

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени М.В.ЛОМОНОСОВА  
ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

*На правах рукописи*

**Астахова Надежда Евгеньевна**

**Нитроизоксазолы в реакциях функционализации  
изоксазольного цикла и синтезе соединений с различной  
биологической активностью**

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 – 2026

## Оглавление

1. Введение .....	4
2. Обзор литературы .....	12
2.1. Методы синтеза цианоизоксазолов основанные на реакциях формирования изоксазольного цикла .....	12
2.1.1. Синтез 3-цианоизоксазолов .....	12
2.1.2. Синтез 4-цианоизоксазолов .....	18
2.1.3. Синтез 5-цианоизоксазолов .....	31
2.2. Синтез цианоизоксазолов путем трансформаций других групп изоксазольного цикла	35
2.2.1. Реакции дегидратации .....	35
2.2.2. Реакции окисления .....	41
2.2.3. Нуклеофильное замещение .....	43
2.2.4. Применение цианоизоксазолов в органической и медицинской химии .....	43
3. Обсуждение результатов .....	55
3.1. Краун-содержащие 5-стирил-4-нитроизоксазолы: синтез, сенсорные свойства и применение в биоимиджинге .....	56
3.1.1. Синтез краун-содержащих 5-стирил-4-нитроизоксазолов .....	57
3.1.2. Изучение фотофизических свойств краун-содержащих 5-стирил-4-нитроизоксазолов	60
3.1.3. Фотоустойчивость стирилизоксазолов .....	64
3.1.4. Изучение сенсорных свойств краун-содержащих 5-стирил-4-нитроизоксазолов .....	65
3.1.5. Изучение взаимодействия краун-содержащих 5-стирил-4-нитроизоксазолов с биологическими объектами .....	77
3.1.6. Взаимодействие стирилизоксазолов с бычьим сывороточным альбумином .....	77
3.1.7. Влияние среды на флуоресцентные свойства стирилизоксазолов .....	79
3.1.8. Взаимодействие с катионами металлов в средах, модулирующих клеточную среду	83
3.1.9. Цитотоксичность краун-содержащих стирилизоксазолов .....	88
3.1.10. Внутриклеточное накопление .....	89
3.2. Новые подходы к функционализации изоксазольного цикла .....	94
3.2.1. Синтез исходных соединений .....	95
3.2.2. Разработка метода синтеза 5-циано-4-нитроизоксазолов .....	97
3.2.3. Изучение реакционной способности 4-нитро-5-цианоизоксазолов .....	105
3.3. Дизайн, синтез и скрининг цитотоксичности новых производных изоксазола .....	113
3.3.1. Синтез ингибиторов полимеризации тубулина .....	114
3.3.2. Синтез потенциальных ингибиторов GLUT5 .....	119

4. Экспериментальная часть.....	125
4.1. Синтез стирилизоксазолов 5a-e, 6a-f.....	126
4.1.1. Синтез исходных соединений .....	126
4.1.2. Синтез 5-метил-4-нитроизоксазолов 13a-f.....	127
4.2.3. Синтез стирилизоксазолов 3c-e, 5a-e, 6a-f .....	130
4.2. Синтез 4-нитро-5-цианоизоксазолов 17a-w .....	139
4.2.1. Синтез 5-метил-4-нитроизоксазолов 1a-w .....	139
4.2.2. Синтез енаминов 16 a-x .....	143
4.2.3 Синтез 4-нитро-5-цианоизоксазолов 17 a-w .....	151
4.3. Изучение химических свойств 4-нитро-5-цианоизоксазолов .....	161
4.3.1. Синтез изоксазолов 22a-c .....	161
4.3.2. Синтез изоксазолов 26a-c .....	163
4.3.3. Синтез изоксазола 28 .....	165
4.3.4. Синтез 4-аминоизоксазолов 29a,b и 36 .....	166
4.3.5. Синтез соединения 31 .....	167
4.4. Синтез изоксазолов с ожидаемой противораковой активностью .....	167
4.4.1. Синтеза амидов 33a и 33b.....	167
4.4.2. Синтез сульфонамидов 38a-g .....	169
4.4.3. Синтез изоксазола 39 .....	172
4.5. Синтез потенциальных ингибиторов GLUT5 20a,b .....	173
4.6. Биотестирование.....	173
4.6.1. Изучения взаимодействия краун-содержащих стирилизоксазолов БСА .....	173
4.6.2. рН зависимая флуоресценция краун-содержащих стирилизоксазолов в водном растворе с БСА .....	174
4.6.3. Тестирование на противораковую активность .....	174
4.6.4. Изучение внутриклеточного распределения стирилизоксазолов 5b, 5c, 5d, 6a, 6b ..	174
5. Заключение .....	176
6. Список сокращений и условных обозначений .....	178
7. Список литературы .....	179
Приложение А: кинетика взаимодействия стирилизоксазолов с БСА.....	198

## 1. Введение

**Актуальность работы.** Разработка новых путей функционализации изоксазольного цикла является актуальной научной проблемой современной органической и медицинской химии, поскольку данный *N,O*-гетероцикл широко используется в качестве ключевого фрагмента лекарственных препаратов и соединений с подтвержденной биологической активностью. Наличие малостадийных эффективных подходов к введению различных функциональных групп и фрагментов в изоксазольный цикл является залогом успешного дизайна, создания оптимальных путей синтеза новых соединений-хитов и оптимизации структуры известных лидеров ряда изоксазола. Перспективными объектами для направленной функционализации изоксазольного цикла являются 5-метил-4-нитроизоксазолы, что связано с уникальной реакционной способностью нитрогруппы и ее особого влияния на химические свойства связанных с ней фрагментов. Присутствие нитрогруппы в соседнем положении с метильной группой значительно увеличивает *C-N* кислотность последней, что позволяет вводить 5-метил-4-нитроизоксазолы в реакции конденсации с образованием 5-стирилизоксазолов и (изоксазол-5-ил)енаминов, которые обладают практически значимыми свойствами и могут быть использованы для дальнейших химических превращений. Стирилизоксазолы являются важными исходными субстратами для энантиоселективного синтеза соединений с широким спектром биологической активности, при этом стилиризоксазолы также представляют интерес в качестве флуорофоров нового структурного типа. С учетом низкой токсичности производных изоксазола введение макроциклического сенсорного фрагмента в структуру данных флуорофоров может рассматриваться как ключевая стратегия для получения молекулярных сенсоров, используемых для визуализации процессов, протекающих в клеточной среде. Енамины, полученные на основе 4-нитроизоксазолов, относятся к аналогам активно изучаемых в настоящее время енаминонов, на основе которых разработано множество нестандартных синтетических протоколов современной органической химии. При этом реакционная способность енаминов, содержащих 4-нитроизоксазольный заместитель, несмотря на высокий синтетический потенциал все еще остается практически не изученной.

Таким образом, разработка новых оригинальных синтетических подходов к 5-стирилизоксазолам и (изоксазол-5-ил)енаминам, изучение их свойств и дальнейших превращений с целью получения биологически активных структур представляет собой актуальную задачу в области органической и медицинской химии.

**Степень разработанности темы исследования.** В литературе известно применение 4-нитроизоксазолов для получения соответствующих 5-стирилизоксазолов и (изоксазол-5-ил)енаминов, однако эти реакции описаны преимущественно для коммерчески доступного 3,5-

диметил-4-нитроизоксазола. 5-Стирилизоксазолы используются в качестве исходных соединений в энантиоселективных и диастереоселективных реакциях, таких как присоединение нуклеофилов по Михаэлю к двойной связи, процессы домино с последующей циклизацией, [3+2]- циклоприсоединение и аза-реакции Дильса-Альдера. В нашей научной группе впервые были созданы флуорофоры на основе 3-(гет)арил-5-стирилизоксазолов, однако введение макроциклического фрагмента в молекулу изоксазолсодержащего флуорофора до сих пор не изучалось. Описано также получение енамина на основе 3,5-диметил-4-нитроизоксазола, однако несмотря на высокий синтетический потенциал данного класса соединений, для (3-метилизоксазол-5-ил)енамина описаны только реакции хлорирования и ацилирования.

**Цель и задачи работы.** Целью работы являлся синтез флуорофоров на основе 5-стирилизоксазолов, содержащих макроциклический фрагмент в положении 3 или 5 гетероцикла, исследование их сенсорных свойств и потенциала применения для биовизуализации, а также разработка синтетического подхода к 4-нитро-5-цианоизоксазолам на основе (изоксазол-5-ил)енаминов, изучение их реакционной способности, направленный синтез производных изоксазола с противораковой активностью. В соответствии с поставленной целью решались следующие основные задачи: 1) провести дизайн флуоресцентных сенсоров на основе 5-стирил-4-нитроизоксазолов; 2) разработать методы синтеза 4-нитро-5-стирилизоксазолов, содержащих макроциклический фрагмент в стирильном фрагменте и в положении 3 гетероцикла; 3) изучить сенсорные свойства полученных стирилизоксазолов; 4) изучить возможность применения полученных флуорофоров для визуализаций в клеточной среде; 5) синтезировать ряд енаминов на основе 4-нитроизоксазолов и изучить их в реакции с *трет*-бутилнитритом в присутствии различных добавок; 6) разработать методы синтеза 4-нитро-5-цианоизоксазолов; 7) изучить 4-нитро-5-цианоизоксазолы в реакциях ароматического нуклеофильного замещения с различными *N*-, *O*-, *S*-нуклеофилами; 8) разработать препаративный метод синтеза 5-метил-4-сульфоаминоизоксазолов и 5-циано-4-ациламиноизоксазолов – потенциальных ингибиторов полимеризации тубулина и изучить влияние заместителей на проявление цитотоксичности; 9) осуществить дизайн и синтез новых потенциальных ингибиторов GLUT5 и провести скрининг их противораковой активности.

**Объекты и предмет исследования.** Объектами исследований явились производные 4-нитро- и 4-аминоизоксазолов. Предметом исследования явились реакции конденсации 5-метил-4-нитроизоксазолов, реакция нитрозирования (4-нитроизоксазол-5-ил)енаминов; реакция ароматического нуклеофильного замещения с участием 4-нитро-5-цианоизоксазолов; изучение флуоресцентных и сенсорных свойств 5-стирилизоксазолов; скрининг цитотоксической активности производных изоксазола – лигандов колхицинового сайта связывания тубулина и ингибиторов транспортного белка GLUT5.

**Научная новизна.** Впервые осуществлен дизайн и синтез флуорофоров на основе 5-стирилизоксазолов, содержащих макроциклические сенсорные фрагменты. Изучено влияние строения макроцикла и его расположения в молекуле на сенсорные свойства. Найдено, что макроциклические 5-стирилизоксазолы демонстрируют сольватохромизм и агрегативно-индуцированную эмиссию (AIE) в системе ДМСО-вода, а также связывание с белковыми макромолекулами с образованием флуоресцентных комплексов, что показано на примере бычьего сывороточного альбумина (БСА). Процессы агрегации и деагрегации комплексов обнаружены также в клеточных средах.

Найдена новая реакция (4-нитроизоксазол-5-ил)енаминов с *трет*-бутилнитритом с образованием неизвестных ранее 4-нитро-5-цианоизоксазолов, на основе которой разработан общий метод их синтеза.

4-Нитро-5-цианоизоксазолы впервые изучены в реакции ароматического нуклеофильного замещения под действием *N*-, *O*-, *S*-нуклеофилов. Обнаружена дихотомия реакционной способности 4-нитро-5-цианоизоксазолов в реакциях с нуклеофилами, приводящая к образованию продуктов замещения нитрогруппы с *S*-нуклеофилами и цианогруппы с *N*-нуклеофилами. Изучены механистические аспекты найденных новых реакций.

Проведен дизайн новых структур для скрининга антипролиферативной активности путем замены метильной группы в положении 5 изоксазольного цикла на циано-группу и карбоксильной группы на сульфонильный фрагмент в ряду лигандов колхицинового сайта связывания тубулина – 4-ациламино-5-метилизоксазолов.

Разработаны новые ингибиторы транспортного белка GLUT5 на основе 4-нитроизоксазолов, осуществлен синтез и проведен первичный скрининг их активности.

**Теоретическая и практическая значимость.** Предложена новая стратегия синтеза флуорофоров ряда изоксазола с сенсорными свойствами, в основе которой лежит введение макроциклического фрагмента в структуру 5-стирилизоксазолов. Показано, что наличие сенсорных фрагментов в положении 5 изоксазольного цикла является перспективным направлением синтеза флуорофоров для использования в детекции катионов металлов и органических молекул. Показано, что макроциклические флуорофоры на основе стирилизоксазола в водной среде образуют устойчивые комплексы с бычьим сывороточным альбумином, что представляет интерес для визуализации распределения белков, их подвижности и взаимодействий в живых клетках. Также исследуемые красители ряда изоксазола показали AIE в среде ДМСО-вода, что также открывает новые возможности для их применения в биосенсорике и визуализации. Особенно это важно для обнаружения клеточной

активности и мониторинга биологических маркеров, что может быть полезно для биологических и фармацевтических исследований.

В рамках данного исследования разработан новый препаративный метод синтеза неизвестных ранее 4-нитро-5-цианоизоксазолов, позволяющий получать продукты различного строения в граммовых количествах. Полученные новые структуры характеризуются уникальными химическими свойствами. В частности, обнаружена дихотомия свойств в реакциях с *N*- и *S*-нуклеофилами, на основе которой может быть осуществлена направленная хемоселективная функционализация изоксазольного цикла в разные положения для получения больших библиотек соединений для целей медицинской химии.

Разработанные методы нашли применение для синтеза производных изоксазола двух структурных типов, проявляющих цитотоксическую активность. Новые данные о зависимости “структура-активность” найдены для аналогов 5-метил-4-ациламиноизоксазолов, ранее показавших высокую антипролиферативную активность. Впервые получены изоксазольные аналоги известного ингибитора GLUT5 – диариламина MSNBA (N-(4-(метилсульфонил)-2-нитрофенил)бензо[d][1,3]диоксол-5-амин), представляющие интерес для дальнейшего специфического биотестирования с целью определения их гипогликемического и противоопухолевого потенциала.

**Методология и методы исследования.** В исследовании использовались основные подходы медицинской и органической химии, в том числе, классические методы органического синтеза, включающие оптимизацию и масштабирование синтетических методик, а также дизайн и направленный синтез биологически активных молекул. Для выделения и очистки полученных соединений использовались методы препаративной хроматографии, перегонки и перекристаллизации. Структуру и чистоту полученных соединений устанавливали с помощью комплекса физико-химических методов: ЯМР-спектроскопии с привлечением двумерных экспериментов, масс-спектрометрии (HRMS-ESI, MALDI), элементного анализа и рентгеноструктурного анализа. Фотофизические и сенсорные свойства изучались методами спектрофотометрии, спектрофлуориметрии и время-разрешенной флуоресцентной спектроскопии. Исследование антипролиферативной активности проводили с использованием МТТ-теста.

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

- Введение макроциклического фрагмента в структуру 4-нитро-5-стирилизоксазолов является эффективной стратегией для дизайна сенсоров различных типов. Введение макроцикла в положение 3 изоксазольного цикла не влияет на сенсорные свойства, в то время как наличие макроцикла в стирильном фрагменте приводит к флуорофорам с сенсорными свойствами на катионы металлов.

- Содержащие макроцикл 5-стирилизоксазолы в водной среде не проявляют сенсорные свойства по отношению к катионам металлов, при этом находятся в агрегированной форме. Макроциклические стирильные красители на основе 4-нитроизоксазолов образуют стабильные комплексы с белками на примере БСА. 5-Стирилизоксазолы детектируются в клетках в длинноволновой области («АЕ» сигнал агрегированной формы красителя) и в «зеленой» области спектра благодаря флуоресценции комплексов белок-стирилизоксазол.

- Енамины на основе 4-нитроизоксазолов взаимодействуют по радикальному механизму с *трет*-бутилнитритом с образованием соответствующих нитрозопроизводных, которые при добавлении  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  или трифторуксусного ангидрида дают 4-нитро-5-цианоизоксазолы. Новая реакция позволяет синтезировать 4-нитро-5-цианоизоксазолы различного строения с высокими выходами в граммовых количествах.

- 4-Нитро-5-цианоизоксазолы демонстрируют дихотомию реакционной способности по отношению к *N*- и *S*-нуклеофилам. В реакции с аминами 4-нитро-5-цианоизоксазолы дают продукт замещения 5-цианогруппы, в то время как при взаимодействии с тиофенолами образуются исключительно продукты замещения 4-нитрогруппы. Нитрогруппа в молекуле 4-нитро-5-цианоизоксазолов восстанавливается в аминогруппу в мягких условиях.

- Разработанные методы эффективны для синтеза аналогов ранее полученных лигандов колхицинового сайта связывания тубулина – 4-(ациламино)-5-метил-3-(триметоксифенил)изоксазолов. Замена ациламидного фрагмента на сульфониламидный в положении 4 изоксазольного цикла, а также замена метильной группы на цианогруппу в положении 5 гетероцикла приводит к существенному снижению цитотоксической активности.

- 4-Нитроизоксазолы являются перспективными скаффолдами в дизайне и синтезе новых аналогов известного ингибитора GLUT5 (диариламина MSNBA) с противоопухолевой активностью.

**Степень достоверности результатов.** Достоверность полученных результатов обеспечивалась использованием совокупности спектральных методов: ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , методик 2D ЯМР (HSQC, HMBC, NOESY), масс-спектрометрии высокого разрешения, данных рентгеноструктурного и элементного анализа, а также воспроизведением экспериментальных методик и взаимной согласованностью полученных результатов.

**Апробация работы.** Основные материалы работы были представлены в виде 5 устных докладов на конференциях: XXX Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» (10-21 апреля 2023 г., Москва, Россия), Всероссийская конференция с международным участием «Химия нитросоединений и аминокислот» (25-29 марта 2024 г., Санкт-Петербург), XIII International Conference on Chemistry for Young Scientists «Mendeleev 2024» (02-06 сентября 2024 г., Санкт-Петербург, Россия), IX Международная

конференция «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов» (06-10 сентября 2025 г., Пермь, Россия), Всероссийский Конгресс «KOST-2025» по химии гетероциклических соединений (15-19 сентября 2025 г., Владикавказ, Северная Осетия).

Работа была выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант 22-73-00058, грант 25-23-00127)

**Публикации.** По результатам диссертации опубликовано 6 работ в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности и отрасли наук.

**Личный вклад автора** состоит в подборе и анализе литературы с дальнейшей систематизацией в литературном обзоре. Автор принимала непосредственное участие в постановке целей и промежуточных задач, синтезе целевых и промежуточных соединений, подготовке образцов для изучения их физико-химических и биологических свойств, регистрации ЯМР спектров. Автор участвовала в обработке и интерпретации экспериментальных данных, результатов биологических исследований, в формулировании выводов, в подготовке материалов к публикации в научных журналах и в представлении ключевых результатов на конференциях. Во всех опубликованных в соавторстве работах по теме диссертации вклад автора (Астаховой Н.Е.) является основополагающим, в том числе в работе<sup>1</sup>, где автором был проведен синтез выборки флуорофоров и изучение их фотофизических свойств. В статье<sup>2</sup> автор провела синтез стирилизоксазольных красителей; в работе<sup>3</sup> автором был осуществлен синтез новых краун-содержащих лигандов двух типов и

---

<sup>1</sup> Sadovnikov K.S., Vasilenko D.A., Gracheva Yu.A., Grishin Yu.K., Roznyatovsky V.A., Tafenko V.A., **Astakhova N.E.**, Burtsev I.D., Milaeva E.R., Averina E.B. 5-Styrylisoxazoles:  $\pi$ -Conjugated System with Fluorescent Properties and Bioactivity // *ChemistrySelect*. – 2023. – Vol. 8, No. 20. – P. e20230083. – DOI 10.1002/slct.202300830. – EDN VWMYNB. Импакт-фактор 2,0 (JIF), 1 п.л.;

<sup>2</sup> Бурцев И.Д., Василенко Д.А., **Астахова Н.Е.**, Аверина Е.Б., Трофимов А.В., Кузьмин В.А. Комплексообразование стирилизоксазольного красителя с альбумином // *Химия высоких энергий*. – 2024. – Т. 58, № 3. – С. 233-236. – EDN UUATPW. Импакт-фактор 0,270 (РИНЦ), 0,1 п.л.

[перевод: Burtsev I.D., Vasilenko D.A., **Astakhova N.E.**, Averina E.B., Trofimov A.V., Kuzmin V.A. Complexation of Styrylisoxazole Dye with Albumin // *High Energy Chemistry*. – 2024. – Vol. 58, No. 3. – P. 343-345. – DOI 10.1134/S0018143924700036. – EDN HSPQMR. Импакт-фактор 0,6 (JIF), 0,1 п.л.];

<sup>3</sup> **Astakhova N.E.**, Sadovnikov K.S., Vasilenko D.A., Markova A.A., Nguyen M.T., Burtsev I.D., Yakushev A.A., Grishin Yu.K., Gracheva Yu.A., Volodina Yu.L., Lukmanova A.R., Spiridonov V.V., Yaroslavov A.A., Averin A.D., Kuzmin V.A., Milaeva E.R., Averina E.B. Isoxazole-based styryl dyes with macrocyclic receptors: synthesis, ion sensing properties and applications in bioimaging // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. – 2025. – Vol. 468. – P. 116497. – DOI 10.1016/j.jphotochem.2025.116497. – EDN ETLSGM. Импакт-фактор 4,7 (JIF), 1.1 п.л.;

анализ их фотофизических и сенсорных свойств; в статьях<sup>4,5</sup> автор разработала методики синтеза исходных соединений для новых аналогов комбретастина А4 и ингибиторов GLUT5, соответственно. А также в статье<sup>6</sup> автором был проведен синтез большой серии новых изоксазол содержащих енаминов, разработана новая реакция получения 4-нитро-5-цианоизоксазолов, получена большая серия новых карбонитрилов и изучены их химические свойства в реакциях нуклеофильного замещения нитро- и циано-групп и восстановления нитрогруппы.

**Структура и объем работы.** Работа состоит из восьми разделов: введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, заключения, списка сокращений, списка цитируемой литературы и приложения. Работа изложена на 199 листах машинописного текста, содержит 166 рисунков в основной части и 2 рисунка в приложении, 9 таблиц. Список литературы включает 207 наименований.

---

<sup>4</sup> Кузьмина М.С., **Астахова Н.Е.**, Василенко Д.А., Седенкова К.Н., Гришин Ю.К., Грачева Ю.А., Милаева Е.Р., Аверина Е.Б. Синтез и изучение антипролиферативной активности новых аналогов комбретастина А4 ряда изоксазола // *Известия Академии наук. Серия химическая.* – 2025. – Т. 74, № 7. – С. 2184-2189. – EDN LQSCCC. Импакт-фактор 1,035 (РИНЦ), 0.4 п.л.

[перевод: Kuzmina M.S., **Astakhova N.E.**, Vasilenko D.A., Sedenkova K.N., Grishin Yu.K., Gracheva Yu.A., Milaeva E.R., Averina E.B. Synthesis and investigation of antiproliferative activity of novel analogs of combretastatin A4 of isoxazole series // *Russian Chemical Bulletin.* – 2025. – Vol. 74, No. 7. – P. 2184-2189. – DOI 10.1007/s11172-025-4702-7. – EDN TIDMJS. Импакт-фактор 1,7 (JIF), 0.4 п.л.];

<sup>5</sup> **Astakhova N.E.**, Vasilenko D.A., Kuzmina M.S., Pupeza A.K., Grishin Yu.K., Tafenko V.A., Averina E.B. *tert*-BuONO-Promoted Nitrosation of 4-Nitroisoxazole-Based Enamines: Synthesis of 5-Cyanoisoxazoles and Their Application // *Journal of Organic Chemistry.* – 2025. – Vol. 90, No. 34. – P. 12138-12152. – DOI 10.1021/acs.joc.5c01207. – EDN VBHICA. Импакт-фактор 3,6 (JIF), 0.9 п.л.;

<sup>6</sup> **Astakhova N.E.**, Kuzmina M.S., Vasilenko D.A., Shashurin D.A., Vasileva V.Yu., Sudarikova A.V., Zefirov N.A., Averina E.B., Chubinskiy-Nadezhdin V.I., Milaeva E.R., Medvedev O.S., Zefirova O.N. Substituted 3-aryl-4-nitroisoxazoles as potential blockers of the transport protein GLUT5: molecular design, synthesis and primary biotesting // *Mendeleev Communications.* – 2026. – Vol. 36, No. 1. – P. 12-14. – DOI 10.71267/mencom.7848. – EDN VSXSHU. Импакт-фактор 1,7 (JIF), 0.2 п.л.

*Автор выражает признательность д.х.н. Гришину Ю.К. (МГУ) за проведение ЯМР экспериментов, к.х.н. Тафеенко В.А. (МГУ) за проведение рентгеноструктурных исследований, д.х.н. Зефировой О.Н. (МГУ) за консультации и помощь при изучении биологической активности соединений, к.х.н. Зефирову Н.А. (МГУ) за проведение молекулярного моделирования, асп. Зг/о Пупеза А.К. (МГУ) за выполнение квантово-химических расчетов, д.х.н. Милаевой Е.Р., к.х.н. Грачевой Ю.А. (МГУ), д.х.н. Кузьмину В.А., к.б.н. Марковой А.А., к.х.н. Бурцеву И.Д. (ИБХФ РАН) и к.б.н. В.И. Чубинскому-Надеждину (Институте цитологии РАН) за проведение тестирования биологической активности, д.х.н. Аверину А.Д. и к.х.н. Якушеву А.А. (МГУ) за помощь в проведении спектральных исследований, д.х.н. Авериной Е.Б. и к.х.н. Василенко Д.А. (МГУ) за наставничество и неоценимую помощь в выполнении диссертационного исследования.*

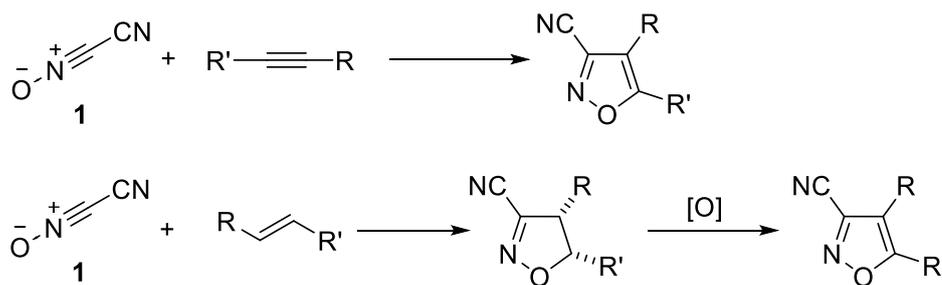
## 2. Обзор литературы

В Литературном обзоре рассмотрены известные к настоящему времени методы синтеза 3-, 4-, 5-цианоизоксазолов. Введение цианогруппы в изоксазольный цикл возможно двумя альтернативными путями. Первый путь предполагает формирование цианоизоксазольного фрагмента с использованием наиболее общих классических методов, таких как 1,3-диполярное присоединение нитрилоксидов к кратным связям или реакции гетероциклизации с участием гидросиламинов, а также уникальных подходов к получению производных изоксазола. В зависимости от положения циано-группы в изоксазольном цикле реагенты и условия реакций гетероциклизации значительно различаются, поэтому материал данного раздела сгруппирован по получению 3-, 4- и 5-цианоизоксазолов. Второй путь включает методы превращения подходящих функциональных групп в нитрильную группу в результате реакций дегидратации, окисления или нуклеофильного замещения. В обзоре также приводятся данные по химическим превращениям цианоизоксазолов и изучению биологической активности соединений, полученных на их основе.

### 2.1. Методы синтеза цианоизоксазолов основанные на реакциях формирования изоксазольного цикла

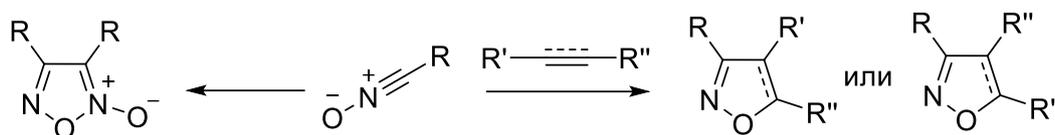
#### 2.1.1. Синтез 3-цианоизоксазолов

Для получения 3-цианоизоксазолов методом (3+2)-циклоприсоединения в качестве реагентов используются циано-*N*-оксид **1** и алкины [1-5] или алкены [6] (Рисунок 2.1). В случае алкенов в реакции образуется изоксазолин, который далее окисляют в соответствующий изоксазол.



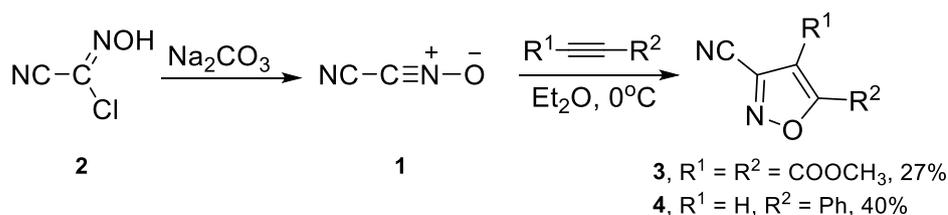
**Рисунок 2.1.** Общая схема получения 3-цианоизоксазолов методом (3+2)-циклоприсоединения.

Побочным процессом таких реакций с участием высоко реакционноспособных нитрилоксидов является их димеризация в фуросаны, что является одной из причин снижения выхода целевого продукта. Другой проблемой (3+2)-циклоприсоединения является отсутствие в ряде случаев региоселективности, что приводит к образованию смесей региоизомеров изоксазолов или изоксазолинов (Рисунок 2.2).



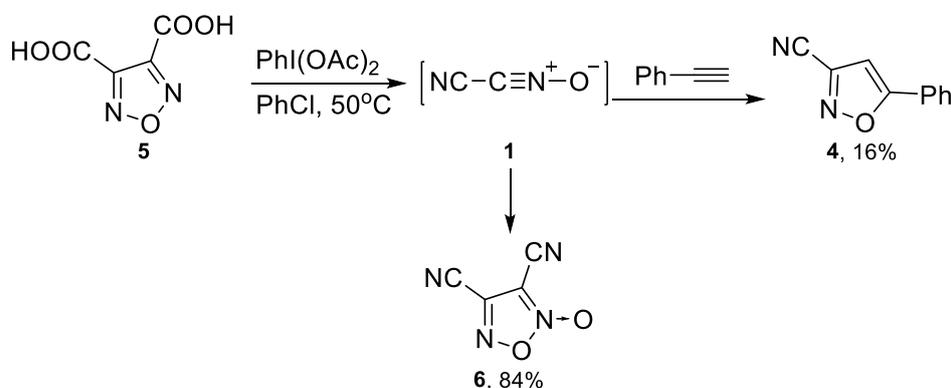
**Рисунок 2.2.** Получение 3-цианоизоксазолов методом (3+2)-циклоприсоединения циано-*N*-оксидов к алкинам.

Образование нитрилоксида **1** происходит в результате дегидрогалогенирования хлороксида **2** под действием слабых оснований, например, водных растворов карбонатов натрия [1] или калия [5]. Гетерофазная среда (водно-эфирная смесь) обеспечивает постепенную генерацию нитрилоксида **1** в реакционной смеси, при этом низкая концентрация диполя **1** делает маловероятным его участие в процессах димеризации, но также снижает и скорость протекания реакции циклоприсоединения. Указанные условия были использованы в реакциях нитрилоксида **1** с фенилацетиленом и диметилowym эфиром ацетилендикарбоновой кислоты, в которых фуроксан не фиксировался, тем не менее, выходы изоксазолов **3** и **4** не превышали 27% и 40%, соответственно (Рисунок 2.3).



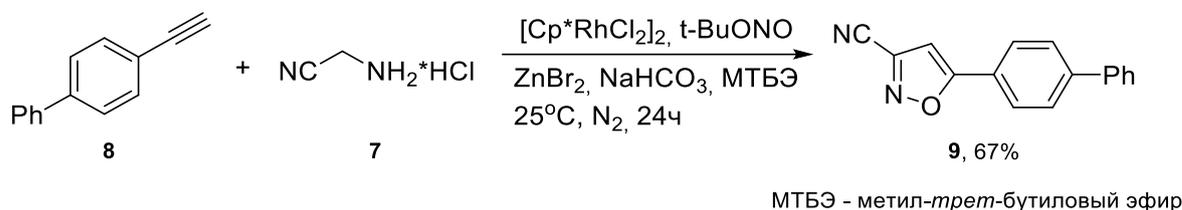
**Рисунок 2.3.** Схема получения 3-цианоизоксазолов **3** и **4**.

Имеются данные, что нитрилоксид **1** образуется в реакции фуразандикарбоновой кислоты **5** с диацетатом йодбензола, что подтверждается получением с высоким выходом продукта димеризации – фуроксана **6**. Указанный метод генерации нитрилоксида **1** не имеет практической значимости, поскольку при добавлении диполярфила, например, фенилацетилена, приводит к образованию сложной смеси продуктов, из которой изоксазол **4** был выделен с выходом 16% (Рисунок 2.4).



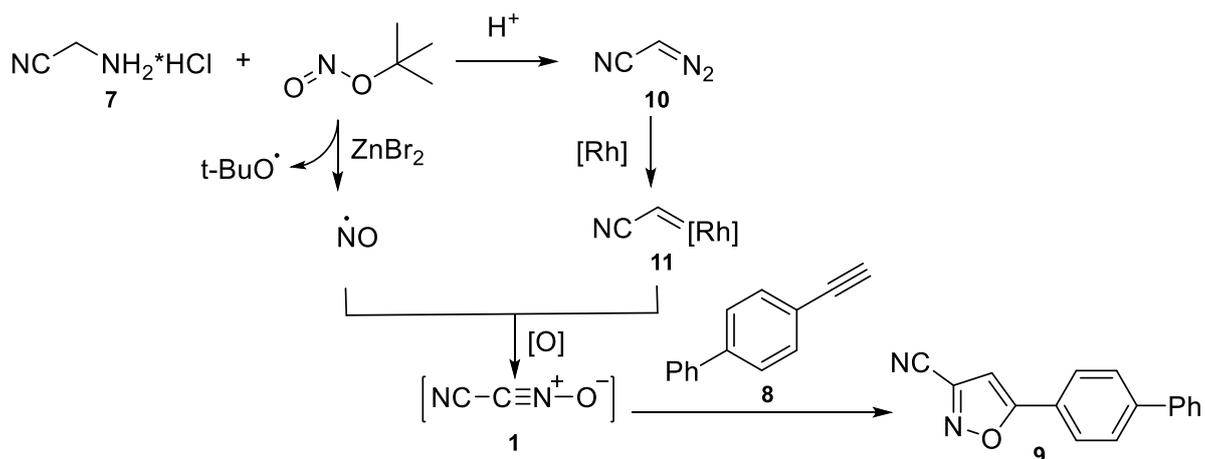
**Рисунок 2.4.** Схема получения 3-цианоизоксазола **4**.

Возможным решением проблемы димеризации нитрилоксидов является их медленная генерация непосредственно в реакционной среде. Так, в работе [3] было описано получение 3-цианоизоксазола **9** в результате реакции (3+2)-циклоприсоединения с участием алкина **8** и нитрилоксида **1**, который постепенно образовывался при обработке соли  $\alpha$ -аминонитрила **7** *трет*-бутилнитритом в условиях катализа комплексом родия (II) (Рисунок 2.25).



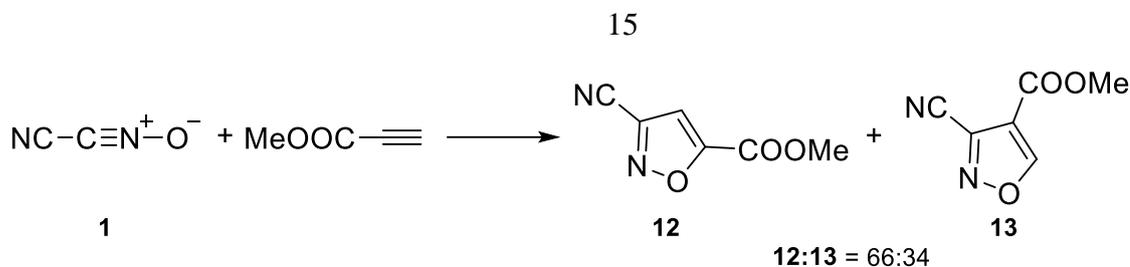
**Рисунок 2.5.** Схема получения 3-цианоизоксазола **9**.

Предполагается [3], что реакция включает образование родиевого карбеноида **11** из соответствующего диазонитрила **10**. При этом взаимодействие *трет*-бутилнитрита с  $ZnBr_2$  приводит к генерации нитрозо-радикала, реакция которого с комплексом **11** дает нитрилоксид **1**. На завершающей стадии происходит процесс (3+2)-циклоприсоединения с участием диполя **1** и алкина **8**, в результате чего образуется конечный продукт **9** (Рисунок 2.6).



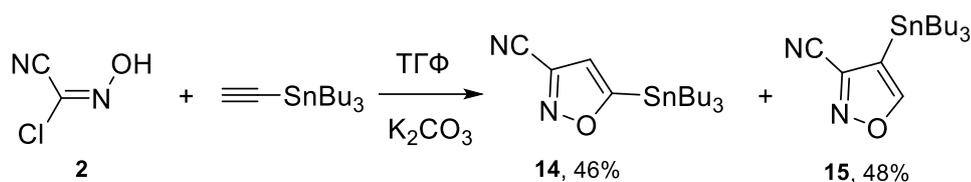
**Рисунок 2.6.** Схема получения 3-цианоизоксазола **9**.

В общем случае процесс (3+2)-циклоприсоединения нитрилоксида **1** к алкинам может быть не региоселективным и зависит от природы заместителей тройной связи. Так, синтез 5-арилзамещенных 3-цианоизоксазолов **4** и **9** [1–3] (Схемы 3,5) из соответствующих терминальных арилацетиленов протекает региоселективно. В то же время реакция с метиловым эфиром пропиоловой кислоты протекает с образованием смеси изомеров изоксазолов **12** и **13** в близких соотношениях (выходы не приводятся) [4] (Рисунок 2.7).



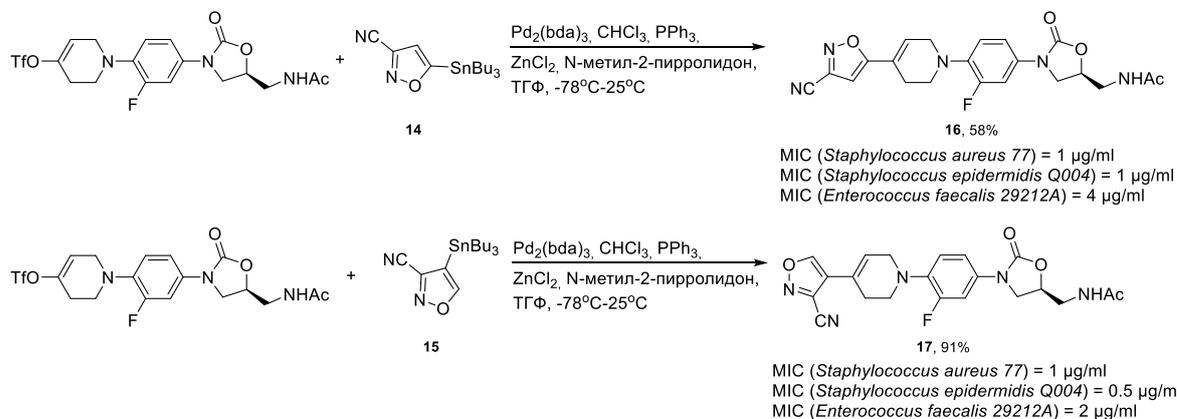
**Рисунок 2.7.** Схема получения изомерных 3-цианоизоксазолов **12** и **13**.

Образование региоизомеров **14** и **15** в примерно равных количествах также наблюдалось при использовании трибутилэтилолова в качестве диполярфила в реакции с хлороксимом **2** в основных условиях [5] (Рисунок 2.8).



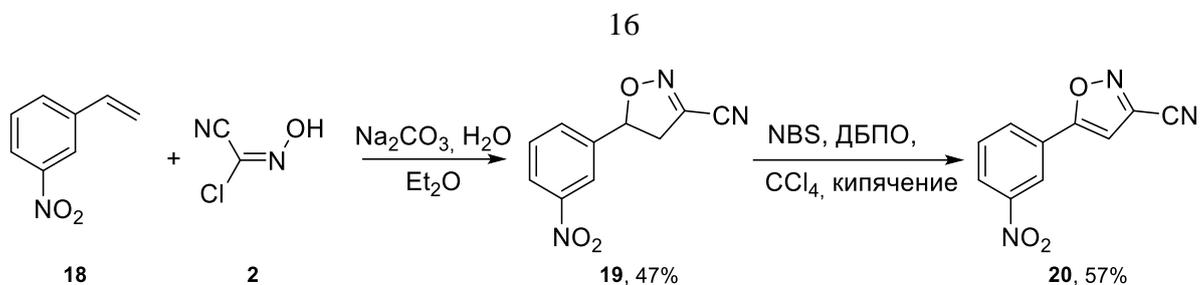
**Рисунок 2.8.** Схема получения изомерных 3-цианоизоксазолов **14** и **15**

Выделенные из смеси оловоорганические производные изоксазола **14** и **15** были введены в условия реакции Стилле с образованием гетероциклов **16** и **17**, показавших высокую антибактериальную активность (Рисунок 2.9).



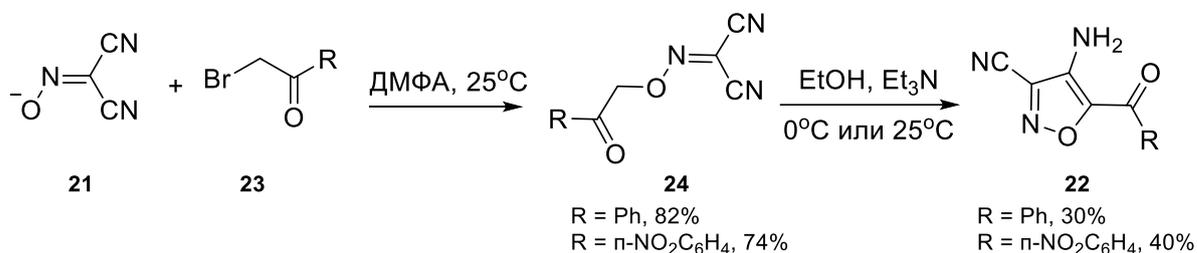
**Рисунок 2.9.** Синтез производных изоксазола **16** и **17** с антибактериальной активностью.

Пример использования алкенов в качестве диполярфилов для синтеза 3-цианоизоксазолов приведен в работе [6]. Реакция 1,3-диполярного присоединения с участием 3-нитростирола **19** протекала с образованием изоксазолина **19**, дальнейшую ароматизацию которого в 3-цианоизоксазол **20** проводили в условиях радикального бромирования под действием *N*-бромсукцинимид (NBS) в присутствии дибензоилпероксида (ДБПО) (Рисунок 2.10).



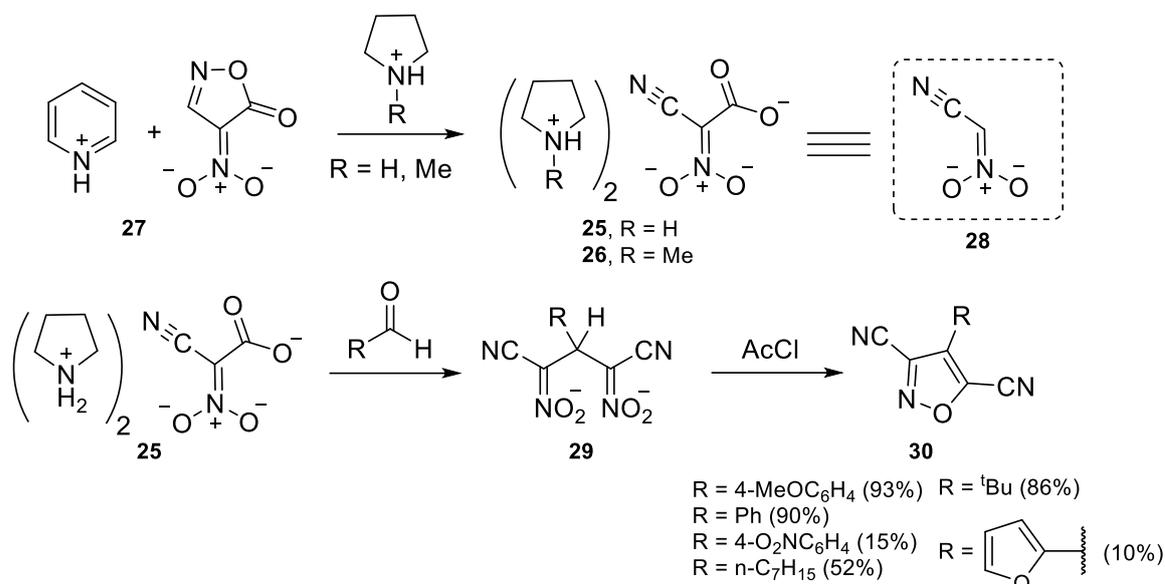
**Рисунок 2.10.** Схема получения 3-цианоизоксазола **20**.

Синтез 4-амино-3-цианоизоксазолов **22** было осуществлен в две стадии, включающие реакцию алкилирования оксимной группы (оксимино)малононитрила **21** бромкетонам **23** и последующую гетероциклизацию продукта **24** под действием спиртового раствора триэтиламина [7]. Для достижения высоких выходов в реакции нуклеофильного замещения необходимо использовать труднодоступную серебряную соль оксиминомалононитрила **21**, что уменьшает препаративную ценность данного метода (Рисунок 2.11) [7].



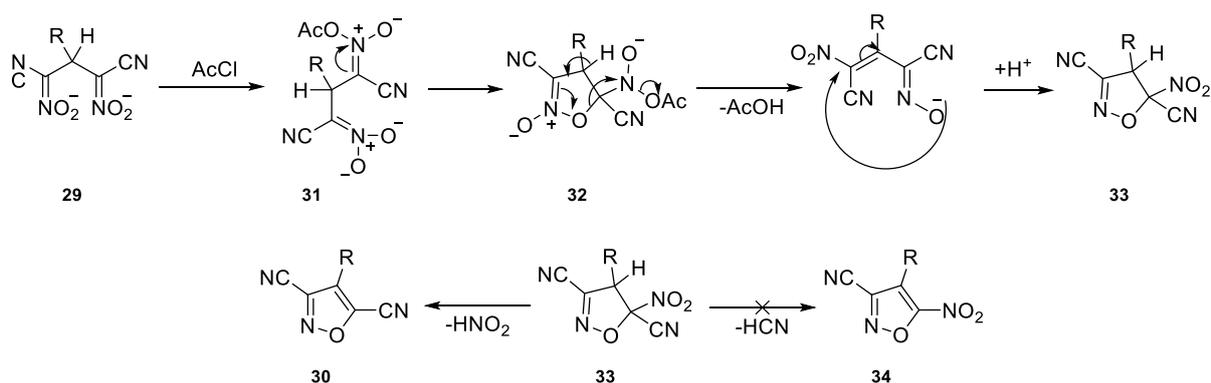
**Рисунок 2.11.** Схема получения 3-цианоизоксазола **22**.

Для 3-цианоизоксазолов был также разработан специфический метод формирования изоксазольного цикла, позволяющий ввести различные заместители в положение 4 гетероцикла. Метод основан на использовании (циано)ацетонитроацетатов **25** и **26**, которые представляют собой дианионы, полученные при обработке пиридиниевой соли нитроизоксазолонна **27** пирролидином или 1-метилпирролидином, соответственно (Рисунок 2.12) [8-9]. Соединения **25** и **26** представляют собой синтетические эквиваленты ациформы нестабильного  $\alpha$ -нитроацетонитрила **28**, который в реакции с альдегидами образует пентадинитрил-2,4-динитронаты **29**, а их последующая обработка ацетилхлоридом приводит к 3,5-дицианоизоксазолам **30** (Рисунок 2.12).



**Рисунок 2.12.** Схема получения серии 3,5-дицианоизоксазолов **30**.

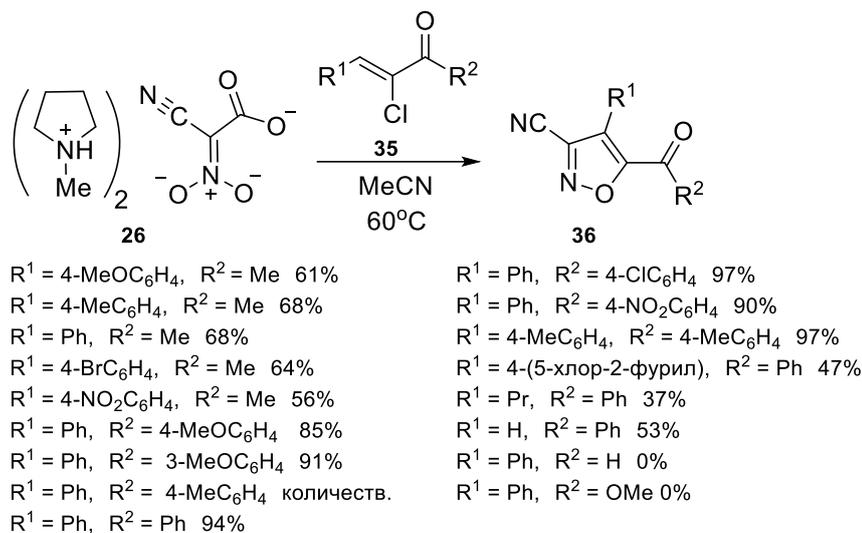
Вероятный механизм реакции представлен на рисунке 13 [8]. В результате моноацилирования бис(нитроната) **29** образуется (*O*-ацетил)нитронат **31**, который взаимодействует со свободной нитронатной группой с образованием изоксазолин N-оксида **32**. Дальнейший процесс размыкания цикла\замыкания цикла N-оксида **32**, сопровождающийся элиминированием уксусной кислоты, приводит к образованию изоксазолина **33**, ароматизация которого может проходить по двум направлениям. В случае отщепления азотистой кислоты образуется 3,5-дицианоизоксазол **30**, альтернативное элиминирование HCN должно приводить к 3-циано-5-нитроизоксазолу **34**. Было показано, что в большинстве случаев основным продуктом реакции является 5-цианоизоксазол **30**, что связано с более высокой нуклеофугностью нитрогруппы (Рисунок 2.13).



