2021**, 26, 6411 (<https://doi.org/10.3390/molecules26216411>, IF = 4.411 (WOS, 2021)).
4. Vasilenko D.A., Dronov S.E., Parfiryev D.U., **Sadovnikov K.S.**, Sedenkova K.N., Grishin Y.K., Rybakov V.B., Kuznetsova T.S., Averina E.B. 5-Nitroisoxazoles in S<sub>N</sub>Ar reactions: access to polysubstituted isoxazole derivatives // *Organic and Biomolecular Chemistry*, **2021**, 19, 6447–6454 (<https://doi.org/10.1039/D1OB00816A>) IF = 3.876 (WOS, 2021)).
5. **Sadovnikov K.S.**, Vasilenko D.A., Gracheva Y.A., Zefirov N.A., Radchenko E.V., Palyulin V.A., Grishin Y.K., Vasilichin V.A., Shtil A.A., Shevtsov P.N., Shevtsova E.F., Kuznetsova T.S., Kuznetsov S.A., Bunev A.S., Zefirova O.N., Milaeva E.R., Averina E.B. Novel substituted 5-methyl-4-acylaminoisoxazoles as antimitotic agents: Evaluation of selectivity to LNCaP cancer cells // *Archiv der Pharmazie*, **2022**, 355, e2100425 (<https://doi.org/10.1002/ardp.202100425>, IF = 4.613 (WOS, 2021)).
6. Spiridonov V.V., **Sadovnikov K.S.**, Vasilenko D.A., Sedenkova K.N., Lukmanova A.R., Markova A.A., Shibaeva A.V., Bolshakova A.V., Karlov S.S., Averina E.B., Yaroslavov A.A. Synthesis and evaluation of the anticancer activity of the water-dispersible complexes of 4-acylaminoisoxazole derivative with biocompatible nanocontainers based on Ca<sup>2+</sup> (Mg<sup>2+</sup>) cross-linked alginate // *Mendeleev Communications*, **2022**, 32, 591–593 (<https://doi.org/10.1016/j.mencom.2022.09.007>, IF = 1.837 (WOS, 2021)).