**Рисунок 2.13.** Механизм синтеза дитианоизоксазолов **30**.

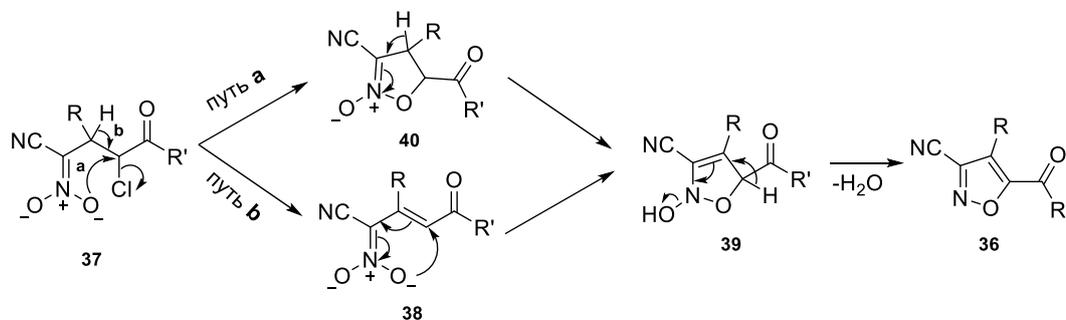
Соли **25** и **26** были также использованы в реакциях с другими электрофильными реагентами [9]. На примере соединения **26** было показана возможность его присоединения по кратной связи  $\alpha$ -хлор- $\alpha,\beta$ -непредельных кетонов с последующей гетероциклизацией,

приводящей к образованию 3-цианоизоксазолов **36**. Найденная реакция легла в основу нового препаративного метода синтеза 3-цианоизоксазолов (Рисунок 2.14).



**Рисунок 2.14.** Новый препаративный метод синтеза 3-цианоизоксазолов.

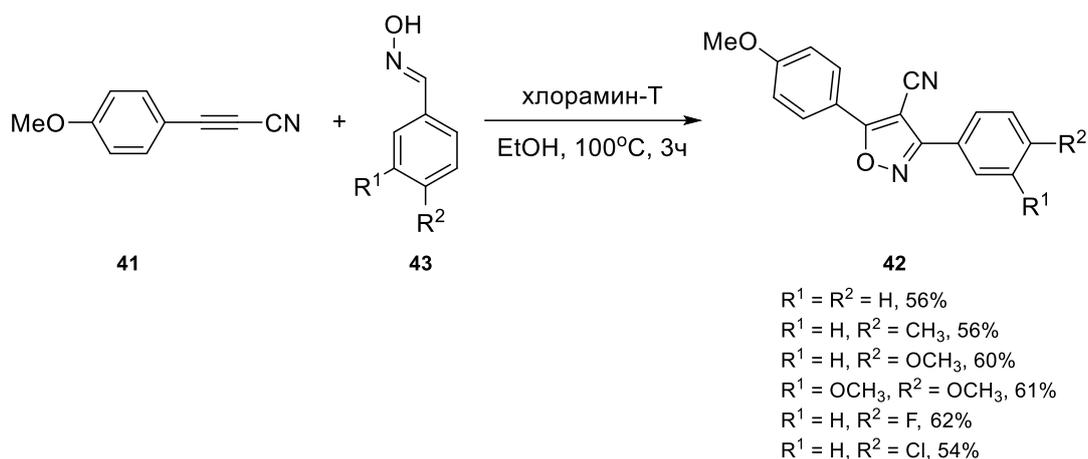
Согласно предложенному механизму реакции аддукт **37** образует производное изоксазолина **39** по одному из двух возможных путей. Замыкание цикла происходит либо в результате прямого замещения нитронат-анионом атома хлора (путь а), либо через образование промежуточного енона **38** (путь б). Дегидратация изоксазолина **39** в условиях реакции приводит к целевому изоксазолу **36** (Рисунок 2.15).



**Рисунок 2.15.** Два пути замыкания изоксазольного цикла в реакции синтеза 3-цианоизоксазолов **36**.

### 2.1.2. Синтез 4-цианоизоксазолов

Метод (3+2)-циклоприсоединения редко используется для синтеза 4-цианоизоксазолов, что связано с ограниченной доступностью соответствующих цианоацетиленов. Тем не менее, было показано, что дизамещенный (арил)цианоацетилен **41** в реакции с серией альдоксимов **43** под действием хлорамина-Т образует 3,5-диарилзамещенные 4-цианоизоксазолы **42** с приемлемыми выходами (54-62%) [10]. В условиях реакции альдоксимы **43** являются источниками соответствующих нитрилоксидов (Рисунок 2.16).

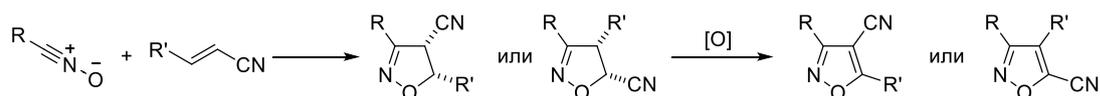


**Рисунок 2.16.** Использование метода (3+2)-циклоприсоединения для получения 4-цианоизоксазолов на примере производных **42**.

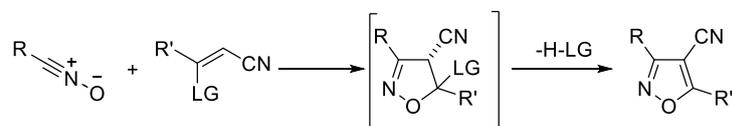
Скрининг антимикробной активности гетероциклов **42** показал их высокую активность по отношению к бактериям *E. coli* и *S. aureus* (диаметр зоны ингибирования  $\geq 20$  мм) и к грибкам *A. niger* и *C. albicans* (диаметр зоны ингибирования  $\geq 15$  мм), а также умеренную активность относительно *B. subtilis* (диаметр зоны ингибирования  $\geq 10$  мм) и *F. oxysporium* (диаметр зоны ингибирования  $\geq 14$  мм).

Цианозамещенные алкены синтетически более доступны, чем алкины, поэтому они чаще применяются в качестве диполярофилов для получения 4-цианоизоксазолов. В данном случае синтез изоксазола представляет собой двухстадийный процесс, включающий образование изоксазолина и его последующую ароматизацию. При использовании  $\beta$ -замещенных акрилонитрилов в реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения могут образовываться 4- или 5-цианоизоксазолы, а также их смеси, что показывает низкую региоселективность подхода 1 (Подход 1, Рисунок 2.17). Введение дополнительных уходящих групп (LG) в  $\beta$ -положение алкена позволяет получить целевой изоксазол в одну синтетическую стадию, поскольку промежуточно образующийся изоксазолин в условиях реакции быстро превращается в соответствующий изоксазол (Подход 2, Рисунок 2.17). Роль уходящей группы LG заключается в контроле региоселективности циклоприсоединения и обеспечении ароматизации изоксазолина за счет ее элиминирования.

Подход 1

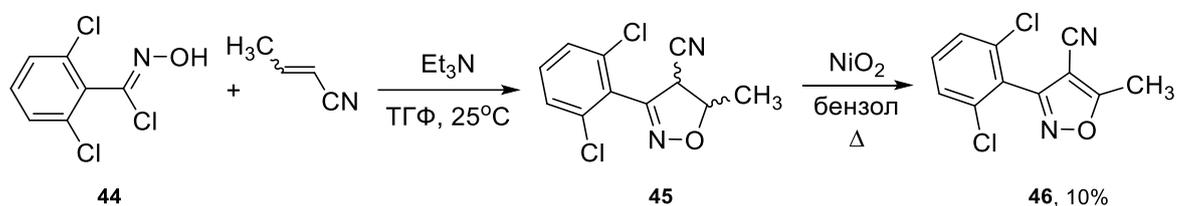


Подход 2



**Рисунок 2.17.** Два подхода к синтезу 4-цианоизоксазолов.

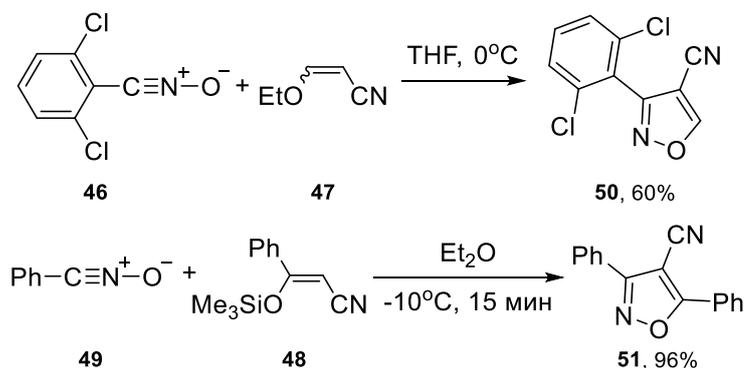
Образование исключительно 4-цианоизоксазола **46** с низким выходом (10%) с использованием Подхода 1 (Рисунок 2.17) описано в работе [11]. Реакция хлороксима **44** со смесью E\Z-изомеров кротононитрила протекает с образованием изоксазолина **45**, для которого не определена стерео- и региохимия, а последующее окисление приводит только к одному продукту **46** (Рисунок 2.218).



**Рисунок 2.18.** Синтез 4-цианоизоксазола **46**.

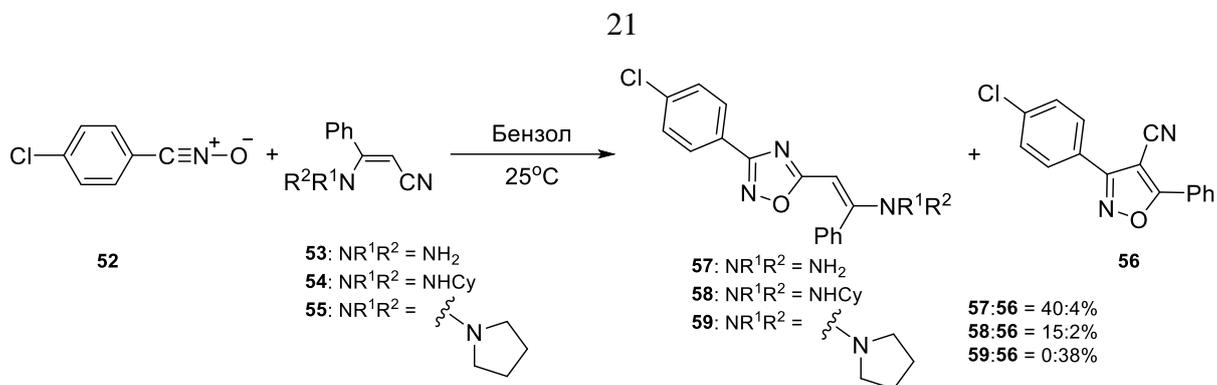
Подход 2 (Рисунок 2.17) в синтезе 4-цианоизоксазолов дает хорошие результаты по региоселективности процесса, при этом в качестве диполярфилов чаще всего используются эфиры енолов [12] и енамины [13, 14, 15, 16].

На примере ароматических нитрилоксидов **46** и **49** и эфиров енолов **47** [12] и **48** [14] было показано, что образование изоксазолов **50** и **51** протекает в мягких условиях с хорошими препаративными выходами (Рисунок 2.19).



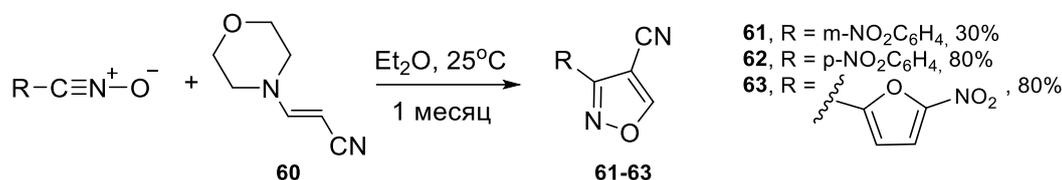
**Рисунок 2.19.** Синтез ароматических 4-цианоизоксазолов **50** и **51**.

При использовании енаминов в реакции (3+2)-циклоприсоединения наряду с 4-цианоизоксазолами возможно конкурентное образование оксадиазолов. Было показано, что при взаимодействии *n*-хлорбензонитрилоксида **52** с енаминами нитрила коричной кислоты **53**, **54**, содержащими N-H связь, преимущественно образуются оксадиазолы **57**, **58** с небольшой примесью 4-цианоизоксазола **56** [15] (Рисунок 2.20). Состав продуктов реакции изменялся при варьировании растворителей различной полярности, однако достичь высокого выхода целевого продукта **56** в ходе оптимизации не удалось. Оказалось, что в реакции нитрилоксида **52** с *N,N*-диалкилзамещенным енамином **55** оксадиазол **59** не образуется, однако выход 4-цианоизоксазола **56** и в этом случае не превышал 40% в (Рисунок 2.20).



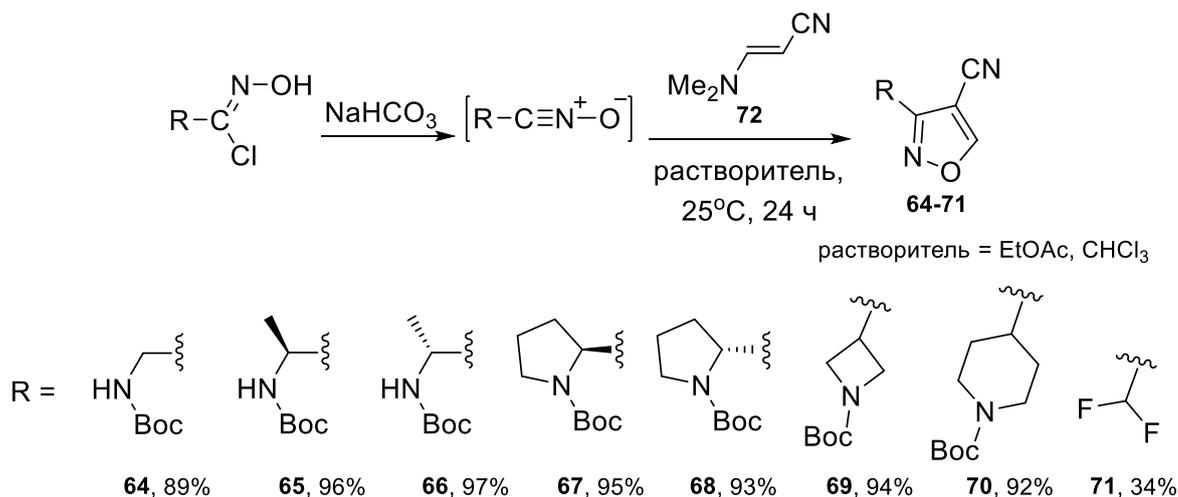
**Рисунок 2.20.** Синтез 4-цианоизоксазолов **56** с использованием енаминов.

Отсутствие образования оксадиазолов наблюдалось и при использовании в реакции (3+2)-циклоприсоединения енамина **60**, содержащего фрагмент морфолина в структуре. В этом случае реакция завершалась за месяц и приводила к хемоселективному образованию 4-цианоизоксазолов **61-63** с высокими выходами [14] (Рисунок 2.21).



**Рисунок 2.21.** Синтез 4-цианоизоксазолов **61-63**.

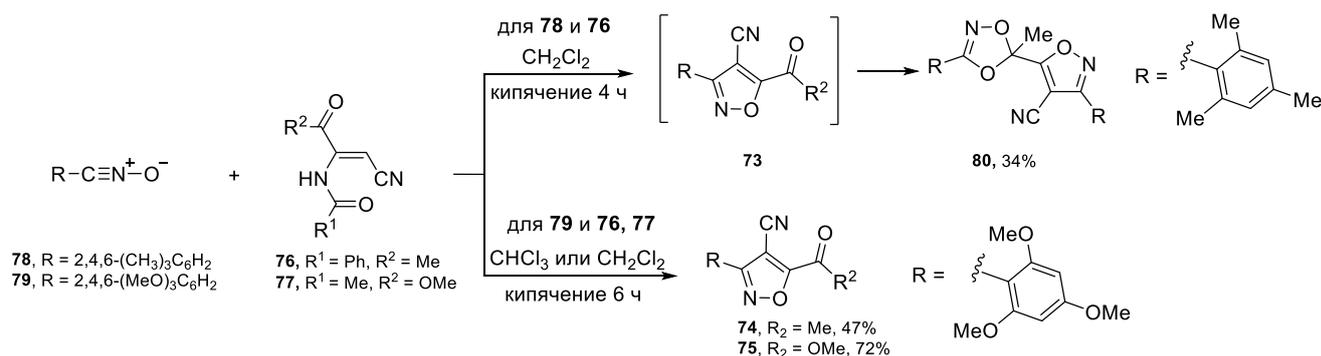
На основе реакции *N,N*-дизамещенного енамина **72** с (хлор)оксимами в основной среде была получена представительная библиотека 3-*R*-4-цианоизоксазолов **64-70**, содержащих аминокильный заместитель R, в том числе в энантиомерно чистом виде [16] (Рисунок 2.22). Реакция оказалась пригодной и для получения 3-(дифторметил)-4-цианоизоксазола **71**, выход которого составил 34% [13].



**Рисунок 2.22.** Синтез серии 4-цианоизоксазолов **64-71**.

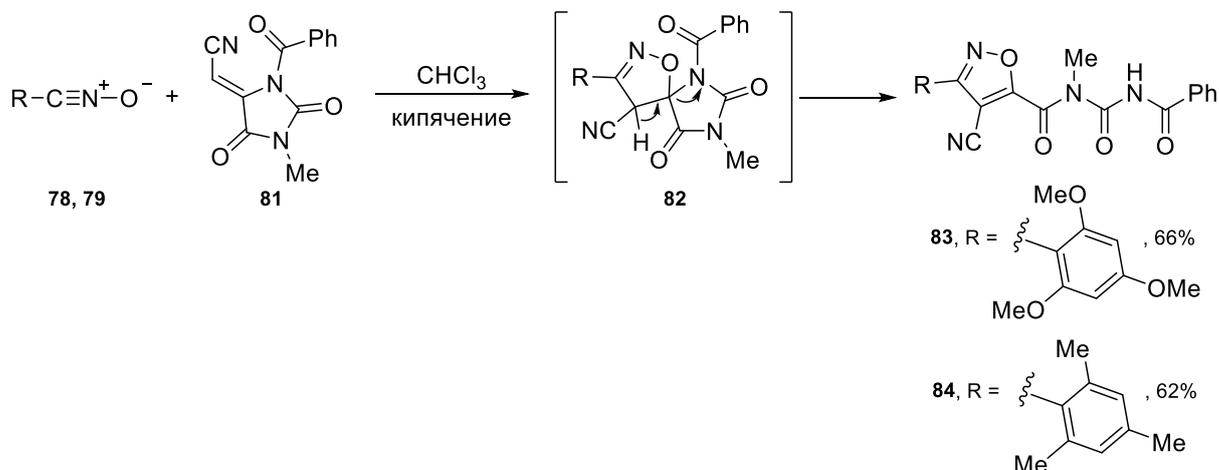
Использование *N*-ацилированных енаминов **76** и **77**, содержащих дополнительный ацильный фрагмент в β-положении к цианогруппе, позволяет получать тризамещенные 4-цианоизоксазолы **74**, **75** (Рисунок 2.23) [17, 18]. При этом оказалось, что первоначально образующийся 4-цианоизоксазол **73**, содержащий мезитильный заместитель, быстро вступает в

последующую реакцию циклоприсоединения по карбонильной группе с нитрилоксидом **78**, приводящую к бис(гетероциклу) **80** (Рисунок 2.23) [17].



**Рисунок 2.23.** Синтез серии 4-цианоизоксазолов из N-оксидов и N-ацилированных аминов.

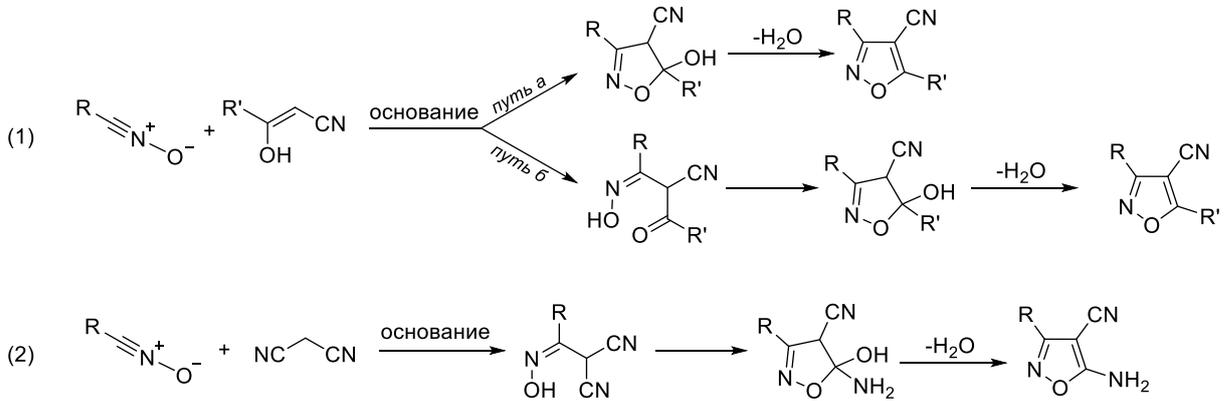
Полизамещенный гидантоиновый цикл соединения **81** можно также рассматривать как  $\beta,\beta$ -дизамещенный акрилонитрил, который при взаимодействии с нитрилоксидами **78** и **79** образует изоксазолин **82** спироциклического строения [19] (Рисунок 2.24). Последующая ароматизация изоксазолинового цикла происходит в результате раскрытия гидантоинового кольца с образованием фрагмента мочевины. Таким путем были получены 4-цианоизоксазолы **83**, **84** с выходами 66 и 62%, соответственно.



**Рисунок 2.24.** Синтез серии 4-цианоизоксазолов **83** и **84**.

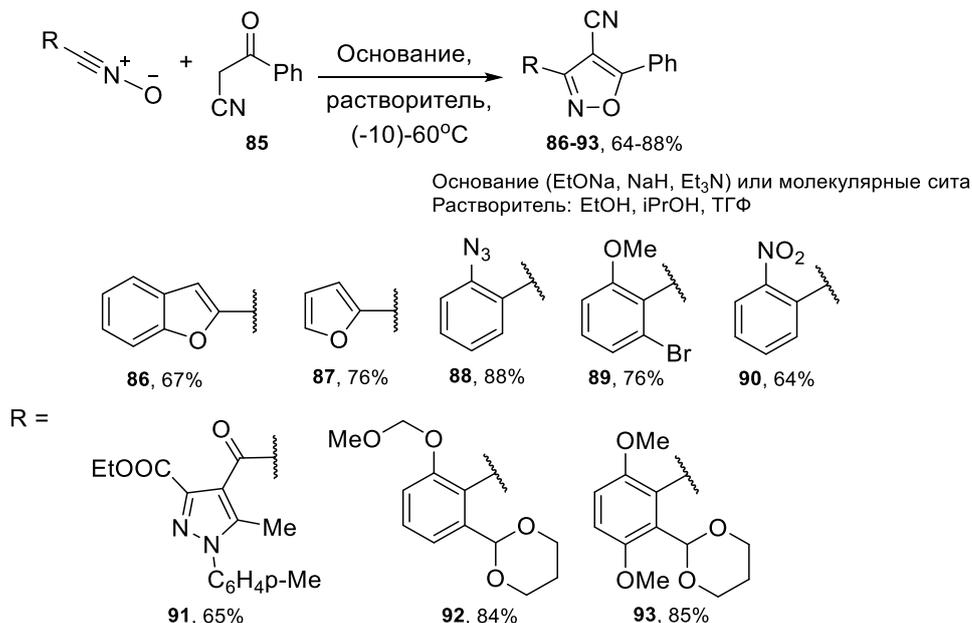
Помимо рассмотренной выше реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения, нитрилоксиды или их предшественники – хлороксимы могут быть также использованы в процессах гетероциклизации с соединениями с активной метиленовой компонентой. На основе такого подхода была получена большая серия 4-цианоизоксазолов при взаимодействии нитрилоксидов или хлороксимов с кетонитрилами или малононитрилом в основной среде [13, 20–35]. В случае кетонитрила (Рисунок 2.25 (1)) реакция включает образование изоксазолина, содержащего гидроксигруппу в положении 5 гетероцикла, дегидратация которого приводит к 4-цианоизоксазолу. Образование изоксазолинового цикла возможно двумя путями: 1)

одностадийное циклоприсоединение нитрилоксида к енольной форме кетонитрила (*путь а*) или 2) последовательность реакций нуклеофильного присоединения по двойной связи енола и последующей атаки гидроксигруппы по карбонильному атому углерода (*путь б*) (Рисунок 2.25). В случае малондинитрила реакция протекает аналогично пути б для кетонитрилов с участием цианогруппы в качестве электрофильного центра, что приводит к образованию 4-циано-5-аминоизоксазола (Рисунок 2.225 (2)).



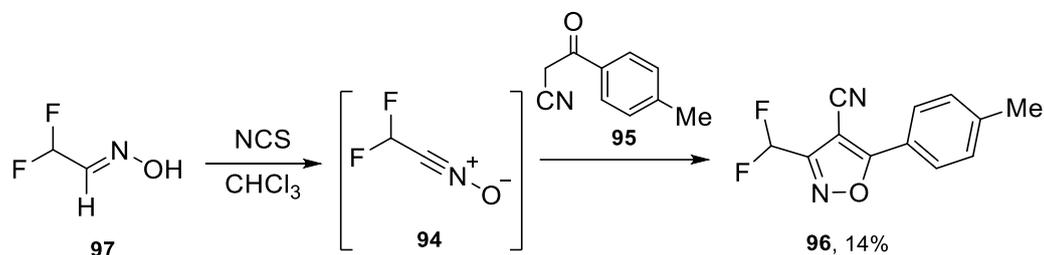
**Рисунок 2.25.** Два подхода к синтезу различных 4-цианоизоксазолов из N-оксидов.

Использование кетонитрилов в реакциях образования 4-цианоизоксазолов было продемонстрировано на примере бензоилацетонитрила **85**, который вводился в реакции с серией нитрилоксидов с различными ароматическими заместителями. Наиболее эффективно гетероциклизация протекала спиртовых или эфирных растворителях в основной среде с использованием в качестве оснований этилата натрия [20–22], гидрида натрия [23] или триэтиламина [24], также описано взаимодействие реагентов в присутствии молекулярных сит [25]. Во всех условиях 4-цианоизоксазолы **86–93** были получены с хорошими препаративными выходами [20–25] (Рисунок 2.26).



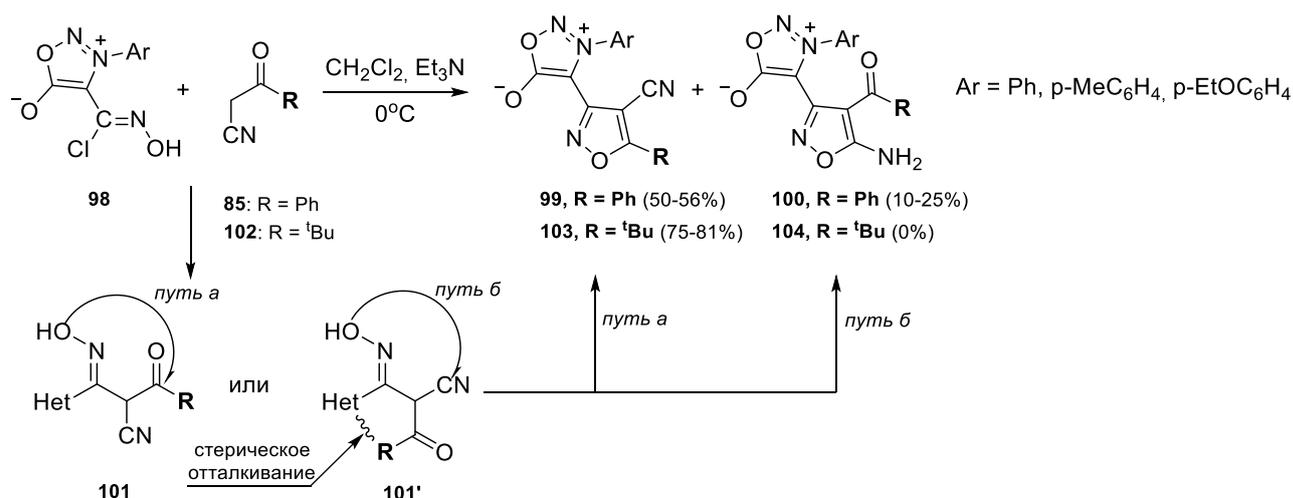
**Рисунок 2.26.** Препаративный метод синтеза 4-цианоизоксазолов **86–93**.

Примером использования алифатического нитрилоксида в реакции с кетонитрилом приведен в работе [13]. В этом случае исходный нитрилоксид **94** получали *in situ* при обработке оксима **97** *N*-хлорсукцинимидом (NCS), а его последующее взаимодействие с  $\beta$ -оксонитрилом **95** привело к образованию продукта гетероциклизации **96** с низким выходом (Рисунок 2.27).



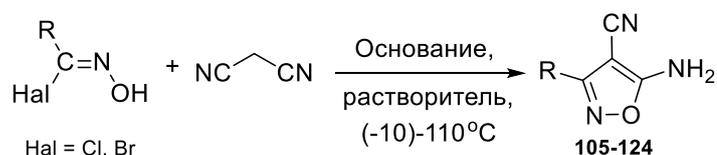
**Рисунок 2.27.** Схема получения 4-цианоизоксазола **96**.

Кетонитрилы содержат в структуре два электрофильных центра – кето- и циано-группы, что может приводить к конкурентным процессам гетероциклизации и понижать хемоселективность реакции. Так, на примере хлороксима **98**, содержащего сидноновый фрагмент, было показано, что результат реакции гетероциклизации с кетонитрилами **85** и **102** зависит от природы заместителя при кетогруппе [26] (Рисунок 2.28). В случае фенилзамещенного кетонитрила **85** гетероциклизация приводила к образованию смеси 4-цианоизоксазола **99** и 5-аминоизоксазола **100**, при этом кетонитрил **102** с *трет*-бутильным заместителем давал исключительно 4-нитроизоксазол **103**. Такое различие в направлении реакции объясняется стерическим фактором, а именно, невозможностью реализации пути б, (Рисунок 2.28) а именно нуклеофильной атаки цианогруппы атомом кислорода оксимного фрагмента за счет неустойчивости конформации **101'** при наличии *трет*-бутильного заместителя.



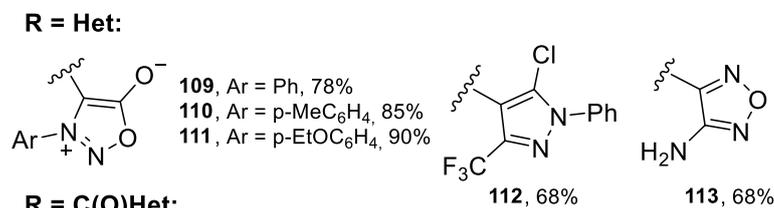
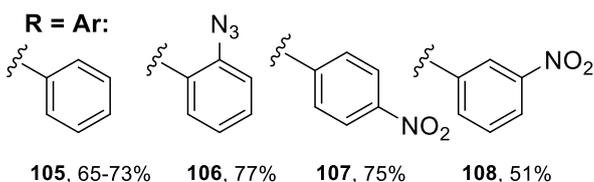
**Рисунок 2.28.** Схема получения 4-цианоизоксазолов из кетонитрилов, содержащих два электрофильных центра.

Малонитрил представляет собой C-нуклеофил, широко используемый в реакциях с нитрилоксидами или галогенальдоксимами для получения 5-амино-4-цианоизоксазолов, которые являются удобными предшественниками в синтезе биологически активных соединений (Рисунок 2.29). Взаимодействие малонитрила с галогенальдоксимами происходит в основных условиях с использованием NaOEt [22, 27–30], NaOMe [31–33], <sup>t</sup>BuOK [34] или Et<sub>3</sub>N [24, 26], при этом выход продуктов **105-124** зависит от активности образующегося в реакционной среде нитрилоксида. В случае менее реакционноспособных арил- или гетарилзамещенных нитрилоксидов 4-цианоизоксазолы **105-115** образовывались с выходами от 51 до 90%, в то время как в реакциях с алкилзамещенными нитрилоксидами выходы продуктов **117-124** составляли 45-67% (Рисунок 2.29).

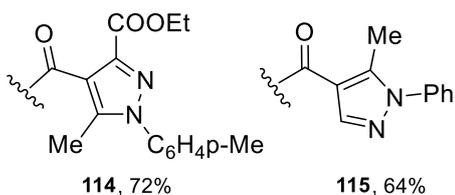


Основание: EtONa, MeONa, Et<sub>3</sub>N, <sup>t</sup>BuOK

Растворитель: EtOH, MeOH, ТГФ, PhMe

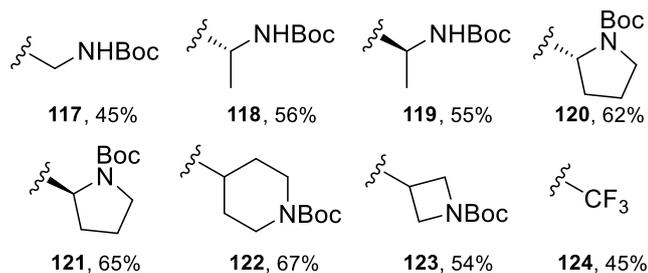


**R = C(O)Het:**



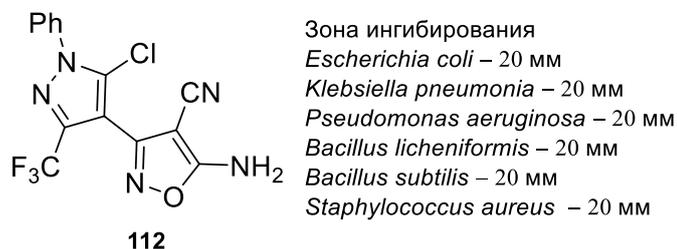
**R = COOEt:** **116**, 48%

**R = Alk:**



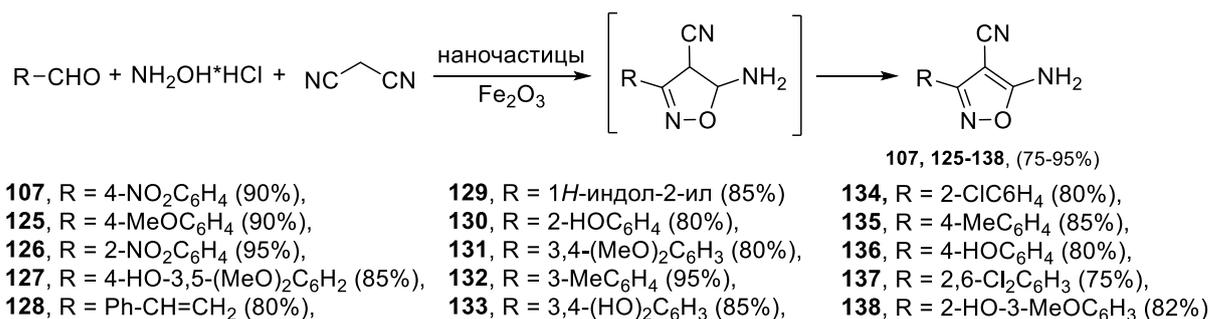
**Рисунок 2.29.** Препаративный метод синтеза серии 4-цианоизоксазолов.

Скрининг антибактериальной активности полученных производных изоксазола показал, что соединение **112** сопоставимо по действию на штаммы бактерий (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) с известным лекарственным препаратом – ципрофлоксацином [32] (Рисунок 2.30).



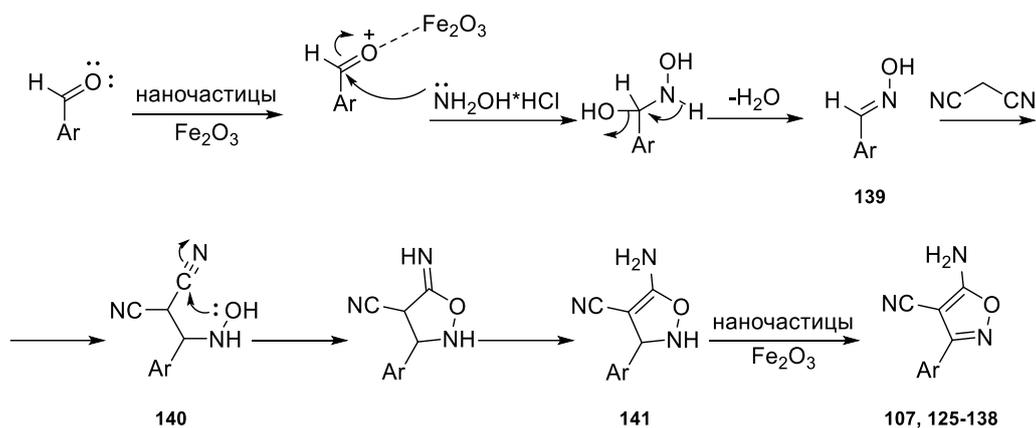
**Рисунок 2.30.** Производное 4-цианоизоксазолов с антибактериальной активностью.

Необычный подход к синтезу большой библиотеки 5-амино-4-цианоизоксазолов **107**, **125-138** был предложен на основе трехкомпонентной реакции, катализируемой наночастицами оксида железа (III) [35] (Рисунок 2.31). Для ароматических альдегидов различного строения реакция с гидроксиламином и малононитрилом протекала с образованием продуктов **107**, **125-138** с выходами от 75% до 95%.



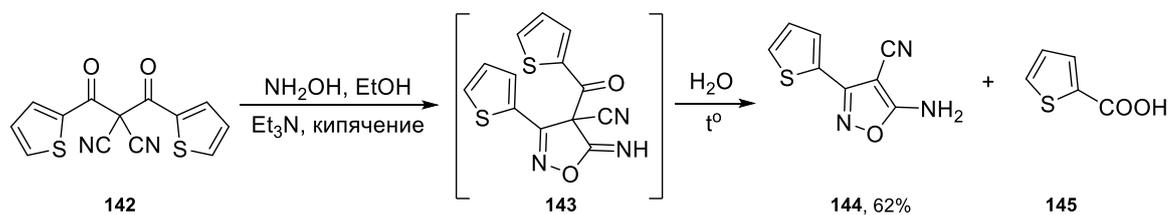
**Рисунок 2.31.** Препаративный метод синтеза серии 5-амино-4-цианоизоксазолов **107**, **125-138**.

Согласно предложенной авторами механистической схеме реакции ключевой стадией образования 4-цианоизоксазола является присоединение малононитрила к оксиму **139**. Последующая внутримолекулярная циклизация аддукта **140** в изоксазолин **141** и его ароматизация под действием окислителя – оксида железа (III) приводит к конечным продуктам **107**, **125-138** (Рисунок 2.32).



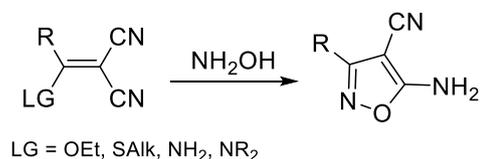
**Рисунок 2.32.** Механизм синтеза 5-амино-4-цианоизоксазолов **107, 125-138**.

5-Амино-4-цианоизоксазолы могут быть также получены гетероциклизацией 1,3-диэлектрофилов под действием гидроксиламина. Использование в этой реакции цианозамещенных 1,3-дикетонов ограничено их низкой синтетической доступностью. В литературе описан единственный пример такой реакции для 1,3-дикетона **142** с гидроксиламином [36]. Отметим, что гетероциклизация 1,3-дикетона **142** происходит с участием фрагмента  $\alpha$ -цианокетона с образованием неустойчивого изоксазолина **143**, который превращается в соответствующий изоксазол **144** путем кислотного расщепления кетонитрильного фрагмента при участии воды (Рисунок 2.33).



**Рисунок 2.33.** Схема получения 5-амино-4-цианоизоксазола **144** гетероциклизацией 1,3-диэлектрофилов под действием гидроксиламина.

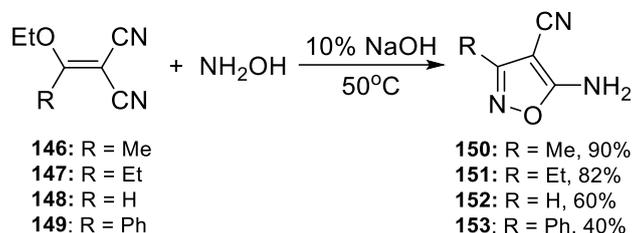
В качестве 1,3-диэлектрофила в синтезе 4-цианоизоксазолов часто используются гем-дицианоалкены, содержащие алкокси- [37–41], тиоалкокси- [42, 43] или аминогруппы [44–49] в  $\beta$ -положении (Рисунок 2.34).



**Рисунок 2.34.** Схема получения 5-амино-4-цианоизоксазолов гетероциклизацией 1,3-диэлектрофилов под действием гидроксиламина.

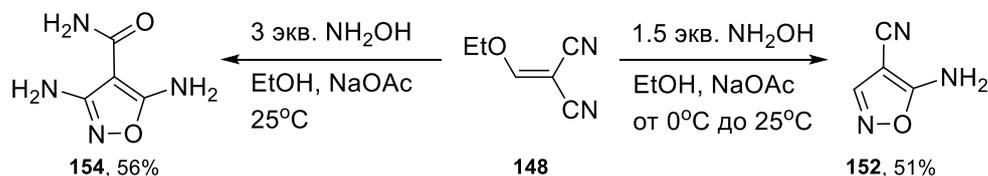
Гетероциклизация 2-этокси-1,1-дицианоалкенов **146-149** под действием гидроксиламина протекает в среде 10% раствора NaOH [37–40] или в присутствии CH<sub>3</sub>COONa [41]. Данный метод позволяет получать 3-алкиламещенные изоксазолы **150-151** с высокими выходами (82-

90%) [38–40] (Рисунок 2.35). Более низкие выходы целевых продуктов **152**, **153** наблюдались при использовании дицианоалкенов **148**, **149** в реакциях с гидроксиламином. Такой результат объясняется низкой стабильностью 4-цианоизоксазолов **152**, **153** в условиях реакции [38] (Рисунок 2.35).



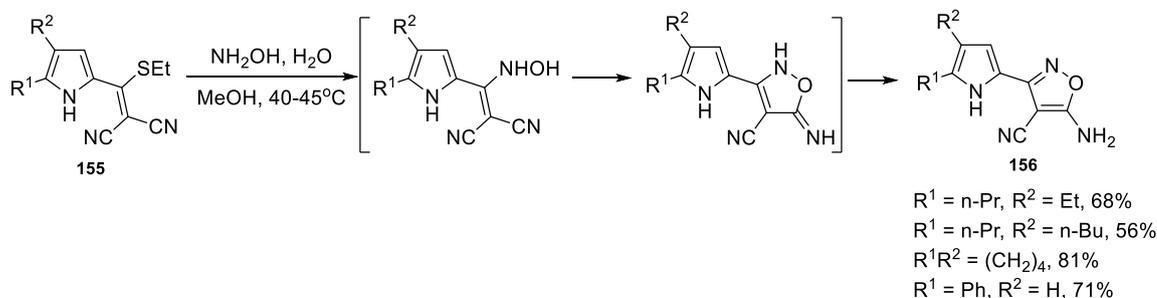
**Рисунок 2.35.** Схема получения 5-амино-4-цианоизоксазолов **150-153** гетероциклизацией 1,3-дизэлектрофилов под действием гидроксиламина.

Было показано, что результат реакции гетероциклизации β-этоксигем-дицианоалкена **148** под действием гидроксиламина зависит от используемых условий [41], что связано с чувствительностью положения 3 изоксазола **152** к нуклеофильным атакам [37]. Оказалось, что при взаимодействии алкена **148** с 1.5 экв. гидроксиламина образуется 4-цианоизоксазол **152** с выходом 51%, в то время как увеличение количества гидроксиламина до 3 эквивалентов приводит к получению 3,5-диаминоизоксазола **154** в качестве основного продукта [41] (Рисунок 2.36).



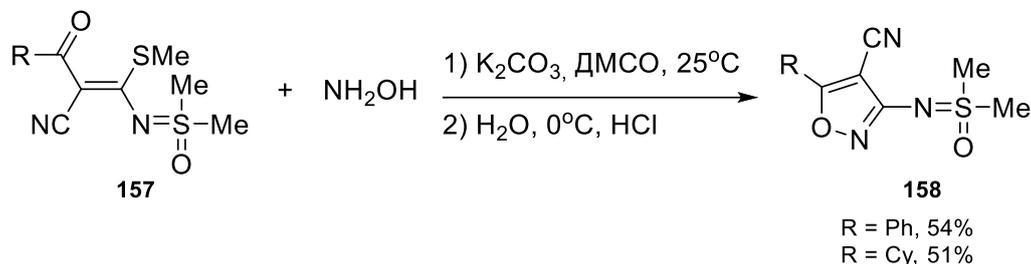
**Рисунок 2.36.** Схема получения 5-амино-4-цианоизоксазола **152**.

Непредельные цианозамещенные тиоэфир в качестве 1,3-дизэлектрофилов в реакции с гидроксиламином были изучены на примере алкенов **155**, обработка которых спиртовым раствором гидроксиламина без добавления основания приводила к образованию 5-амино-4-цианоизоксазолов **156** с хорошими выходами (56-81%) (Рисунок 2.27) [42].



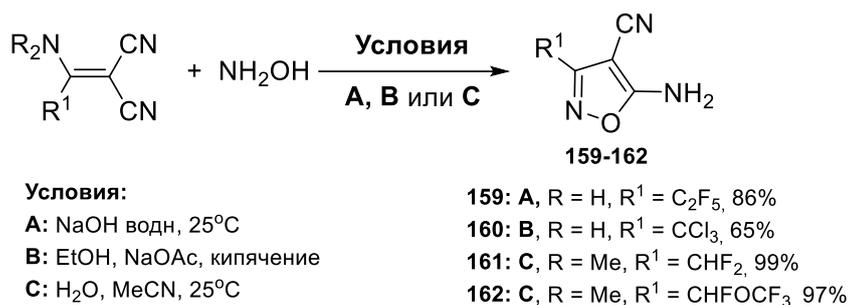
**Рисунок 2.37.** Схема получения 5-амино-4-цианоизоксазолов с использованием непредельных цианозамещенных тиоэфиров в качестве 1,3-дизэлектрофилов.

Непредельные тиоэфиры были также использованы для синтеза 4-цианоизоксазолов **158**, содержащих сульфоксимидный фрагмент в положении 3 гетероцикла. В ходе реакции были получены 5-фенил- и 5-циклогексилзамещенные 4-цианоизоксазолы **158** с выходами 54% и 51% (Рисунок 2.38) [43].



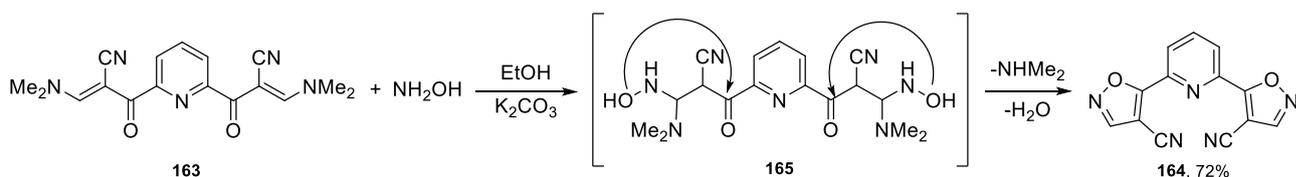
**Рисунок 2.38.** Схема получения 4-цианоизоксазолов **158**.

*гем*-Дицианоалкены с уходящей аминогруппой были использованы в синтезе 3-(полигалогеналкил)замещенных изоксазолов **159-162** [44–49]. Реакция протекала в основной или нейтральной среде, причем в последнем случае выходы продуктов **161**, **162** были близки к количественным (Рисунок 2.39) [44–47].



**Рисунок 2.39.** Схема получения 3-(полигалогеналкил)замещенных изоксазолов **159-162**.

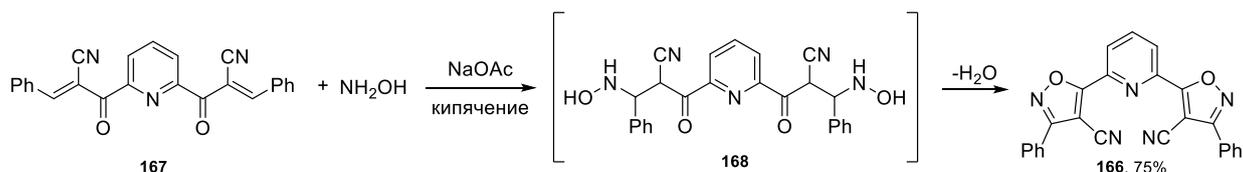
Другим примером использования енаминов в качестве 1,3-диэлектрофила в синтезе 4-цианоизоксазолов является получение полициклического бис(изоксазола) **164**. Реакция симметричного пиридинсодержащего диена **163** с гидроксиламином протекала по двум фрагментам енамина, при этом важно отметить, что гетероциклизация соединения **165** осуществлялась селективно с участием карбонильных атомов углерода и сохранением цианогрупп (Рисунок 2.40) [48].



**Рисунок 2.40.** Схема получения полициклического бис(изоксазола) **164**.

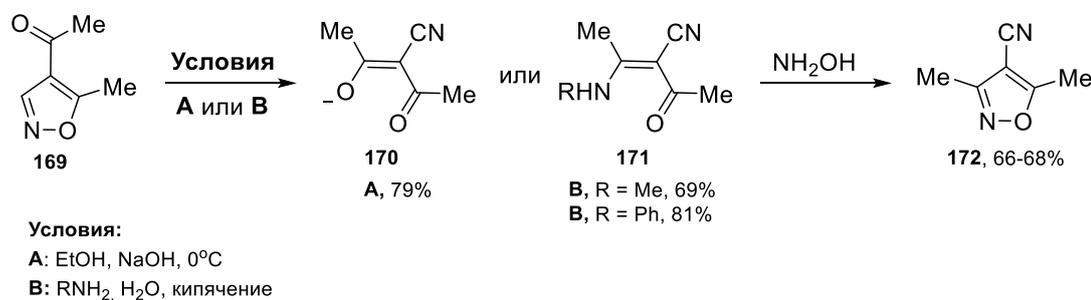
Аналог соединения **164**, бис(изоксазол) **166**, был получен на основе диена **167** в основной среде, содержащей гидроксиламин и ацетат натрия [49]. В данном случае образование изоксазольных циклов, вероятно, происходит за счет окисления в условиях реакции

образующегося в результате внутримолекулярной циклизации бис(4-цианоизоксазолина), поскольку в структуре диена **167** отсутствует уходящая группа (Рисунок 2.41).



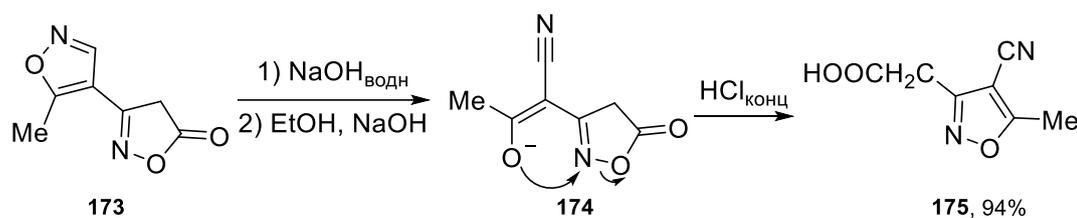
**Рисунок 2.41.** Схема получения полициклического бис(изоксазола) **166**.

Источником цианозамещенных 1,3-дизэлектрофилов могут также служить незамещенные по положению 3 4-EWG-изоксазолы. Например, 4-ацетил-5-метил-изоксазол **169** под действием таких нуклеофилов, как гидроксид-анион или амины легко раскрывается с образованием 1,3-дизэлектрофилов **170**, **171**, которые в реакции с гидроксиламином образуют 3,5-диметил-4-цианоизоксазол **172** с выходом 66-68% [50, 51] (Рисунок 2.42).



**Рисунок 2.42.** Схема получения 3,5-диметил-4-цианоизоксазола.

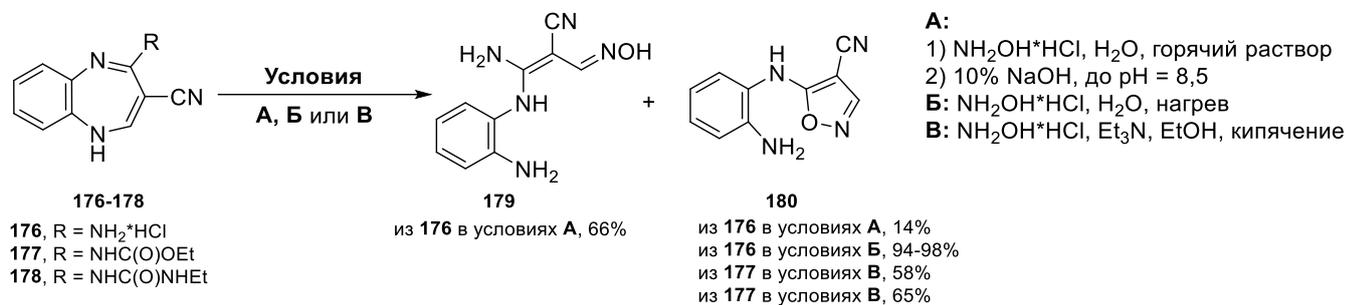
Раскрытие изоксазольного цикла соединения **173** в основной среде приводит к образованию енолята **174**, обработка которого концентрированным раствором соляной кислоты запускает внутримолекулярную перегруппировку с раскрытием изоксазольного цикла и образованием 4-цианоизоксазола **175** с выходом 94% (Рисунок 2.43) [52].



**Рисунок 2.43.** Схема получения 4-цианоизоксазола **175** методом внутримолекулярной перегруппировки.

Цианозамещенный diaзепиновый цикл можно рассматривать как еще один неклассический вариант 1,3-дизэлектрофила в реакциях образования изоксазольного цикла. В частности, при обработке соединения **176** гидроксиламином в основной среде (10% NaOH) происходит раскрытие diaзепинового цикла с образованием смеси альдоксима **179** и продукта его внутримолекулярной циклизации – изоксазола **180** с выходами 66% и 14%, соответственно. В отсутствие основания в слабокислой среде промежуточно образующийся альдоксим **179** нацело превращается в 4-цианоизоксазол **180** с выходом 94-98% [53]. Наличие ацильной

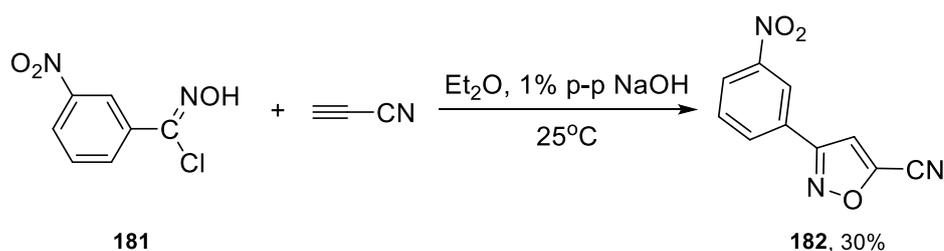
защиты аминогруппы в структуре бензодиазепинов **177**, **178** также способствует образованию изоксазола **180**, при этом реакции с гидрохлоридом гидроксилamina протекают в спиртовом растворе в присутствии триэтиламина с образованием 4-цианоизоксазола **180** с выходами 58% и 65% соответственно (Рисунок 2.44) [54].



**Рисунок 2.44.** Схема синтеза 4-цианоизоксазола **180** из бензодиазепинов **176-178**.

### 2.1.3. Синтез 5-цианоизоксазолов

Реакции формирования 5-цианоизоксазольного цикла описаны на небольшом числе примеров. Как и другие региоизомеры, 5-цианоизоксазолы могут быть получены с использованием реакций (3+2)-циклоприсоединения с участием нитрилоксидов или их предшественников, хлороксимов, и непредельных соединений, однако данный метод имеет существенные ограничения при использовании ацетиленов в качестве диполярофилов. Как было показано выше (см. Рисунок 2.17) [12-16], 1,2-дизамещенные ацетилены в реакции с нитрилоксидами образуют исключительно 4-цианоизоксазолы. Возможность образования 5-цианоизоксазола **182** с низким выходом была продемонстрирована на примере реакции хлороксима **181** с терминальным ацетиленом – нитрилом пропиоловой кислоты [14] (Рисунок 2.45).

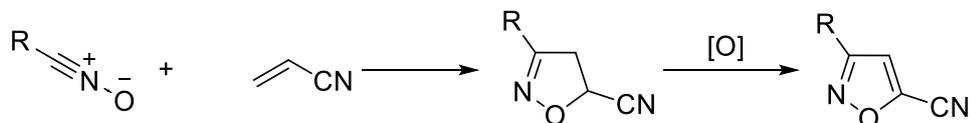


**Рисунок 2.45.** Схема получения 5-цианоизоксазола **182** с использованием нитрила пропиоловой кислоты.

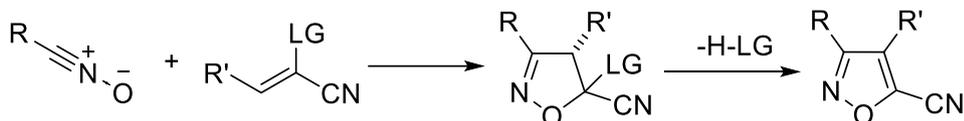
Методы синтеза 5-цианоизоксазолов на основе реакций (3+2)-циклоприсоединения с участием алкенов можно сгруппировать в два подхода по аналогии с методами синтеза 4-цианоизоксазолов (см. Рисунок 2.17). В основе двухстадийного подхода 1 (Подход 1, Рисунок 2.46) лежит реакция нитрилоксида с незамещенным по β-положению акрилонитрилом и последующее окисление изоксазолина в изоксазол. При использовании подхода 2 изоксазолин не выделяется, поскольку происходит быстрое элиминирование уходящей группы (LG), которая

находится в  $\alpha$ -положении по отношению к цианогруппе при двойной связи диполярфила (Подход 2, Рисунок 2.46).

### Подход 1

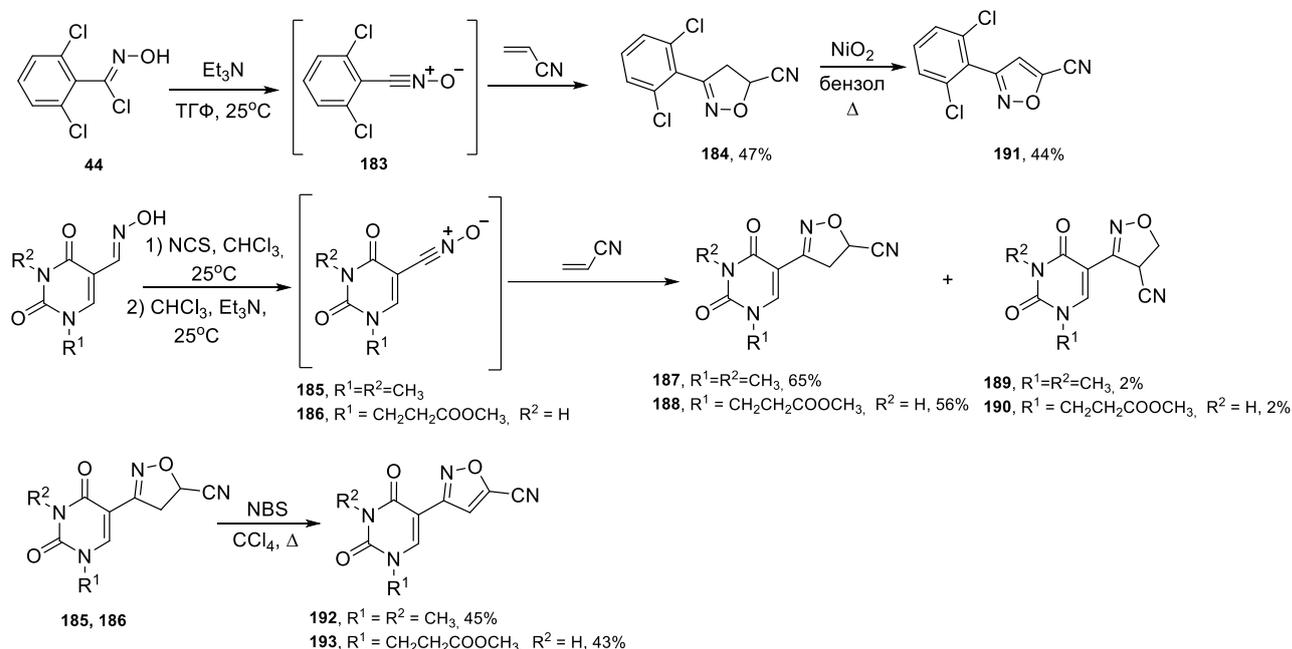


### Подход 2



**Рисунок 2.46.** Два подхода к синтезу 5-цианоизоксазолов.

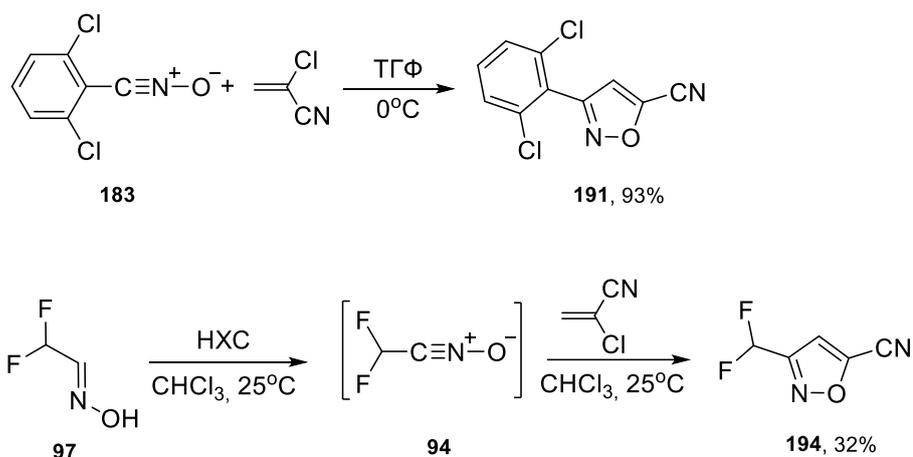
Реакция нитрилоксидов с акрилонитрилом (Подход 1, Рисунок 2.46) описана в двух работах [11, 55]. Было показано, что N-оксиды **183**, **185** и **186**, образующиеся из хлороксимов *in situ* под действием триэтиламина, в реакции с акрилонитрилом образуют 5-цианоизоксазолины **184**, **187**, **188** (Рисунок 2.47) [11]. В случае урацилзамещенных нитрилоксидов **185**, **186** из реакционной смеси были также выделены региоизомерные 4-цианоизоксазолины **189**, **190** с низким выходом (2%) [55]. При действии на изоксазолины **184**, **187**, **188** пероксида никеля [11] или NCS [55] происходит их ароматизация в изоксазолы **191-193**, однако выходом эти реакции не превышают 45% (Рисунок 2.47).



**Рисунок 2.47.** Схема получения 5-цианоизоксазолов согласно подходу 1.

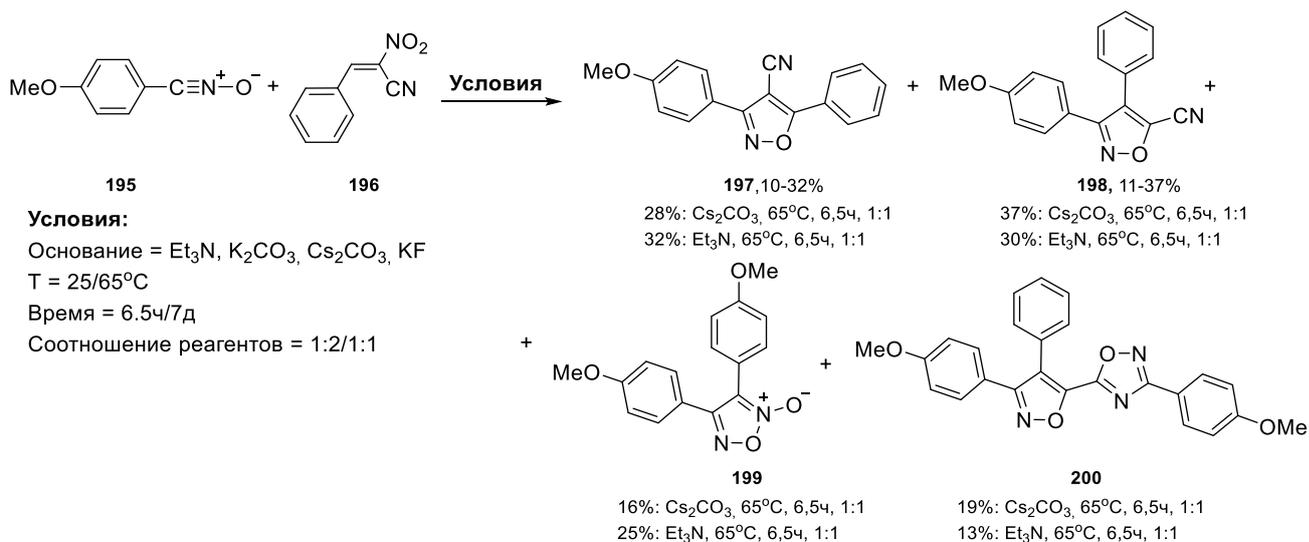
Получение 5-цианоизоксазолов с использованием подхода 2 (Рисунок 2.46) описано для  $\alpha$ -хлор- [13, 12] и  $\alpha$ -нитроакрилонитрилов [56]. Наличие атома хлора в качестве уходящей группы в молекуле диполярфила обеспечивает региоселективное протекание реакции с арил-

(183) [12] и алкилзамещенными (94) [13] нитрилоксидами, при этом целевые производные изоксазола **191** и **194** были получены с выходами 93% и 32%, соответственно (Рисунок 2.48).



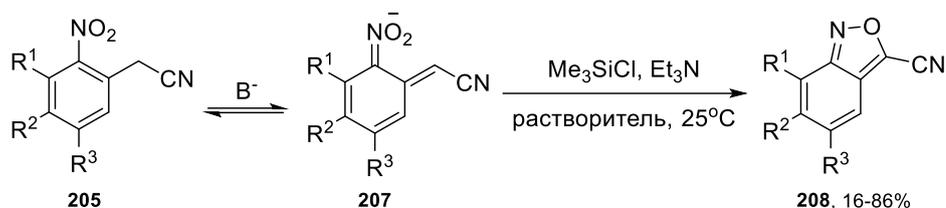
**Рисунок 2.48.** Схема получения 5-цианоизоксазолов согласно подходу 2.

При использовании в качестве диполярфила нитрила алло-коричной кислоты **196**, содержащей в  $\alpha$ -положении нитрогруппу, взаимодействие с нитрил оксидом **195** происходит с низкой регио- и хемоселективностью. Результатом реакции явилось образование смеси 4- и 5-цианоизоксазолов **197**, **198**, фуроксана **199** и (оксадиазол-5-ил)изоксазола **200** [56]. По-видимому, низкая региоселективность образования цианозамещенных изоксазолов связана с наличием фенильного заместителя в  $\beta$ -положении двойной связи алкена **196**, при этом высокая реакционная способность нитрилоксида **195** способствует образованию продукта его димеризации (**199**) и бис-аддукта **200**. К сожалению, варьирование условий не позволило существенно изменить соотношение продуктов, что делает данную реакцию малоприменимой для целевого синтеза производных изоксазола (Рисунок 2.49).



**Рисунок 2.49.** Схема синтеза 4- и 5-цианоизоксазолов с использованием в качестве диполярфила нитрила алло-коричной кислоты **196**.





**Рисунок 2.52.** Схема синтеза аннелированных 5-цианоизоксазолов **208**.

**Таблица 2.1.** Условия синтеза аннелированных 5-цианоизоксазолов.

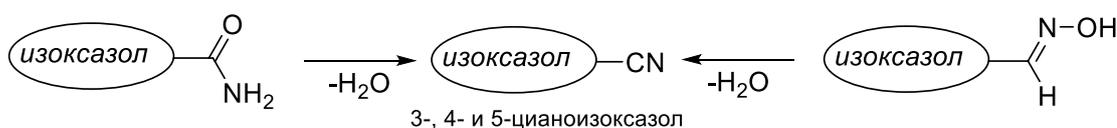
R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	Растворитель	Время	Выход, %
H	H	Cl	ТГФ	12 дней	40
H	H	F	ТГФ	21 день	33
H	H	SPh	ТГФ	21 день	42
OMe	H	Cl	ДМФА	4 ч	40
(CH=CH) <sub>2</sub>		H	ДМФА	1 ч	86
CH=CH-CH=N		H	ДМФА	4 ч	16

## 2.2. Синтез цианоизоксазолов путем трансформаций других групп изоксазольного цикла

Как было показано выше, методы синтеза цианоизоксазолов, основанные на формировании цианозамещенного изоксазольного цикла, в ряде случаев имеют ограничения, поэтому используются также альтернативные подходы введения нитрильной группы в изоксазольный цикл путем трансформации имеющихся функциональных групп. К таким превращениям относятся реакции дегидратации амидной и оксимной групп, окисления гидрокси- или аминометильной групп, а также нуклеофильного замещения галогена или нитрогруппы.

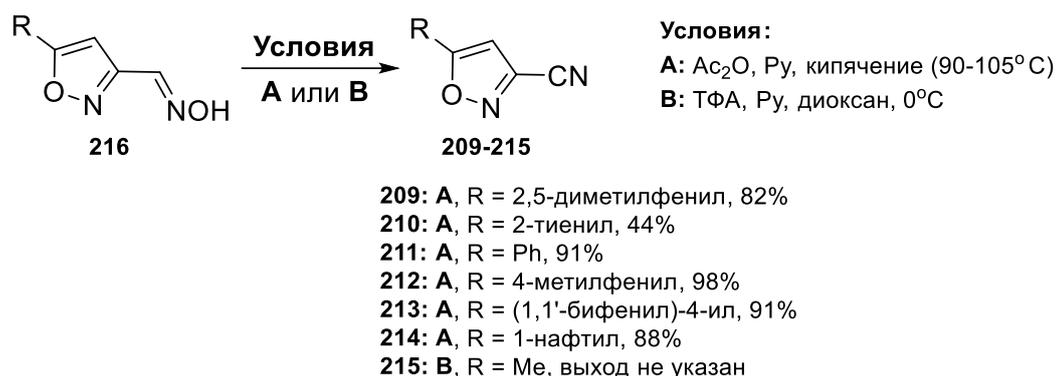
### 2.2.1. Реакции дегидратации

Одним из классических методов создания нитрильной группы является дегидратация соответствующих альдоксимов и амидов под действием дегидратирующих агентов (Рисунок 2.53).

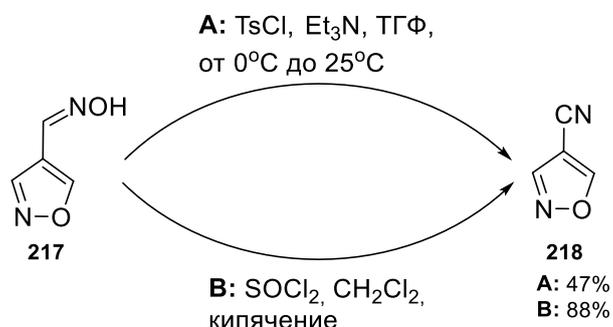


**Рисунок 2.53.** Метод создания цианогруппы дегидратацией альдоксимов и амидов.

Движущей силой превращения альдоксима в нитрил является создание хорошей уходящей группы из гидроксигруппы альдоксима, чего удастся достичь при действии на нее дегидратирующих агентов, например, уксусного ангидрида [60-65]. Реакция с этим реагентом используется чаще всего, однако в связи с его невысокой реакционной способностью протекает в жестких условиях (90-105°C). При использовании более активных дегидратирующих агентов, таких как трифторуксусный ангидрид (ТФА) в присутствии пиридина [66], тозилхлорид в присутствии триэтиламина [67], хлористый тионил [67], можно использовать более мягкие условия, и в большинстве случаев реакция протекает с образованием нитрилов с высокими выходами (82-98%).

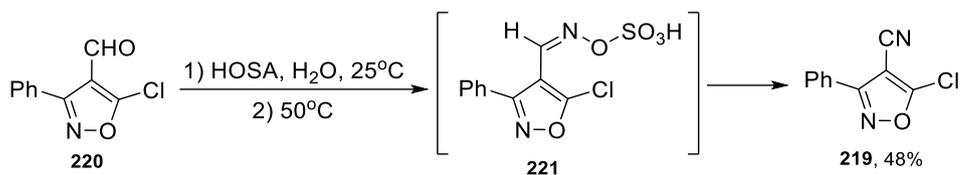


**Рисунок 2.54.** Метод получения замещенных 3-цианоизоксазолов дегидратацией альдоксимов.



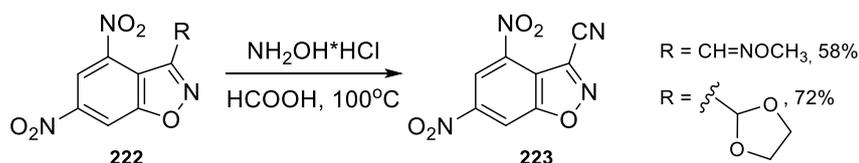
**Рисунок 2.55.** Метод получения незамещенных 3-цианоизоксазолов дегидратацией альдоксимов.

Альдоксими, используемые в синтезе нитрилов, обычно получают реакцией соответствующих альдегидов с гидроксиламином. В ряде случаев стадию получения альдоксима возможно объединить с последующей реакцией дегидратации. Такой подход был использован в синтезе цианоизоксазола **219** обработкой альдегида **220** гидроксилламин-*O*-сульфоновой кислотой (HOSA). В результате реакции на первой стадии *in situ* образуется оксим **221**, содержащий фрагмент серной кислоты в качестве хорошей уходящей группой, которая легко отщепляется при нагревании до 50°C с образованием цианоизоксазола **219** с выходом 48% [68] (Рисунок 2.56).



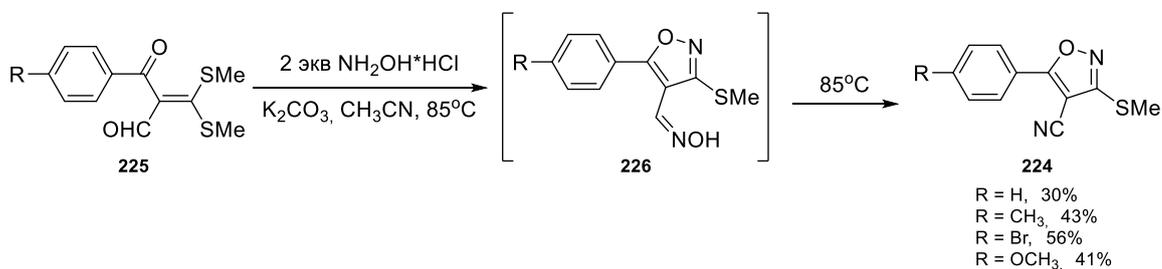
**Рисунок 2.56.** Метод получения замещенных 4-цианоизоксазола **219**.

Получение альдоксима *in situ* было также использовано в синтезе цианоизоксазола **223**. Исходный (3-формил)бензизоксазол характеризуется низкой стабильностью, что не позволяет непосредственно его вводить в реакцию получения оксима. В качестве исходных субстратов были выбраны производные *O*-метилоксим или ацеталь **222**, кипячение которых с гидроксиламином в присутствии муравьиной кислоты приводит к образованию нитрила **223** с выходом 58 и 72%, соответственно (Рисунок 2.57). По-видимому, избыток муравьиной кислоты катализирует превращение исходных соединений в альдегид, который в присутствии гидроксилана дает соответствующий оксим. Далее в условиях кислотного катализа и высокой температуры протекает дегидратация оксима с образованием целевого нитрила **223**.



**Рисунок 2.57.** Метод получения аннелированных 4-цианоизоксазолов **223**.

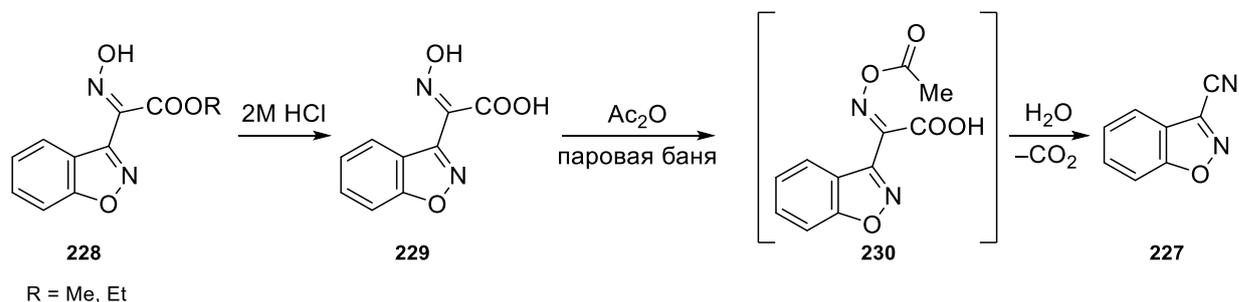
В литературе имеются примеры получения цианоизоксазолов из альдоксимов без использования дополнительных реагентов, модифицирующих ОН-группу. Примером такого процесса является получение цианоизоксазолов **224** в условиях реакции гетероциклизации 1,3-дизлектрофила **225** под действием двух эквивалентов гидрохлорида гидроксилана. Образующийся в результате реакции промежуточный продукт **226** при кипячении в ацетонитриле подвергается дегидратации с образованием 4-цианоизоксазола **224** с выходом 30-56% [69] (Рисунок 2.58).



**Рисунок 2.58.** Метод получения 4-цианоизоксазолов **224**.

Образование нитрила может также протекать из оксимов кетонов, в том случае если один из заместителей исходного кетона является хорошей уходящей группой. Примером такого превращения является синтез 3-цианобензизоксазола **227** из оксима  $\alpha$ -кетоефира **228**. На первой стадии был осуществлен гидролиз сложноэфирной группы с образованием оксима кислоты **229**,

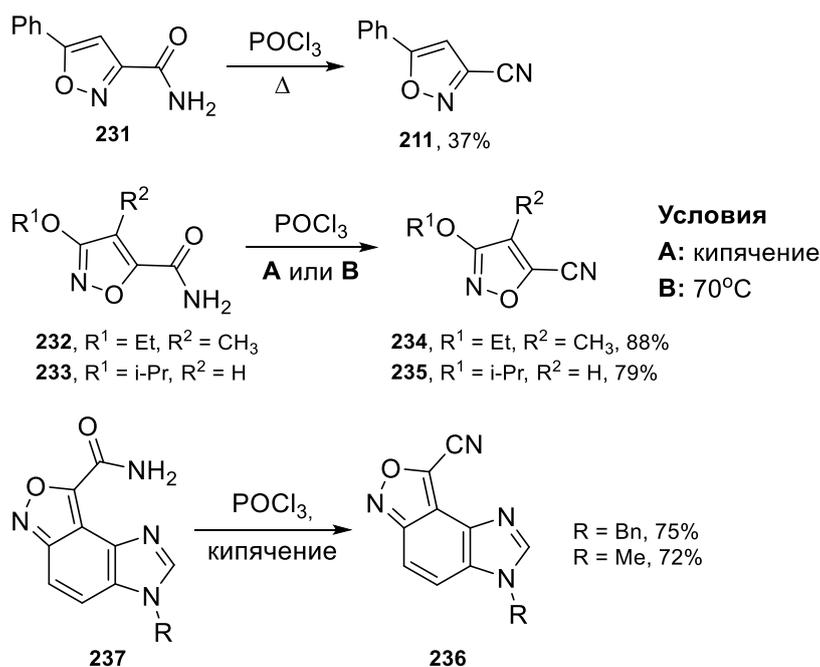
который под действием уксусного ангидрида образует термически неустойчивое соединение **230**. В ходе дальнейшего отщепления ацетат-аниона и декарбоксилирования был получен нитрил **227** [70] (Рисунок 2.59).



**Рисунок 2.59.** Метод получения аннелированного 4-цианоизоксазола **227**.

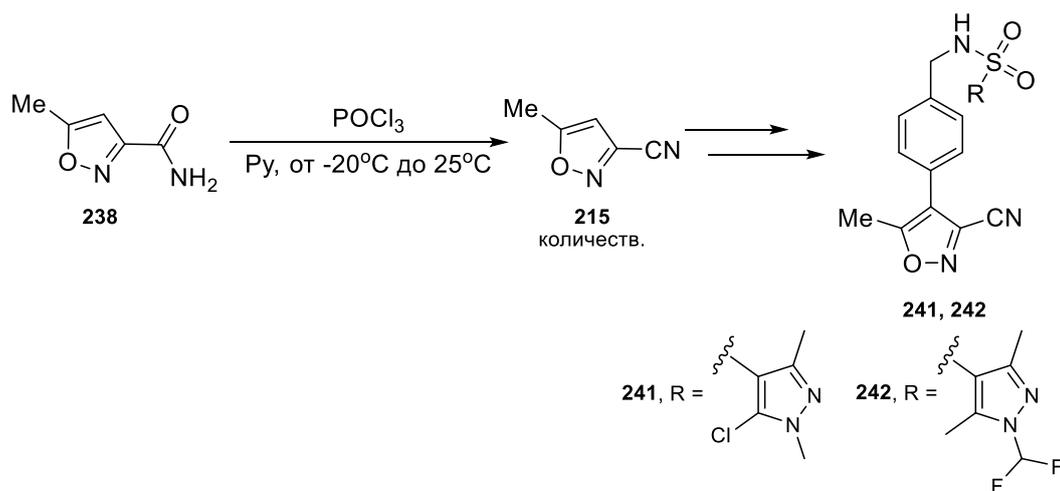
Дегидратация амидов также широко используется для синтеза цианоизоксазолов [71-78]. Особое значение данный подход имеет для синтеза 5-цианоизоксазолов, которые являются предшественниками полифункционализированных гетероциклов с различной биологической активностью [71-78]. Дегидратацию амидов чаще всего проводят под действием сильных дегидратирующих агентов, таких как хлорокись фосфора [71-74] или трифторуксусный ангидрид [75-78].

Дегидратация в среде хлорокиси фосфора обычно требует жестких условий, что может привести к снижению выхода продукта, например, в случае соединения **211** [66]. При этом 3-алкоксизамещенные 5-цианоизоксазолы **234**, **235** и аннелированный изоксазол **236** были получены с хорошими выходами из соответствующих амидов **232**, **233**, **237** при умеренном нагревании до 70°C или кипячении в среде POCl<sub>3</sub> [71, 72] (Рисунок 2.60).

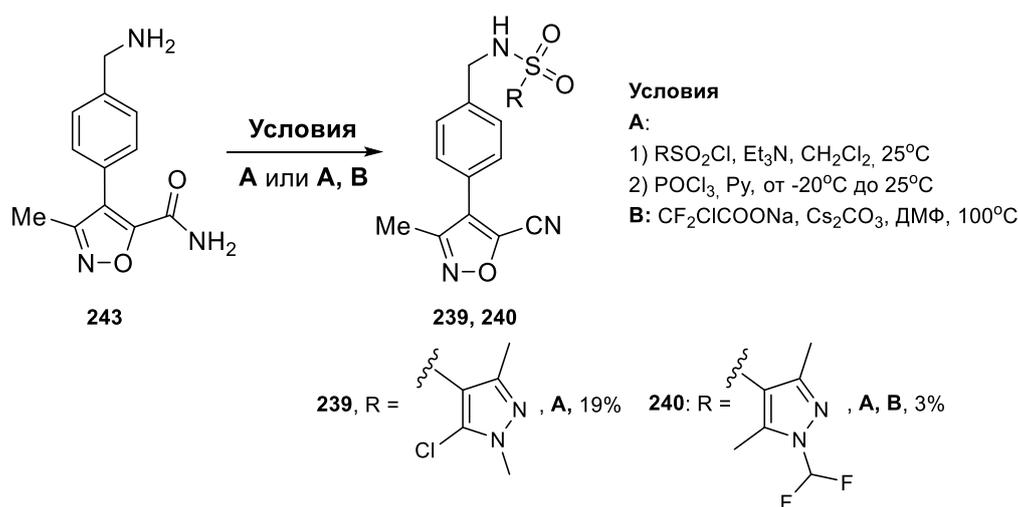


**Рисунок 2.60.** Метод получения 3-цианоизоксазолов из соответствующих амидов.

Реакция дегидратации амидов под действием оксихлорида фосфора может протекать при комнатной температуре при использовании пиридина в качестве основания. В этих условиях были успешно синтезированы 3- и 5-цианоизоксазолы **239**, **240**, **241**, **242**, которые изучались в качестве антагонистов минералокортикоидных рецепторов [73]. Отметим, что в случае нитрила **215** реакция дегидратации амида **238** под действием смеси оксихлорида фосфора и пиридина протекала с количественным выходом (Рисунок 2.61). Мягкая дегидратирующая система на основе оксихлорида фосфора была также использована в синтезе изомерных 5-цианоизоксазолов **239**, **240**, для которых была выбрана другая последовательность стадий сульфонирования аминогруппы и дегидратации амидного фрагмента (Рисунок 2.62).



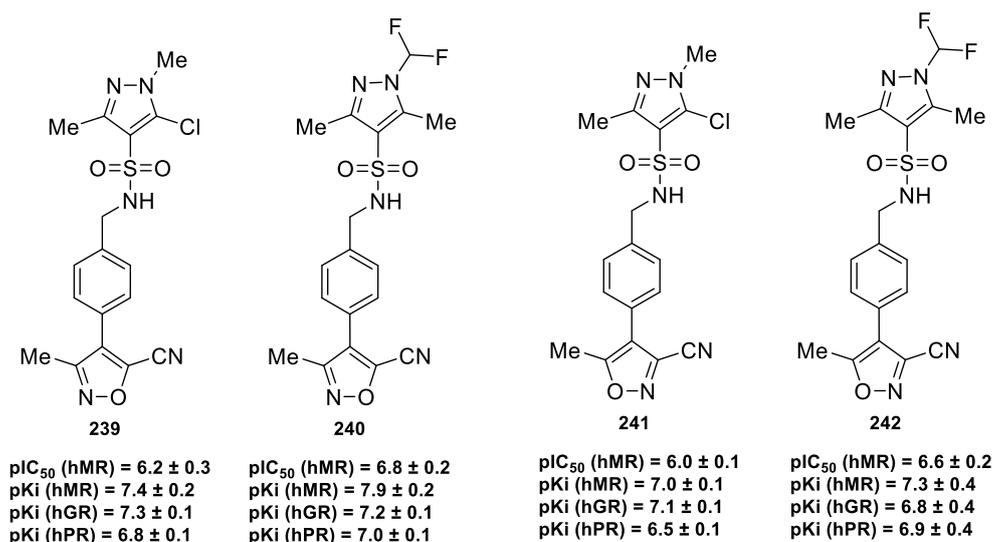
**Рисунок 2.61.** Метод получения 3-цианоизоксазолов **241**, **242** дегидратацией амидов под действием смеси оксихлорида фосфора и пиридина.



**Рисунок 2.62.** Метод получения 5-цианоизоксазолов **239**, **240** дегидратацией амидов под действием смеси оксихлорида фосфора и пиридина.

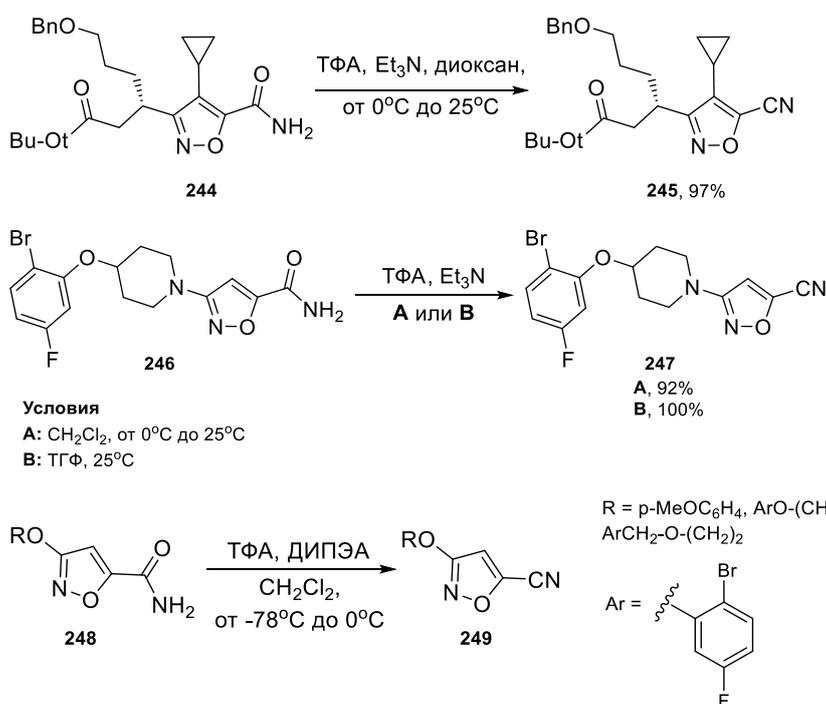
Скрининг активности изоксазолов **239**, **240**, **241**, **242** показал, что полученные соединения являются эффективными антагонистами минералокортикоидного рецептора ( $\text{pIC}_{50}$  (hMR) = 6.0–6.8 и 7.0–7.9), однако они не проявляют селективность по отношению к другим

кортикостероидным рецепторам, таким как глюкокортикоидный рецептор (hGR) и рецептор прогестерона (hPR) (Рисунок 2.63).



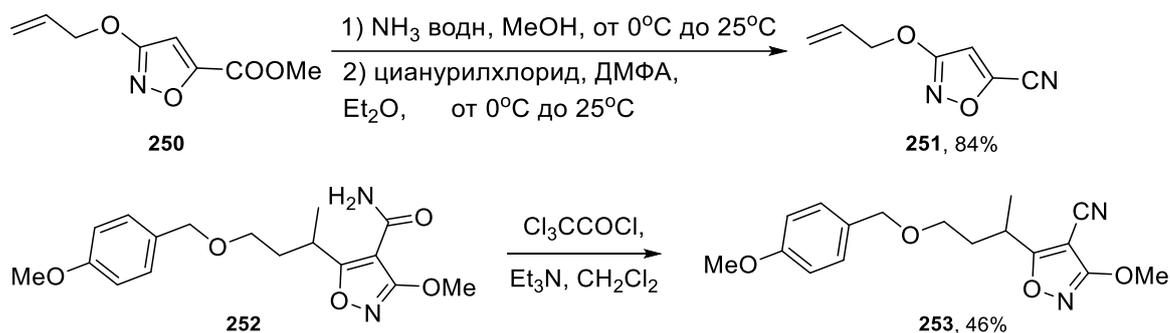
**Рисунок 2.63.** Производные 5-цианоизоксазолов – антагонисты минералокортикоидного рецептора.

Ангидрид трифторуксусной кислоты (ТФА) является другим эффективным дегидратирующим агентом, позволяющим в мягких условиях провести дегидратацию амидной группы с образованием нитрила с высоким выходом. Реакция дегидратации протекает в присутствии третичных аминов, таких как триэтиламин или диизопропилэтиламин (ДИПЭА), при охлаждении или комнатной температуре в среде ТГФ [77], диоксана [75] или хлористого метилена [76-78] (Рисунок 2.64).



**Рисунок 2.64.** Метод получения 5-цианоизоксазолов **245**, **247** дегидратацией амидов под действием смеси трифторуксусной кислоты и ДИПЭА.

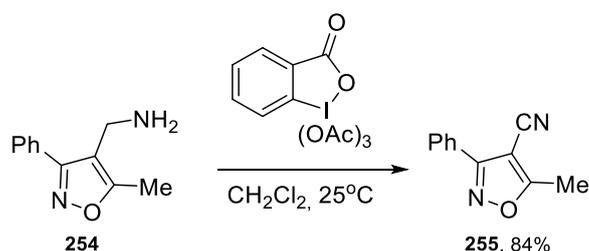
Кроме классических дегидратирующих агентов, таких как хлорокись фосфора и трифторуксусный ангидрид, для получения нитрилов из амидов в литературе имеются примеры использования цианурилхлорида [79] и хлорангидрида трихлоруксусной кислоты [80]. Цианурилхлорид в качестве водоотнимающего агента нашел применение в синтезе 5-цианоизоксазола **251** [79] из амида, который в свою очередь, был получен *in situ* из сложного эфира **250** при обработке водно-спиртовым раствором аммиака (Рисунок 2.65). Использование хлорангидрида трихлоруксусной кислоты в присутствии Et<sub>3</sub>N в качестве дегидратирующего агента описано на единственном примере синтеза 4-цианоизоксазола **253** из амида **252**. Реакция протекает в мягких условиях с образованием изоксазола **253** с выходом 46% (Рисунок 2.65) [80].



**Рисунок 2.65.** Метод получения 5-цианоизоксазола **251** под действием цианурилхлорида и 4-цианоизоксазола **253** под действием смеси хлорангидрида трихлоруксусной кислоты.

### 2.2.2. Реакции окисления

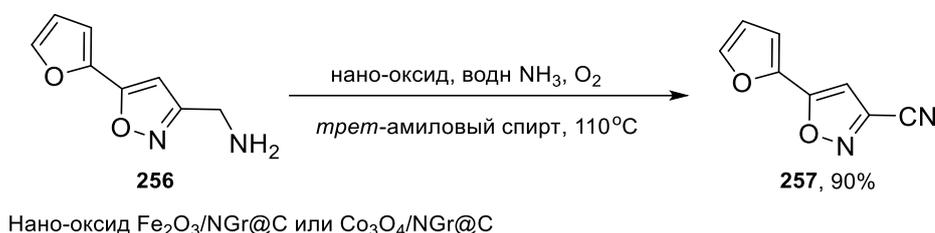
Нитрильная группа может быть также получена в результате реакции окисления аминотильного фрагмента. Данный подход к цианоизоксазолам описан на примере окисления аминотильного фрагмента изоксазола **254** под действием периодинана Десса-Мартина [81]. Реакция протекает быстро, в течение 15 мин, в мягких условиях при комнатной температуре с образованием 4-цианоизоксазола **255** с выходом 84% [81] (Рисунок 2.66).



**Рисунок 2.66.** Схема получения 4-цианоизоксазола **255** окислением амина под действием периодинана Десса-Мартина.

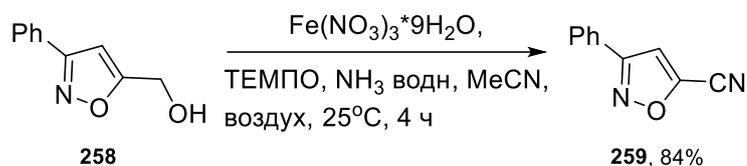
Предложенный метод получения нитрилов из их аминотильных производных используется в промышленности. Для осуществления этой реакции были предложены эффективные катализаторы на основе наночастиц оксида железа (III) [82] или кобальта (III) [83], получаемые при пиролизе фенантролин-ацетатных комплексов железа или кобальта,

нанесенных на углеродные подложки. Реакции протекают при 110°C в кислородсодержащей атмосфере в среде *трет*-амилового спирта и водного аммиака. На примере 3-цианоизоксазола **256** было показано, что в указанных условиях изоксазольный цикл сохраняется, и выход целевого продукта достигает 90% (Рисунок 2.67).



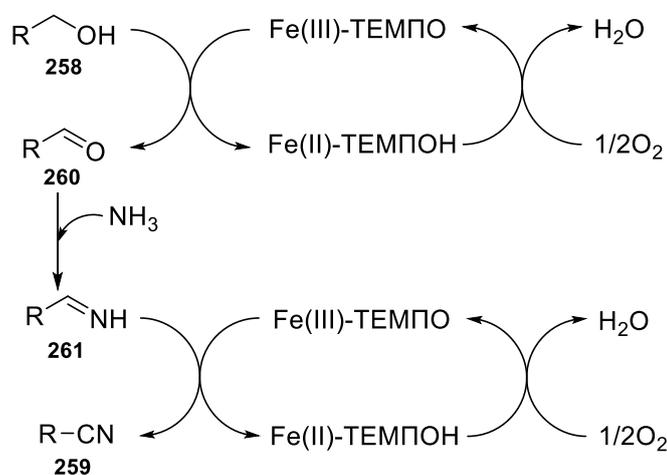
**Рисунок 2.67.** Схема получения 3-цианоизоксазола **257** окислением амина под действием нано-оксида.

Нитрильная группа может быть также получена при каталитическом окислении гидроксиметильной группы в присутствии NH<sub>3</sub> [84]. Данный процесс катализируется системой на основе Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O/ТЕМПО в смеси водного аммиака и ацетонитрила. Условия найденного каталитического процесса оказались эффективными для получения производных изоксазола, в частности, из спирта **258** был получен 5-цианоизоксазол **259** с высоким выходом (Рисунок 2.68).



**Рисунок 2.68.** Схема получения 5-цианоизоксазола **259** каталитическим окислением гидроксиметильной группы.

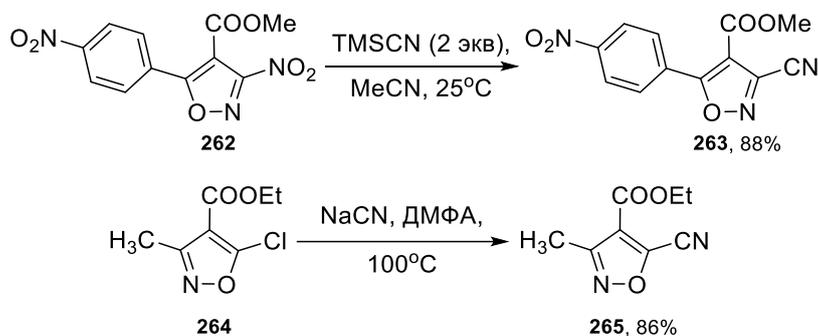
Согласно приведенному рисунку 70 [84], реакция протекает с образованием альдегида **260**, из которого в среде аммиака образуется имин **261**, а его дальнейшее окисление приводит к образованию нитрила **259** (Рисунок 2.69).



**Рисунок 2.69.** Механизм каталитического окисления гидроксиметильной группы.

### 2.2.3. Нуклеофильное замещение

Известно, что электроноакцепторные заместители в положении 4 изоксазольного цикла активируют хорошие уходящие группы в положениях 3 и 5, такие как галоген или нитрогруппа, к участию в реакциях ароматического нуклеофильного замещения [85-88]. Данный подход перспективен для синтеза изоксазолов различного строения, однако получение цианозамещенных гетероциклов описано только на двух примерах [85, 88]: были синтезированы нитрилы изоксазолов **263** и **265** из нитро- и хлорзамещенных изоксазолов **262** и **264**, содержащих сложноэфирный фрагмент в качестве активирующей группы (Рисунок 2.70). Было показано, что замещение нитрогруппы в положении 3 происходит при комнатной температуре под действием двух эквивалентов TMSCN с образованием 3-цианоизоксазола **263** с выходом 88% [85]. При этом замещение атома хлора в положении 5 под действием цианида натрия также протекает с высоким выходом (86%), однако требуется нагревание реакционной смеси до 100°C [88].



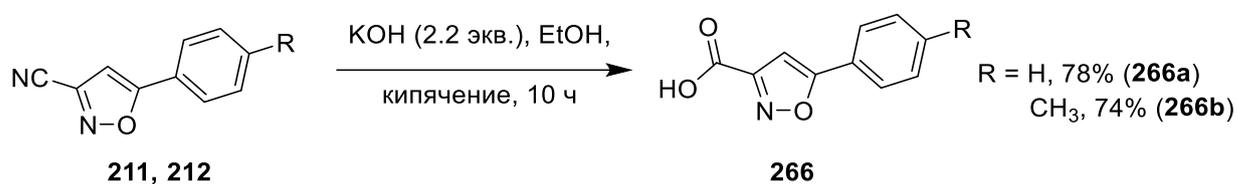
**Рисунок 2.70.** Схема получения 3- и 5-цианоизоксазолов реакцией нуклеофильного замещения.

### 2.2.4. Применение цианоизоксазолов в органической и медицинской химии

Известно, что органические нитрилы участвуют в биохимических процессах в живых организмах и находят применение в синтезе лекарственных препаратов [89-91]. К настоящему времени имеется около 60 одобренных низкомолекулярных лекарственных препаратов, которые содержат цианогруппу в химической структуре [92]. Введение нитрильной группы в молекулу обычно значительно улучшает растворимость соединения в воде, ADME-параметры (Абсорбция, Распределение, Метаболизм, Выведение), а также существенно изменяет взаимодействие с целевой макромолекулой-мишенью за счет создания новых водородных связей, липофильных взаимодействий или ковалентного связывания с белками [92, 93].

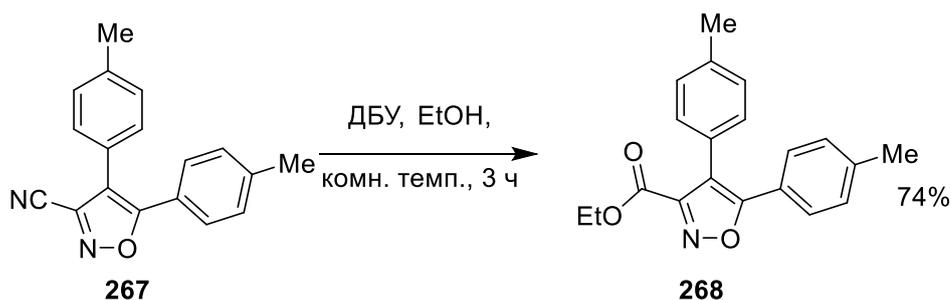
В предыдущих разделах были рассмотрены методы получения цианоизоксазолов и приведены данные по их биологической активности. В данном разделе будут рассмотрены наиболее важные превращения цианоизоксазолов с участием цианогруппы, которые представляют интерес для медицинской химии.

Нитрилы являются производными карбоновых кислот и могут быть превращены в другие производные кислоты. Гидролиз 3-цианоизоксазолов был изучен на примере соединений **265** и было показано, что реакция протекает при длительном кипячении в спиртовом растворе щелочи с образованием соответствующих карбоновых кислот **266** [9, 63, 64, 94] (Рисунок 2.71).



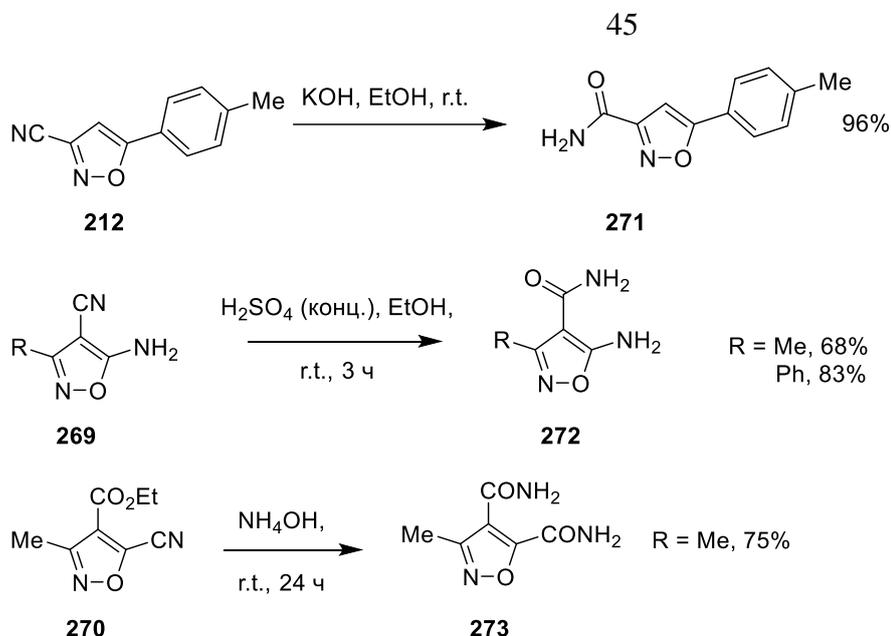
**Рисунок 2.71.** Примеры гидролиза цианогруппы в третьем положении изоксазольного цикла.

На примере 3-цианоизоксазола **267** была показана возможность превращения цианогруппы в сложноэфирную группу в присутствии 1,8-диазобисциклоундец-7-ена (ДБУ) в этаноле при комнатной температуре. В результате реакции был получен этиловый эфир **268** с выходом 74% [9] (Рисунок 2.72).



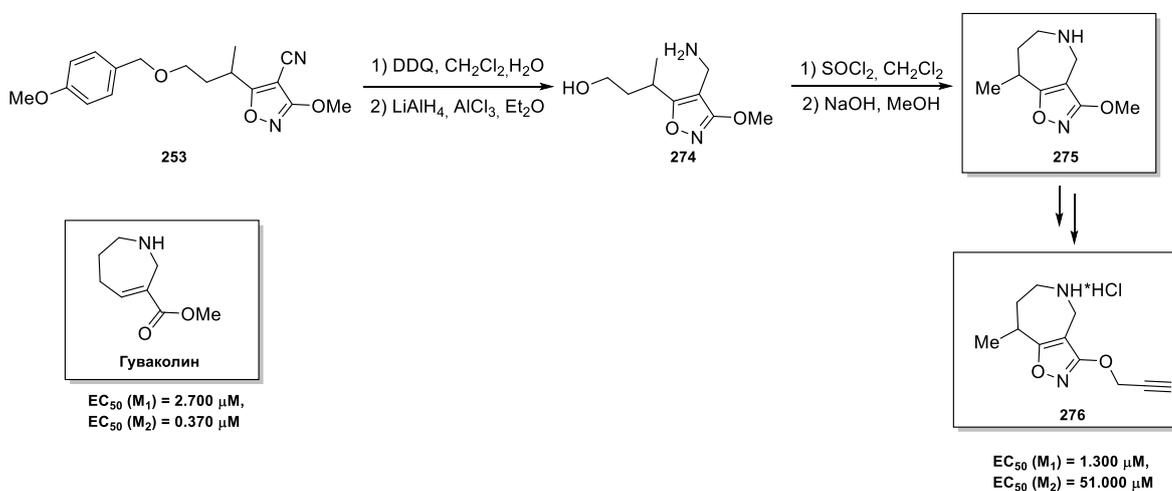
**Рисунок 2.72.** Превращение цианогруппы в сложноэфирный фрагмент в положении 3 изоксазольного цикла.

Частичный гидролиз цианогруппы в амидный фрагмент является ключевой стадией многих синтетических подходов к получению различных гетероциклов [38, 40, 94-96]. Гидролиз цианогруппы с образованием амидной группы происходит при комнатной температуре при обработке цианоизоксазолов **212**, **269**, **270** спиртовыми растворами гидроксида калия [94], концентрированной серной кислотой [38, 40, 95], а также водного раствора аммиака [96]. Продукты реакции – амиды **271**, **272**, **273** образуются с высокими выходами (Рисунок 2.73).



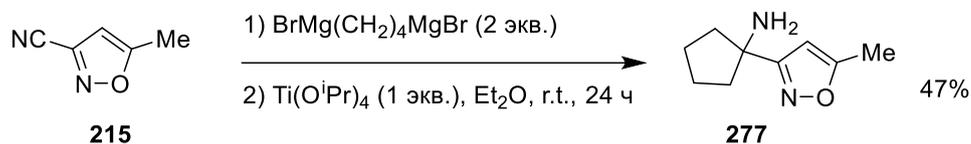
**Рисунок 2.73.** Примеры частичного гидролиза цианогруппы в положениях 3, 4 и 5 изоксазольного цикла.

Превращение нитрильной группы в аминотильную группу представлено единственным примером [80] (Рисунок 2.74). Аминотильное производное изоксазола **274** было получено из нитрила **253** в последовательности удаления защитной бензильной группы и восстановления нитрильного фрагмента. Далее изоксазол **274** был использован в реакции внутримолекулярной циклизации с образованием азапанового цикла. Полученные бициклические соединения **275**, **276** представляют собой аналоги алкалоида гуваколина, который проявляет агонистическую активность к мускариновым рецепторам ( $M_1$  и  $M_2$ ). Было найдено, что бис(гетероцикл) **276** селективно взаимодействует с  $M_1$  рецептором ( $EC_{50}(M_1) = 1.300 \text{ мкМ}$ ,  $EC_{50}(M_2) = 51.000 \text{ мкМ}$ ), и является перспективным кандидатом для дальнейшего изучения в качестве лекарственного средства для лечения нейродегенеративных заболеваний [80].



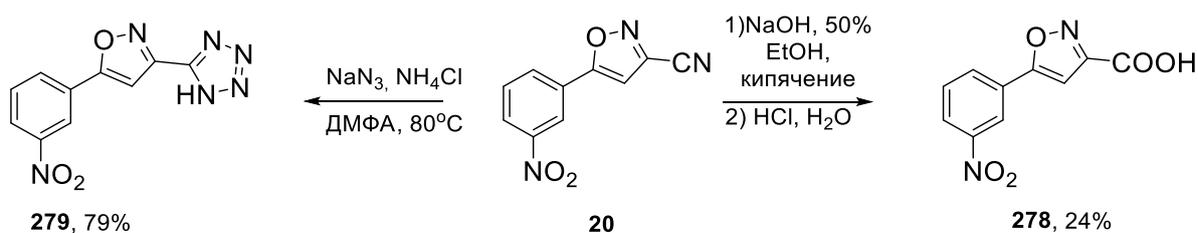
**Рисунок 2.74.** Схема синтеза производного изоксазола – агониста к мускариновым рецепторам.

Другим нестандартным методом синтеза аминов с использованием нитрилов является предложенная профессором де Майере вариация реакции Кулинковича [96, 97]. Было показано, что при обработке 3-цианоизоксазола **215** двухкратным избытком 1,4-бис(броммагний)бутана в присутствии изопропилата титана происходит образование аминокислотоподобного фрагмента, связанного с изоксазольным циклом, при этом соединение **277** было получено с умеренным выходом (47%) [98] (Рисунок 2.75).

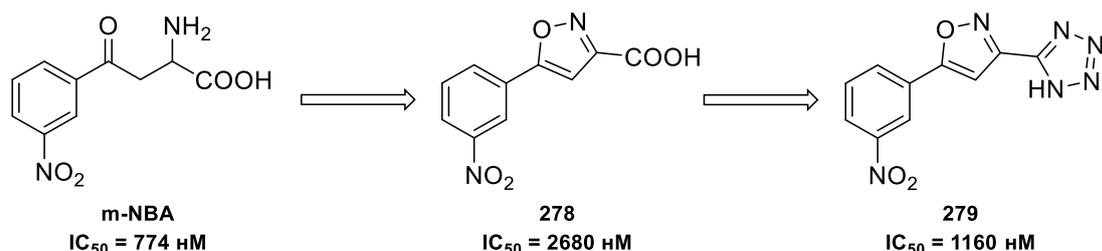


**Рисунок 2.75.** Реакция Кулинковича в синтезе амина **277** из 3-цианоизоксазола **215**.

Реакция гидролиза нитрила **20** была использована для получения карбоновой кислоты **278**, которая изучалась в качестве лиганда кинуренин-3-гидроксилазы [6] (Рисунок 2.76). Дизайн новых лигандов этого фермента был основан на биоизостерической замене β-аминокетонного фрагмента соединения-лидера (m-NBA) на конформационно-жесткий изоксазольный цикл (Рисунок 2.76). Также изоксазол **20** был введен в реакцию циклоприсоединения азидата натрия по тройной связи цианогруппы в слабнокислой среде хлорида аммония в ДМФА, что позволило получить изоксазол **279**, содержащий биоизостерный карбоксильной группе тетразольный фрагмент. Предполагалось, что такое изменение структуры обеспечит возможность прохождения соединения **279** через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), однако биотестирование показало, что полученные производные изоксазола **278** и **279** имеют более низкую активность по сравнению с соединением-лидером (Рисунок 2.77).

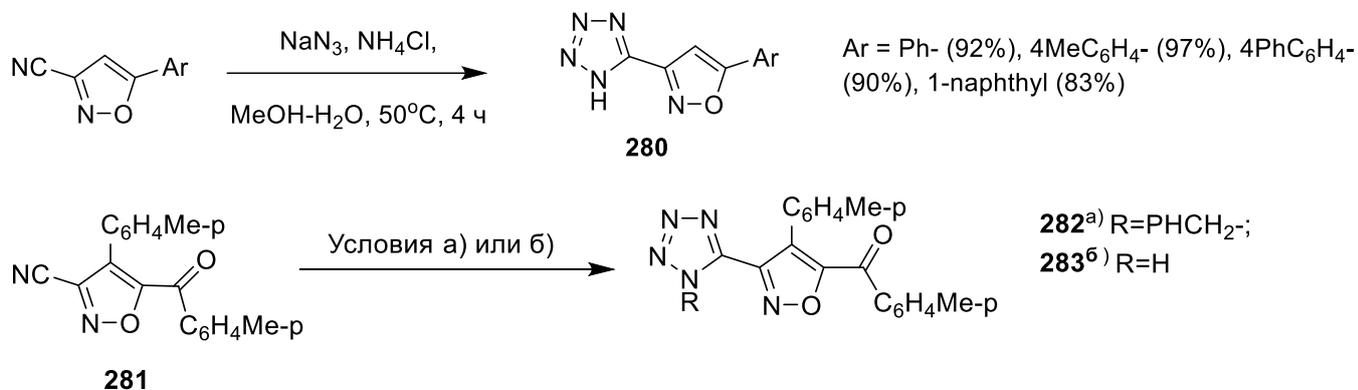


**Рисунок 2.76.** Примеры превращений цианогруппы в третьем положении изоксазольного цикла.



**Рисунок 2.77.** Схема синтеза тетразола **279** – лиганда кинуренин-3-гидроксилазы.

Отметим, что превращение цианогруппы под действием азидов в производные тетразола является широко используемым процессом органической и медицинской химии [99, 100]. Образование тетразолов может происходить при взаимодействии цианоизоксазолов с азидом натрия в метаноле или с органическими азидами [9, 65] (Рисунок 2.78).



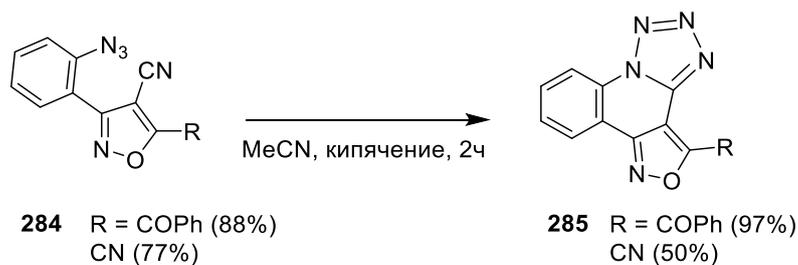
Условия:

а) PhCH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>, 130°C, 20 часов

б) NaN<sub>3</sub>, 65°C, 24 часа

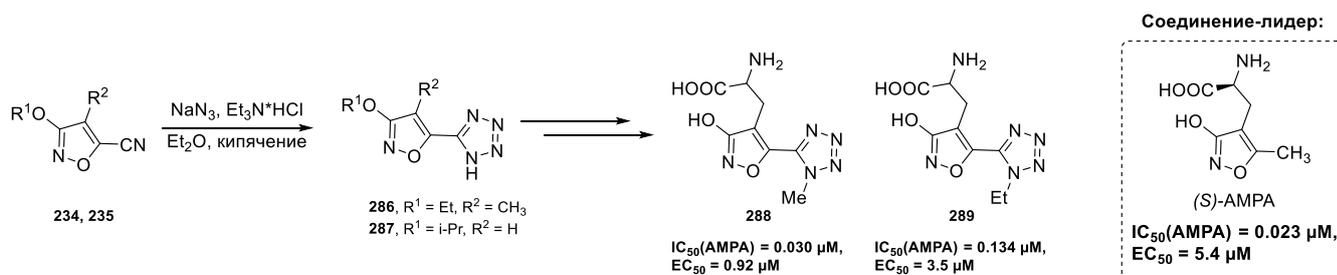
**Рисунок 2.78.** Методики превращения цианогруппы в производные тетразола в 3-м положении изоксазольного цикла.

Также возможен внутримолекулярный процесс циклизации, приводящий к формированию тетразольного цикла, с участием азидо- и цианогрупп одной молекулы. Было показано, что 4-цианоизоксазолы **284**, содержащие *орто*-азидофенильный заместитель, при кипячении в ацетонитриле претерпевают внутримолекулярную циклизацию с образованием тетрациклических соединений **285** (Рисунок 2.79) [24].



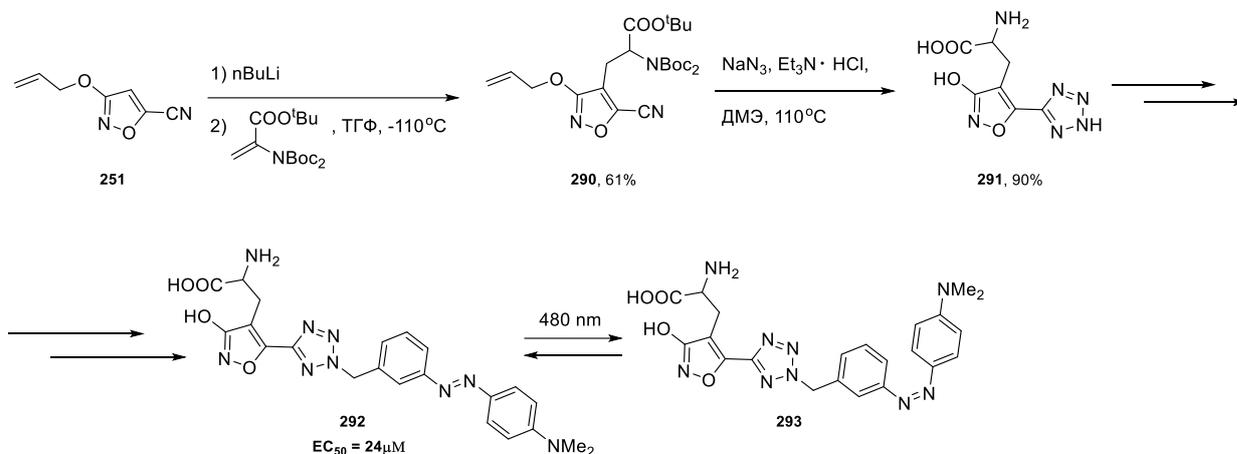
**Рисунок 2.79.** Формирование тетразольного цикла в положении 4 изоксазола в результате внутримолекулярного процесса циклизации.

Тетразольные аналоги лиганда (*S*)-АМРА были синтезированы на основе цианоизоксазолов **234** и **235** путем их обработки азидом натрия и последующей функционализации (Рисунок 2.80) [71, 72]. Целевые соединения **286**, **287** были изучены в качестве лигандов АМРА-рецептора, и было найдено, что они имеют меньшую аффинность к АМРА-рецептору по сравнению со стандартом ((*S*)-АМРА), но при этом показали высокую эффективность в электрофизиологическом тесте (Рисунок 2.80) [71, 72].



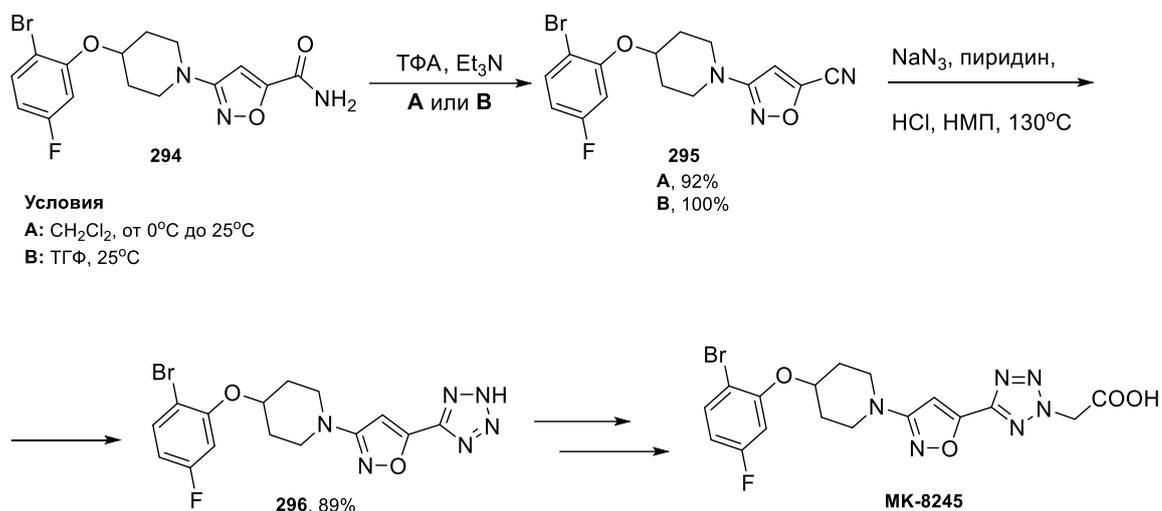
**Рисунок 2.80.** Синтез производных тетразолов – лигандов AMPA-рецептора.

Подход, основанный на получении (тетразолил)изоксазолов из цианоизоксазолов, был применен в синтезе фоточувствительного агониста GluA2 рецептора соединения **292**. Ключевой интермедиат **290** был получен в две стадии из нитрила **251**. На первой стадии в изоксазольный цикл был введен аминокислотный фрагмент с использованием литирования в положение 4 и последующей реакцией Михаэля. Последующая обработка цианоизоксазола **290** азидом натрия в присутствии солянокислого триэтиламина привела к образованию тетразольного производного **291**, из которого был получен целевой продукт **292**. Было найдено, что соединение **292** проявляет высокую активность по отношению к GluA2 рецептору в темноте с эффективной концентрацией EC<sub>50</sub> = 24 мкМ, а при облучении активность резко падала за счет E/Z-изомеризации N=N-связи [79] (Рисунок 2.81).



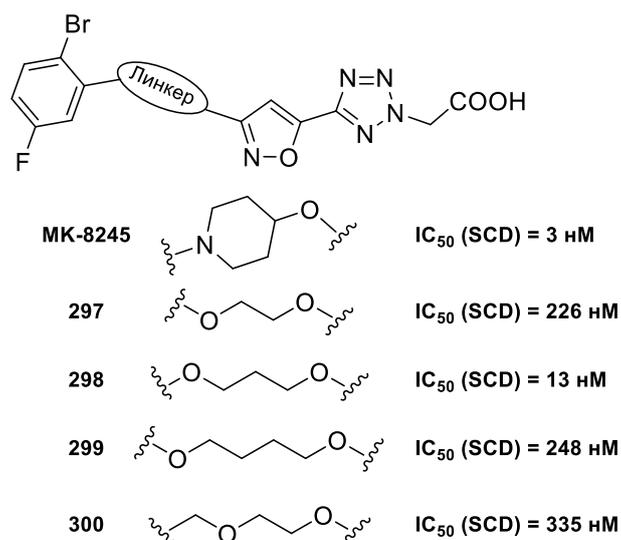
**Рисунок 2.81.** Синтез производного тетразола – фоточувствительного агониста GluA2 рецептора.

Введение тетразольного цикла с использованием цианоизоксазола также явилось ключевой стадией в синтезе соединения МК-8245, которое представляет собой известный ингибитор человеческой и крысиной печеночной стearoil-CoA-десатуразы (Рисунок 2.82) [76, 77]. Реакция циклоприсоединения нитрила **295** с азидом натрия проводилась при нагревании до 110 °С в N-метил-2-пирролидоне (НМП) в присутствии солянокислой соли пиридина.



**Рисунок 2.82.** Синтез производного тетразола – ингибитора человеческой и крысиной печеночной стеароил-СоА-десатуразы.

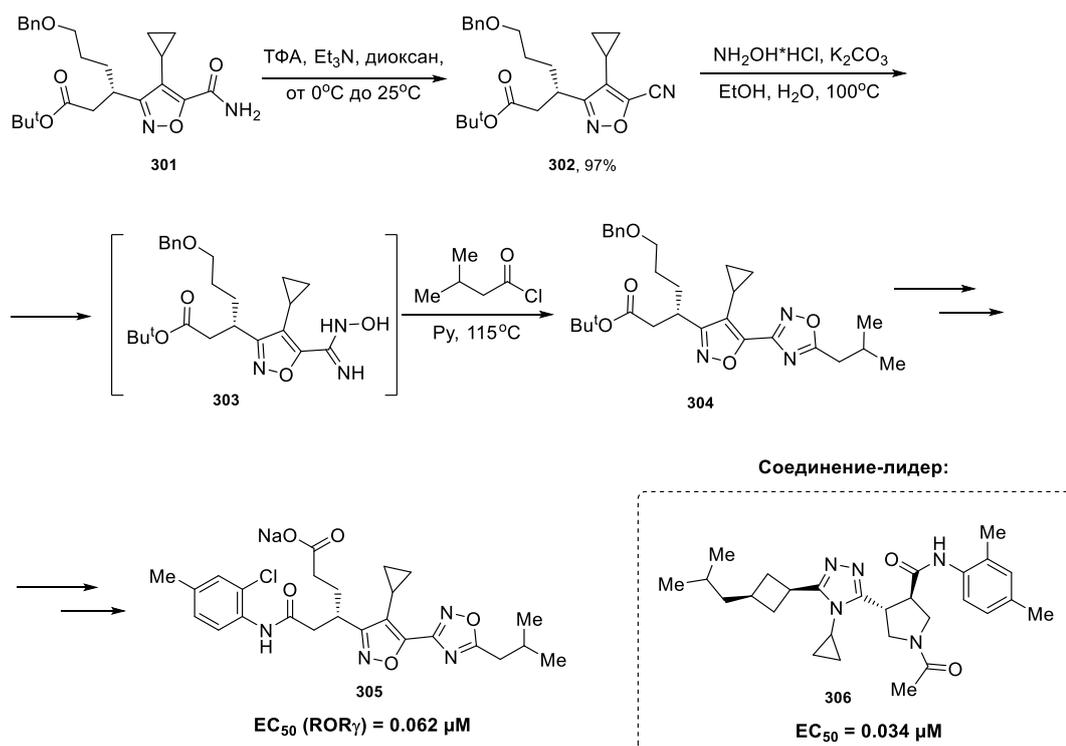
С использованием таких же условий была получена серия (тетразолил)изоксазолов **297-300** – аналогов МК-8245, среди которых наилучшую ингибирующую активность по отношению к ферменту крысиной стеароил-СоА-десатуразы показало соединение **298** с величиной IC<sub>50</sub> = 13 нМ, что близко по активности к соединению-лидеру (МК-8245, IC<sub>50</sub> = 3 нМ) [76] (Рисунок 2.83).



**Рисунок 2.83.** Синтез ряда производных тетразола – ингибиторов крысиной печеночной стеароил-СоА-десатуразы.

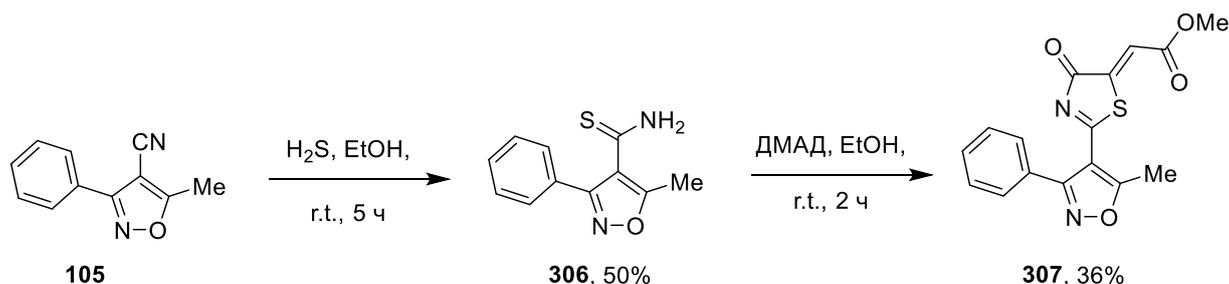
Возможна циклизация цианогруппы и в другие пятичленные гетероциклы. В работе [75] описано образование изоксазол-оксадиазольной структуры **305**, которая представляет интерес в качестве ингибитора второго поколения орфанного рецептора гамма, аналога рецептора ретиноевой кислоты (ROR $\gamma$ ), который является одной из возможных мишеней для лечения аутоиммунных заболеваний (Рисунок 2.84). Введение оксадиазольного цикла в молекулу изоксазола было осуществлено в две стадии. На первой стадии при обработке цианоизоксазола **302** гидроксиламином был получен *in situ* продукт присоединения **303**, который затем при

нагревании с хлорангидридом изовалериановой кислоты в присутствии пиридина превращался в оксадиазол **304** – предшественник целевого продукта **305**. Биологические исследования показали меньшую полумаксимальную эффективную концентрацию бис(гетероцикла) **305** ( $EC_{50} = 0.062 \text{ мкМ}$ ) по сравнению с соединением-лидером **306** ( $EC_{50} = 0.034 \text{ мкМ}$ ), однако структура **301** характеризуется существенно большей устойчивостью к метаболизму: в человеческой печени бис(гетероцикл) **301** сохраняется на 90% через 60 минут после приема, по сравнению с 61% сохранения за этот же период для соединения-лидера.



**Рисунок 2.84.** Синтез производного тетразола – аналога рецептора ретиноевой кислоты ( $ROR\gamma$ ).

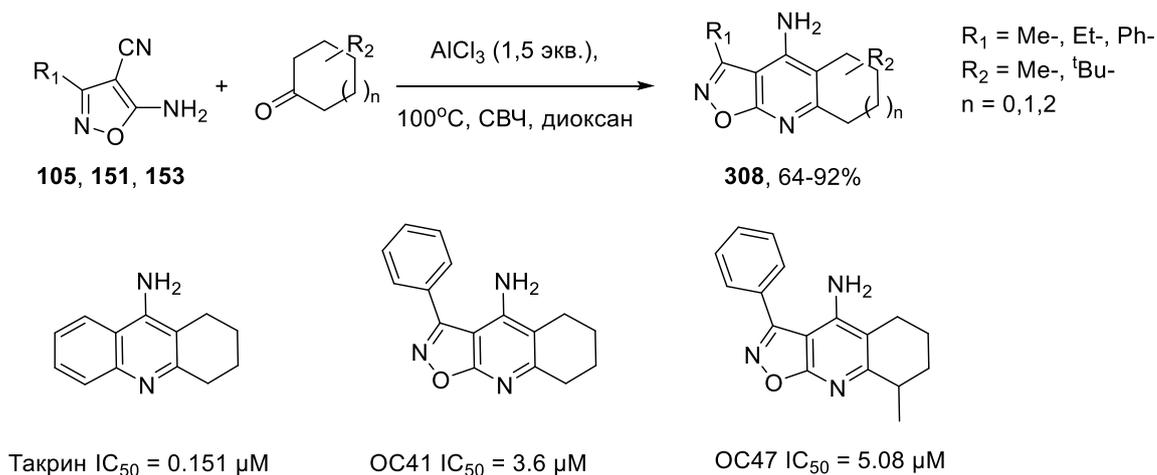
Цианогруппа в положении 4 изоксазольного цикла под действием сероводорода в этаноле образует карботиамид **306** с выходом 50%, который может быть далее использован в реакциях гетероциклизации. Например, показано, что в реакции карботиамида **306** с диметилловым эфиром ацетиленкарбоновой кислоты (ДМАД) образуется производное тиазолина **307** с выходом 36% [101] (Рисунок 2.85).



**Рисунок 2.85.** Синтез производного тиазолина **307** из 4-цианоизоксазола **105**.

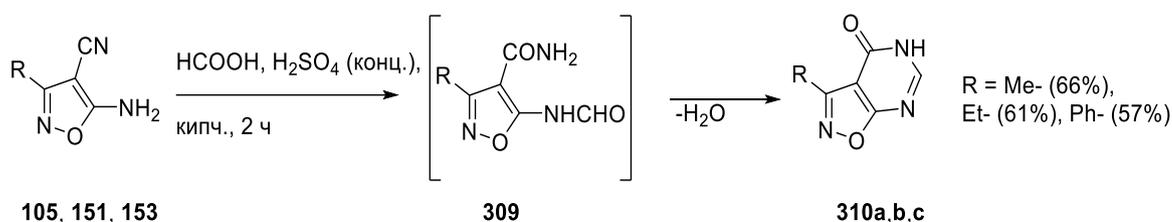
Ценными прекурсорами для синтеза полигетероциклических структур являются 5-амино-4-цианоизоксазолы, которые за счет наличия в соседних положениях амино- и цианогруппы могут быть использованы для получения аннелированных изоксазолпиридинов [102] и изоксазолпиримидинов [103], представляющих интерес для изучения широкого спектра биологической активности.

В частности, в работе [102] описана реакция конденсации 5-амино-4-цианоизоксазолов **105**, **151**, **153** с циклическими кетонами в присутствии хлористого алюминия с образованием трициклических изоксазолпиридинов **308**, которые являются структурными аналогами такрина – ингибитора холинэстеразы. Соединения данного структурного типа могут быть использованы в терапии болезни Альцгеймера. Среди полученных соединений изоксазолпиридины **OC41** и **OC47** продемонстрировали селективное и обратимое ингибирование бутирилхолинэстеразы (BuChE) в низких микромолярных диапазонах концентраций (**OC41**:  $IC_{50} = 5.08 \pm 1.12 \mu\text{M}$ , **OC47**:  $IC_{50} = 3.60 \pm 0.54 \mu\text{M}$ , Рисунок 2.86), и хотя ингибирующая активность такрина выше ( $IC_{50} = 151 \text{ нМ}$ ), его новые аналоги **OC41**, **OC47** проявили низкую гепатотоксичность [102].



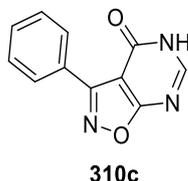
**Рисунок 2.86.** Синтез производных изоксазола – ингибиторов бутирилхолинэстеразы (BuChE).

При кипячении 5-амино-4-цианоизоксазолов **105**, **151**, **153** в смеси муравьиной и серной кислот была получена серия аннелированных пиримидинов **310**, для которых были обнаружены антибактериальные и фунгицидные свойства [103] (Рисунок 2.87). Реакция протекает с промежуточным образованием амидных фрагментов с последующей циклизацией диамида **309** в кислотных условиях реакции. Среди изученных пиримидинов **310** можно отметить соединение **310с**, которое показало сопоставимую со стандартами (гентамицин, амфотерицин) активность в отношении широкого спектра грамположительных и грамотрицательных бактерий, и грибков (Рисунок 2.87) [103].



Гентамицин:  
MIC (Bc) = 0.024 mg/mL

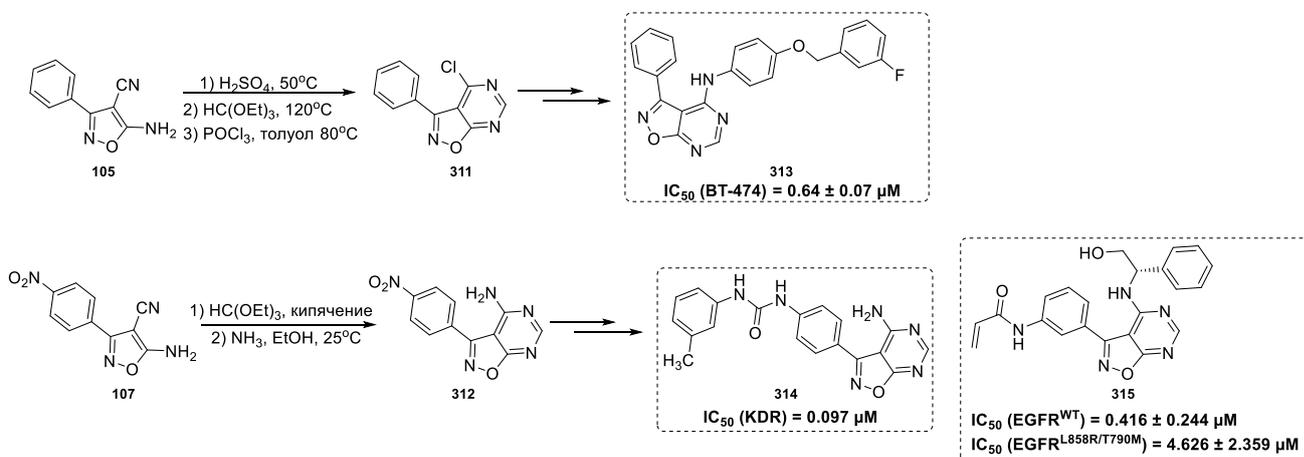
Амфотерицин:  
MIC (Fo) = 0.042 mg/mL  
MIC (Fc) = 0.085 mg/mL



MIC (Bc) = 0.01 mg/mL  
MIC (Fo) = 0.172 mg/mL  
MIC (Fc) = 0.172 mg/mL

**Рисунок 2.87.** Синтез производных изоксазола, обладающих антибактериальной активностью.

Изоксазолпиримидиновый скэффолд был также использован для разработки ингибиторов тирозинкиназных рецепторов, среди которых особый интерес представляют рецепторы фактора роста – основные мишени таргетной терапии рака. Для этой цели 5-амино-4-цианоизоксазолы **105**, **107** были введены в конденсацию с ортоэтилформиатом с последующей обработкой образующегося в ходе реакции пиримидона с аммиаком или  $\text{POCl}_3$  для получения amino- или хлорпиримидинов **311** и **312**, из которых далее были получены целевые структуры **313-315**. (Рисунок 2.88) [28, 30, 31].

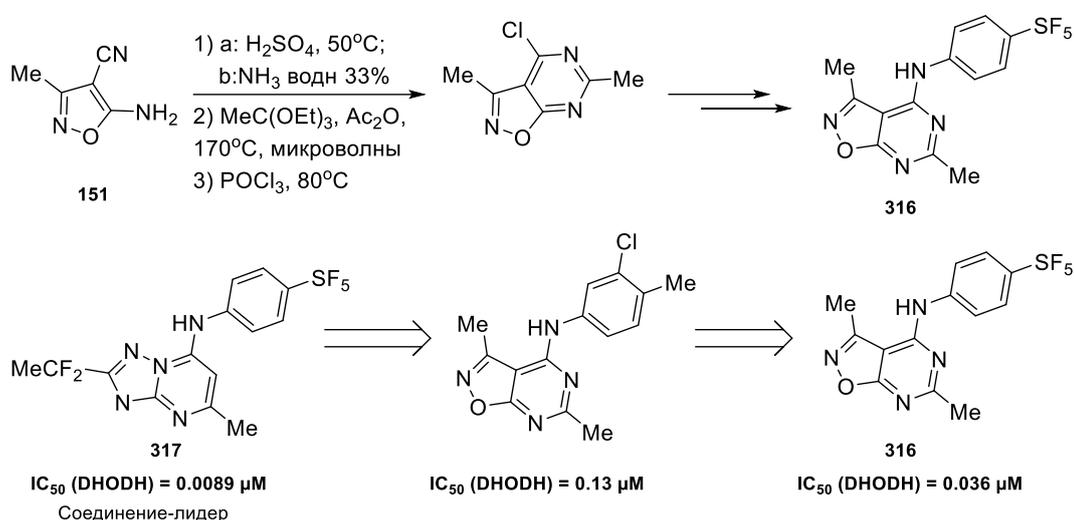


**Рисунок 2.88.** Синтез производных изоксазола, обладающих противораковой активностью.

Согласно результатам скрининга противораковой активности полученные соединения проявили высокую противораковую активность. Было найдено, что структура **314** характеризуется высокой ингибирующей активностью ( $\text{IC}_{50} = 0.097 \mu\text{M}$ ) по отношению к рецептору фактора роста сосудистого эндотелия второго типа (VEGFR-2 или KDR) [31]. Соединение **315** показало высокую эффективность по отношению к рецепторам эпидермального фактора роста  $\text{EGFR}^{\text{WT}}$  и  $\text{EGFR}^{\text{L858R/T790M}}$  ( $\text{IC}_{50} = 0.416 \pm 0.244 \mu\text{M}$  и  $\text{IC}_{50} =$

$4.626 \pm 2.359$  мкМ, соответственно) [28], а для производного изоксазолпиримидина **313** была выявлена цитотоксическая активность на клеточной линии ВТ-474 (рак молочной железы,  $IC_{50} = 0.64 \pm 0.07$  мкМ) [30].

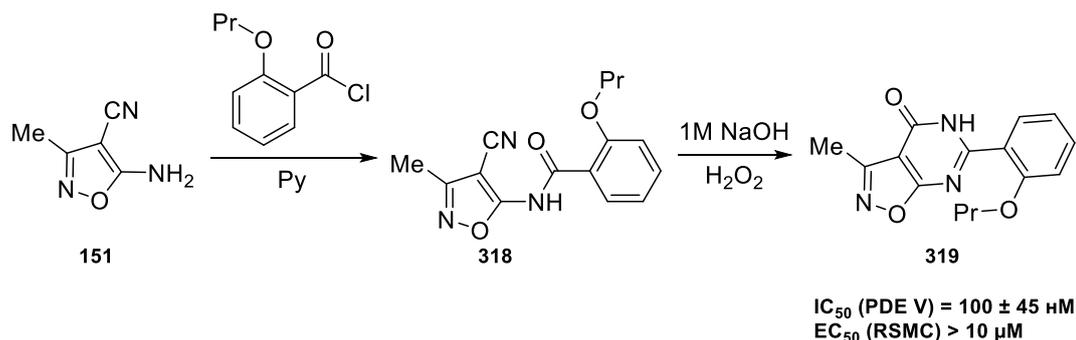
Для получения 6-метилзамещенного изоксазолпиримидина **316** в реакции конденсации с 5-амино-4-цианоизоксазолом **151** использовали триэтилортоацетат. В данном случае конденсация протекает в жестких условиях при нагревании до  $170^{\circ}\text{C}$  в микроволновой печи. Полученные изоксазолпиримидины **316** были использованы в синтезе ингибиторов дигидрооротат дегидрогеназы (DHODH, из *Plasmodium falciparum*) – клинически подтвержденной мишени в лечении малярии. Наибольшую активность показал изоксазолпиримидин **316** ( $IC_{50} = 0.036$  мкМ), хотя его активность, а также растворимость и стабильность в метаболических процессах ниже, чем у соединения-лидера **317** (Рисунок 2.89) [40].



**Рисунок 2.89.** Синтез производных изоксазола, обладающих биологической активностью.

Возможность введения других заместителей в положение 6 изоксазолпиримидинового фрагмента показана на примере синтеза соединения **319** (Рисунок 2.90) [39]. Формирование замещенного пиримидинового цикла происходило в результате последовательности стадий ацилирования аминогруппы изоксазола **151**, гидролиза нитрильной группы амида **318** и внутримолекулярной циклизации под действием щелочного раствора перекиси водорода. С использованием данного подхода из 5-амино-4-цианоизоксазола **151** был получен изоксазолпиримидин **319**, для которого была изучена ингибирующая активность по отношению к ферменту фосфодиэстеразы типа V (человеческий тип PDE V) – перспективной мишени для лечения гипертонии и застойной сердечной недостаточности (Рисунок 2.90) [39]. Хотя соединение **319** оказалось высокоактивным по отношению к ферменту ( $IC_{50} = 100 \pm 45$  нМ), тем

не менее, оно не показало активности на клетках гладкой мускулатуры аорты крысы (RSMC,  $EC_{50} > 10 \text{ мкМ}$ ), в связи с чем не было отобрано для дальнейших исследований.



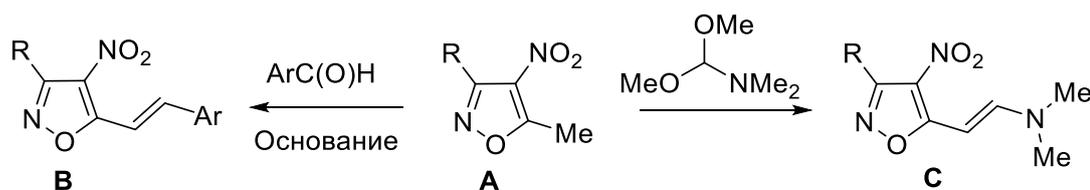
**Рисунок 2.90.** Синтез изоксазола **319** – ингибитора фосфодиэстеразы типа V.

Таким образом, анализ известных в литературе методов синтеза цианоизоксазолов показал, что наибольшее число работ посвящено синтезу гетероциклов, содержащих цианогруппу в положении 4. Методы их синтеза, преимущественно, относятся к реакциям (3+2)-циклоприсоединения, а именно, включают взаимодействие нитрилоксидов с алкинами, алкенами и СН-кислотами, такими как кетонитрилы и малононитрил. Реакции данного типа в случае 4-цианоизоксазолов протекают с высокой региоселективностью и позволяют осуществлять направленный синтез производных изоксазола необходимого строения.

Возможность введения цианогруппы в положения 3 и 5 в ходе формирования изоксазольного цикла существенно ограничена, что связано с низкой региоселективностью реакций гетероциклизации для указанных региоизомеров. В связи с этим к настоящему времени главным подходом к синтезу 3- и 5-цианоизоксазолов по-прежнему остается трансформация в нитрильный фрагмент присутствующих в молекуле других функциональных групп, в первую очередь, амидной и оксимной групп. С учетом высокого интереса к производным изоксазола в фармацевтике и медицинской химии, разработка новых подходов к получению 5-цианоизоксазолов и функционализации изоксазольного цикла на их основе, является важной синтетической задачей.

### 3. Обсуждение результатов<sup>7</sup>

Ранее в нашей научной группе был разработан новый метод синтеза 4-нитроизоксазолов **A** на основе реакции гетероциклизации арил- или гетарилзамещенных винилкетонов под действием *трет*-бутилнитрита в среде диоксан-вода [104]. Метод может быть использован для синтеза 4-нитроизоксазолов различного строения, в том числе, для получения 5-метилзамещенных гетероциклов в граммовых количествах. Известно, что нитрогруппа в положении 4 изоксазольного цикла активирует метильную группу в положении 5 для участия в различных реакциях конденсации, что открывает множество путей функционализации положения 5 изоксазольного цикла, в частности, возможно получение стирилизоксазолов **B**, перспективных флуорофоров и ценных субстратов для дальнейших трансформаций [105-110]. Также 4-нитро-5-метилизоксазолы могут быть использованы для синтеза соответствующих енаминов **C**, которые образуются в реакции с диметилацеталем диметилформаида (ДМА-ДМФА) [111, 112] и могут далее могут вступать в большое разнообразие органических превращений [111-113].



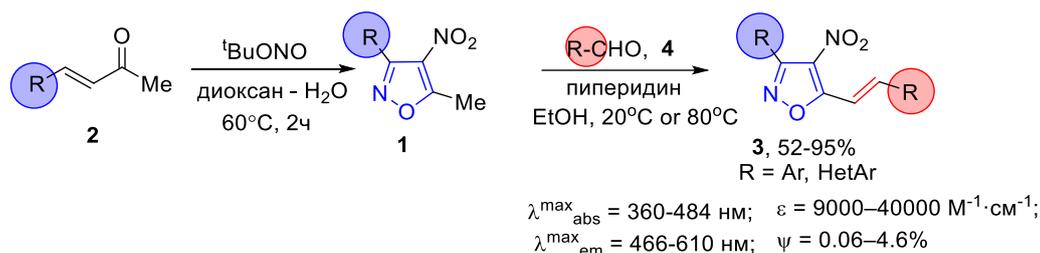
**Рисунок 3.1.** Пути трансформации 5-метил-4-нитроизоксазолов.

Синтез и изучение свойств стирилизоксазолов и енаминов, полученных из 4-нитроизоксазолов, являются основными направлениями данной работы.

<sup>7</sup> Нумерация соединений не совпадает в автореферате и в тексте диссертации.

### 3.1. Краун-содержащие 5-стирил-4-нитроизоксазолы: синтез, сенсорные свойства и применение в биоимиджинге <sup>8</sup>

Ранее 5-метил-4-нитроизоксазолы **1**, полученные гетероциклизацией арилвинилкетонов **2**, были использованы нами для синтеза 5-стирил-4-нитроизоксазолов **3**, которые представляют интерес в качестве соединений с ценными физико-химическими свойствами и широким спектром биологической активности (Рисунок 3.2). В реакцию Кневенагеля были введены различные ароматические альдегиды **4**, в результате чего была получена представительная серия 5-стирилизоксазолов **3**, проявляющих флуоресцентные свойства [114].



**Рисунок 3.2.** Синтез серии стирилизоксазолов с флуоресцентными свойствами.

На основании исследований флуоресцентных свойств ранее полученной серии стирилизоксазолов **3** были найдены основные закономерности влияния природы заместителей в положении 3 изоксазольного цикла и в ароматическом кольце стирильного фрагмента на фотофизические свойства данного типа флуорофоров. В рамках данной работы был предложен синтез новых 5-стирилизоксазолов, содержащих макроциклический сенсорный фрагмент. Такие соединения представляют интерес в качестве флуорофоров с сенсорными свойствами на

<sup>8</sup> При работе над данным разделом диссертации использованы материалы следующих публикаций автора, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

Sadovnikov K.S., Vasilenko D.A., Gracheva Yu.A., Grishin Yu.K., Roznyatovsky V.A., Tafeenko V.A., **Astakhova N.E.**, Burtsev I.D., Milaeva E.R., Averina E.B. 5-Styrylisoxazoles:  $\pi$ -Conjugated System with Fluorescent Properties and Bioactivity // *ChemistrySelect.* – 2023. – Vol. 8, No. 20. – P. e20230083.;

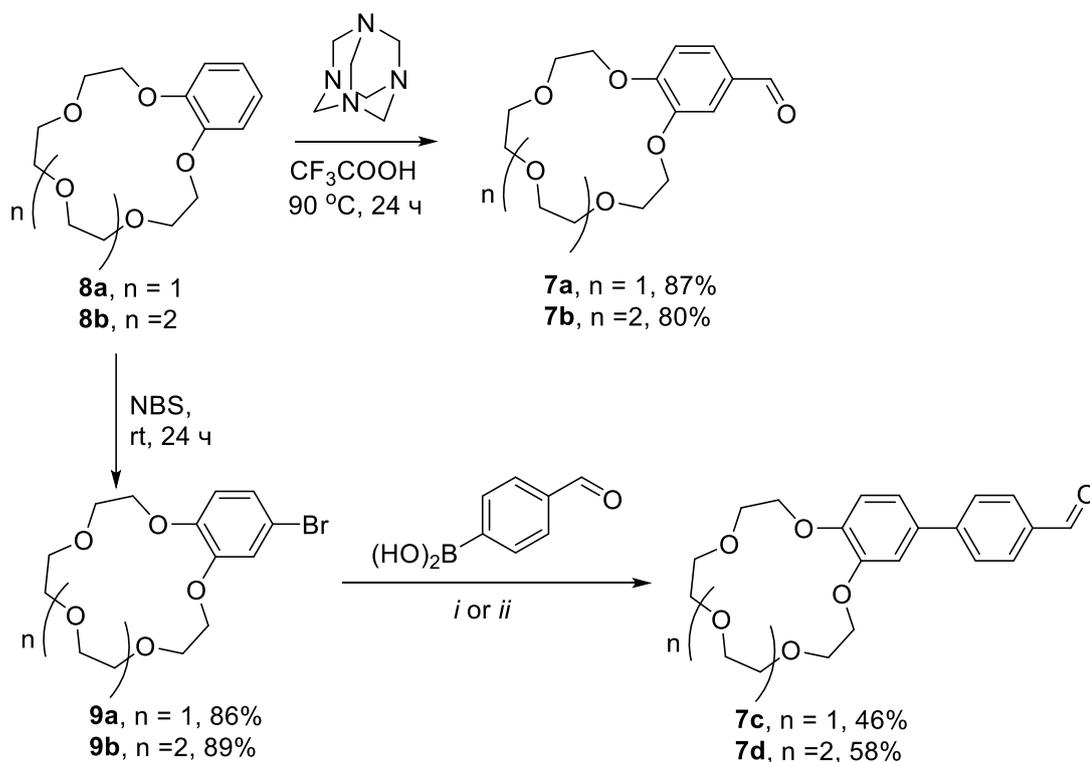
Бурцев И.Д., Василенко Д.А., **Астахова Н.Е.**, Аверина Е.Б., Трофимов А.В., Кузьмин В.А. Комплексообразование стирилизоксазольного красителя с альбумином // *Химия высоких энергий.* – 2024. – Т. 58, № 3. – С. 233-236.

[перевод: Burtsev I.D., Vasilenko D.A., **Astakhova N.E.**, Averina E.B., Trofimov A.V., Kuzmin V.A. Complexation of Styrylisoxazole Dye with Albumin // *High Energy Chemistry.* – 2024. – Vol. 58, No. 3. – P. 343-345.];

**Astakhova N.E.**, Sadovnikov K.S., Vasilenko D.A., Markova A.A., Nguyen M.T., Burtsev I.D., Yakushev A.A., Grishin Yu.K., Gracheva Yu.A., Volodina Yu.L., Lukmanova A.R., Spiridonov V.V., Yaroslavov A.A., Averin A.D., Kuzmin V.A., Milaeva E.R., Averina E.B. Isoxazole-based styryl dyes with macrocyclic receptors: synthesis, ion sensing properties and applications in bioimaging // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry.* – 2025. – Vol. 468. – P. 116497.



Для получения исходных бензальдегидов **7a** и **7b** соответствующие бензокрауны **8a** и **8b** вводили в реакцию формилирования с участием уротропина в среде трифторуксусной кислоты. Бифенильные производные **7c** и **7d** были получены с использованием реакции бромирования соединений **8a,b** под действием NBS и последующей реакции кросс-сочетания Сузуки образующихся бромбензокраунов **9a,b**. В ходе поиска условий реакции Сузуки бромидов **9a,b** с 4-формилфенилбороновой кислотой было найдено, что использование каталитических систем на основе PdCl<sub>2</sub> или Pd(OAc)<sub>2</sub> приводит к образованию сложной смеси продуктов, из которой выделить целевые продукты **7c,d** в индивидуальном виде не удалось. Бифенилсодержащие альдегиды **7c** и **7d** удалось выделить в индивидуальном состоянии с хорошим выходом при использовании Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> в качестве катализатора (Рисунок 3.5).



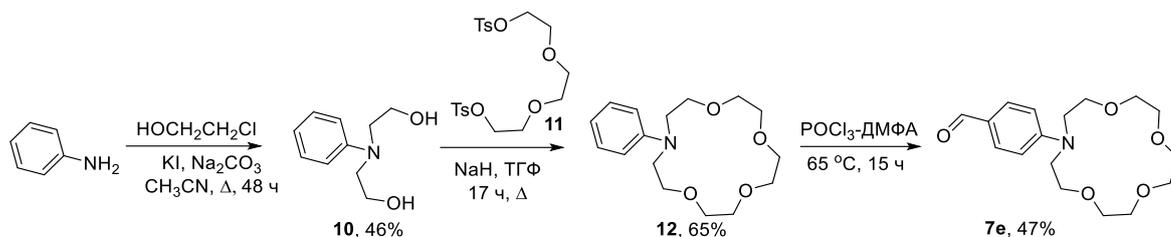
- i) для **9a** 5 mol% Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ТГФ-толуол-H<sub>2</sub>O  
 ii) для **9b** 5 mol% Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ТГФ-толуол-H<sub>2</sub>O

Другие условия:

- 1) 10 мол.% PdCl<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> или Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ДМФА/H<sub>2</sub>O, rt
- 2) 5 мол.% Pd(OAc)<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> или Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ДМФА/H<sub>2</sub>O, rt
- 3) 10 мол.% Pd(OAc)<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> или Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, PPh<sub>3</sub>, диоксан/H<sub>2</sub>O, 80 °C

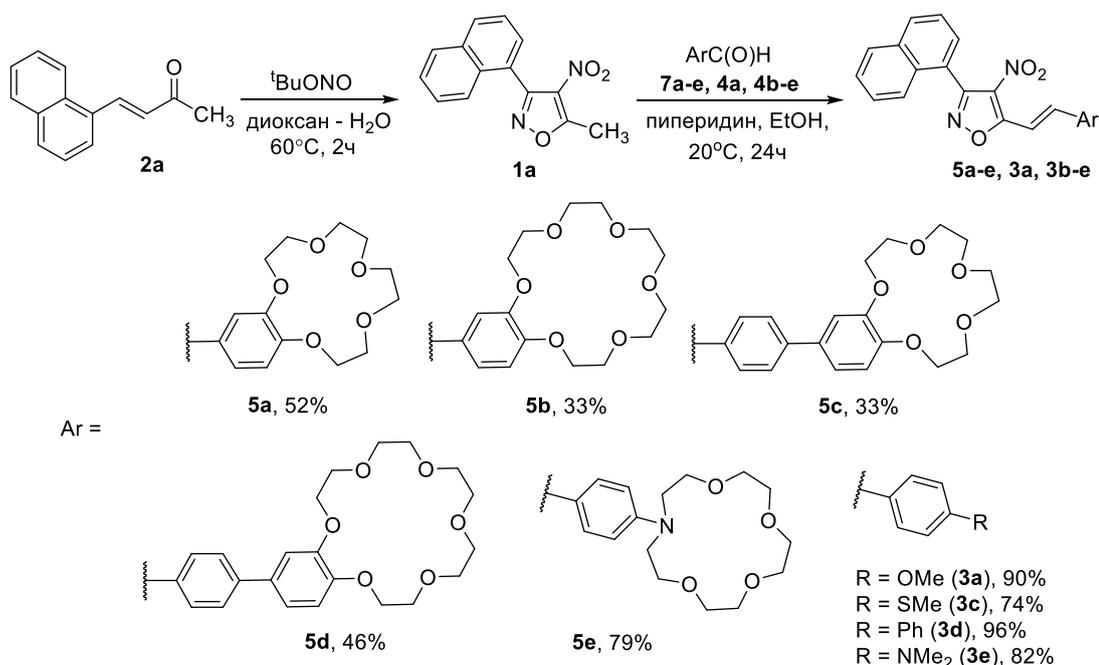
**Рисунок 3.5.** Схема синтеза краун-содержащих альдегидов **7a-d**.

Альдегид **7e**, содержащий фрагмент азакрауна, был получен по приведенной ниже схеме, включающей алкилирование анилина этиленхлоргидрином с образованием диола **10**, его последующую циклизацию с дитозилатом триэтиленгликоля **11** в присутствии гидроксида натрия и формилирование *N*-фенилазакрауна **12** (Рисунок 3.6) [116].



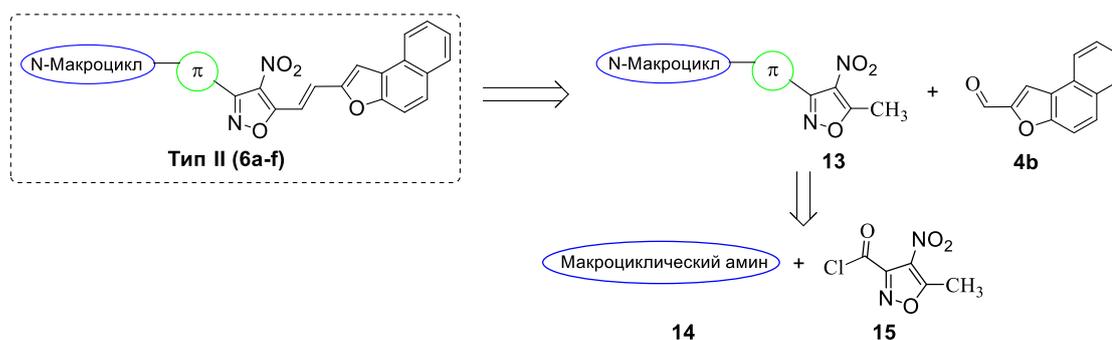
**Рисунок 3.6.** Схема синтеза краун-содержащего альдегида **7e**.

Синтез исходного 3-нафтилзамещенного 4-нитро-5-метилизоксазола **1a** был осуществлен с использованием реакции гетероциклизации винилкетона **2a** под действием *tert*-бутилнитрита в смеси диоксан-вода. Далее изоксазол **1a** был введен в реакцию конденсации с макроциклическими бензальдегидами **7a-e** в ранее найденных условиях [114], в результате чего был получен ряд 5-стирилизоксазолов **5a-e** структурного типа **I** (Рисунок 3.7). Для оценки влияния макроциклического фрагмента на сенсорные свойства из нитроизоксазола **1a** в качестве образцов сравнения были также получены стирилизоксазолы **3a** и **3c-e**, не содержащие макроциклического фрагмента, но имеющие сходные по электронным свойствам заместители.



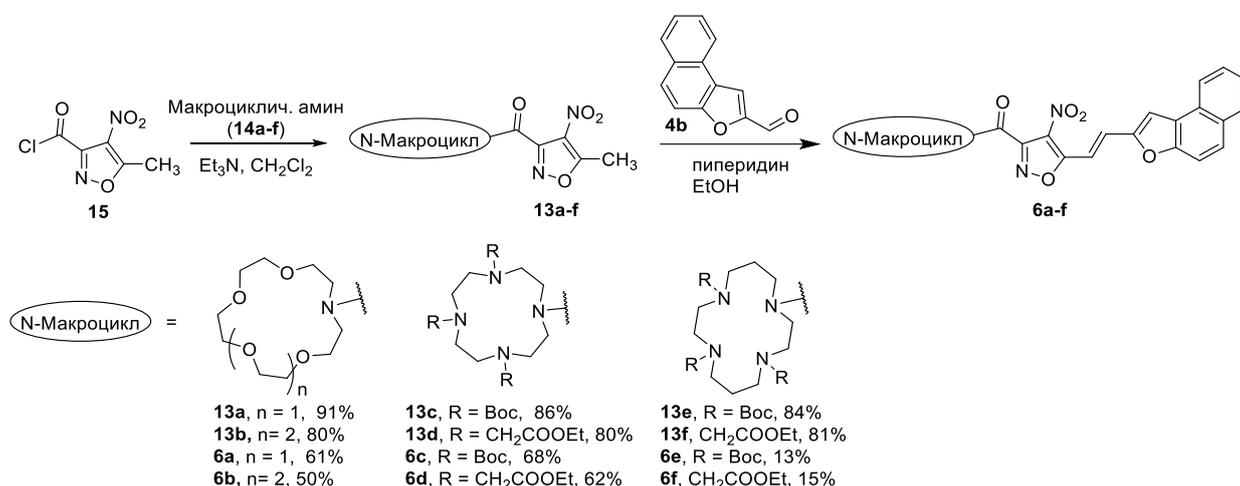
**Рисунок 3.7.** Схема синтеза краун-содержащих стирилизоксазолов типа **I**.

Для введения макроциклического фрагмента в положение 3 гетероцикла (структурный тип **II**) был предложен двухстадийный подход, основанный на реакции ацилирования хлорангидридом изоксазол-3-карбоновой кислоты **15** азакраунов **14** и последующей реакции конденсации с участием 5-метилизоксазолов **13** (Рисунок 3.8).



**Рисунок 3.8** Ретросинтетическая схема получения краун-содержащих стирилизоксазолов типа II.

Согласно разработанной стратегии было проведено ацилирование макроциклических аминов **14a-f** хлорангидридом **15**, а затем серия изоксазолов **13a-f** была введена в реакцию конденсации с нафтофуранкарбальдегидом **4b**, в результате чего были получены изоксазолы **6a-f** с хорошими выходами (Рисунок 3.9).



**Рисунок 3.9.** Схема синтеза краун-содержащих стирилизоксазолов типа II.

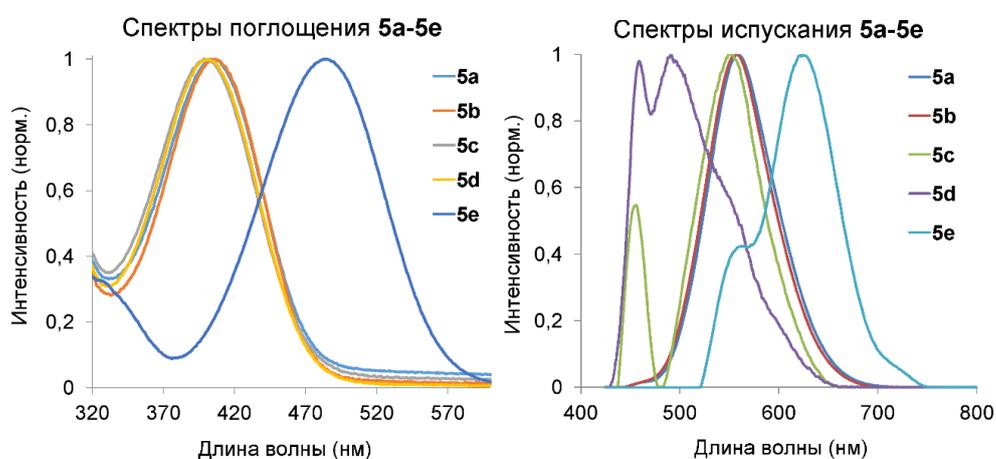
### 3.1.2. Изучение фотофизических свойств краун-содержащих 5-стирил-4-нитроизоксазолов

Для всех синтезированных 5-стирилизоксазолов **5a-e**, **6a-f**, **3a**, **3c-e** содержащих макроциклический фрагмент в положениях 3 (**6a-f**) или 5 (**5a-e**), а также стирилизоксазолов **3a**, **3c-e** не содержащих фрагмент макроцикла, были зарегистрированы спектры абсорбции и эмиссии в ацетонитриле, а также вычислены значения коэффициента экстинкции и квантового выхода (Таблица 3.1).

Согласно данным таблицы 3.1, фотофизические свойства стирилизоксазолов **3a**, **3c-e** коррелируют с найденными ранее закономерностями [114].

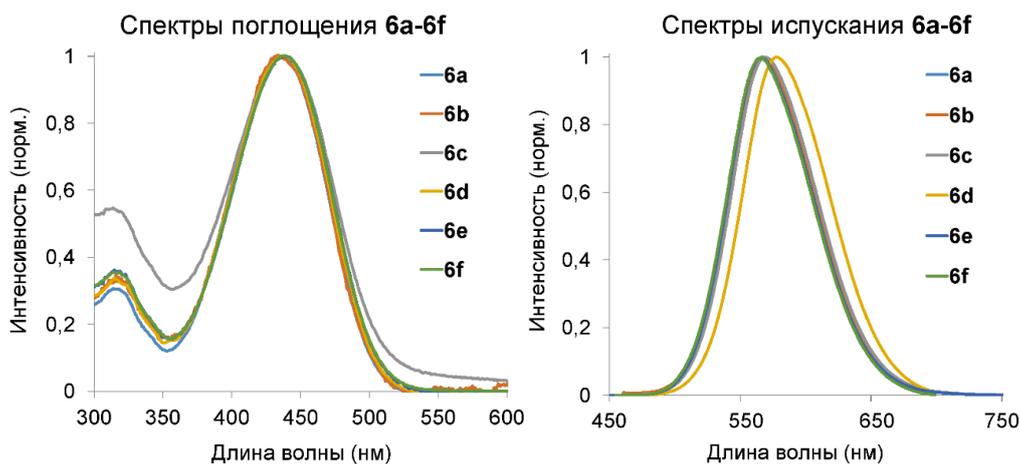
Для стирилизоксазолов **5a-d**, содержащих оксакраун-эфирные фрагменты, длинноволновые максимумы поглощения находятся в диапазоне 400–406 нм, а максимумы флуоресценции — в пределах 554–563 нм (Таблица 3.1, Рисунок 3.10). Эти соединения также

характеризуются низкими коэффициентами молярного поглощения и квантовыми выходами флуоресценции. Введение азакрауна в стирильный фрагмент (соединение **5e**) приводит к батохромному сдвигу в спектрах поглощения и испускания, причем стирилизоксазол **5e** демонстрирует полосы поглощения и испускания при 485 и 626 нм соответственно (Таблица 3.1, Рисунок 3.10). Кроме того, соединение **5e** обладает наибольшим молярным коэффициентом поглощения ( $39900 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) (Таблица 3.1). Сравнение фотофизических свойств краунзамещенных монофенильных производных изоксазола **5a** и **5b** с близким по электронным свойствам аналогом **3a** показывает, что введение фрагмента краун-эфира приводит к снижению коэффициента экстинкции, то есть к снижению поглощающей способности. Замена фенильного линкера на бифенильный приводит к снижению квантового выхода примерно в пять раз ( $\psi$  0.25 % для **5a** против  $\psi$  0.05 % для **5c**, и  $\psi$  0.5 % для **5b** против  $\psi$  0.1 % для **5d**). Уменьшение интенсивности флуоресценции можно объяснить тем, что введение дополнительного ароматического кольца увеличивает вклад безызлучательного перехода типа TICT (Twisted Intramolecular Charge Transfer, “скрученный” внутримолекулярный перенос заряда). Интересно отметить различие в квантовых выходах для соединений **5c**, **5d** и аналога **3d**, что указывает на участие краун-эфирного фрагмента во внутримолекулярном переносе заряда (Intramolecular Charge Transfer, ICT).



**Рисунок 3.10.** Спектры поглощения и испускания для соединений **5a-e**.

Изоксазолы **6a-f** характеризуются близкими значениями максимумов поглощения в области 436–438 нм, а максимумы полос флуоресценции лежат в диапазоне 567–569 нм, независимо от природы заместителя в положении 3 изоксазольного кольца (Рисунок 3.11). Однако соединения **6a-f** обладают относительно высокими квантовыми выходами флуоресценции (до 15%) и имеют значительные коэффициенты молярного поглощения (от 21100 до  $41400 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) (Таблица 3.1).



**Рисунок 3.11.** Спектр поглощения и испускания для соединений **5a-f**.

Таким образом, изменение структуры макроциклических фрагментов в амидных группах стирилизоксазолов оказывает незначительное влияние на фотофизические свойства соединений серии **II** (**6a-f**). В то же время, влияние макроциклических заместителей, входящих в состав стирильного фрагмента, выражено значительно сильнее из-за существенного вклада их электронной плотности в  $\pi$ -сопряженную систему (тип **I**, соединения **5a-e**).

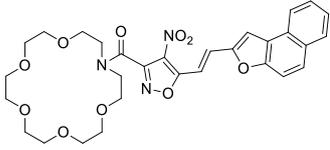
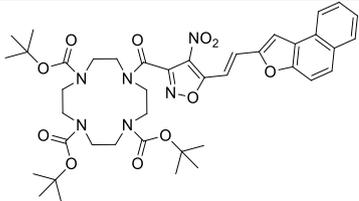
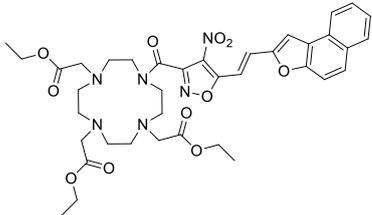
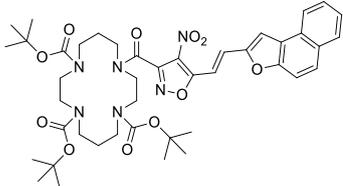
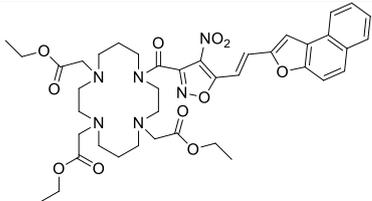
**Таблица 3.1.** Фотофизические свойства стирилизоксазолов **3a-e**, **5a-e** и **6a-f**.

№	Структурная формула	$\lambda^{\max}_{\text{abs}}$ , нм	$\lambda^{\max}_{\text{em}}$ , нм	$\Delta\nu$ , $\text{cm}^{-1}$	$\epsilon$ , $\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$	$\psi$ , %
<b>3a</b>		397	516	5809	24200	1.1
<b>3c</b>		405	549	6476	15400	4.6
<b>3d</b>		380	520	7085	18100	10.8
<b>3e</b>		480	554 625	4833	4870	0.02

Продолжение таблицы 3.1.

№	Структурная формула	$\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ , нм	$\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ , нм	$\Delta\nu$ , $\text{cm}^{-1}$	$\varepsilon$ , $\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$	$\psi$ , %
5a		404	558	6831	6800	0.25
5b		406	557	6580	6600	0.50
5c		400	456 551	7111	7100	0.05
5d		402	459 491 540	7114	7100	0.1
5e		485	562 626	4644	39900	0.1
6a		436	567	5299	27700	9.4

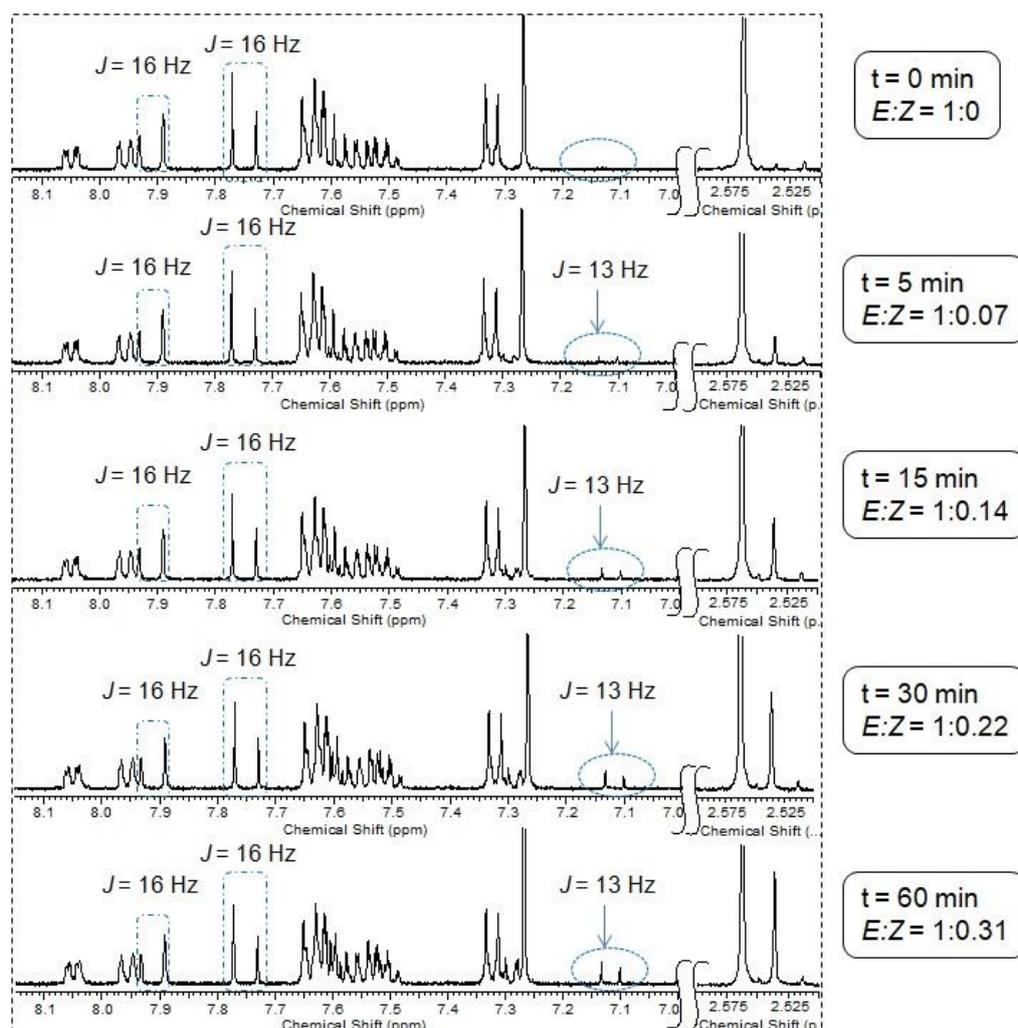
Продолжение таблицы 3.1.

№	Структурная формула	$\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ , нм	$\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ , нм	$\Delta\nu$ , $\text{cm}^{-1}$	$\epsilon$ , $\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$	$\psi$ , %
<b>6b</b>		437	568	5278	28700	11.4
<b>6c</b>		441	569	5101	31500	15.2
<b>6d</b>		438	569	5256	41400	2.78
<b>6e</b>		438	567	5194	27000	12.4
<b>6f</b>		438	568	5225	35000	4.7

### 3.1.3. Фотоустойчивость стирилизоксазолов

Фотоустойчивость синтезированных стирилизоксазолов была исследована на модельных соединениях **3c** и **5c**. В ходе эксперимента раствор **3c** и **5c** в  $\text{CDCl}_3$  подвергался облучению ближним ультрафиолетовым светом (365 нм) в течение 5, 15, 30 и 60 минут, а изменения в структуре соединения фиксировались методом ЯМР  $^1\text{H}$ -спектроскопии. Было установлено, спектр ЯМР  $^1\text{H}$  макроциклического производного стирилизоксазола **5c** не меняется после длительного облучения его раствора в  $\text{CDCl}_3$ . Однако в случае соединения **3c** было показано, что под действием света в  $\text{CDCl}_3$  происходит медленная E/Z-фотоизомеризация, типичная для

стирильных красителей [117]. После 60 минут облучения соотношение E- и Z-изомеров составило 1:0.31 (Рисунок 3.12).



**Рисунок 3.12.** Изменение спектра ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ) **3c** до и после облучения образца светом с длиной волны 365 нм.

Фотоизомеризация также сопровождалась изменениями флуоресцентных свойств: интенсивность флуоресценции соединения **3c**, зарегистрированная в растворе ДХМ (максимум при 549 нм), постепенно снижалась после облучения светом с длиной волны 365 нм в течение 10, 30 и 60 минут

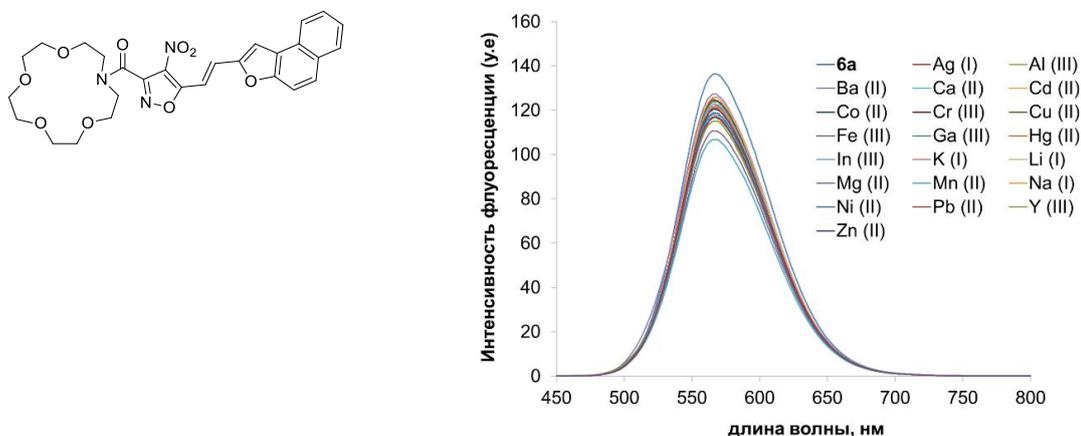
Таким образом, для стирилизоксазолов может наблюдаться процесс фотоизомеризации, который может иметь практическое применение в разработке фотоперключаемых материалов. Интересно, что введение макроциклического фрагмента повышает устойчивость к фотоизомеризации, что было проиллюстрировано на примере соединения **5c**.

### 3.1.4. Изучение сенсорных свойств краун-содержащих 5-стирил-4-нитроизоксазолов

С целью получения данных по сенсорным свойствам стирилизоксазолов по отношению к катионам металлов было оценено влияние катионов металлов (в количестве 1, 2, 5 и 10 экв.) на спектры флуоресценции и абсорбции стирилизоксазолов **5a-e** и **6a-f** в ацетонитриле. Для

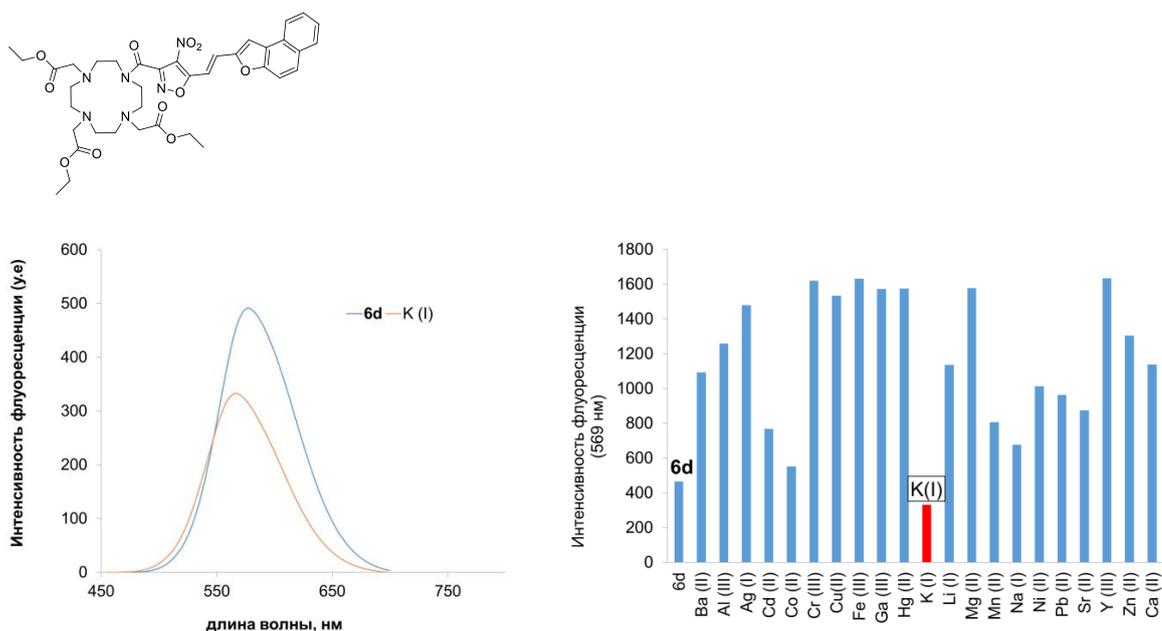
изучения сенсорных свойств был использован набор из 21 соли, включающий 18 перхлоратов металлов (Li(I), Na(I), K(I), Mg(II), Ca(II), Ba(II), Al(III), Cr(III), Mn(II), Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Cd(II), Hg(II), Pb(II) и Ag(I)) и 3 нитрата металлов (Ga(III), In(III) и Y(III)). Для ряда 5-стирилизоксазолов также было изучено влияние комплексообразования с катионами редкоземельных металлов (La(III), Ce(III), Pr(III), Nd(III), Sm(III), Eu(III), Gd(III), Tb(III), Dy(III), Ho(III), Er(III), Tm(III), Yb(III), Lu(III)) на их флуоресцентные свойства. Для удобства сравнения все представленные ниже рисунки и диаграммы иллюстрируют изменения интенсивности флуоресцентных спектров после добавления 5 эквивалентов соли металла к соответствующему лиганду.

При изучении сенсорных свойств полученных стирилизоксазолов было установлено, что соединения структурного типа II (**6a-f**) демонстрируют слабый отклик в спектрах поглощения и флуоресценции на присутствие различных катионов металлов (Рисунок 3.13).



**Рисунок 3.13.** Спектры флуоресценции изоксазола **6a** в ацетонитриле в присутствии солей металлов (5 экв.)  $C_L = 3.62 \cdot 10^{-6}$  M,  $\lambda_{ex} = 456$  нм.

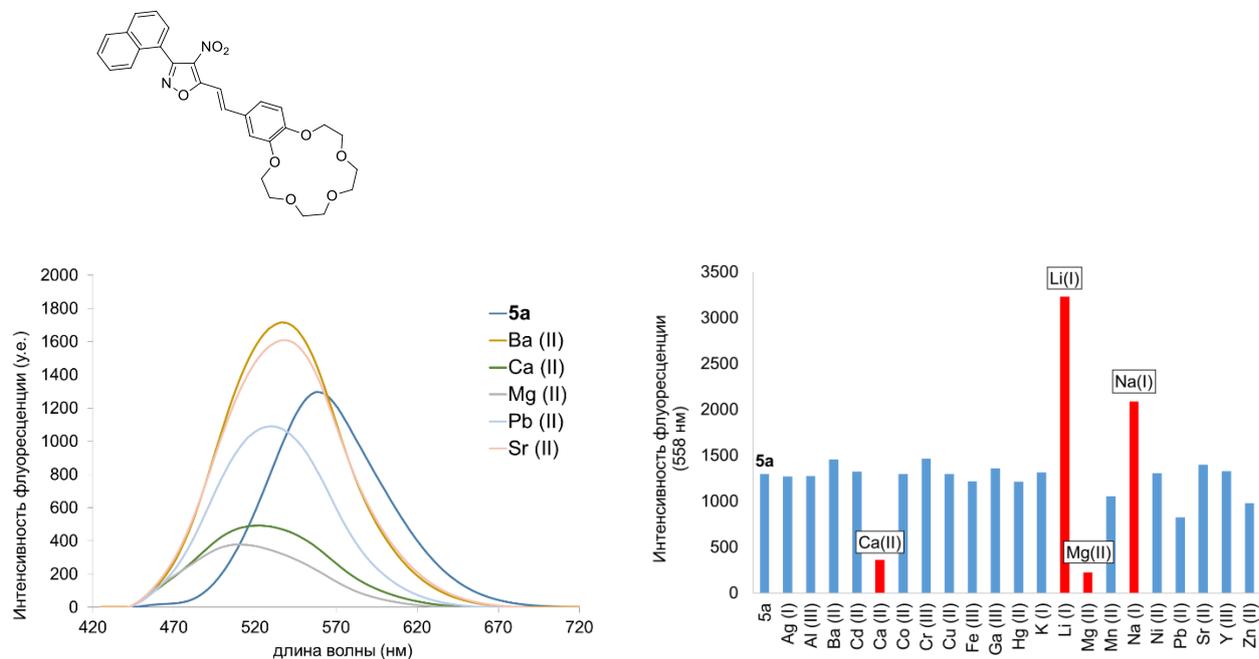
Можно отметить только соединение **6d**, содержащее ацильный фрагмент в циклене, для которого добавление большинства солей металлов приводило к умеренному увеличению интенсивности флуоресценции, за исключением K(I), при добавлении которого наблюдалось снижение интенсивности свечения. Однако такой отклик является недостаточным для спектрофлуориметрического детектирования калия (Рисунок 3.14).



**Рисунок 3.14.** Спектры флуоресценции и диаграмма изменения интенсивностей флуоресценции изоксазола **6d** в ацетонитриле в присутствии солей металлов (5 экв.)  $C_L = 3.54 \cdot 10^{-6}$  M,  $\lambda_{ex}$  458 nm.

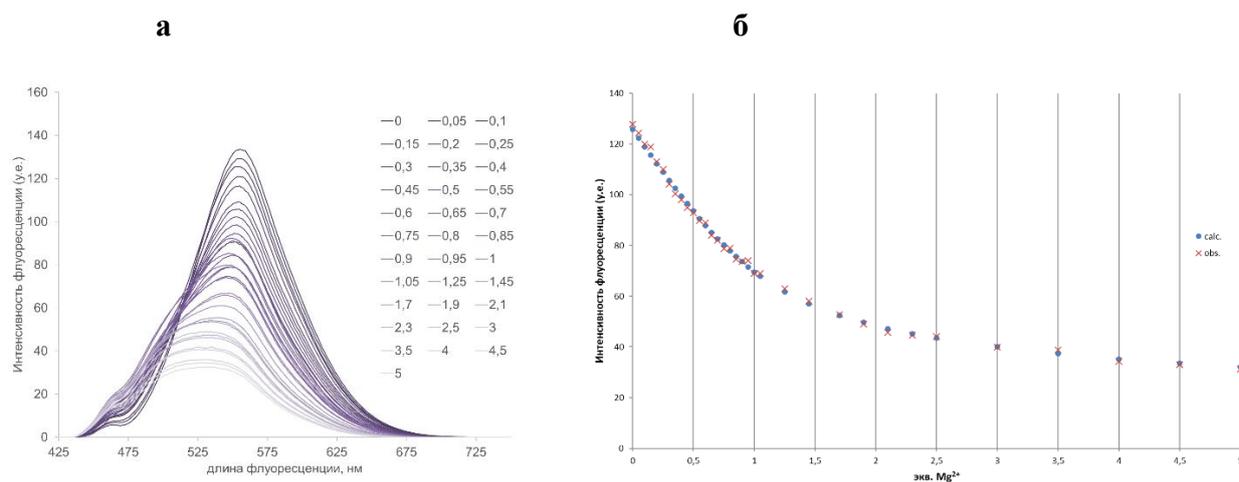
Изоксазолы **5a-e**, содержащие макроциклические заместители в стирильном фрагменте, демонстрируют более выраженный отклик в спектрах флуоресценции на присутствие ионов металлов. Так, при добавлении ионов лития и натрия к стирилизоксазолу **5a** наблюдается значительное увеличение интенсивности пиков флуоресценции, тогда как введение ионов магния и кальция приводит к ее тушению (Рисунок 3.15). В ходе дополнительного изучения связывания ионов натрия и лития с лигандом **5a** было показано, что отклик, к сожалению, нестабилен во времени, что затрудняет его использование, а также определение констант устойчивости. Мы предположили, что такое проявление отклика может быть связана с низким значением константы устойчивости или влиянием следов воды, которые существенны при регистрации спектров при низких концентрациях флуорофоров, используемых в спектрофлуориметрическом титровании. Также не удалось провести и спектрофотометрическое титрование, так как добавление ионов лития и натрия не приводило к смещению максимума полос поглощения. Была предпринята попытка провести ЯМР-титрование на примере ионов лития. Добавление 0.1 M раствора перхлората лития к 0.005 M раствору соединения **5a** в  $CD_3CN$  не привело к заметным изменениям в спектре ЯМР  $^1H$ . Однако после добавления 1–5 эквивалентов раствора перхлората лития в ампулу ЯМР наблюдалось небольшое помутнение раствора. Таким образом, изменение в спектре флуоресценции и нестабильность отклика, по-видимому, связаны с процессами образования и разрушения агрегатов, индуцируемыми солями лития.

При добавлении солей Mg(II), Ca(II), Sr(II), Ba(II) и Pb(II) к стирлизоксазолу **5a** также отмечаются гипсохромные сдвиги максимумов полос флуоресценции в диапазоне 19–45 нм (Рисунок 3.15). Для большинства катионов металлов изменения в спектре поглощения не наблюдались, однако для Mg(II), Sr(II), Ca(II), Ba(II), Pb(II) и Zn(II) были зафиксированы гипсохромные сдвиги максимумов полос поглощения на 9–34 нм.

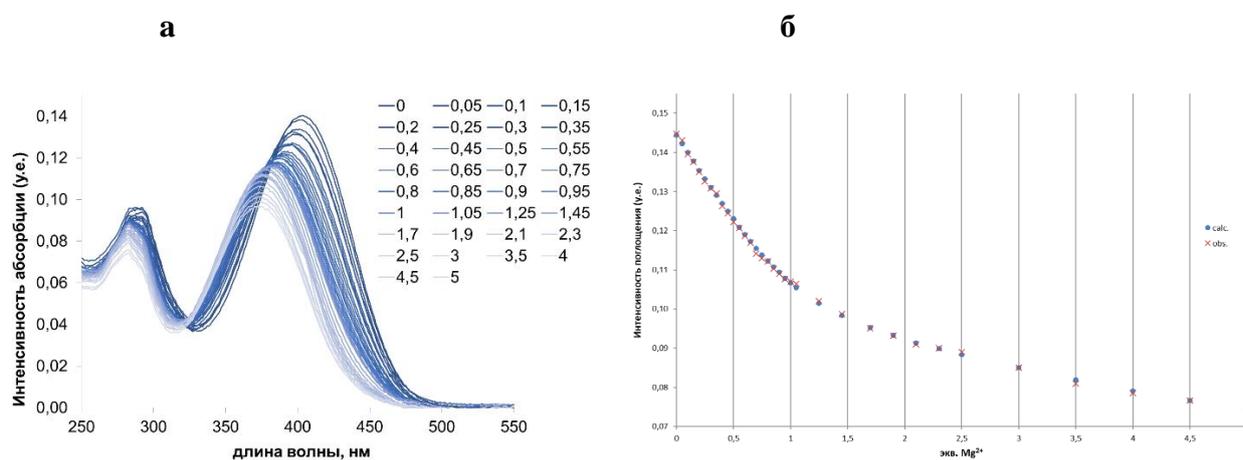


**Рисунок 3.15.** Спектры флуоресценции и диаграмма изменения интенсивностей флуоресценции изоксазола **5a** в ацетонитриле в присутствии солей металлов (5 экв.)  $C_L = 5.91 \cdot 10^{-6}$  М,  $\lambda_{ex} = 424$  нм.

Для лиганда **5a** было более подробно изучено комплексообразование с ионами магния с помощью спектрофлуориметрического и спектрофотометрического титрования. Согласно данным спектрофлуориметрического титрования, рассчитанные константы связывания для комплексов LM и LM<sub>2</sub> составили  $K[LM] = 2.28 \times 10^6 \pm 0.55 \times 10^6$  и  $K[LM_2] = 3.66 \times 10^{10} \pm 0.32 \times 10^{10}$  соответственно (Рисунок 3.16). Аналогичные значения были получены на основе данных спектрофотометрического титрования:  $K[LM] = 1.98 \times 10^6 \pm 0.09 \times 10^6$  и  $K[LM_2] = 1.56 \times 10^{11} \pm 0.12 \times 10^{11}$  (Рисунок 3.17).

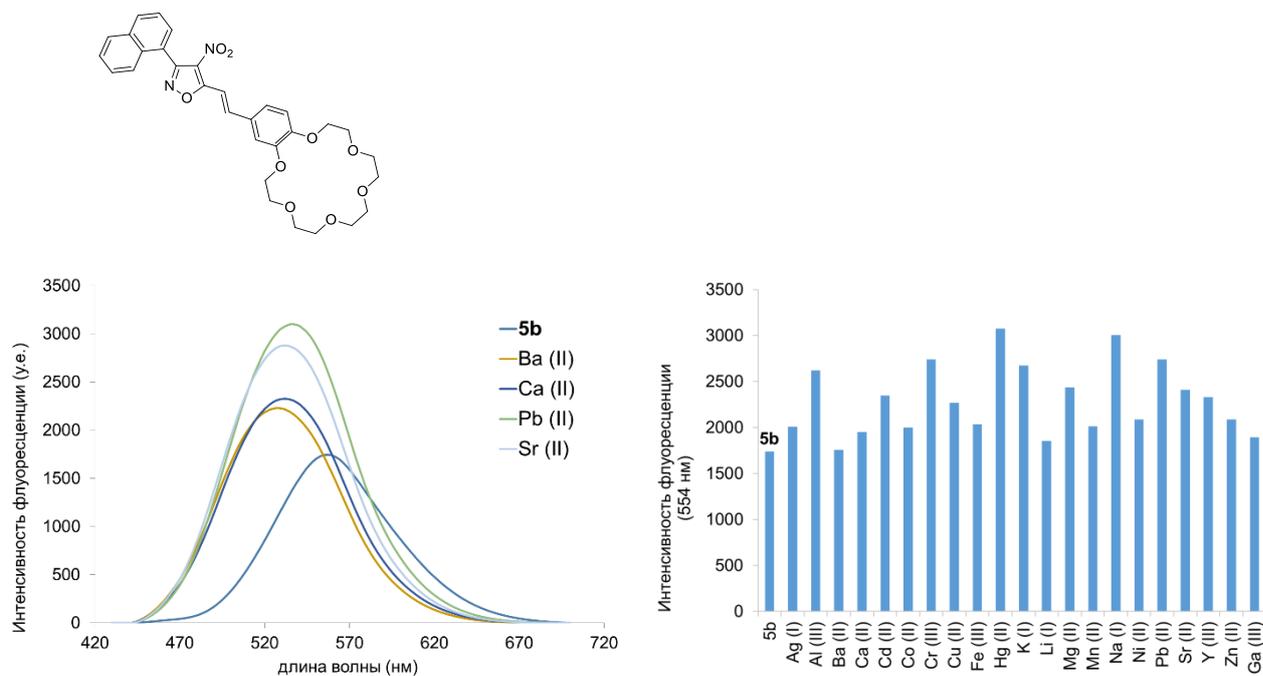


**Рисунок 3.16.** а) Изменение спектра флуоресценции соединения **5a** ( $[5a] = 5.2 \mu M$ , MeCN) при добавлении  $Mg(ClO_4)_2$  (0–5 экв.). б) Рассчитанные и наблюдаемые кривые титрования при 547 нм при спектрофлуориметрическом титровании **5a** при добавлении  $Mg(ClO_4)_2$  (0–5 экв.).



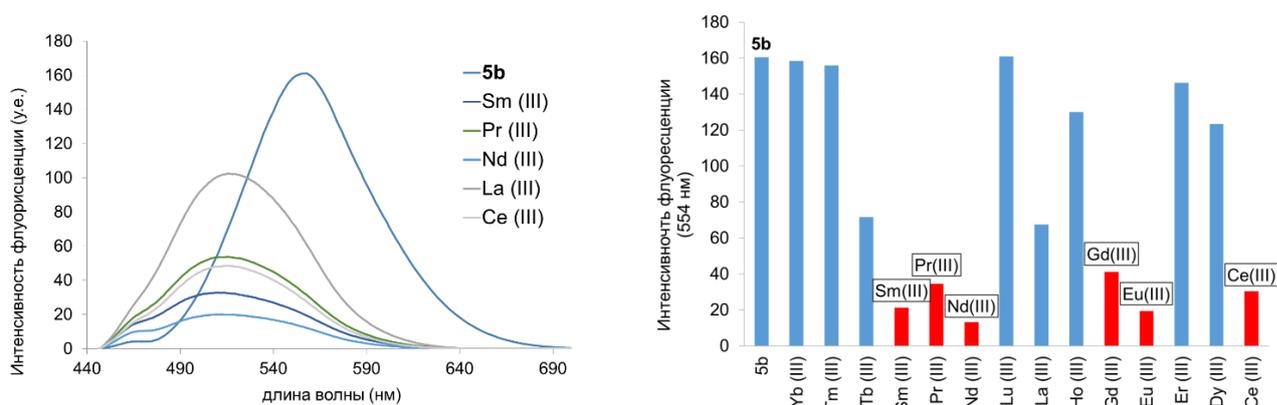
**Рисунок 3.17.** а) Изменение спектра поглощения соединения **5a** ( $[5a] = 5.2 \mu M$ , MeCN) при добавлении  $Mg(ClO_4)_2$  (0–5 экв.). б) Рассчитанные и наблюдаемые кривые титрования при 400 нм при спектрофотометрическом титровании **5a** при добавлении  $Mg(ClO_4)_2$  (0–5 экв.).

При сравнении откликов в спектрах флуоресценции для соединений **5a** и **5b** можно заключить, что увеличение размера краун-эфирного фрагмента приводит к снижению чувствительности отклика на добавленные катионы металлов. Так, в спектрах флуоресценции 5-стирилизоксазола **5b** наблюдается увеличение интенсивности флуоресценции в присутствии почти всех исследованных катионов, а для ионов кальция, стронция, бария и свинца также зафиксированы гипсохромные сдвиги максимумов полос флуоресценции (Рисунок 3.18).



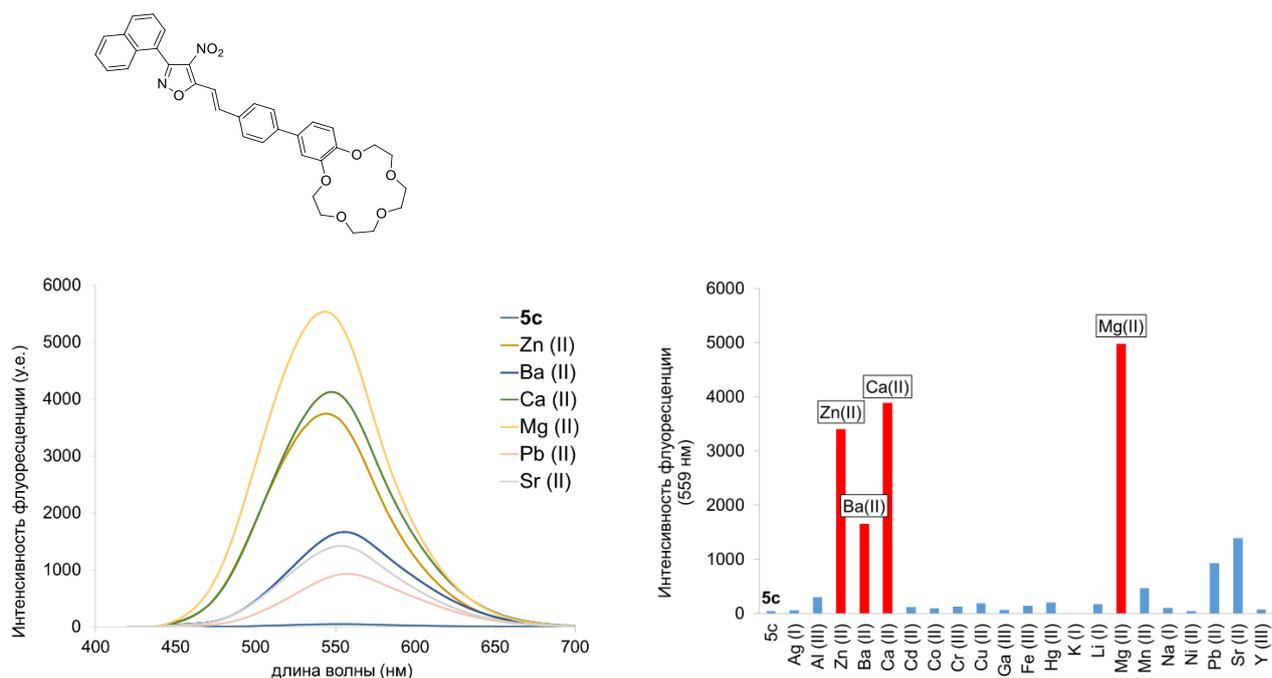
**Рисунок 3.18.** Спектры флуоресценции и диаграмма изменения интенсивностей флуоресценции изоксазола **5b** в ацетонитриле в присутствии солей металлов (5 экв.)  $C_L = 4.68 \cdot 10^{-6}$  М,  $\lambda_{ex} = 574$  нм.

Кроме того, для соединения **5b** в присутствии большинства ионов редкоземельных металлов, за исключением Yb(III), Tm(III) и Lu(III), наблюдалось тушение флуоресценции (Рисунок 3.19). Наиболее выраженные изменения в спектрах испускания были зафиксированы в присутствии Sm(III), Pr(III), Nd(III), Gd(III), Eu(III) и Ce(III), при этом для ионов La(III), Pr(III), Ce(III), Sm(III) и Nd(III) также отмечены гипсохромные сдвиги. Таким образом, производное стирилизоксазола **5b** не демонстрирует заметной селективности в детекции катионов редкоземельных металлов.



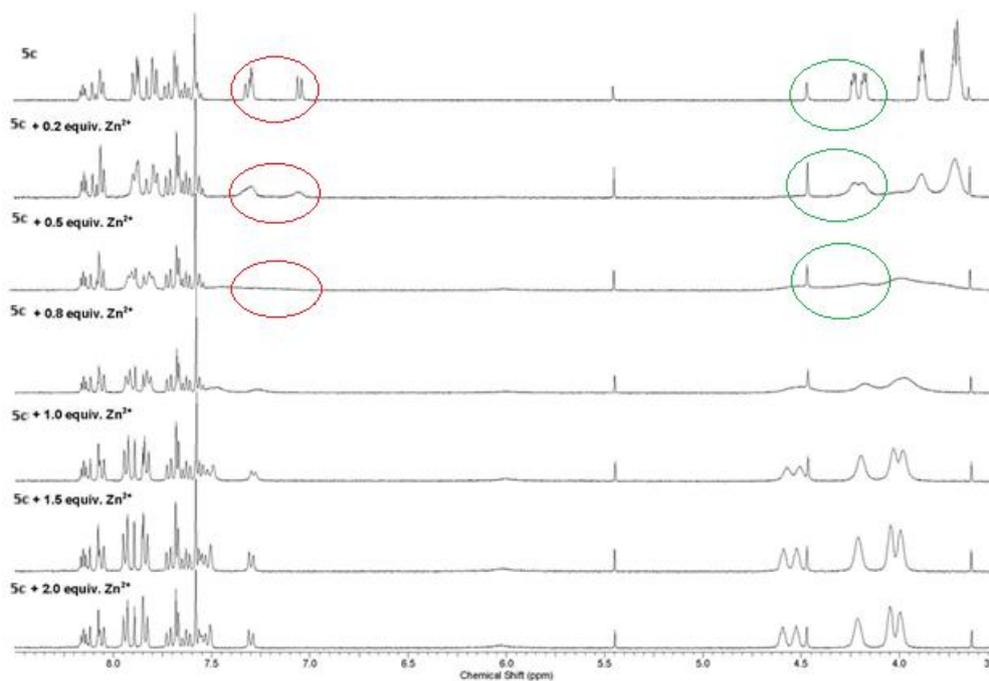
**Рисунок 3.19.** Спектры флуоресценции и диаграмма изменения интенсивностей флуоресценции изоксазола **5b** в ацетонитриле в присутствии солей редкоземельных металлов (5 экв.)  $C_L = 4.68 \cdot 10^{-6}$  М,  $\lambda_{ex} = 574$  нм.

В сравнении с бензокраун-содержащими стирилизоксазолами **5a** и **5b**, их аналоги – соединения **5c** и **5d**, содержащие бифенил-краунэфирные фрагменты, продемонстрировали более слабые флуоресцентные свойства (Таблица 3.1), поэтому значительное усиление флуоресценции в присутствии некоторых ионов может представлять интерес для их детектирования. Было обнаружено, что добавление перхлоратов Zn(II), Ca(II) и Mg(II) к стирилизоксазолу **5c** (Рисунок 3.20) приводит к значительному усилению флуоресценции. К сожалению, данные спектрофлуориметрического и спектрофотометрического титрования соединений **5c** проведенные для ионов Zn(II), Ca(II) и Mg(II) не позволили рассчитать константы устойчивости этих комплексов.

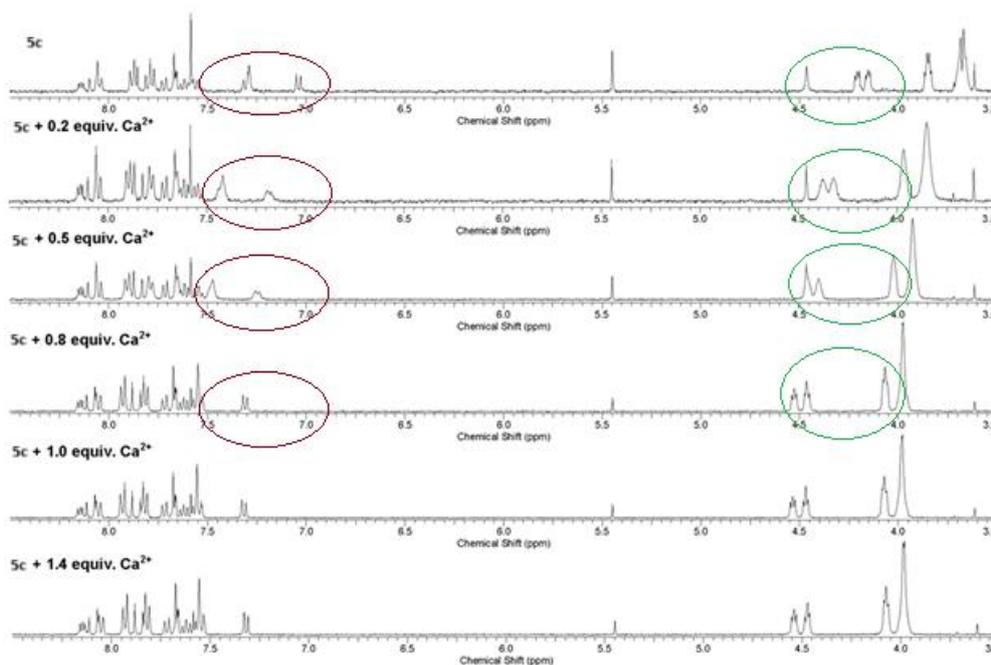


**Рисунок 3.20.** Спектры флуоресценции и диаграмма изменения интенсивностей флуоресценции изоксазола **5c** в ацетонитриле в присутствии солей металлов (5 экв.)  $C_L = 5.17 \cdot 10^{-6}$  М,  $\lambda_{ex} = 420$  нм.

Для получения информации об образовании комплексов лиганда **5c** с катионами металлов были проведены ЯМР-титрования **5c** с перхлоратами Zn(II), Ca(II) и Mg(II). При добавлении солей цинка или кальция в диапазоне 0.1-1 экв. наблюдалось уширение и смещение сигналов протонов фрагмента краун-эфира и связанного с ним фенильного кольца. При добавлении 1 экв. соответствующих солей химические сдвиги далее практически не изменяются. Построенные кривые титрования, отчетливо показывают перегиб при 0.5 экв. Zn(II), и Ca(II), соответствующий образованию комплекса  $L_2M$  (Рисунки 3.21, 3.22).

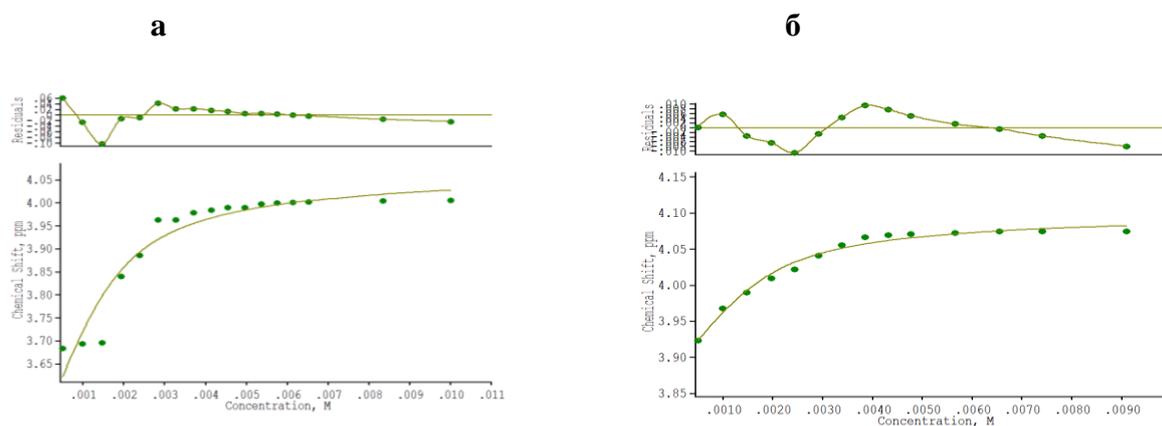


**Рисунок 3.21.** ЯМР титрование соединения **5c**  $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  в растворе  $\text{CD}_3\text{CN}$ ,  $C_L = 0.005 \text{ M}$  и  $C_{\text{Zn(II)}} = 0.05 \text{ M}$ .



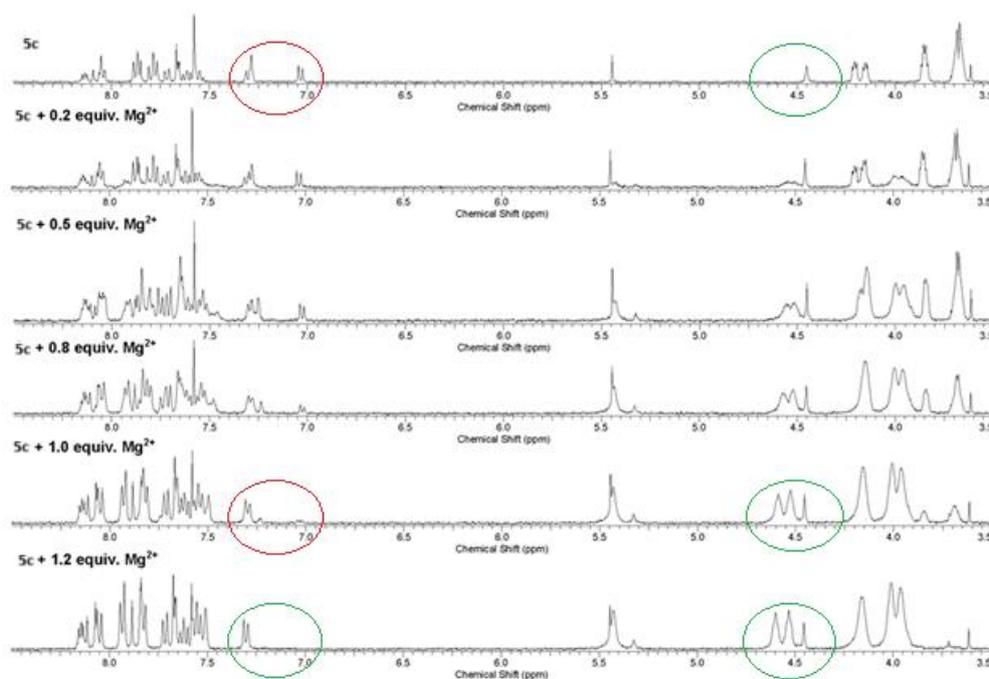
**Рисунок 3.22.** ЯМР титрование соединения **5c**  $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  в растворе  $\text{CD}_3\text{CN}$ ,  $C_L = 0.005 \text{ M}$  и  $C_{\text{Ca(II)}} = 0.1 \text{ M}$ .

Результаты титрования были обработаны в программе EQNMR (Рисунок 3.23), из которых были получены значения констант связывания для комплексов  $L_2M$ , которые составили  $K[L_2M] = (1.95 \pm 0.15) \times 10^5 \text{ M}^{-2}$  для  $\text{Zn(II)}$  и  $K[L_2M] = (8.51 \pm 0.23) \times 10^5 \text{ M}^{-2}$  для  $\text{Ca(II)}$ .



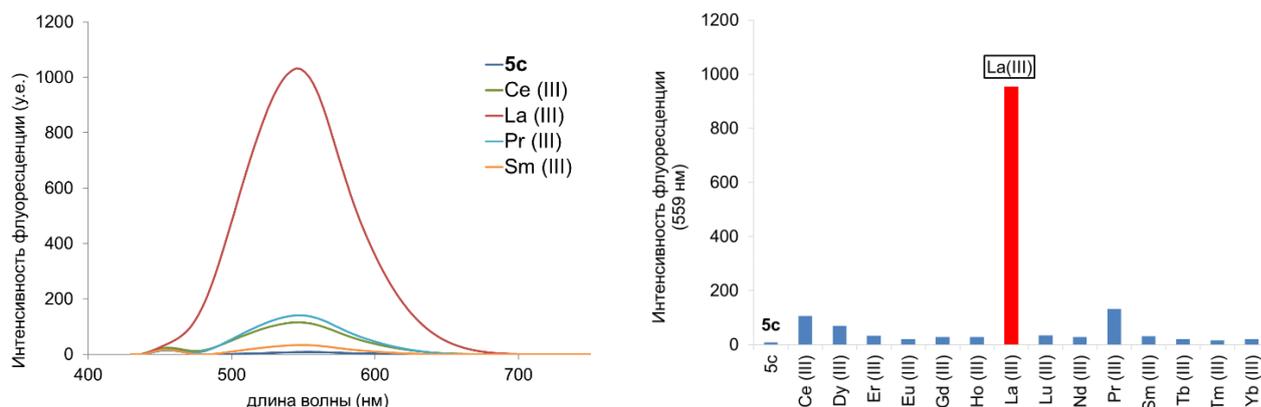
**Рисунок 3.23.** а) Рассчитанные (EQNMR) и наблюдаемые кривые ЯМР титрования **5c** раствором  $Zn(ClO_4)_2$ . б) Рассчитанные (EQNMR) и наблюдаемые кривые ЯМР титрования **5c** раствором  $Ca(ClO_4)_2$ .

Поэтапное добавление соли магния к раствору изоксазола **5c** также приводило к изменениям в спектрах ЯМР  $^1H$ , особенно в области сильного поля (краун-группа). Было показано, что в диапазоне 0.1-1 экв. перхлората  $Mg(II)$  в спектре наблюдаются два различных набора сигналов, соответствующих свободному лиганду **5c** и полученному комплексу, а при добавлении 1.2 экв. соли в спектрах ЯМР  $^1H$  остается только один набор сигналов, по-видимому соответствующий комплексу LM (Рисунок 3.24). К сожалению, полученный результат не позволил получить численные значения констант устойчивости получаемого комплекса.



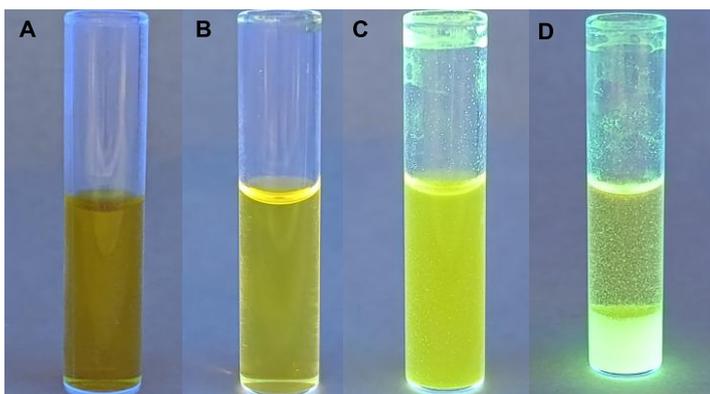
**Рисунок 3.24.** ЯМР титрование соединения **5c**  $Mg(ClO_4)_2$  в растворе  $CD_3CN$ ,  $C_L = 0.005$  М и  $C_{Mg(II)} = 0.1$  М.

Добавление солей редкоземельных металлов к стирлизоксазолу **5c** в большинстве случаев приводит к умеренному увеличению интенсивности флуоресценции. Однако в случае соли La(III) наблюдается значительное усиление флуоресцентного сигнала (Рисунок 3.25).



**Рисунок 3.25.** Спектры флуоресценции и диаграмма изменения интенсивностей флуоресценции изоксазола **5c** в ацетонитриле в присутствии солей редкоземельных металлов (5 экв.)  $C_L = 4.14 \cdot 10^{-6}$  М,  $\lambda_{ex} = 420$  нм.

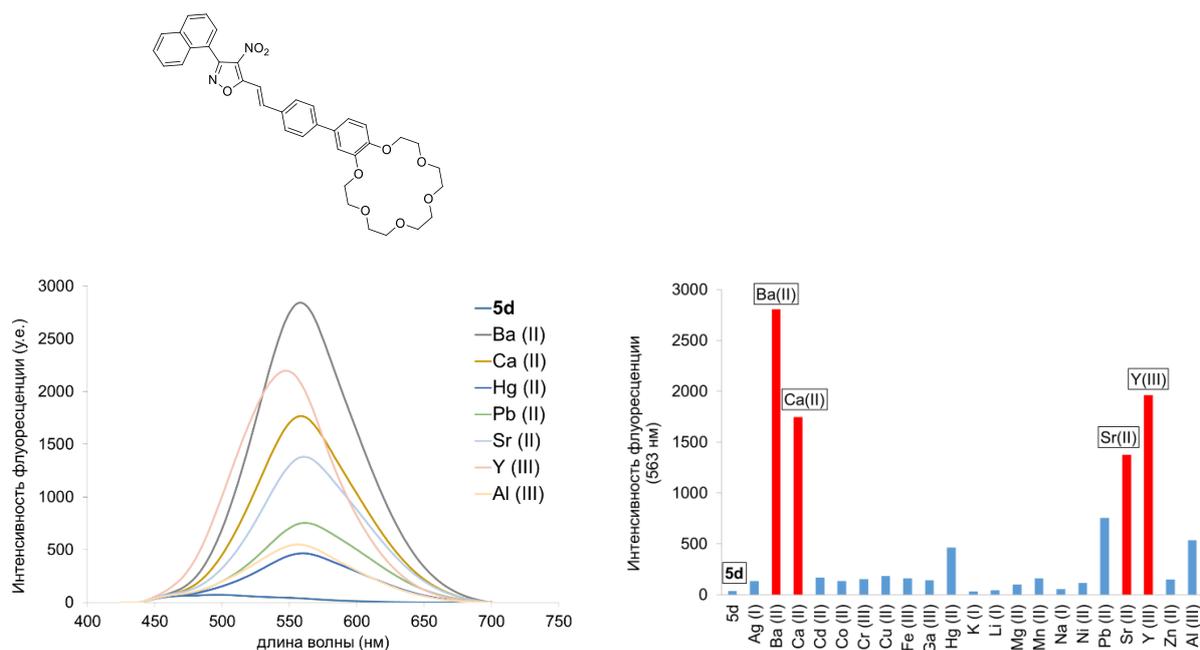
Этот необычный эффект ионов La(III) был исследован методом ЯМР-титрования. Однако при добавлении соли лантана к образцу **5c** химические сдвиги протонов остались неизменными, тогда как после введения более 0.5 эквивалента раствора соли La(III) наблюдалось образование осадка с интенсивной флуоресценцией (Рисунок 3.26). Таким образом, резкое увеличение интенсивности испускания соединения **5c** при добавлении соли La(III) можно объяснить тем, что ионы лантана, обладающие высокой координационной способностью, инициируют рост твердых частиц, содержащих комплекс с металлом флуорофора **5c**.



**Рисунок 3.26.** А) Флуоресценция **5c** в ацетонитриле ( $C = 0.0049$  М) при комнатной температуре,  $\lambda_{ex} = 365$  нм; В) Флуоресценция **5c** после добавления 1 экв. La(III) в ацетонитриле при комнатной температуре,  $\lambda_{ex} = 365$  нм; С) Раствор (В) через 5 мин; D) Раствор (В) через 30 мин.

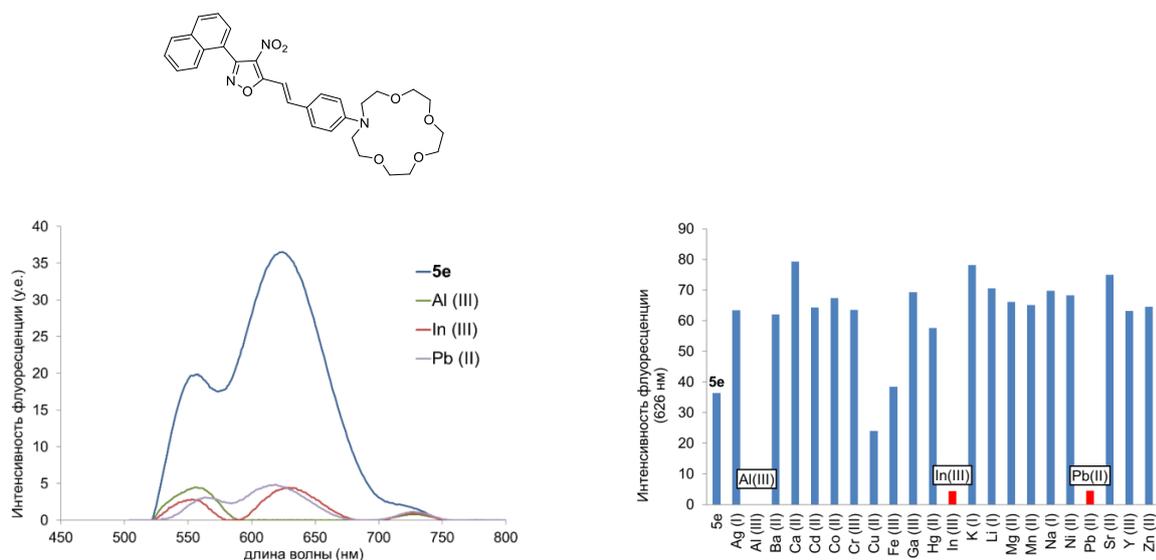
Для соединения **5d** значительное усиление флуоресценции наблюдалось в присутствии ионов Ba(II), Ca(II), Sr(II) и Y(III) (Рисунок 3.27). Попытки провести

спектрофлуориметрическое и спектрофотометрическое титрование не увенчались успехом, вероятно, из-за низких констант связывания образующихся комплексов.



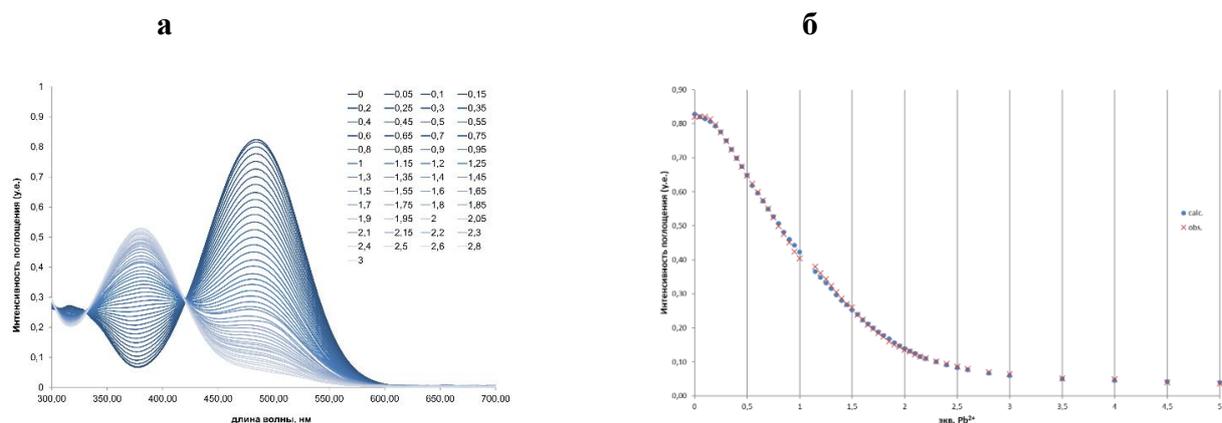
**Рисунок 3.27.** Спектры флуоресценции и диаграмма изменения интенсивностей флуоресценции изоксазола **5d** в ацетонитриле в присутствии солей редкоземельных металлов (5 экв.)  $C_L = 4.27 \cdot 10^{-6}$  М,  $\lambda_{ex} = 422$  нм.

Изоксазол **5e** с азакраун-фрагментом в стирильной части проявил более выраженный отклик на добавление катионов металлов. Было установлено, что большинство солей металлов вызывали умеренное усиление флуоресценции, однако значительное снижение интенсивности свечения наблюдается в присутствии Pb(II) и In(III), а полное тушение флуоресценции происходит при добавлении солей Al(III). Кроме того, в присутствии ионов Pb(II), In(III) и Al(III) были зафиксированы заметные гипсохромные сдвиги максимума полосы поглощения изоксазола **5e** (от 110 до 150 нм) (Рисунок 3.28).



**Рисунок 3.28.** Спектры флуоресценции и диаграмма изменения интенсивностей флуоресценции изоксазола **1e** в ацетонитриле в присутствии солей металлов (5 экв.)  $C_L = 4.99 \cdot 10^{-6}$  M,  $\lambda_{ex} = 505$  nm.

Поскольку соединение **5e** обладает низкой интенсивностью флуоресценции, для более точного определения констант связывания с металлами было проведено спектрофотометрическое титрование. Попытки выполнить спектрофотометрическое титрование соединения **5e** с катионами Al(III) и In(III) не увенчались успехом, вероятно, из-за частичного гидролиза исследуемых солей в условиях титрования. В случае катионов Pb(II) константы связывания образованных комплексов были рассчитаны на основе данных спектрофотометрического титрования. Добавление соли Pb(II) к раствору лиганда **5e** приводило к постепенному снижению интенсивности полосы при 486 nm и увеличению интенсивности полосы комплекса при 381 nm (Рисунок 3.29).



**Рисунок 3.29.** а) Изменение спектра поглощения соединения **5e** ( $[5e] = 20 \mu\text{M}$ , MeCN) при добавлении  $\text{Pb}(\text{ClO}_4)_2$  (0–5 экв.). б) Рассчитанные и наблюдаемые кривые титрования при 480 nm при спектрофотометрическом титровании **5e** при добавлении  $\text{Pb}(\text{ClO}_4)_2$  (0–5 экв.).

Рассчитанные константы связывания для комплексов L<sub>3</sub>M, LM и LM<sub>2</sub> составили: K[L<sub>3</sub>M] =  $5.50 \times 10^{16} \pm 0.39 \times 10^{16}$ , K[LM] =  $7.41 \times 10^5 \pm 0.17 \times 10^5$ , K[LM<sub>2</sub>] =  $5.75 \times 10^{10} \pm 0.14 \times 10^{10}$ .

### **3.1.5. Изучение взаимодействия краун-содержащих 5-стирил-4-нитроизоксазолов с биологическими объектами**

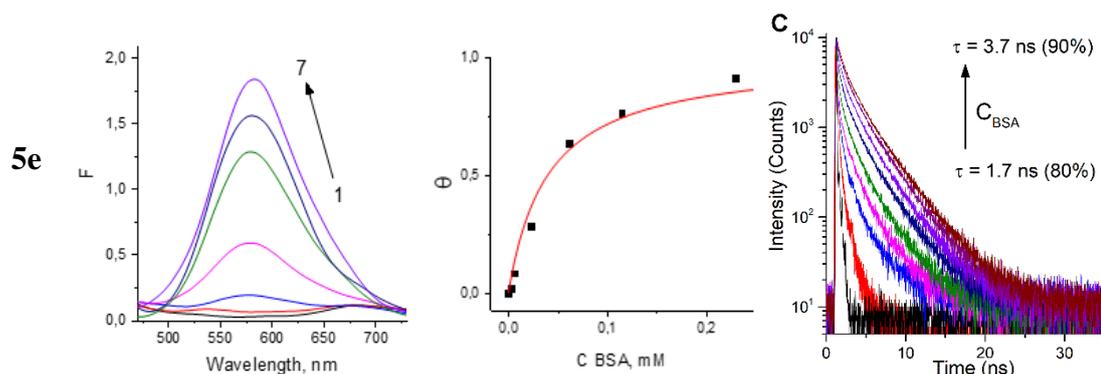
Известно, что производные изоксазола обладают различными типами биологической активности, и, следовательно, взаимодействуют с широким спектром молекулярных мишеней, при этом изоксазолсодержащие соединения обычно характеризуются низкой токсичностью [118, 119]. Благодаря этим свойствам флуорофоры на основе стирилизоксазолов являются привлекательными объектами для изучения в биологических средах. Например, изменение в спектре флуоресценции в присутствии катионов металлов может представлять интерес для визуализации ионного транспорта. Следует отметить, что клетки относятся к сложным биологическим системам, в которых может сочетаться множество факторов, влияющих на спектры абсорбции и эмиссии красителя. К таким факторам относятся: 1) взаимодействие с катионами металлов; 2) взаимодействие с белками (макромолекулами); 3) влияние полярности среды (солюватохромизм и/или образование агрегатов); 4) влияние кислотности среды.

### **3.1.6. Взаимодействие стирилизоксазолов с бычьим сывороточным альбумином**

Взаимодействие макроциклических стирилизоксазолов с макромолекулами было проиллюстрировано на модельном белке – бычьим сывороточном альбумине (БСА). Сывороточные альбумины, такие как сывороточный альбумин человека (ЧСА) и бычий сывороточный альбумин, являются важными внеклеточными белковыми переносчиками, которые играют ключевую роль в связывании и транспортировке большого количества лекарств внутрь клеток [120, 121]. Концентрация альбумина в плазме крови составляет 5 г в 100 мл. В своей структуре альбумин содержит множество гидрофильных и гидрофобных карманов, которые ответственны за связывание с лигандами различного строения [122]. Среди сайтов связывания следует отдельно отметить домен ПА (сайт I), который является наиболее важным для связывания с гидрофобными органическими соединениями. Связывание гидрофобного лиганда в домене ПА повышает его растворимость в воде, что впоследствии меняет его фармакокинетические и фармакодинамические свойства *in vivo* [123]. В результате константа связывания лекарственного средства с сывороточным альбумином определяет концентрацию и продолжительность остаточного действия лекарственного средства, тем самым влияя на эффективность его терапевтического воздействия. Таким образом, характеристика связывания соединения с альбумином является важным аспектом для разработки новых фотохимически активных и флуоресцентных диагностических препаратов [124].

Процессы комплексообразования стирилизоксазолов **5a-e**, **6a** и **6b** с БСА были изучены с использованием флуоресцентной спектроскопии. В качестве среды, моделирующей

взаимодействие красителей с белками в клетках, использовали раствор БСА ( $2 \times 10^{-1}$  М) в воде (рН 7.4). Было показано, что с увеличением концентрации БСА интенсивность флуоресценции растворов возрастает, а максимумы полос в спектрах смещаются гипсохромно. На основании изменений спектров флуоресценции были построены кривые титрования и определены константы связывания для соответствующих комплексов (Рисунок 3.30, Приложение А, Таблица 3.2). Показано, что значения константы для стирилизоксазольных красителей **5a-e**, **6a** и **6b** составили  $K_b = 1-7 \times 10^4$  М<sup>-1</sup> (Таблица 3.2).



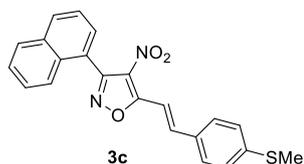
**Рисунок 3.30.** Слева направо: изменение спектра флуоресценции красителей ( $C = 1 \times 10^{-5}$  М) с добавлением БСА ( $0 - 2 \times 10^{-4}$  М); аппроксимация кривой титрования красителя БСА; кинетика затухания флуоресценции красителей в  $2 \times 10^{-4}$  М БСА ( $\lambda_{ex} = 400$  нм,  $\lambda_{reg} = 600$  нм). На примере оединения **5e**, данные для **5a-e**, **6a** и **6b** приведены в Приложении А.

**Таблица 3.2.** Параметры флуоресценции красителей в растворах БСА.

Соединения	$K_b$ БСА, М <sup>-1</sup>	$\tau_1, \tau_2$ , нс
<b>5a</b>	$6.4 \times 10^4$	3.4, 1.2
<b>5b</b>	$7.4 \times 10^4$	3.8, 1.3
<b>5c</b>	$2.0 \times 10^4$	3.3, 1.5
<b>5d</b>	$3.2 \times 10^4$	3.2, 1.5
<b>5e</b>	$2.5 \times 10^4$	3.7, 1.7
<b>6a</b>	$1.0 \times 10^4$	3.8, 1.5
<b>6b</b>	$3.1 \times 10^4$	3.2, 1.2

Исследование изменения кинетики затухания флуоресценции на примере соединения **5e** от концентрации БСА показали (Рисунок 3.30), что флуоресценция стирилизоксазола **5e** в водной среде характеризуется наличием двух комплексов с временами жизни 3.7 нс и 1.7 нс ( $\tau_1$  и  $\tau_2$ , см. Таблица 3.2), при этом преобладает компонента с более коротким временем жизни. Однако по мере увеличения концентрации альбумина доля компоненты с длительным временем жизни возрастает до 90% (Рисунок 3.30). Ранее на примере соединения **3c** (Рисунок 3.31), не содержащего фрагмента крауна, мы показали, что для стирилизоксазолов гибель возбужденного

состояния **3c** протекает по моноэкспоненциальному закону, а флуоресценция характеризуется временем жизни 0.9 с [114]. Исходя из полученных данных, можно предположить, что в водной среде краситель находится в агрегированной форме, что для **5e** соответствует компоненте с коротким временем жизни (1.7 нс). При добавлении БСА происходит разрушение агрегатов с образованием комплексов, для которых в случае **5e** соответствует компонента с длинным временем жизни (3.7 нс).



**Рисунок 3.31.** Стирилизоксазол **3c**.

Таким образом, в рамках данной работы было показано, что макроциклические стилиризоксазолы образуют комплексы с белками, которые характеризуются большей интенсивностью флуоресценции и их полосы излучения смещены в синюю область спектра. Это открывает возможности для визуализации распределения белков, их подвижности и взаимодействий в живых клетках. Комплексообразование с сывороточными альбуминами также делает возможным использование изучаемых флуоресцентных красителей в биологических жидкостях, например, в крови.

### 3.1.7. Влияние среды на флуоресцентные свойства стилиризоксазолов

Сольватохромизм 5-стирилизоксазолов был изучен на примере модельного изоксазола **3c** в различных растворителях. Было установлено, что растворитель оказывает незначительное влияние на спектр поглощения. В то же время, стилиризоксазол **3c** проявляет выраженный положительный флуоресцентный сольватохромизм, характеризующийся батохромным сдвигом максимума поглощения до  $\Delta\lambda=164$  нм при переходе от менее полярного бензола к более полярному ДМСО (Таблица 3.3).

**Таблица 3.3.** Влияние растворителей на фотофизические свойства соединения **3c** и ориентационную поляризуемость растворителей ( $\Delta f$ ).

Растворитель	$\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ , нм	$\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ , нм	$\Delta\bar{\nu}$ , $\text{cm}^{-1}$	$\epsilon$	$n_D(20^\circ\text{C})$	$\Delta f$
Et <sub>2</sub> O	392	496	5349	2.27	1.5011	0.001642
C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	403	500	4814	4.33	1.3524	0.166749
EtOAc	395	524	6232	4.81	1.4458	0.148295
CHCl <sub>3</sub>	405	540	6173	6.02	1.3724	0.199635

Продолжение таблицы 3.3

Растворитель	$\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ , нм	$\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ , нм	$\Delta\bar{\nu}$ , $\text{cm}^{-1}$	$\epsilon$	$n_D(20^\circ\text{C})$	$\Delta f$
$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	405	549	6476	8.93	1.4241	0.217137
Acetone	397	552	7073	20.70	1.3587	0.284307
$\text{CH}_3\text{CN}$	396	560	7395	37.50	1.3441	0.305416
ДМСО	412	568	6666	46.70	1.4783	0.263401

Кроме того, влияние полярности растворителя на фотофизические свойства флуорофора **3c** было продемонстрировано путём построения зависимости Стоксового сдвига красителя от ориентационной поляризуемости растворителя ( $\Delta f$ ) в соответствии с уравнением Липперта–Матага [125]. Стирилизоксазол **3c** демонстрирует линейную зависимость во всём диапазоне полярности растворителей (за исключением диэтилового эфира) которая характеризуется высоким коэффициентом корреляции ( $R^2 = 0.97$ ) (Рисунок 3.32а и б). Таким образом, положительный сольватохромный сдвиг эмиссии обусловлен в первую очередь физическими свойствами растворителей. Отклонение от линейности в случае  $\text{Et}_2\text{O}$ , вероятно, связано со специфическим взаимодействием неподелённой электронной пары растворителя с электрофильной двойной связью стирилизоксазольного фрагмента **3c**.

а

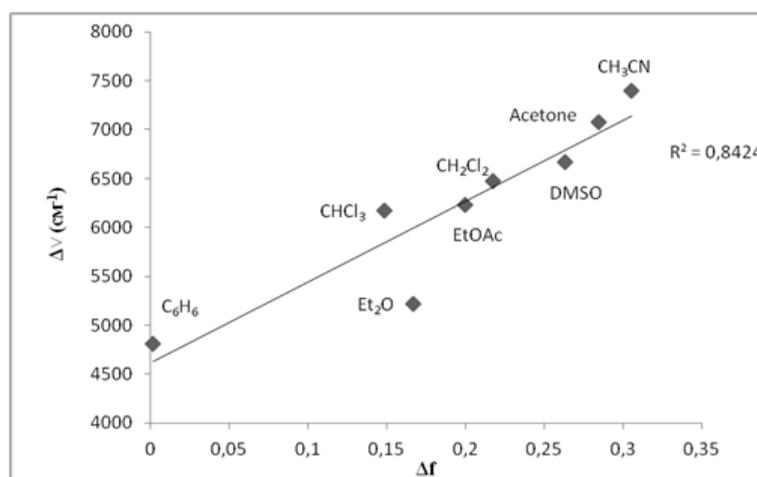
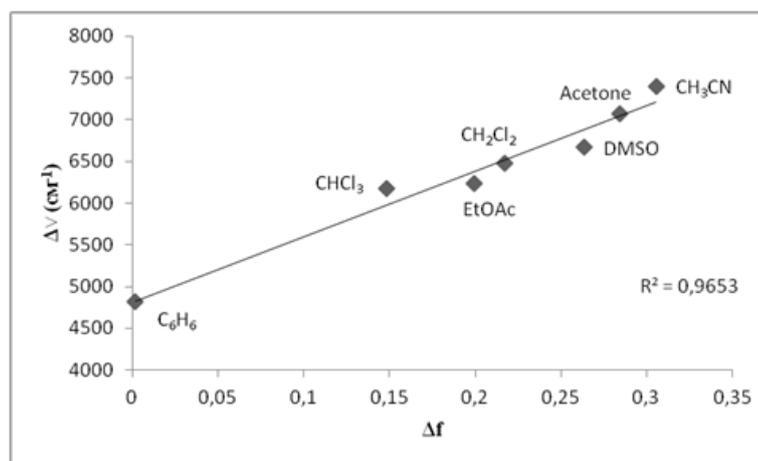


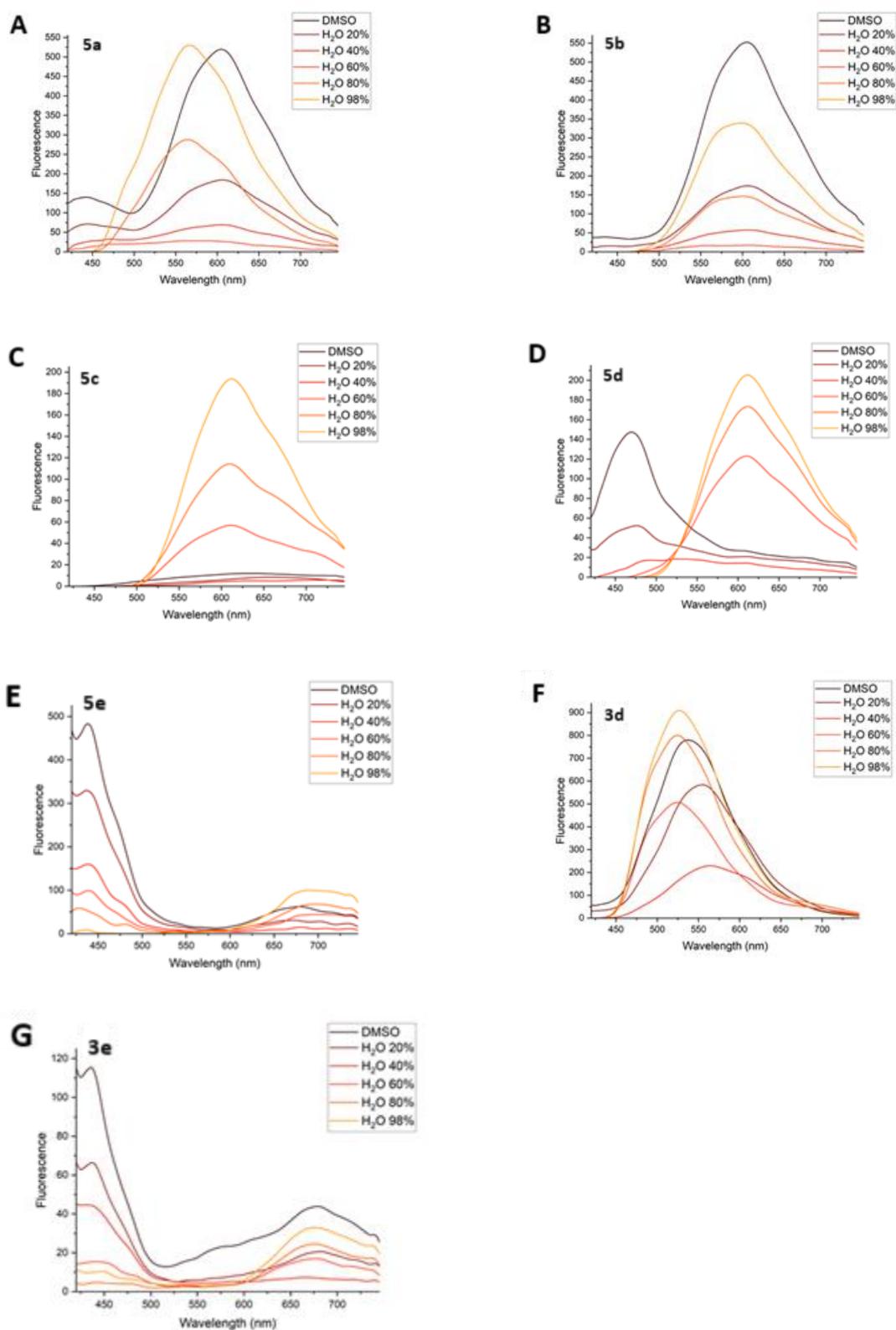
Рисунок 3.32. а) Кривая Липперта-Матаги для всех растворителей.

b



**Рисунок 3.32.** б) Кривая Липперта-Матаги для всех растворителей кроме диэтилового эфира.

С учетом возможности использования макроциклических изоксазолов в клеточной среде для соединений **5a-e** были изучены фотофизические свойства в присутствии воды. С этой целью соединения **5a-e**, а также их аналоги **3d** и **3e** были исследованы в среде ДМСО как в наиболее часто используемом растворителе для экспериментов на клетках с постепенным добавлением воды. Оказалось, что при добавлении деионизированной воды к раствору краун-содержащих стирилизоксазолов **5a-f** в ДМСО наблюдается эффект агрегационной эмиссии (АИЕ) (Рисунок 3.33). Увеличение содержания воды до 40% приводило к постепенному падению интенсивности флуоресценции без значительного смещения максимумов полос испускания в спектрах соединений **5a,b**. Дальнейшее повышение содержания воды в растворах исследуемых соединений от 60% и выше приводит к образованию агрегатов, в которых внутримолекулярное вращение практически отсутствует. Данное явление выражается в виде появления гипсохромного сдвига спектра флуоресценции монофенильных стирилизоксазолов **5a,b**. В случае бифенильного стирилизоксазола **3d** без краун-эфирного фрагмента добавление воды до 40% приводит к дополнительному батохромному сдвигу, что указывает на то, что вода благоприятствует процессам типа ПИСТ. Однако дальнейшее повышение содержания воды (60% и выше) приводит также к агрегации, что характеризуется гипсохромным сдвигом и увеличением интенсивности в спектре флуоресценции. Таким образом, **3d** имеет сходное с монофенильными изоксазолами **5a,b** поведение. Для соединений **5c,d** с бифенильным линкером, имеющих низкую интенсивность флуоресценции за счет внутримолекулярного вращения, увеличение концентрации воды приводит к разгоранию флуоресценции в красной области спектра. Смещенный в более красную область спектр флуоресценции агрегатов **5c,d** по сравнению с **5a,b** объясняется более протяженной системой сопряжения в молекулах **5c,d** (Рисунок 3.33, А-Г).



**Рисунок 3.33.** Эффект АИЕ для стирлизоксазолов **5a-e** и **3d,e**. Длина волн возбуждения 365 нм.

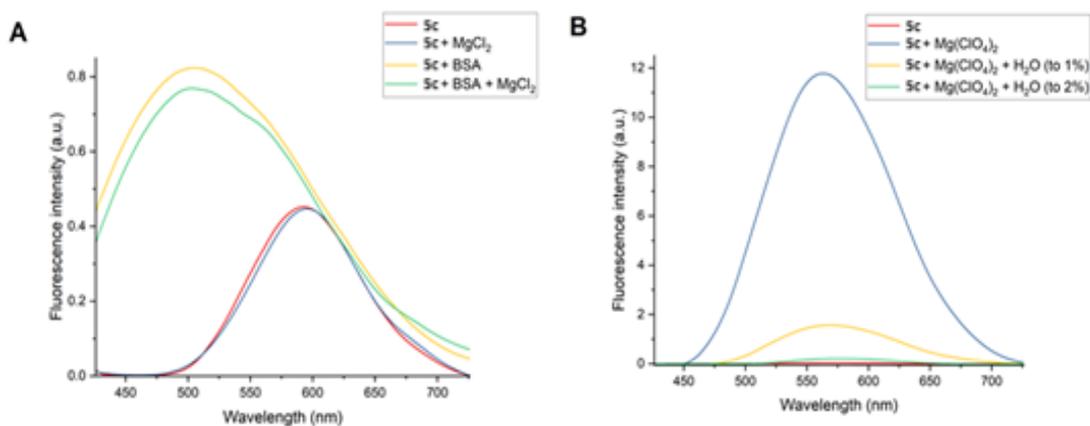
Несколько иные результаты при добавлении воды были получены для соединений **5e** и **3e**, содержащих бензо-1-аза-краун и диметиланилиновый фрагмент, соответственно. Было показано, что АИЕ в воде для краун-содержащего **5e** характеризуется возрастанием

флуоресценции и батохромным сдвигом в спектре относительно раствора в ДМСО, в то время как в спектре **3e** при агрегации происходит сдвиг максимума полосы испускания спектра флуоресценции в синюю область, что показывает сходство этого соединения с монофенильными производными **5a,b** (Рисунок 3.33).

Подытоживая результаты данного раздела, можно отметить, что стирилизоксазолы **5a-5e** демонстрируют явление агрегационной эмиссии АИЕ в водной среде. Введение окса- или азокраун-эфирных фрагментов в структуру стирилизоксазола может быть использовано для получения флуорофоров с максимумом полосы флуоресценции в красной и ближней инфракрасной областях спектра. Данная стратегия может быть весьма успешной для синтеза лигандов для биовизуализации различных биологических объектов, так как их собственная флуоресценция минимальна в рассматриваемых областях спектра [126]. В то же время синтез соединений с дополнительным заместителем со свободным вращением между донорным и акцепторными фрагментами усиливает вклад ПИСТ, что потенциально позволяет контролировать флуоресценцию таких соединений и визуализировать их различные формы (мономерные, агрегированные и т.д.).

### *3.1.8. Взаимодействие с катионами металлов в средах, модулирующих клеточную среду*

Изучение влияния воды на связывание стирилизоксазолов с ионами металлов на примере Mg(II) было изучено для лиганда **5c**, поскольку для этого стирилизоксазола в среде ацетонитрила в присутствии соли магния наблюдалось заметное разгорание флуоресценции. Оказалось, что при добавлении избытка хлорида магния (0.5 М) к водному раствору **5c** значительных изменений в спектре флуоресценции не наблюдалось (Рисунок 3.34 А), что может указывать на то, что фрагмент краун-эфира вовлечен в процесс агрегации молекул и, таким образом, становится менее доступным для катионов. Для изучения возможности связывания катионов магния с мономерной формой **5c** в систему вводился БСА в качестве агента для разрушения агрегатов и моделирования богатой белками внутриклеточной среды, однако в присутствии БСА при добавлении Mg(II) не происходило заметных изменений в спектре флуоресценции соединения **5c** (Рисунок 3.34 А). Добавление небольшого количества деионизованной воды в ацетонитрильный раствор соединения **5c** даже при большом избытке соли магния (24000 экв.) приводило к тушению флуоресценции (Рисунок 3.34 В). Полученные данные могут быть объяснены низкой стабильностью комплекса **5c**/Mg(II) в присутствии воды вследствие его гидролиза.



**Рисунок 3.34.** А) Изменение флуоресценции водного раствора **5c** ( $6.25 \times 10^{-5}$  М) в присутствии БСА ( $2 \times 10^{-4}$  М) и при его отсутствии, но при добавлении (0.5 М) в деионизованной воде; В) Изменения спектра флуоресценции комплекса **5c** ( $3.13 \times 10^{-6}$  М) с  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$  ( $7.5 \times 10^{-2}$  М) в ацетонитриле при добавлении деионизованной воды. Возбуждение при 365 нм.

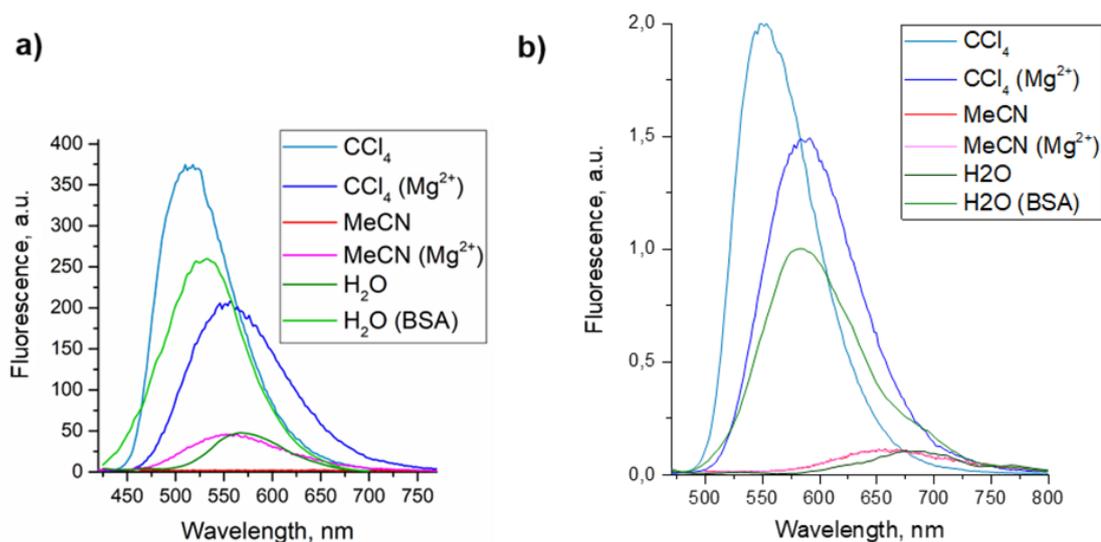
Таким образом, в клеточной (водной) среде для стирилизоксазолов, по-видимому, не будут проявляться сенсорные свойства по отношению к катионам металлов.

Для изучения других факторов, которые могут оказывать влияние на эмиссию стирилизоксазолов в клеточной среде, для соединений **5c** и **5e** была изучена кинетика затухания флуоресценции с добавкой ионов магния и в его отсутствие в растворителе  $\text{CCl}_4$ , который моделирует среду, создаваемую внутриклеточными липидными каплями, и в ацетонитриле, используемом для изучения сенсорных свойств. Также спектры флуоресценции были зарегистрированы в воде в отсутствие и в присутствии БСА (Рисунок 3.34, 3.35, Таблица 3.4).

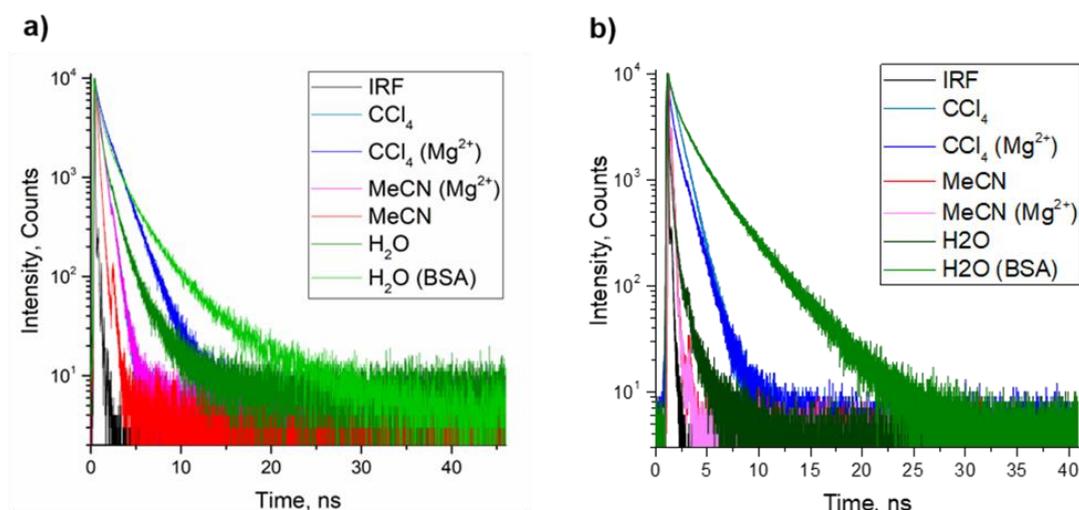
Измерения времени жизни флуоресценции соединения **5e** в различных растворителях выявили наличие трёх характерных периодов: короткоживущая форма (0.2–0.9 нс) преобладает в органических растворителях; форма с временем жизни около 1.7 нс характерна для водной среды; а долгоживущая форма (3.7 нс) преобладает при взаимодействии **5e** с БСА. Аналогичная зависимость времени жизни от природы растворителя наблюдалась для соединения **5c** (Таблица 3.4). В неполярной среде возбужденное состояние характеризуется коротким временем жизни (менее 1 нс) и, в основном, обусловлено процессом внутреннего переноса заряда (ICT). При переходе к полярным растворителям увеличивается вклад безызлучательного перехода типа ПICT, что приводит к снижению интенсивности флуоресценции. В водной среде стирилизоксазолы плохо растворимы, что приводит к полной блокировке ПICT и появлению эффекта индуцированной агрегацией эмиссии (AIE) со временем жизни около 1.5 нс.

Для изучения природы изменений флуоресценции в присутствии катионов металлов было проведено измерение времени жизни флуоресценции соединения **5c** после добавления раствора  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$  в ацетонитриле ( $1.5 \times 10^{-2}$  М) к растворам **5c** в  $\text{CCl}_4$  и MeCN ( $1.5 \times 10^{-4}$  М)

(Рисунок 3.35а, Таблица 3.4). В  $\text{CCl}_4$  наблюдался сдвиг максимума флуоресценции, сопровождающийся увеличением времени жизни до 1.6 нс, что соответствует данным, полученным для **5c** в водной среде. В MeCN же время жизни оставалось на уровне 0.6 нс, что соответствует значениям, полученным для **5c** в  $\text{CCl}_4$ . Это свидетельствует о том, что при связывании **5c** с ионом  $\text{Mg}(\text{II})$  образуется полярный комплекс с низкой растворимостью в неполярном растворителе (наблюдается агрегация). Аналогичные данные были получены для соединения **5e** (Рисунок 3.35b).



**Рисунок 3.35.** а) Спектры флуоресценции соединения **5c** (возбуждение при 400 нм) в различных растворителях б) Спектры флуоресценции соединения **5e** (возбуждение при 450 нм) в различных растворителях.



**Рисунок 3.36.** а) Кинетика затухания флуоресценции соединения **5c** (возбуждение при 400 нм, регистрация при 550 нм) в различных растворителях б) Кинетика затухания флуоресценции соединения **5e** (возбуждение при 450 нм, регистрация при 600 нм) в различных растворителях.

Таблица 3.4. Параметры флуоресценции соединений **5c** и **5e** в различных условиях.

Растворитель	Максимум флуоресценции, нм		Время жизни возбужденного состояния, нс	
	<b>5c</b>	<b>5e</b>	<b>5c</b>	<b>5e</b>
CCl <sub>4</sub>	510	554	0.6	0.9
CCl <sub>4</sub> (Mg <sup>2+</sup> )	560	592	1.6	0.9(20%), 1.4 (80 %)
MeCN	-	652	>0.2	>0.2
MeCN (Mg <sup>2+</sup> )	562	650	0.6	>0.2
H <sub>2</sub> O	570	677	1.5 (80%), 3.3 (20%)	1.7 (80%), 3.7 (20%)
H <sub>2</sub> O (BCA)	530	584	3.3 (80%), 1.5 (20%)	3.7 (80%), 1.7 (20%)

Подводя итоги, на примере соединения **5c** можно выделить следующие возможные механизмы изменения в спектрах флуоресценции в присутствии ионов магния. Бензокраун-эфирный фрагмент реагирует на присутствие катиона либо за счёт ограничения ПІСТ (в ацетонитриле), либо путём индукции агрегации (в четыреххлористом углероде). Поскольку в водной среде соединение **5c** уже находится в агрегированном состоянии, и процесс ПІСТ изначально подавлен, а также ввиду низкой стабильности комплекса в присутствии воды (Рисунок 3.37), связывание с катионом не вызывает флуоресцентного отклика.

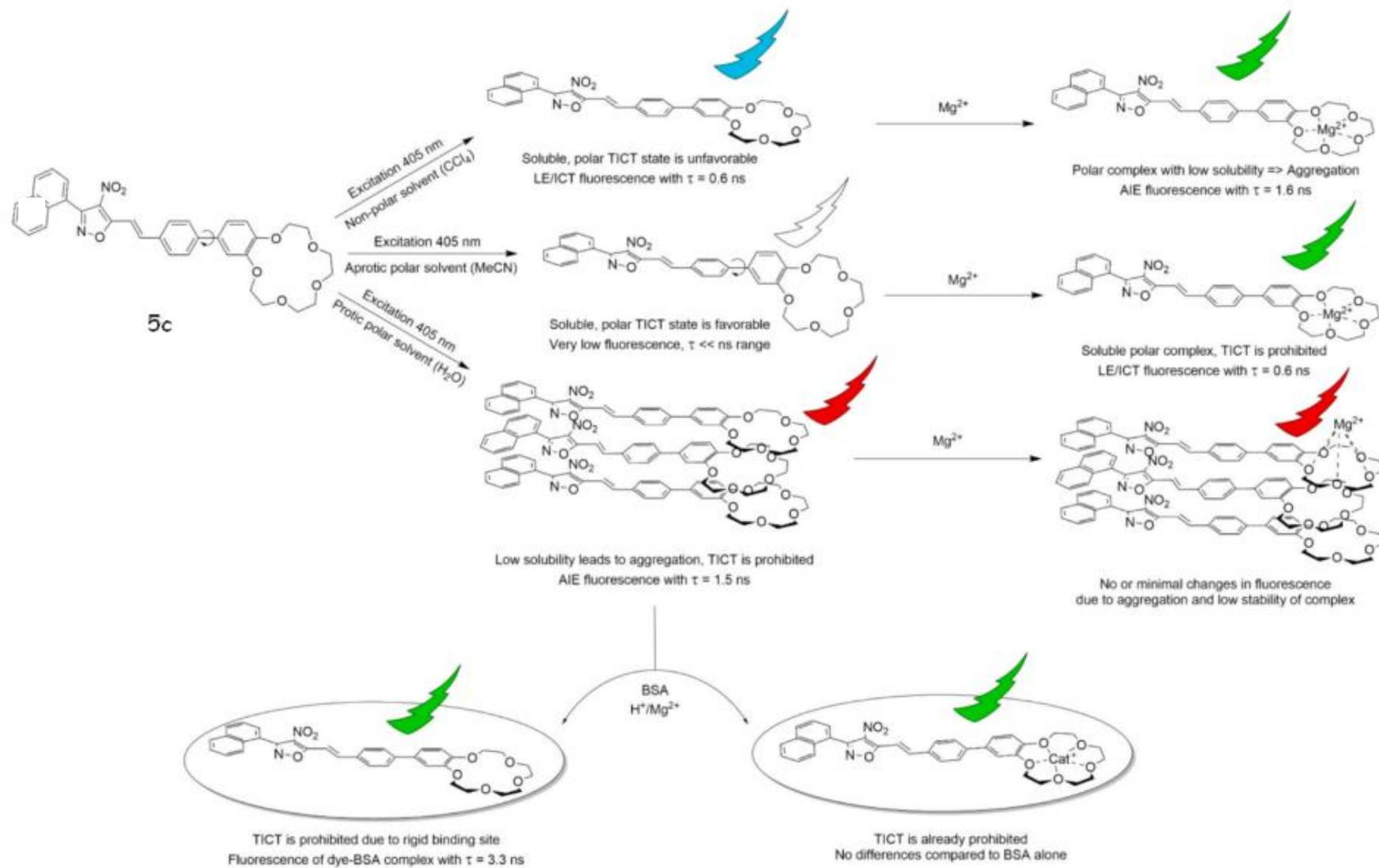
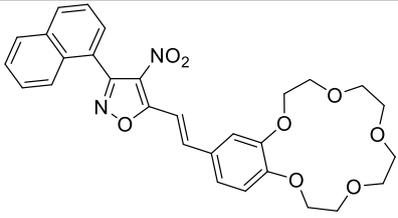
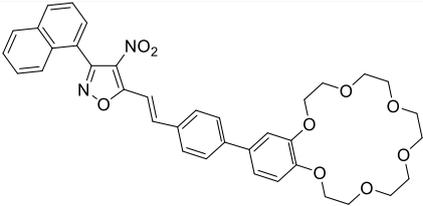
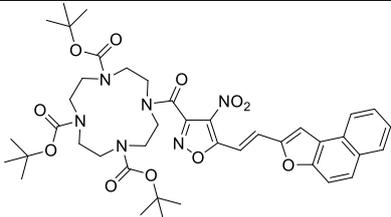
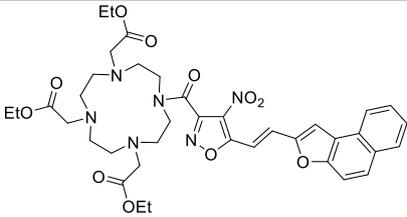
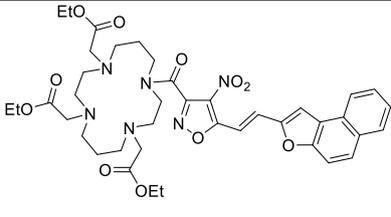


Рисунок 3.37. Предполагаемый механизм изменения флуоресценции в ответ на присутствие ионов  $Mg^{2+}$  на примере соединения **5c**.

### 3.1.9. Цитотоксичность краун-содержащих стирилизоксазолов

Для предварительной оценки цитотоксичности 5-стирилизоксазолов был проведён тест МТТ для ряда гетероциклических соединений. Антипролиферативные свойства соединений **5a**, **5c**, **6c**, **6d** и **6f** были протестированы в отношении опухолевых клеточных линий MCF-7 (карцинома молочной железы), HCT-116 (карцинома толстой кишки), A549 (рак лёгкого), а также нормальных фибробластов лёгочной ткани (WI38).

Таблица 3.5. Антипролиферативные активность **5a**, **5c**, **6c**, **6d** и **6f** (инкубация 72 ч).

Соединение	Химическая структура	IC <sub>50</sub> , μM			
		HCT116	MCF7	A549	HCT116
<b>5a</b>		5.6±0.7	8.1±1.2	4.9±0.8	7.2±1.2
<b>5c</b>		1.7±0.2	3.0±0.5	3.9±0.5	4.4±1.6
<b>6c</b>		>150	>150	>150	>150
<b>6d</b>		50.8±15.2	>150	103.1±70	144±100
<b>6f</b>		>150	>150	103.3±20	>150

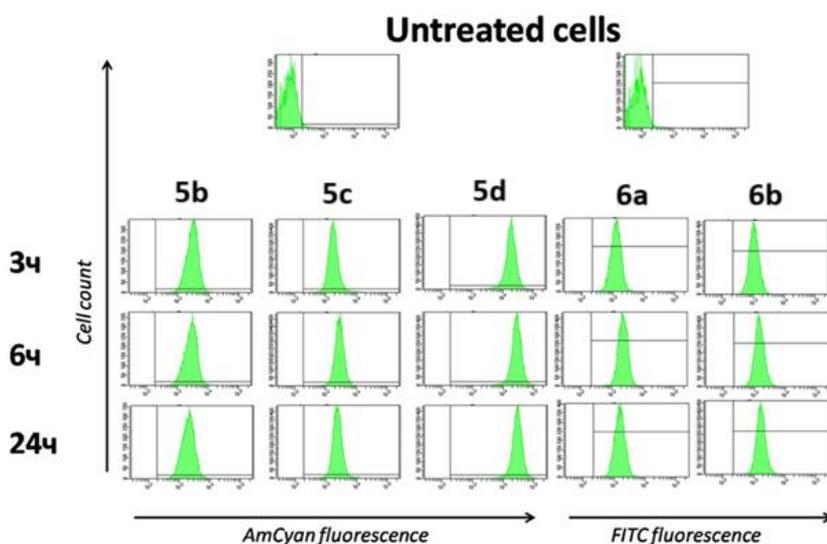
Клетки инкубировали с исследуемыми соединениями в течение 72 часов при конечной концентрации до 0.78 мкМ. Установлено, что нафталинсодержащие 5-стирилизоксазолы **5a** и **5c**, содержащие бензокраун-эфирные фрагменты в стирильной части молекулы, проявляют

цитотоксичность в микромолярных концентрациях, при этом селективность по отношению к нормальным клеткам не наблюдается (Таблица 3.5).

Стирилизоксазолы **6c**, **6d** и **6f** продемонстрировали низкую цитотоксичность или полное ее отсутствие, что в принципе, перспективно для их применения в биологических визуализациях.

### 3.1.10. Внутриклеточное накопление

Далее была проведена оценка внутриклеточного накопления ряда соединений (**5b–5d**, **6a**, **6b**) с использованием проточной цитофлуориметрии. Внутриклеточная дифференциация мономеров красителей в липидах и их агрегатах перспективна для изучения метаболических процессов, включая процессы гибели клеток [127-129]. Флуоресценция, ассоциированная с клетками, наблюдалась после инкубации клеток НСТ116 (карцинома толстой кишки) с исследуемыми гетероциклами **5b–5d**, **6a**, **6b** в концентрации 2.5 мкМ в течение 3–24 часов, что свидетельствует о проникновении этих соединений в клетки и их длительной внутриклеточной задержке (Рисунок 3.38).



**Рисунок 3.38.** Гистограммы накопления соединений **5b–5d**, **6a**, **6b** в клетках НСТ116. Клетки инкубировали с 2.5 мкМ соединений в течение 3, 6 и 24 ч, затем промывали холодным физиологическим раствором, ресуспендировали в натрий-фосфатном буфере (PBS) и анализировали методом проточной цитометрии.

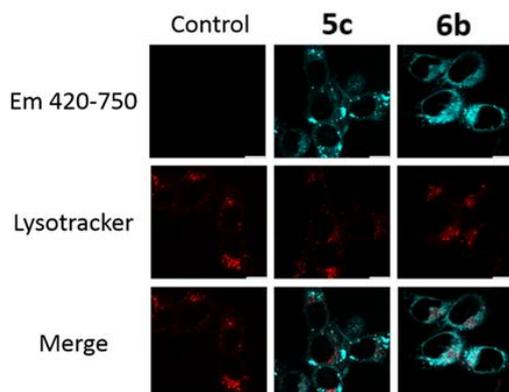
На основании полученных данных были определены оптимальные условия для исследования внутриклеточного распределения: концентрация 2.5 мкМ и время инкубации 24 часа. В этих условиях соединения **5c** и **6b** продемонстрировали наименьшую цитотоксичность по отношению к исследуемым клеточным линиям, поэтому они были выбраны для анализа внутриклеточной локализации (Таблица 3.6).

**Таблица 3.6.** Антипролиферативные активность **3a**, **3d**, **3e**, **5a-5e**, **6b** указана в мкМ (инкубация 24 ч).

<b>5a</b>	<b>5b</b>	<b>5c</b>	<b>5d</b>	<b>5e</b>	<b>3a</b>	<b>3d</b>	<b>3e</b>	<b>6b</b>	<b>Dox</b>
8.2±0.7	5.9±0.9	14.3±1.2	4.2±0.6	>50	>50	>50	>50	>50	9.2±0.9

**Dox**-доксорубин

Исследование внутриклеточного распределения стирилизоксазолов **5c** и **6b** было проведено методом конфокальной микроскопии в колокализации с клеточным трекером без дополнительного повреждения клеток в процессе окрашивания (Рисунок 3.39). С учетом того, что краун-эфирный фрагмент в структуре соединений **5c** и **6b** способен связываться с протонами в лизосомах и изменять их флуоресценцию, качестве трекера для колокализации с этими гетероциклами был выбран коммерчески доступный pH-зависимый лизосомальный краситель **Lysotracker Deep Red**. Было показано, что соединения **5c** и **6b** распределяются в цитоплазме без проникновения в ядра клеток. Нарушений адгезии клеток после 24 часов инкубации с этими соединениями не наблюдалось.



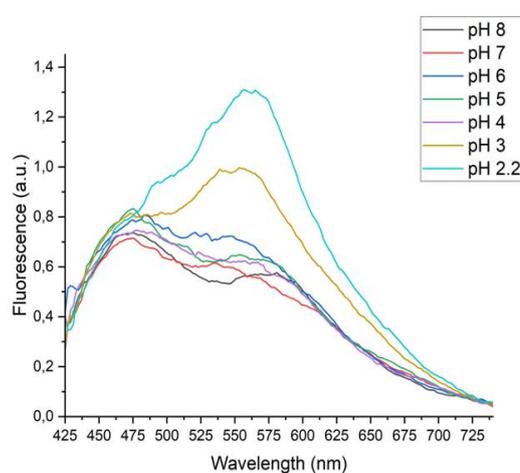
**Рисунок 3.39.** Внутриклеточное распределение соединений **5c** и **6b**, НСТ116, 2.5 мкМ, 24 ч при возбуждении лазером с длиной волны 405 нм. Масштаб, 10 мкм.

Распределение флуоресцентного сигнала соединений в цитоплазме носит неравномерный характер, на фоне слабой флуоресценции отчётливо видны яркие участки, особенно выраженные в случае соединения **5c**. Однако колокализация с лизосомальным трекером показала, что данные соединения не накапливаются в лизосомах.

Дополнительные исследования флуоресценции в кислой среде показали, что при физиологическом лизосомальном pH (4.5–5.0) [130] флуоресценция **5c** не изменяется, и интенсивность сигнала pH-чувствительного красителя **Lysotracker Deep Red** также остаётся постоянной (Рисунок 3.40). Во внеклеточной системе флуоресценция **5c** остаётся практически неизменной в диапазоне pH от 8 до 4. Усиление флуоресценции наблюдается при pH ниже 3, то есть при более высокой кислотности, чем в лизосомах клеток.

Как показано выше, флуоресцентные агрегаты **5c** диссоциируют до мономеров при связывании с БСА, однако протонирование фрагмента краун-эфира в составе комплекса гетероцикла **5c** с БСА может быть затруднено. При  $\text{pH} < 4$  происходит денатурация БСА [131] с высвобождением мономерной формы **5c**, которая способна протонироваться, что приводит к увеличению интенсивности пика флуоресценции при длине волны 560 нм, как показано на рисунке 3.40.

Таким образом, локализация соединения **5c** в лизосомах была исключена в данных экспериментальных условиях как на основании различий во флуоресценции при цитоплазматическом и лизосомальном  $\text{pH}$ , так и из-за отсутствия колокализации с **Lysotracker Deep Red**.



**Рисунок 3.40.** Флуоресценция **5c** в воде с БСА ( $2 \times 10^{-4}$  М) при различных значениях  $\text{pH}$ . OD 0.05, возбуждение 405 нм.

Также, согласно полученным данным о  $\text{pH}$ -зависимости флуоресценции, было исключено усиление флуоресценции красителя **5c** в митохондриях. Известно, что  $\text{pH}$  митохондрий в клетках варьирует от 7.2 до 8.2 в зависимости от активности дыхательной цепи [131], однако при  $\text{pH} = 8$  усиления флуоресценции **5c** в бесклеточной системе не наблюдалось (Рисунок 3.40).

Особое внимание заслуживает вопрос проявления АИЕ (усиления флуоресценции при агрегировании) и агрегации соединений в водной среде. Поэтому с использованием конфокальной микроскопии была проведена визуализация популяции клеток НСТ116, аккумулирующих 5-стирилизоксазолы типа **I** (**5a-d**) с различными заместителями в стирильной части, в диапазонах детекции, соответствующих флуоресцентным формам соединений в цитоплазме изучаемых клеток.

Учитывая наличие различных компонентов флуоресценции в бесклеточной системе вода-БСА, для более детального анализа флуоресценции в клетках были выбраны нетоксичные концентрации (2.5 мкМ) и кратковременная инкубация (3 часа) с соединениями **5a**, **5b**, **5c**, **5d**, а

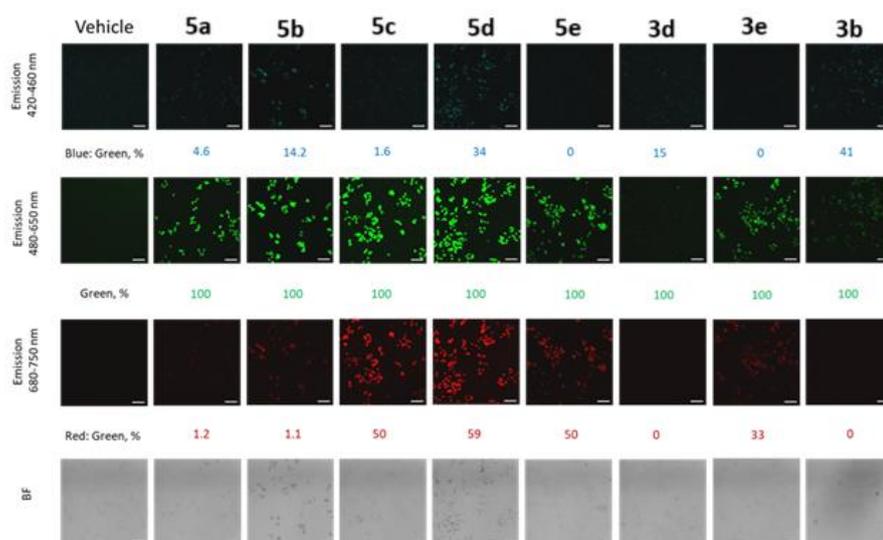
также их не краун-замещенными аналогами **3a**, **3d** и соединением **5e** с его краун-свободным аналогом **3e**.

Внутриклеточная флуоресценция каждого соединения анализировалась в следующих диапазонах детекции после возбуждения при 405 нм:

420–460 нм — мономерная форма в неполярной среде,

480–650 нм — мономерная форма в полярной среде,

680–750 нм — агрегированные формы (Рисунок 3.41).



**Рисунок 3.41.** Внутриклеточная флуоресценция краунсодержащих флуорофоров типа I и их аналогов без макроциклического фрагмента в клетках HCT116, 2.5 мкМ, накопление в течение 3 ч с последующей однократной заменой клеточной среды на натрий-фосфатный буфер (PBS) непосредственно перед визуализацией. Масштаб, 25 мкм.

Представленные данные показывают, что краун-содержащие соединения серии **5a–e** демонстрируют эффект усиления флуоресценции при агрегировании (AIE) в длинноволновом диапазоне детекции внутри клетки, в отличие от краун-свободных контрольных соединений **3a**, **3d**, **3e**, у которых такой флуоресцентный отклик отсутствует. В то же время, соотношение "зелёного" к "красному" флуоресцентного сигнала у монофенильных производных **5a** и **5b** оказалось выше, чем у бифенильных аналогов **5c** и **5d**, что свидетельствует о более эффективном связывании **5a** и **5b** с белками по сравнению с **5c** и **5d**. Этот вывод подтверждается значениями их констант связывания с белком, приведёнными в таблице 3.2. Кроме того, в парах соединений с разным размером макроцикла (**5a,b** и **5c,d**) более выраженный красный сдвиг флуоресценции внутри клетки наблюдается у соединений с краун-6-эфиром (**5b**, **5d**) по сравнению с их краун-5-аналогами (**5a**, **5c**).

Таким образом, нами были разработаны и синтезированы две серии стироловых красителей на основе 4-нитроизоксазола с макроциклическим фрагментом в стироловом

фрагменте (**5a–e**, тип **I**) или в положении 3 изоксазольного кольца (**6a–f**, тип **II**). Исследование фотофизических свойств показало, что изоксазолы типа **II** характеризуются значительно более высокими квантовыми выходами ( $\psi = 2.8–15.2\%$ ), чем изоксазолы типа **I** ( $\psi \leq 0,5\%$ ), однако изоксазолы типа **I** реагируют на присутствие ионов металлов изменением своих спектральных свойств, тогда как изоксазолы типа **II** не проявляют заметного отклика. Установлено, что соединения с фрагментами 5-краун-эфира (**5a** и **5c**) демонстрируют более выраженную селективность к ионам металлов по сравнению с аналогами, содержащими 6-краун-эфир. Так, при добавлении солей Na(I) и Li(I) к раствору соединения **5a** и солей Mg(II), Ca(II), Ba(II) и Zn(II) к раствору соединения **5c** наблюдалось усиление флуоресценции, а при добавлении солей Ca(II) и Mg(II) к раствору соединения **5a** – тушение флуоресценции. Также изоксазол с азокраун-эфирным фрагментом в стироловой части (**5e**) может быть показан как потенциальный флуоресцентный детектор для Al(III), In(III) и Pb(II).

Вода как растворитель значительно снижает интенсивность флуоресценции и ухудшает сенсорные свойства исследуемых красителей **5a–e**, однако в смесях ДМСО/Н<sub>2</sub>О наблюдается эффект АИЕ. Мы показали, что в водных средах изоксазолы **5a–e** образуют агрегаты, при этом для монофенилсодержащих красителей (**5a,b**) наблюдается гипсохромный сдвиг флуоресценции, для бифенильных аналогов (**5c,d**) – увеличение интенсивности флуоресценции в красной области, а для азокраунсодержащего соединения (**5e**) – увеличение интенсивности флуоресценции с батохромным сдвигом. Добавление БСА к водным растворам стирилизоксазолов **5a–5e** приводит к разрушению агрегатов красителей с образованием комплексов мономеров с альбумином, что сопровождается значительным усилением флуоресценции с максимумами в области 500–600 нм.

Полученные макроциклические стирилизоксазолы (**5a–e**) также характеризуются сольватохромией с гипсохромным сдвигом флуоресценции в неполярных растворителях, что может быть потенциально применимо для визуализации внутриклеточных липидных капель. Накопление стирилизоксазолов в цитоплазме было показано с помощью конфокальной микроскопии на линии раковых клеток НСТ116. Установлено, что стирилизоксазолы (**5a–e**) обеспечивают АИЕ в длинноволновой области детектирования («красный» сигнал) и «зеленой» полосе флуоресценции комплексов белок-стирилизоксазол в клетках.

Следует отметить, что введение краун-фрагмента в структуру стирилизоксазолов является эффективной стратегией для нескольких вариантов дизайна сенсоров. Более важным для сенсорных свойств и усиления флуоресценции является наличие бифенильных фрагментов и краун-фрагмента в стирильной части; также аза-краун-фрагмент может способствовать усилению длинноволновой флуоресценции агрегатов. В результате флуоресценция и сенсорные свойства макроциклов, содержащих стирилизоксазолы, заметно чувствительны к изменениям

микроокружения, что может быть полезно в биологических и фармацевтических исследованиях.

### 3.2. Новые подходы к функционализации изоксазольного цикла<sup>9</sup>

Следующим этапом работы стала разработка новых подходов функционализации изоксазольного цикла, основанная на получении из 4-нитро-5-метилизоксазолов **1** соответствующих енаминов и использование их в дальнейших превращениях.

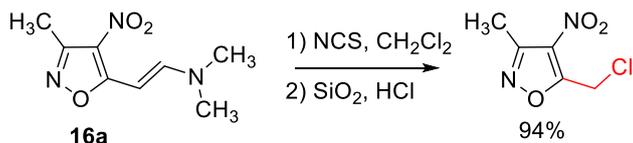
Енаминоны и другие енамины, содержащие электроноакцепторный заместитель при двойной связи, на данный момент являются одним из интенсивно изучаемых классов соединений по причине их высокого синтетического потенциала. Так, благодаря возможности протекания электрофильных и нуклеофильных реакций, енаминоны и их аналоги являются удобными предшественниками для построения ароматических и гетероциклических структур, а также для функционализации двойной связи [132-135]. В связи с этим, енамины на основе 4-нитроизоксазола можно рассматривать в качестве перспективных предшественников для функционализации изоксазольного кольца путем взаимодействия с различными электрофилами. Несмотря на очевидные перспективы в плане модификаций, енамины **16** были изучены только в реакции хлорирования с NCS (Рисунок 3.42a) и ацилирования ацетил- или пропионилхлоридами (Рисунок 3.42b), и только на примере производного 3-метилизоксазола **16a** [111, 112].

---

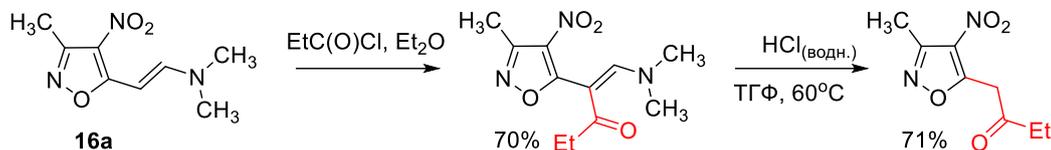
<sup>9</sup> При работе над данным разделом диссертации использованы материалы следующих публикаций автора, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

**Astakhova N.E.**, Vasilenko D.A., Kuzmina M.S., Pupeza A.K., Grishin Yu.K., Tafeenko V.A., Averina E.B. *tert*-BuONO-Promoted Nitrosation of 4-Nitroisoxazole-Based Enamines: Synthesis of 5-Cyanoisoxazoles and Their Application // *Journal of Organic Chemistry*. – 2025. – Vol. 90, No. 34. – P. 12138-12152.

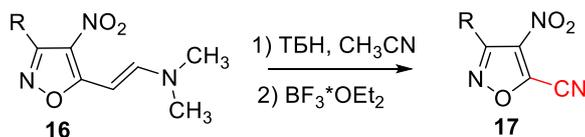
a) хлорирование енамина **16a** для получения хлорметильной группы



b) ацилирование енамина **16a** для введения β-кето группы



с) **Данная работа:** нитрозирование енамина **16a** ТБН для получения 5-цианоизоксазолов



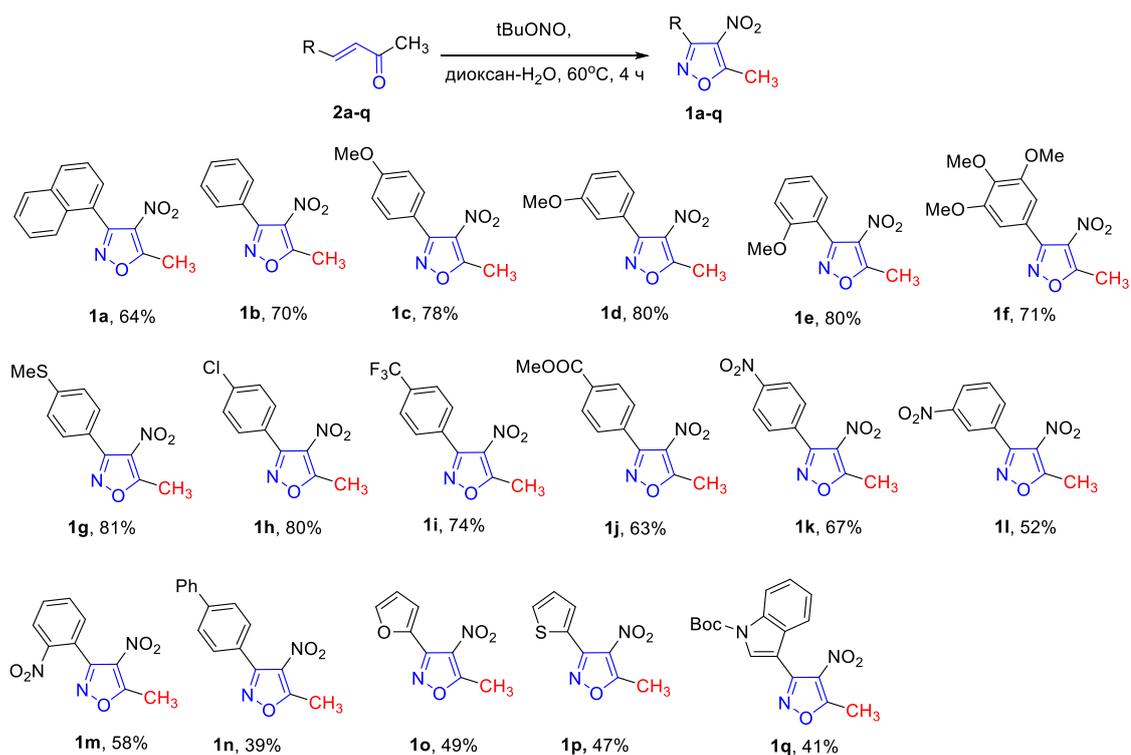
**Рисунок 3.42.** Химические свойства енаминов.

В рамках данной работы с целью расширения синтетического потенциала изоксазолсодержащие енамины **16** были изучены в реакциях с нитрозирующим агентом – *трет*-бутилнитритом (ТБН), в результате чего была найдена новая реакция образования неизвестных ранее 5-циано-4-нитроизоксазолов **17** (Рисунок 3.42с). Данный структурный тип производных изоксазола представляет интерес для изучения биологической активности и для дальнейших трансформаций с участием нитро- и цианогрупп. Таким образом, разработка подхода к селективному получению 4-нитро-5-цианоизоксазолов является важной задачей органической и медицинской химии.

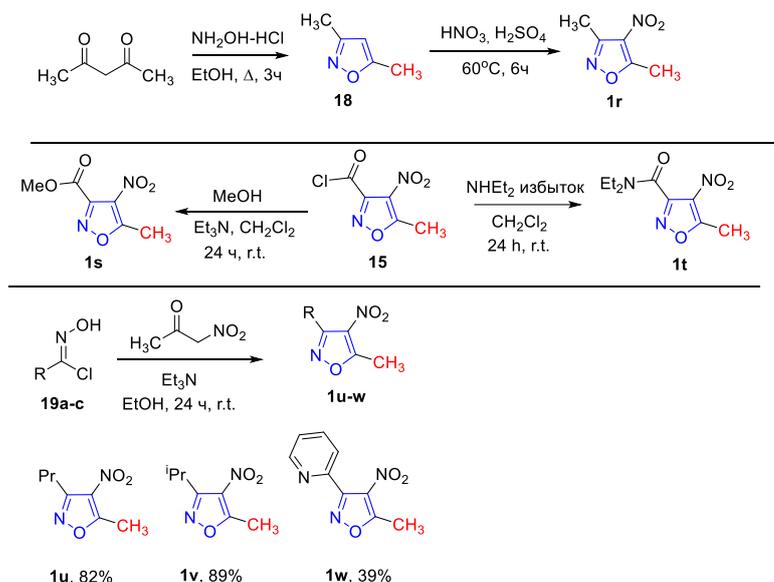
### 3.2.1. Синтез исходных соединений

Для выполнения поставленных целей была получена большая серия 4-нитро-5-метилизоксазолов **1a-w**, содержащих различные заместители в положении 3 изоксазольного кольца (Рисунки 3.43, 3.44). Для получения арил- и гетарилзамещенных гетероциклов использовалась разработанная ранее в нашей лаборатории реакция гетероциклизации арилзамещенных винилкетонс под действие ТБН в среде диоксан-вода [104].

3,5-Диметил-4-нитроизоксазол **1r** был получен по описанной методике, включающей реакцию гетероциклизации ацетилацетона под действием гидроксиламина и последующее нитрование 3,5-диметилизоксазола **18** [136] (Рисунок 3.44). Сложный эфир **1s** и амид **1t** были получены из соответствующего хлорангидрида 4-нитроизоксазол-3-карбоновой кислоты **15**. Алкилзамещенные и 3-пиридинил 4-нитроизоксазолы **1u-1w** получались по реакции конденсации соответствующих хлороксимов и нитроацетона (Рисунок 3.44). 4-Нитроизоксазолы **1r-1w** были получены с хорошими выходами и полностью охарактеризованы спектрально.



**Рисунок 3.43.** Синтез серии 5-метилизоксазолов с ароматическими заместителями в 3-м положении гетероцикла **1a-q**.



**Рисунок 3.44.** Синтез серии 5-метилизоксазолов **1r-w**.

Синтез енаминов **16a-w** был осуществлен в результате конденсации соответствующих 4-нитро-5-метилизоксазолов **1a-w** с диметилацеталем диметилформамидом в соответствии с описанным методом [111] с небольшими модификациями, относящимися к выделению продуктов (Рисунок 3.45). Нам удалось повысить выход продуктов, используя нагревание реакционной смеси при 80°C вместо кипячения в толуоле. Также в большинстве случаев выделение енаминов **16** рекомендуется осуществлять путем высаживания продукта при добавлении в реакционную смесь петролейного эфира и последующей промывкой холодным

метанолом. Указанный способ выделения позволил выделить енамины **16a**, **16d-16g**, **16j-16v** в химически чистом виде без дополнительной хроматографической очистки и/или перекристаллизации. Енамины **16a-w** были получены с высокими выходами. Небольшое понижение выхода наблюдалось для пиридинилизоксазола **16w**, что связано с тем, что реакция **1w** с диметилацеталем диметилформамида протекала с неполной конверсией. Такой результат указывает на то, что реакция чувствительна к заместителям с основными группами.

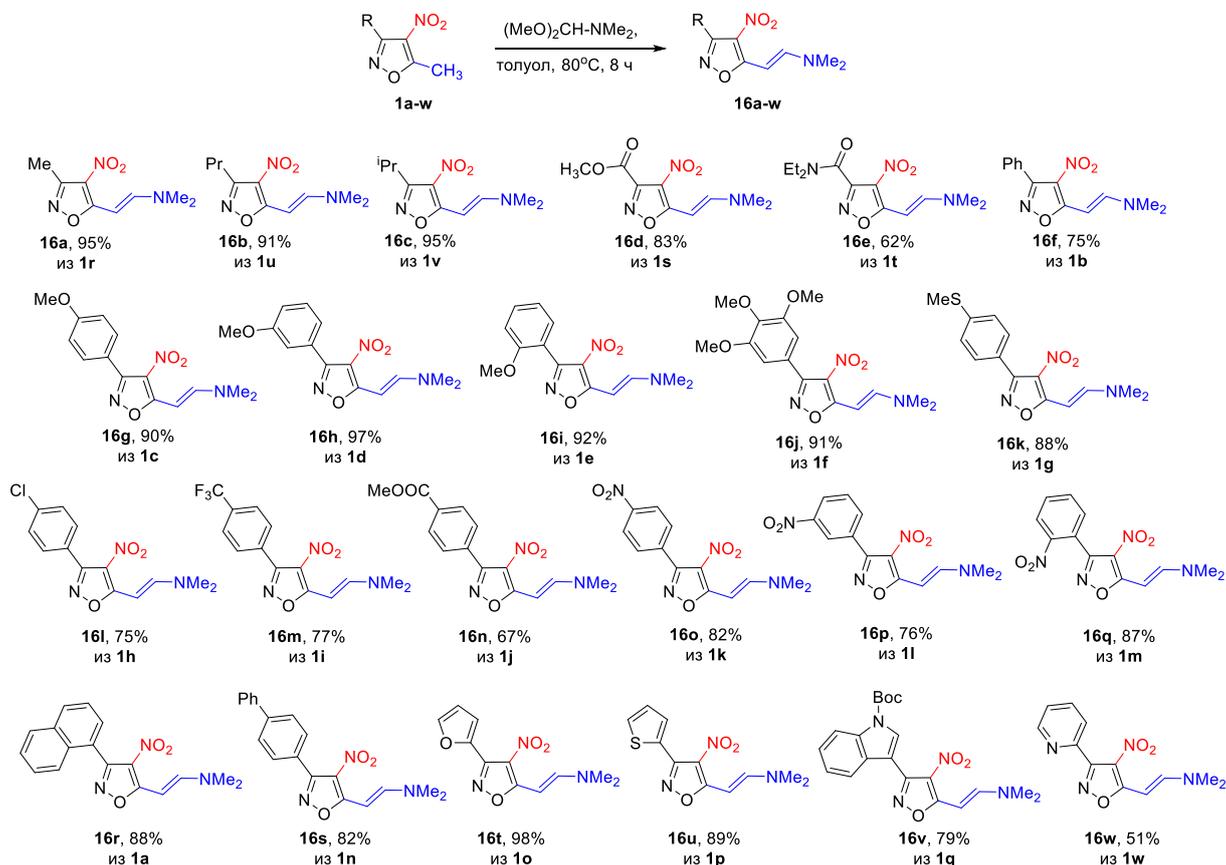
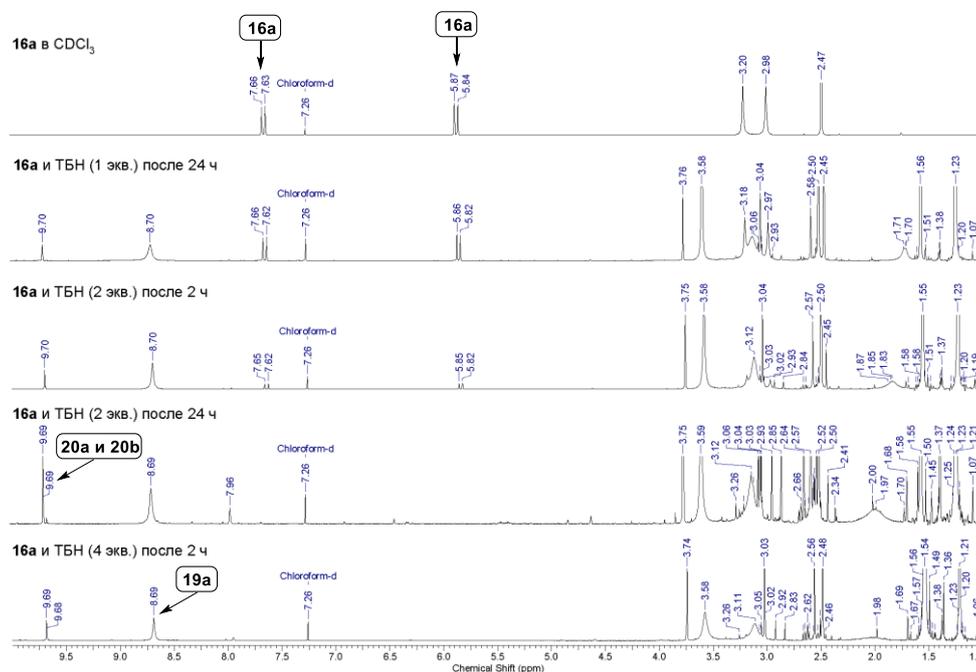


Рисунок 3.45. Синтез серии енаминов **16a-w**.

### 3.2.2. Разработка метода синтеза 5-циано-4-нитроизоксазолов

В рамках предварительного исследования реакции нитрозирования енаминов с помощью ЯМР спектроскопии было изучено взаимодействие модельного субстрата **16a** с *трет*-бутилнитритом в различных растворителях. Для этой цели раствор енамина **16a** (0.5 ммоль/мл) в  $\text{CDCl}_3$  обработали 1, 2 или 4 экв. *трет*-бутилнитрита при комнатной температуре. Ход реакции отслеживали путем анализа спектров ЯМР  $^1\text{H}$  через 2, 24 и 48 часов после начала реакции. Было найдено, что для завершения реакции недостаточно 1 экв. нитрозирующего реагента, поскольку сигналы, соответствующие протонам двойной связи исходного енамина **16a** при  $\delta$  5.84 и 7.64 м.д. наблюдались через 2, 24 и даже 48 часов. Полная конверсия енамина **16a** достигалась за 24 часа при 2-кратном избытке *t*BuONO или за 2 часа при 4-кратном избытке реагента. Однако увеличение времени реакции приводило к увеличению количества неидентифицируемых примесей. На основании спектральных данных мы предположили, что

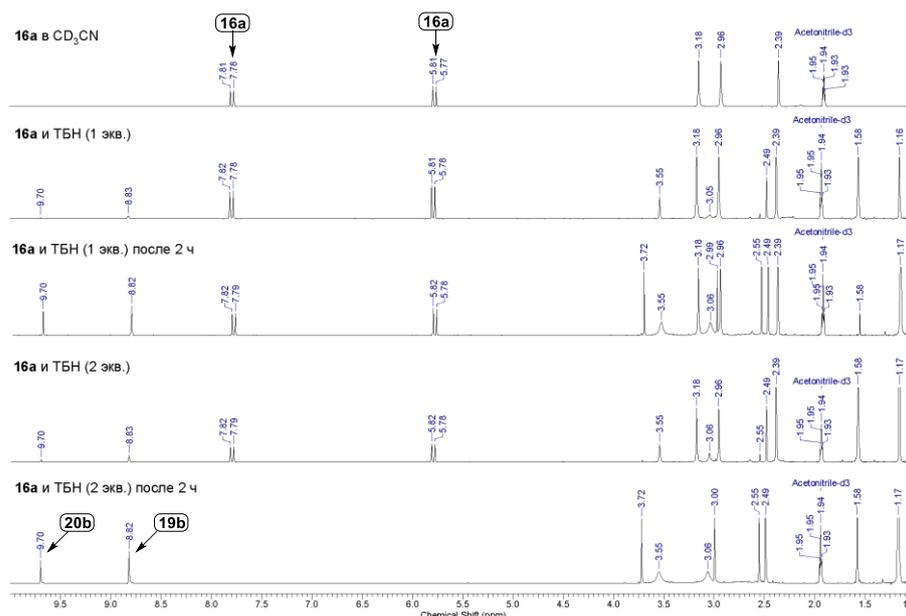
реакция между енамином **16a** и *трет*-бутилнитритом в слабополярном растворителе, таком как  $\text{CDCl}_3$ , протекает с образованием трех продуктов нитрозирования, предположительно, **19a**, **20a**, **20b** (Рисунок 3.46, Рисунок 3.48), что подтверждается наличием трех синглетов при 8.70 м.д. (основной продукт) и 9.68 и 9.69 м.д. (побочные продукты).



**Рисунок 3.46.** Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц) исходного енамина **16a** и реакционных смесей **16a** и ТБН, полученных в  $\text{CDCl}_3$  с использованием различных условий.

Далее аналогичный эксперимент был проведен для енамина **16a** (0.50 ммоль/мл) с 2-кратным избытком *трет*-бутилнитрита в других растворителях, а именно в  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\text{CD}_3\text{CN}$ , ацетон- $d_6$  и ДМСО- $d_6$ . Согласно данным  $^1\text{H}$  ЯМР, добавление нитрозирующего реагента к енамину **16a** в метаноле- $d_4$  не оказывает никакого эффекта ни через 2 часа, ни через 48 часов. При использовании ацетона- $d_6$  в качестве растворителя полная конверсия енамина **16a** достигается за 2 часа с образованием трех продуктов, предположительно, **19b** и **20b** с синглетными сигналами при  $\delta$  8.82 м.д. (основной продукт) и  $\delta$  9.70 м.д. (побочный продукт), и неидентифицируемого продукта с синглетным сигналом при  $\delta$  6.39 м.д.

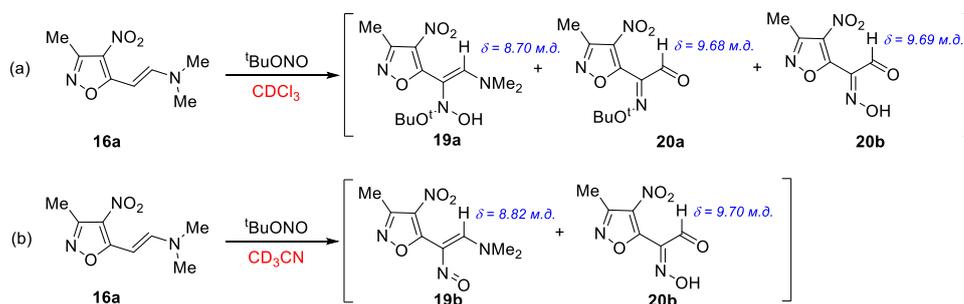
При проведении реакции в ацетонитриле- $d_3$  и при двухкратном избытке *трет*-бутилнитрита полная конверсия исходного енамина **16a** достигается за 2 часа, при этом реакция протекает значительно чище и приводит к образованию только двух продуктов, **19b** и **20b**, для которых наблюдаются сигналы при  $\delta$  8.82 м.д. (основной продукт) и  $\delta$  9.70 м.д. (побочный продукт) в соотношении 5.6:1 (Рисунок 3.47, Рисунок 3.48).



**Рисунок 3.47.** Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц) исходного енамина **16a** и реакционных смесей **16a** и ТБН, полученных в  $\text{CD}_3\text{CN}$  с использованием различных условий.

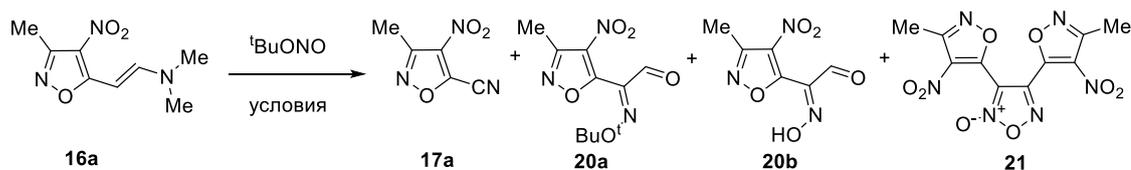
В случае  $\text{DMSO-d}_6$  реакция протекала медленнее по сравнению с другими растворителями и завершилась за 48 ч с образованием двух продуктов с сигналами при  $\delta$  9.14 и  $\delta$  9.77 м.д.

Таким образом, результат реакции нитрозирования зависит от используемого растворителя, при этом наиболее перспективными для дальнейшего изучения является использование хлороформа с 4 эквивалентами ТБН или ацетонитрила с 2 эквивалентами ТБН (Рисунок 3.48). С учетом этих данных была проведена оптимизация условий, включающая выделение продуктов реакции (Таблица 3.7).



**Рисунок 3.48.** Изучение механистических аспектов реакции образования 5-карбонитрилов из соответствующих енаминов.

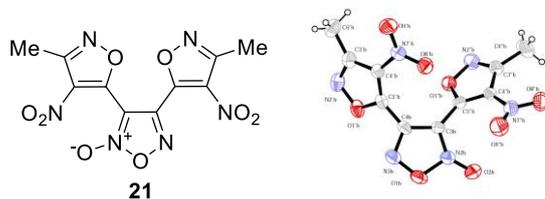
Было показано, что при взаимодействии енамина **16a** с  $t\text{BuONO}$  (4 экв.) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  и  $\text{CHCl}_3$ , в результате обработки реакционной смеси были получены альдегиды **20a** и **20b**, нитрил **17a** и фуроксан **21** (Таблица 3.7, № 1 и 2). Структура фуроксана **21** была однозначно подтверждена с помощью рентгеноструктурного анализа (Рисунок 3.49).

**Таблица 3.7.** Оптимизация условий синтеза 4-нитро-5-цианоизоксазола **17a**.

№	С( <b>16a</b> ), ммоль/мл	Количество ТБН, экв	Растворитель	Добавки	Темп., °С	Время , ч	Выход, % <sup>d</sup>			
							<b>17a</b>	<b>20a</b>	<b>20b</b>	<b>21</b>
1 <sup>a</sup>	0.5	4	CHCl <sub>3</sub>	-	25	4	5	34	18	4
2 <sup>a</sup>	0.5	4	ДХМ	-	25	4	7	48	11	9
3 <sup>a</sup>	0.5	2	CH <sub>3</sub> CN	-	25	4	след.	0	68	0
4 <sup>a</sup>	0.5	2	CH <sub>3</sub> CN	-	25	24	5	0	65	0
5 <sup>a</sup>	0.5	4	CH <sub>3</sub> CN	-	25	24	19	0	48	0
6 <sup>a</sup>	0.5	2	CH <sub>3</sub> CN	-	70	4	22	0	0	0
7 <sup>a</sup>	0.5	4	CH <sub>3</sub> CN	-	70	4	35	0	0	0
8 <sup>a</sup>	0.5	4	CH <sub>3</sub> CN	-	70	8	33	0	0	0
9 <sup>a</sup>	0.5	10	CH <sub>3</sub> CN	-	70	4	36	0	0	0
10 <sup>a</sup>	0.5	2	DMCO	-	25	48	0	0	0	7
11 <sup>a</sup>	0.5	2	DMCO	-	70	4	30	0	0	0
12 <sup>b</sup>	0.5	4	ДХМ	BF <sub>3</sub> •Et <sub>2</sub> O	25	4	17	52	6	5
13 <sup>b</sup>	0.5	2	CH <sub>3</sub> CN	BF <sub>3</sub> •Et <sub>2</sub> O	25	4	58	0	0	0
14 <sup>b</sup>	0.5	2	CH <sub>3</sub> CN	BF <sub>3</sub> •Et <sub>2</sub> O	70	4	32	0	0	0
15 <sup>b,c</sup>	0.25	2	CH <sub>3</sub> CN	BF <sub>3</sub> •Et <sub>2</sub> O	25	4	26	0	0	0
16 <sup>b,c</sup>	0.25	4	CH <sub>3</sub> CN	BF <sub>3</sub> •Et <sub>2</sub> O	25	4	49	0	0	0
17 <sup>b</sup>	0.5	4	CH <sub>3</sub> CN	BF <sub>3</sub> •Et <sub>2</sub> O	25	4	55	0	0	0
<b>18<sup>b</sup></b>	<b>0.5</b>	<b>2</b>	<b>CH<sub>3</sub>CN</b>	<b>BF<sub>3</sub>•Et<sub>2</sub>O</b>	<b>25</b>	<b>12</b>	<b>76</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
19 <sup>b</sup>	0.5	2	CH <sub>3</sub> CN	FeCl <sub>3</sub>	25	12	31	0	0	0
20 <sup>b</sup>	0.5	2	CH <sub>3</sub> CN	ZnBr <sub>2</sub>	25	12	15	0	0	0
21 <sup>b</sup>	0.5	2	CH <sub>3</sub> CN	TiCl <sub>4</sub>	25	12	30	0	0	0
22 <sup>b</sup>	0.5	2	CH <sub>3</sub> CN	AlCl <sub>3</sub>	25	12	48	0	0	0
23 <sup>b</sup>	0.5	2	CH <sub>3</sub> CN	In(OTf) <sub>3</sub>	25	12	39	0	0	0
<b>24<sup>b</sup></b>	<b>0.5</b>	<b>2</b>	<b>CH<sub>3</sub>CN</b>	<b>ТФА</b>	<b>25</b>	<b>12</b>	<b>80</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

<sup>a</sup>Условия: **16a** (0.5 ммоль), ТБН (1.0 ммоль) в растворителе (1 мл). Затем добавили силикагель (200 мг) и упарили растворитель при пониженном давлении. Смесь выдерживали 2 ч при 45 °С на роторном испарителе. <sup>b</sup>Условия: **16a** (0.5 ммоль), ТБН (1.0 ммоль) в ацетонитриле (1 мл) в течение 2 часов. Затем добавили BF<sub>3</sub>•OEt<sub>2</sub> (0.5 ммоль) и перемешивали в течение 10 часов. <sup>c</sup>В 2 мл ацетонитрила. <sup>d</sup>Выход хроматографически выделенного продукта.

Нитрозирование енамина **16a** при 2-кратном избытке  $t\text{BuONO}$  в  $\text{CH}_3\text{CN}$  протекало более селективно и дало преимущественно альдегид **20b** с выходом 65-68% (Таблица 7, № 3,4), при этом при нагревании реакционной смеси до  $70^\circ\text{C}$  в течение 4 часов удалось выделить только нитрил **17a** с выходом 22% (Таблица 7, № 6).



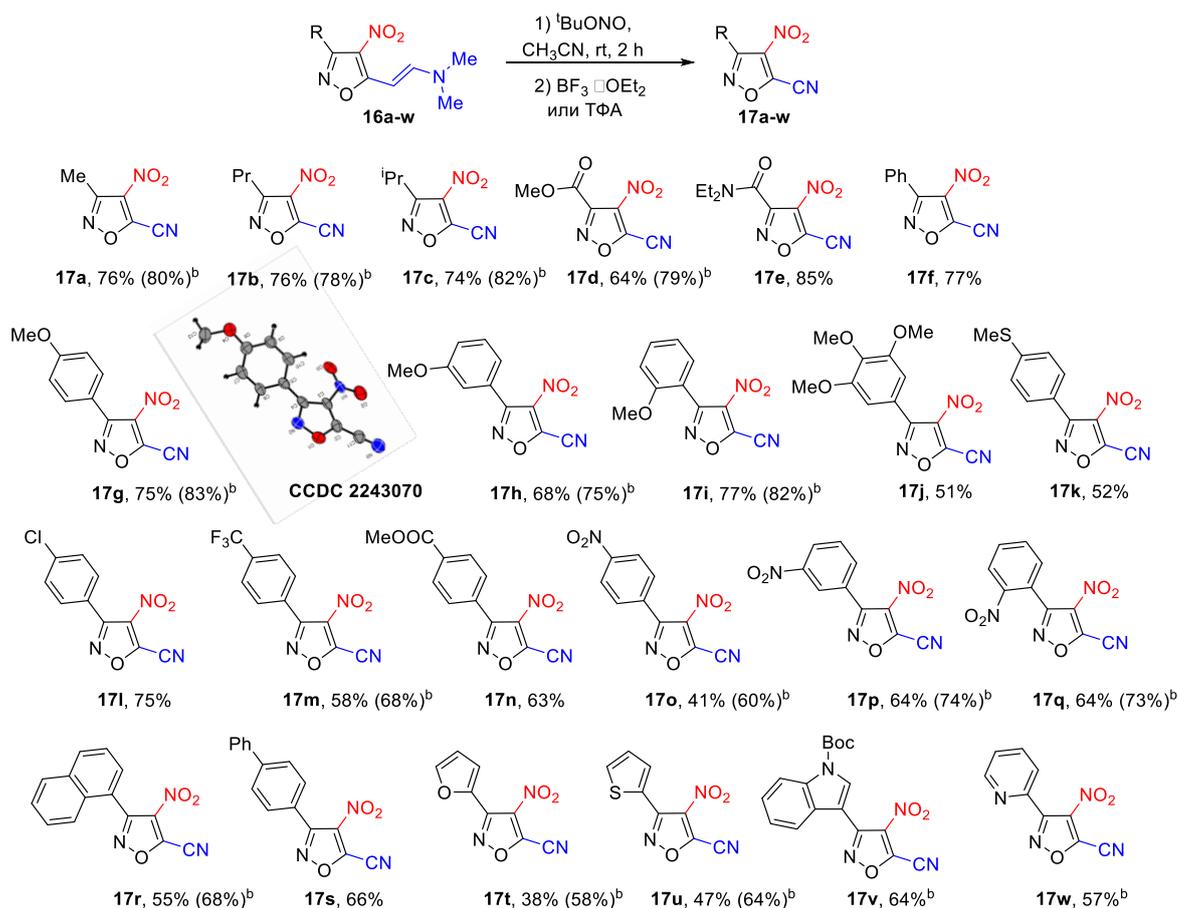
**Рисунок 3.49.** Молекулярная структура соединения **21** (CCDC 2096081). Эллипсоиды смещения изображены с 50%-ной вероятностью, атомы Н представлены сферами с произвольными радиусами.

В ходе дальнейшей оптимизации было показано, что при увеличении количества *трет*-бутилнитрита до 4-10 эквивалентов и времени реакции до 24 часов, а также при нагревании реакционной смеси до  $70^\circ\text{C}$  не удастся существенно повысить выход нитрила **17a** (Таблица 7, № 7-9,11). Замена ацетонитрила на ДМСО приводило к сложноразделимой смеси продуктов, из которых только фуроксан **21** был выделен методом колоночной хроматографии с низким выходом (Таблица 7, № 10). Далее мы изучили возможность использования добавок с целью повышения выхода нитрила **17a**. Исходя из литературных данных о взаимодействии нитронатов с кислотами Бренстеда или Льюиса [137-139], было выдвинуто предположение, что *трет*-бутильные производные **19a** и **20a** могут быть превращены в нитрил **17a** в присутствии эфира трифторида бора. Однако добавление трифторида бора в реакционную смесь енамина **16a** с  $t\text{-BuONO}$  в хлористом метиле после двух часов (Таблица 7, № 12) из реакционной смеси был выделен нитрил **17a** с выходом 17%, при этом *трет*-бутильное производное **20a** было выделено практически с таким же выходом, что и в реакции без трифторида бора, а количество альдегида **20b** значительно уменьшилось. Таким образом, трифторид бора, по-видимому, участвовал в превращении альдоксима **20b** или соответствующего енамина **19b** в нитрил **17a**. Поскольку соединения **20b** и **19b** являются основными продуктами нитроирования **16a** в ацетонитриле, влияние трифторида бора в качестве добавки было изучено на реакции в этом растворителе. Оказалось, что замена растворителя делает нитрил **17a** основным продуктом с выходом 58% (Таблица 7, № 13). Последующее изменение эквивалентов ТБН, концентрации енамина **16a**, времени и температуры показало, что максимальный выход нитрила **17a** (76%) можно достичь при использовании 2-кратного избытка ТБН при комнатной температуре в течение 12 часов (Таблица 7, № 18). Увеличение эквивалентов ТБН и изменение концентрации енамина **16a** не привели к увеличению выхода нитрила **17a** (Таблица 7, № 14-17).

На следующем шаге была проведена вариация используемых добавок. Оказалось, что образование нитрила **17a** возможно при использовании других кислот Льюиса, таких как хлорид железа (III), тетрахлорид титана, бромид цинка, хлорид алюминия, трифлат индия. При использовании других кислот Льюиса выход продукта **17a** повысить не удалось (Таблица 7, № 19-23), при этом наиболее близкий к трифториду бора результат был получен при использовании хлорида алюминия. Кроме кислот Льюиса в качестве добавки также был опробован трифторуксусный ангидрид – известный дегидратирующий агент для трансформации альдоксимов в нитрилы. Оказалось, что при использовании трифторуксусного ангидрида выход целевого нитрила **17a** составляет 80% (Таблица 7, № 24), что сопоставимо с результатом реакции с эфиром трехфтористого бора.

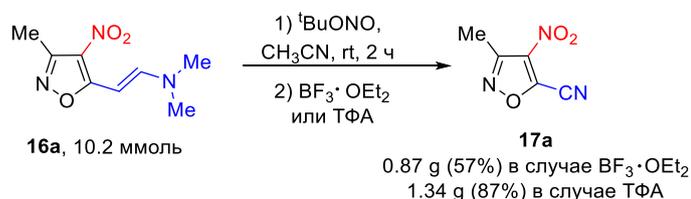
Таким образом, были выбраны оптимальные условия синтеза 4-нитро-5-цианоизоксазолов **17** из соответствующих енаминов **16** включающие использование ацетонитрила в качестве растворителя, 2 экв. ТБН, с последующей обработкой 1 эквивалентом  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  или ангидридом трифторуксусной кислоты.

Найденные оптимальные условия были использованы для синтеза нитрилов **17a-17w**. В большинстве случаев в качестве добавки использовался эфир трехфтористого бора, однако для некоторых енаминов также была опробована методика с трифторуксусным ангидридом. Как показано на рисунке 3.50, с использованием найденной реакции нитрилы **17a-w** получались с хорошими выходами вне зависимости от строения заместителей в положении 3 изоксазольного цикла. Снижение выхода для изоксазола **17k** с 4-нитрофенильным фрагментом связано с возможным замещением нитрогруппы на гидроксигруппу в условиях хроматографического разделения. Енамины **16l** и **16m**, содержащие бифенильный и 1-нафтильный заместители, соответственно, превращались в соответствующие нитрилы **17l** и **17m** с приемлемыми выходами. Снижение выходов также наблюдалось для тиофенил- и фуранилзамещенных нитрилов **17n** и **17o** (38% и 47%), что возможно связано с низкой устойчивостью исходных енаминов и целевых продуктов в окислительных условиях в присутствии ТБН. Необходимо отметить, что использование трифторуксусного ангидрида во многих случаях дает более высокий выход нитрилов **17**, особенно в случае соединений с электроноакцепторными и гетероциклическими заместителями в положении 3 изоксазольного кольца. Структура полученных 4-нитро-5-цианоизоксазолов **17** была дополнительно подтверждена методами рентгеноструктурного анализа на примере соединения **17g** (CCDC 2243070).



**Рисунок 3.50.** Схема синтеза серии 5-карбонитрилов **17a-w**. <sup>a</sup>Общие условия: **16** (1 ммоль), ТБН (2.0 ммоль) в ацетонитриле (2 мл) перемешивали при 25°C в течение 2 ч. Затем добавляли  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (1 ммоль) или перемешивали в течение 10 ч. <sup>b</sup>Выход при использовании ТФА вместо  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ .

Для проверки эффективности разработанного протокола был проведён синтез 5-цианоизоксазолов **17a** в граммовых количествах с использованием соединения **16a** (2 г, 10.2 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (20 мл), ТБН (20.4 ммоль) и  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (10.2 ммоль) или ТФА (10.2 ммоль). При медленном добавлении  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  реакция протекала с бурным выделением тепла, и продукт **17a** был выделен с выходом 56%, тогда как добавление ТФА происходит без сильного нагревания, что приводит к образованию изоксазола **17a** с выходом 86% (Рисунок 3.51).



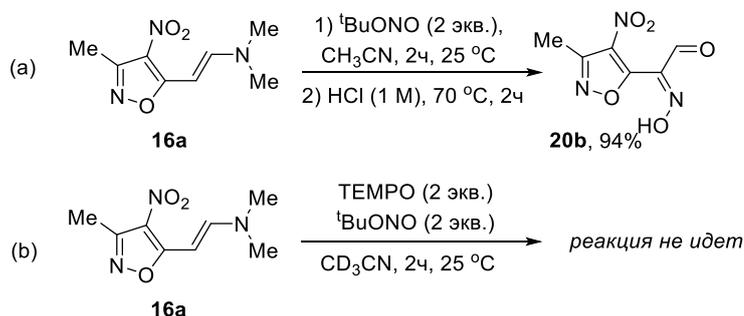
**Рисунок 3.51.** Масштабирование синтеза 5-цианоизоксазолов на примере гетероцикла **17a**.

С целью установления возможного механизма образования 5-цианоизоксазолов был проведен и проанализирован ряд контрольных экспериментов. Согласно спектрам ЯМР  $^1\text{H}$ ,

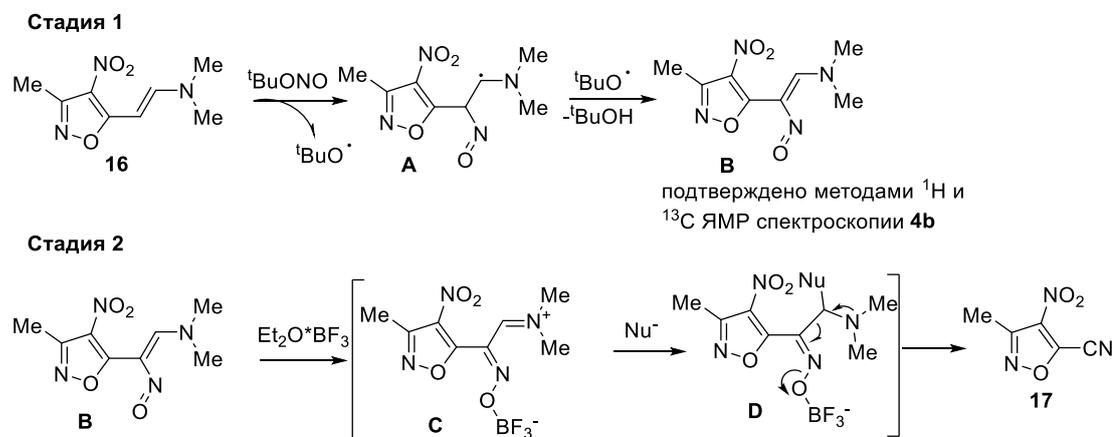
реакция енамина **16a** с ТБН в растворе ацетонитрила приводит к образованию двух продуктов нитрозирования, для которых в спектре ЯМР  $^1\text{H}$  наблюдаются два синглетных сигнала при  $\delta$  8.82 (производное енамина **B**) и 9.70 м.д. (альдегид **20b**) (см. Рисунок 3.48b). После обработки реакционной смеси енамина **16a** и ТБН 1М раствором соляной кислоты был выделен только альдегид **20b** с выходом, близким к количественному (94%) (Рисунок 3.52a). Кроме того, в присутствии 2 экв. ТЕМПО в качестве радикальной ловушки, реакция енамина **16a** с 2 экв. ТБН в  $\text{CD}_3\text{CN}$  не протекала (Рисунок 3.52b). Таким образом, был сделан вывод, что на первой стадии енамин нитрозируется ТБН по радикальному механизму.

На основании контрольных экспериментов и литературных данных о реакционной способности ТБН [140-142], был предложен механизм образования 5-цианозоксазолов **17** из соответствующих енаминов **16** (Рисунок 3.52c). Предполагается, что реакция начинается с образования (нитрозо)енимина **B** в результате радикального присоединения NO-группы к двойной связи енамина **16** с последующим окислением промежуточного продукта **A**. На втором этапе из (нитрозо)енимина **B** образуется имин **C** в результате координации фторида бора с кислородом нитрозогруппы. На завершающей стадии при участии нуклеофильных агентов происходит элиминирование производного диметилформаида с образованием нитрила **17**.

**Контрольный эксперимент:**



(c) **предполагаемый механизм на примере енамина 16a:**



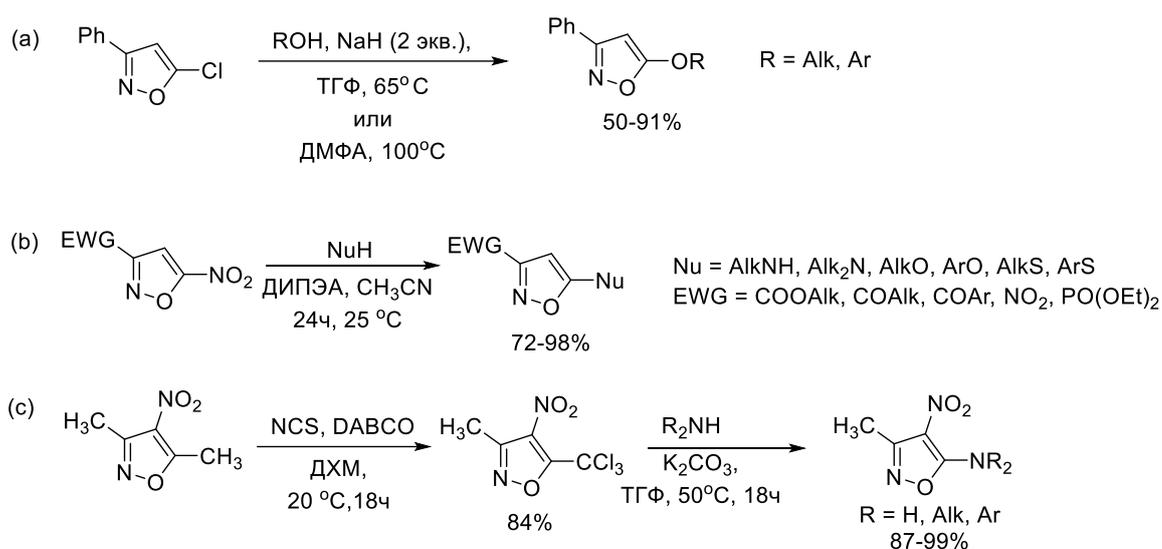
**Рисунок 3.52.** Предполагаемый механизм образования 5-цианоизоксазолов из енаминов.

Таким образом, в данной работе енамины на основе 4-нитроизоксазолов впервые были изучены в реакции нитрозирования под действием ТБН. Найденная реакция позволяет получать

ранее неизвестный структурный тип 4-нитро-5-цианоизоксазолов, представляющих интерес для синтеза биологически активных соединений. Показана возможность масштабирования данной реакции, продемонстрирована ее высокая толерантность к различным заместителям в положении 3 изоксазольного цикла, предложен вероятный механизм образования 5-цианоизоксазолов из соответствующих енаминов.

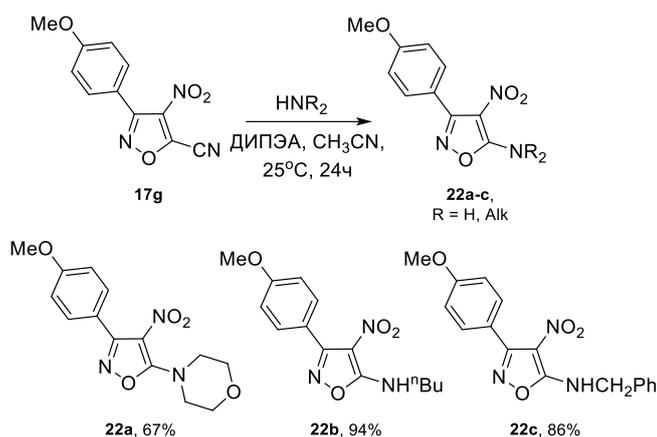
### 3.2.3. Изучение реакционной способности 4-нитро-5-цианоизоксазолов

Одним из перспективных методов направленной функционализации изоксазольного цикла является использование реакции ароматического нуклеофильного замещения, которое позволяет вводить новые функциональные группы в положения 3 и 5 гетероцикла [87, 143, 144]. Примером таких процессов являются реакции 3-фенил-5-хлоризоксазола с различными нуклеофилами, которые протекают при нагревании хлоризоксазола в растворе ТГФ или ДМФА в присутствии гидрида натрия (*O*-, *S*-нуклеофилы и анилины) или карбоната калия (для алифатических аминов) (Рисунок 3.53а) [87]. В нашей научной группе было показано, что нитрогруппа в 3-EWG-5-нитроизоксазолах также может участвовать в  $S_NAr$  реакциях, при этом дополнительная активация электроноакцепторной группой позволяет использовать очень мягкие условия (Рисунок 3.53б) [143]. Замещение нитрогруппы под действием *N*-, *O*-, *S*-нуклеофилов происходит с высокими выходами при комнатной температуре в среде ацетонитрила при использовании основания – диизопропилэтиламина (ДИПЭА) [143]. Известен также необычный процесс нуклеофильного замещения трихлорметильной группы, активированной нитрогруппой в молекуле 4-нитро-5-(трихлорметил)изоксазола [144]. Реакция протекает в мягких условиях с образованием продуктов замещения с высокими выходами (Рисунок 3.53с).



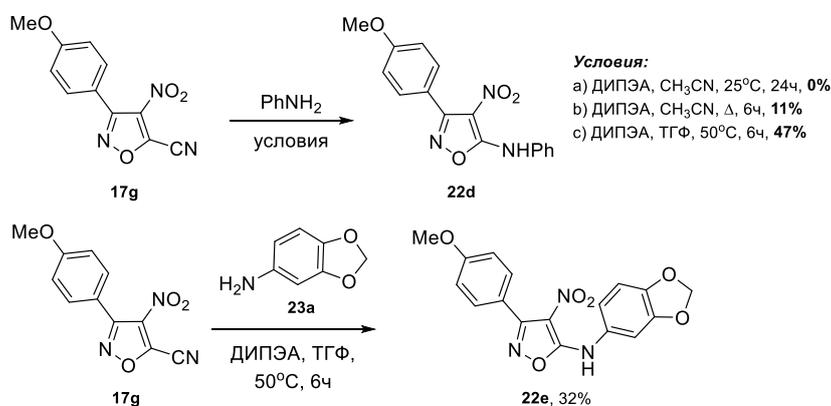
**Рисунок 3.53.** Примеры реакций нуклеофильного замещения в изоксазольном цикле (положение 5).

Анализ литературных данных позволил предположить, что 4-нитро-5-цианоизоксазолы будут активны в  $S_{\text{N}}\text{Ar}$  процессах за счет наличия двух сильных электроноакцепторных заместителей в гетероцикле. На примере соединения **17g** мы обнаружили, что под действием алифатических аминов происходит замещение нитрильной группы в стандартных условиях, найденных в ранее опубликованной работе нашей лаборатории (Рисунок 3.53b, [143]). Реакции с первичными и вторичными аминами протекают с высокими выходами с образованием 4-нитро-5-аминоизоксазолов **22a-c** (Рисунок 3.54).



**Рисунок 3.54.** Реакции 5-цианоизоксазолов с алифатическими аминами.

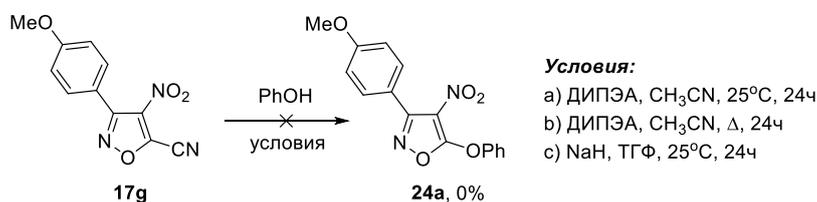
Оказалось, что в стандартных условиях реакция производного изоксазола **17g** с менее нуклеофильным анилином не привела к образованию продукта замещения **22d**, при этом повышение температуры до  $80^\circ\text{C}$  позволило получить 5-аминоизоксазол **22d** с низким выходом (Рисунок 3.55). При замене растворителя на ТГФ и нагревании реакционной смеси до  $50^\circ\text{C}$  соединение **22d** было выделено с выходом 47%, и в этих же условиях удалось получить 5-аминоизоксазол **22e**, содержащий 1,3-бензодиоксолановый фрагмент (Рисунок 3.55). Последнее соединение было синтезировано в рамках направленного синтеза и поиска структур с противораковой активностью.



**Рисунок 3.55.** Реакции 5-цианоизоксазолов с ароматическими аминами.

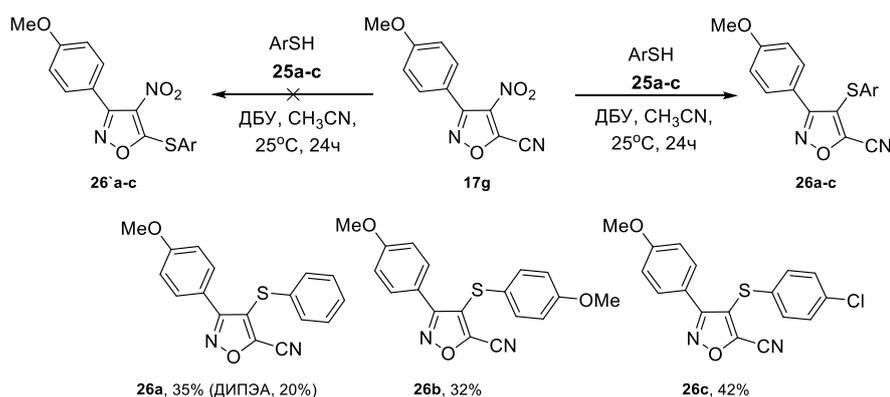
При использовании *O*-нуклеофилов нам не удалось получить соответствующие продукты замещения. Реакция 5-цианоизоксазол **17g** с фенолом в стандартных условиях или

при кипячении в ацетонитриле в течение 24 часов не приводит к образованию продукта **24a**, из реакционной смеси был выделен только изоксазол **17g**. Использование гидрида натрия в качестве основания привело к образованию сложной смеси продуктов, среди которых целевой изоксазол **24a** обнаружен не был (Рисунок 3.56).



**Рисунок 3.56.** Реакции 5-цианоизоксазолов с O-нуклеофилами.

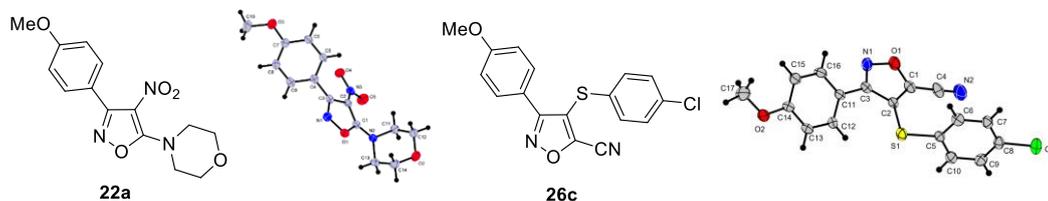
Далее мы нашли, что тиофенолы в качестве S-нуклеофилов взаимодействуют с изоксазолом **17g** в стандартных условиях с низкой конверсией: из реакционной смеси с участием тиофенола **25a** продукт замещения **26a** был выделен с выходом 20% (Рисунок 3.57). Как показано в литературе, в реакции 3-нитроизоксазолов с тиолами наилучших выходов (тиоарил)замещенных продуктов удается достичь при использовании в качестве основания диазабициклоундецена (ДБУ) [145]. В нашем случае замена ДИПЭА на более основный ДБУ обеспечивает полную конверсию исходных соединений с образованием продукта замещения **26a** с выходом 35%. В найденных условиях проводились реакции изоксазола **17g** с тиофенолами **25a-c**, приводящие к образованию продуктов **26a-c**. Производные изоксазола **26a-c** были получены с невысокими выходами, что связано с деструкцией соединений **26a-c** на силикагеле в ходе хроматографической очистки, а также их лабильностью в растворе при комнатной температуре.



**Рисунок 3.57.** Реакции 5-цианоизоксазолов с ароматическими тиолами.

Следует отметить необычную региохимию продуктов нуклеофильного замещения **26a-c**, которая была установлена на основании данных ЯМР <sup>13</sup>C спектроскопии. В спектрах ЯМР <sup>13</sup>C продуктов **26a-c** отсутствуют сигналы атомов углерода нитрильной группы в области δ 107-108 м.д. Этот результат является весьма неожиданным, поскольку реакции нуклеофильного замещения характерны для положений 3 и 5 изоксазольного цикла [146-150], данные по нуклеофильному замещению по положению 4 до нашей работы в литературе отсутствовали.

Строение продуктов замещения циано- (**22a-e**) и нитрогруппы (**26a-c**) было однозначно подтверждено методом рентгеноструктурного анализа (РСА) на примере соединений **22a** и **26c** (Рисунок 3.58).



**Рисунок 3.58.** Молекулярная структура соединений **22a** и **26c**. Эллипсоиды смещения изображены с 50%-ной вероятностью, атомы Н представлены сферами с произвольными радиусами **22a** (CCDC 2447015) и **26c** (CCDC 2447016).

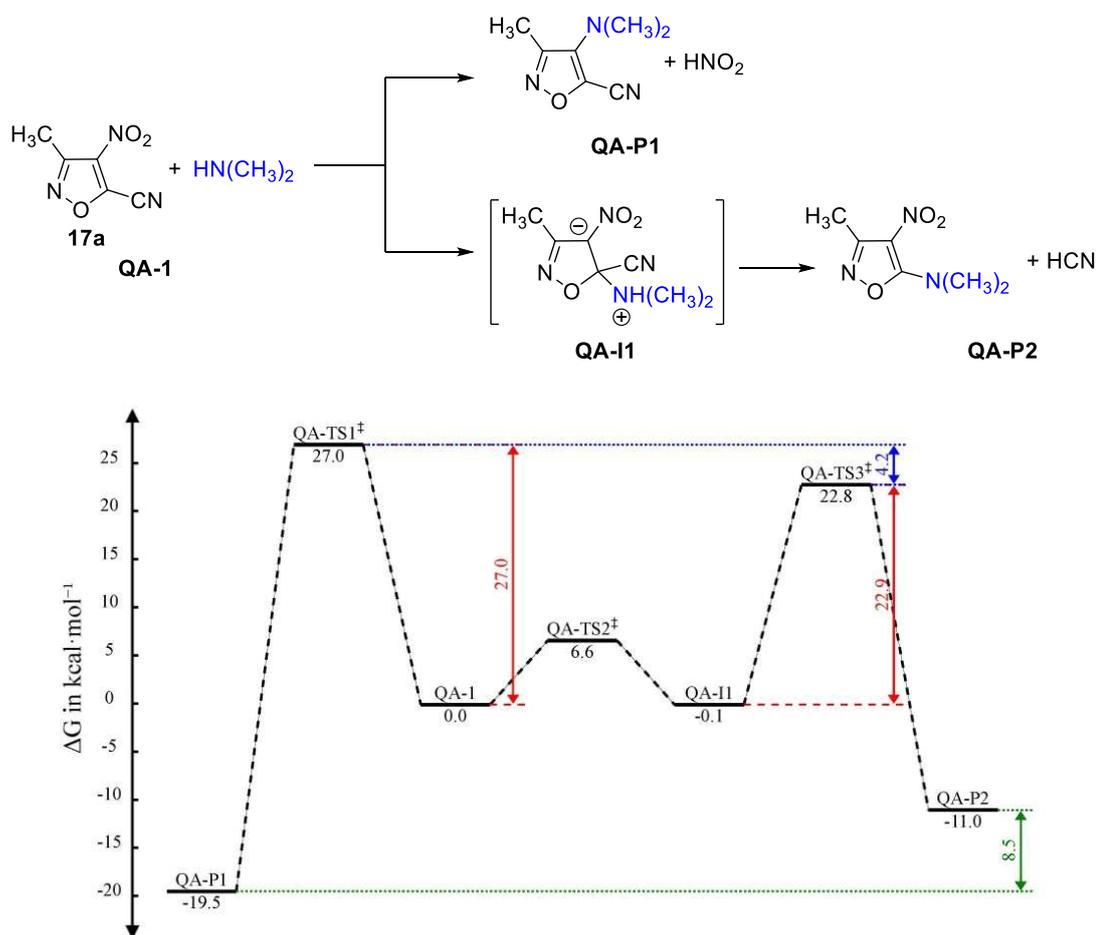
Таким образом, было показано, что в зависимости от нуклеофила для 5-циано-4-нитроизоксазолов **17** наблюдается дихотомия реакционной способности, а также впервые был обнаружен процесс ароматического нуклеофильного замещения нитрогруппы в положении 4 изоксазольного цикла.

Для обоснования необычной реакционной способности 5-циано-4-нитроизоксазола **17** в реакции  $S_NAr$  с *N*- и *S*-нуклеофилами, были изучены механистические аспекты этих реакций методом DFT на примере изоксазола **17a**, диметиламина и тиофенолят-аниона в качестве модельных соединений<sup>10</sup>. Для каждого нуклеофила были исследованы два возможных пути реакции, а именно замещение группы NO<sub>2</sub> (положение 4) и цианогруппы (положение 5) изоксазольного кольца. Сканирование поверхности потенциальной энергии (ППЭ) в области комплексов Мейзенгеймера показало наличие стабильных промежуточных продуктов для обоих нуклеофилов (QA-II для диметиламина и QT-II для тиофенолят-аниона) в случае замещения цианогруппы. В то же время, для реакции замещения нитрогруппы в случае обоих нуклеофилов стабильный интермедиат обнаружить не удалось. Таким образом, дальнейший анализ путей реакции проводился в предположении согласованного механизма замещения нитрогруппы и двухстадийного механизма замещения цианогруппы. Такое различие в профиле реакции ароматического нуклеофильного замещения в зависимости от типа нуклеофила или уходящей группы является типичным, при этом в литературе упоминается комплекс Мезейнгеймера в качестве переходного состояния, интермедиата или неявного интермедиата [151,152].

При оптимизации продуктов замещения с диметиламином в обоих случаях наблюдался перенос протона, что указывает на практически безбарьерный характер этой стадии. По этой причине стадия переноса протона подробно не рассматривалась, а в качестве конечных

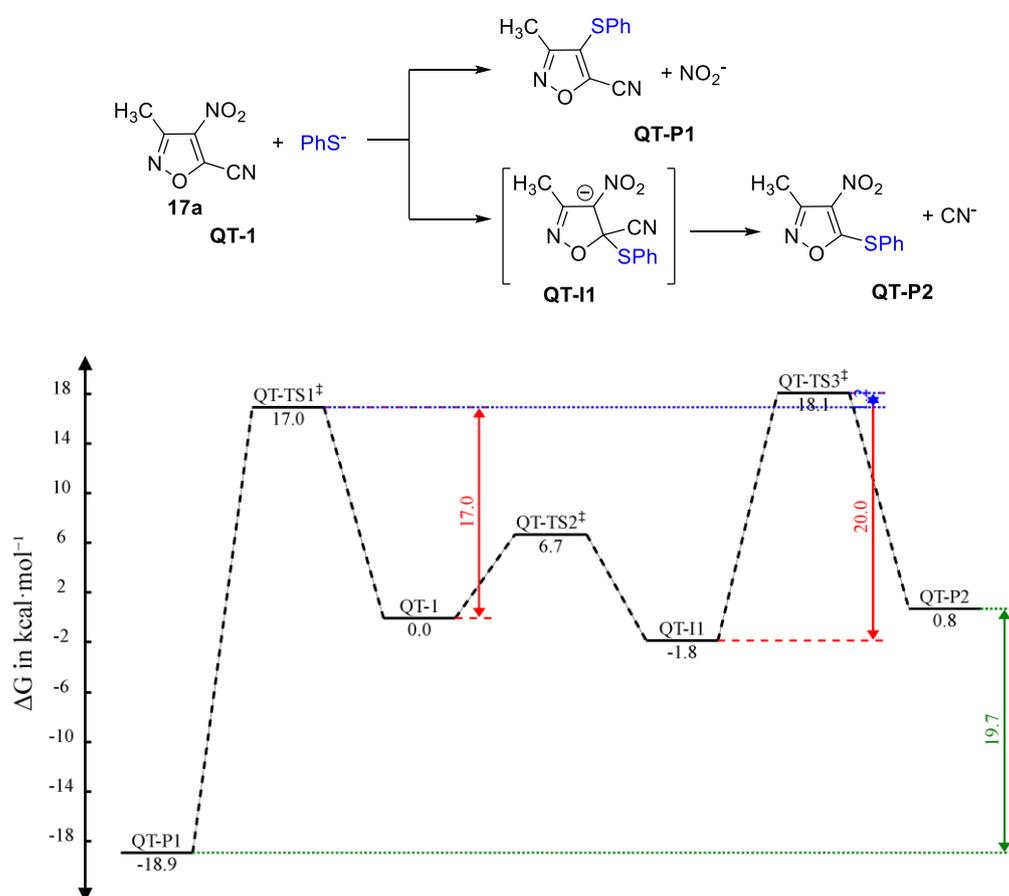
<sup>10</sup> Расчет проведен аспирантом 3 г.о. МГУ имени М.В. Ломоносова НИЛ квантовой фотодинамики Пупеза А.К.

продуктов замещения амина брали нейтральный комплекс с протонированной уходящей группой. На основании полученного профиля реакции **17a** с диметиламином (Рисунок 3.59) можно сделать вывод, что она протекает как кинетически контролируемый процесс. Согласно расчету продукт замещения цианогруппы (продукт QA-P2) термодинамически менее выгоден (на 8 ккал/моль), чем продукт замещения нитрогруппы (продукт QA-P1). Барьер для стабильного интермедиата QA-II (комплекс Мейзенгеймера) низок (6.6 ккал/моль), что позволяет предположить возможность быстрого установления равновесия между QA-I (**17a** и  $\text{NHMe}_2$ ) и QA-II в условиях реакции. Следовательно, анализ превращения в QA-P1 можно свести к оценке лимитирующей стадии  $\text{QA-II} \rightarrow \text{QA-P1}$ . Энергия активации для конкурирующего пути  $\text{QA-II} \rightarrow \text{QA-P2}$  составляет 22.9 ккал/моль, что на 4.2 ккал/моль ниже, чем для перехода  $\text{QA-I} \rightarrow \text{QA-P1}$ , что объясняет наблюдаемое распределение продуктов. Энергии конечных продуктов достаточно низки, чтобы сделать обратные реакции фактически неосуществимыми в указанных условиях.



**Рисунок 3.59.** Профили реакции возможных путей реакции **17a** с диэтиламином (**QA-I** - **17a** и  $\text{HNMe}_2$ ; **QA-P1** -  $\text{HNO}_2$  и продукт замещения  $\text{NO}_2$  группы; **QA-P2** -  $\text{HCN}$  и продукт замещения  $\text{CN}$  группы, **QA-II** – комплекс Мезейнгеймера).

В реакции **17a** с тиофенолят-анионом наблюдается согласованный кинетический и термодинамический контроль (Рисунок 3.60). Стабильный комплекс Мейзенгеймера QT-II в реакции находится в равновесии с исходными реагентами (QT-1), поскольку как прямой, так и обратный барьеры энергии активации не превышают 8.5 ккал/моль. Скорость лимитирующей стадией пути цианозамещения является превращение QT-II  $\rightarrow$  QT-P2, которое протекает с активационным барьером 20 ккал/моль по сравнению с 17 ккал/моль для альтернативного превращения QT-1  $\rightarrow$  QT-P1. Более того, продукт QT-P2 энергетически подобен QT-II, а соответствующий барьер (~20 ккал/моль) предполагает значительно более медленное, но все еще кинетически достижимое равновесие между QT-II и QT-P2 в масштабе минут. Напротив, образование QT-P1, по-видимому, является практически необратимым процессом в условиях реакции.

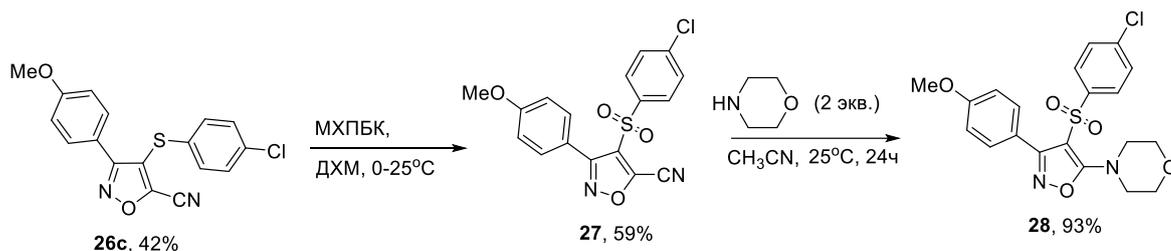


**Рисунок 3.60.** Профили реакции возможных путей реакции **17a** с тиофенолят ионом (QT-1 - **17a** и PhS<sup>-</sup>; QT-P1 - HNO<sub>2</sub> и продукт замещения NO<sub>2</sub> группы; QT-P2 - HCN и продукт замещения CN группы, QT-II – комплекс Мезейнгеймера).

Таким образом, рассчитанный профиль реакции изоксазола **17a** с *N*- и *S*-нуклеофилами согласуется с полученными экспериментальными результатами.

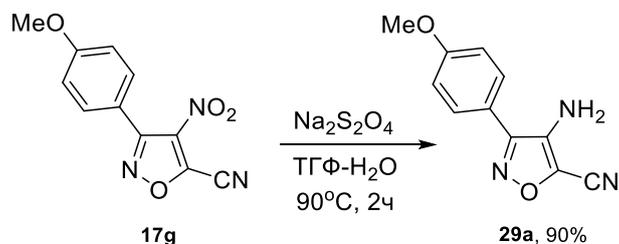
Различие в реакционной способности нитро- и цианогрупп в положениях 4 и 5 изоксазольного цикла по отношению к различным нуклеофилам позволяет проводить

дальнейшую функционализацию производных изоксазола. Так, продукт замещения нитрогруппы **26с**, полученный в результате реакции 4-нитро-5-цианоизоксазола **17g** с тиофенолом **25с**, был окислен под действием мета-хлорпербензойной кислоты (МХПБК) в сульфонильное производное **27**, в молекуле которого электроноакцепторный арилсульфонильный группа будет активировать цианогруппу к дальнейшему замещению под действием нуклеофилов. В частности, мы показали, что в реакции соединения **27** с избытком морфолина с высоким выходом образуется единственный продукт замещения цианогруппы **28** (Рисунок 3.61).



**Рисунок 3.61.** Пример функционализации изоксазольного цикла с использованием дихотомии реакционной способности 4-нитро-5-цианоизоксазолов.

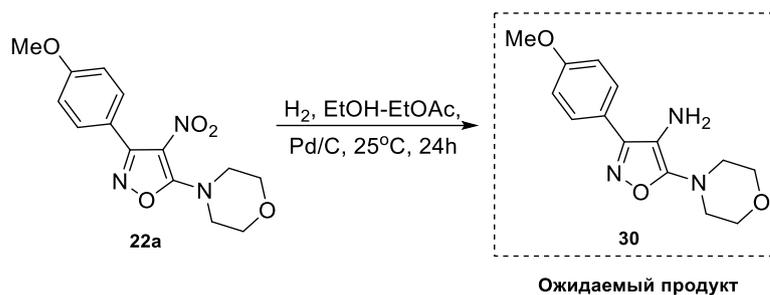
Другим направлением дальнейших превращений 4-нитроизоксазолов является восстановление нитрогруппы. Было показано, что 4-нитро-5-цианоизоксазол **17g** может быть легко восстановлен в ранее найденных в нашей лаборатории условиях с использованием дитионита натрия  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  [153]. В результате реакции 4-аминоизоксазол **29a** был выделен из реакционной смеси с высоким выходом (90%) (Рисунок 3.62).



**Рисунок 3.62.** Реакция восстановления нитрогруппы в 4-м положении изоксазола.

При попытке восстановления 4-нитро-5-аминоизоксазолов **22** на примере соединения **22a** мы неожиданно обнаружили, что под действием дитионита натрия, а также таких типичных для нитрогруппы восстановителей как хлорид олова [154], цинк/уксусная кислота [154] или боргидрид натрия в присутствии каталитического палладия [155] исходное соединение **22a** остается в неизменном виде. Полная конверсия 4-нитроизоксазола **22a** достигалась лишь при действии на нитроизоксазол **22a** водородом при комнатной температуре в течение 24 часов в присутствии Pd/C в качестве катализатора [156] (Таблица 3.8).

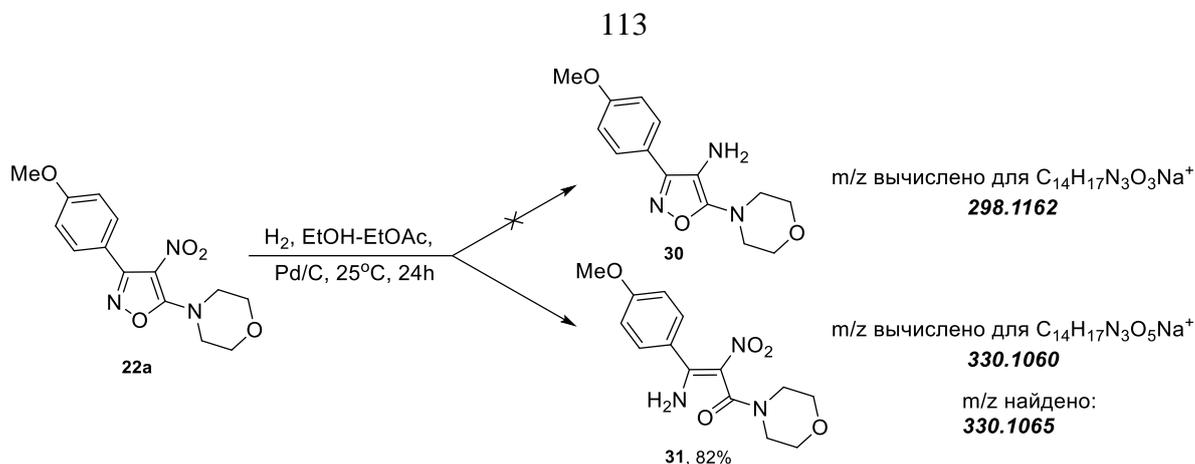
**Таблица 3.8.** Оптимизация условий реакции восстановления нитрогруппы в 4-м положении изоксазола.



Условия	Конверсия <b>22a</b> , %
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>4</sub> , ТГФ-H <sub>2</sub> O, 90°C, 2ч	0
SnCl <sub>2</sub> , EtOH, 25°C, 24ч	0
Zn, AcOH, i-PrOH, 25°C, 24ч	0
SnCl <sub>2</sub> , HCl <sub>(конц)</sub> , ДМФА, 25°C, 24ч	0
NaBH <sub>4</sub> , MeOH-ТГФ, Pd/C, 25°C, 24ч	0
H <sub>2</sub> , EtOH-EtOAc, Pd/C, 25°C, 24ч	100

Согласно спектру ЯМР <sup>1</sup>H продукт восстановления 4-нитро-5-аминоизоксазола **22a** содержит в молекуле аминогруппу с двумя неэквивалентными протонами, о чем свидетельствуют уширенные сигналы при δ 7.20 и 9.56 м.д. Такая неэквивалентность протонов указывает на образование прочной внутримолекулярной водородной связи, которая для ожидаемого продукта **30** возможна между аминогруппой в положении 4 и азотом морфолинового фрагмента. Тем не менее, положение сигналов в спектрах ЯМР <sup>1</sup>H не соответствует сигналам протонов аминогруппы 4-аминоизоксазолов, которые обычно находятся в области δ 3.30-3.40 м.д. Спектр ЯМР <sup>13</sup>C не дает дополнительной информации о строении продукта восстановления, поскольку наблюдаемые сигналы четвертичных атомов углерода при δ 134.0, 158.2 и 162.3 могут относиться как к изоксазольному циклу ожидаемой структуры **30**, так и к продукту раскрытия **31** (Рисунок 3.63).

Выбор между структурами **30** и **31** удалось сделать с использованием данных масс-спектрометрии высокого разрешения (HRMS-ESI), которая показала, что найденный пик молекулярного иона соответствует молекулярной массе нитро(амино)алкена **31** (Рисунок 3.63). Следовательно, в восстановительных условиях происходит раскрытие изоксазольного цикла 4-нитроизоксазола **22a** с сохранением нитрогруппы.



**Рисунок 3.63.** Реакция восстановления нитрогруппы в 4-м положении изоксазола.

Таким образом, было найдено, что 5-циано-4-нитрозамещенные изоксазолы могут быть легко превращены в соответствующие 5-циано-4-аминоизоксазолы, в то время как продукты замещения цианогруппы на фрагмент амина – 5-амино-4-нитроизоксазолы в восстановительных условиях ( $\text{H}_2$ ,  $\text{Pd/C}$ ) претерпевают раскрытие изоксазольного цикла с сохранением нитрогруппы.

### 3.3. Дизайн, синтез и скрининг цитотоксичности новых производных изоксазола<sup>11</sup>

На сегодняшний день онкологические заболевания являются второй по распространенности причиной смерти после сердечно-сосудистых заболеваний и представляют собой серьезную глобальную проблему современного здравоохранения. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 2020 году из 19.3 миллионов новых случаев смерти во всем мире от рака умерло около 10 миллионов человек, при этом наблюдается тенденция к ежегодному росту количества смертей и случаев выявления данного заболевания [157]. Традиционные методы лечения, такие как хирургия, химиотерапия и лучевая терапия, несмотря на свою эффективность, имеют ряд проблем: повреждение здоровых клеток, возникновение рецидива рака и отсутствие опухолевой специфичности [158]. Таргетная терапия, основанная на

<sup>11</sup> При работе над данным разделом диссертации использованы материалы следующих публикаций автора, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

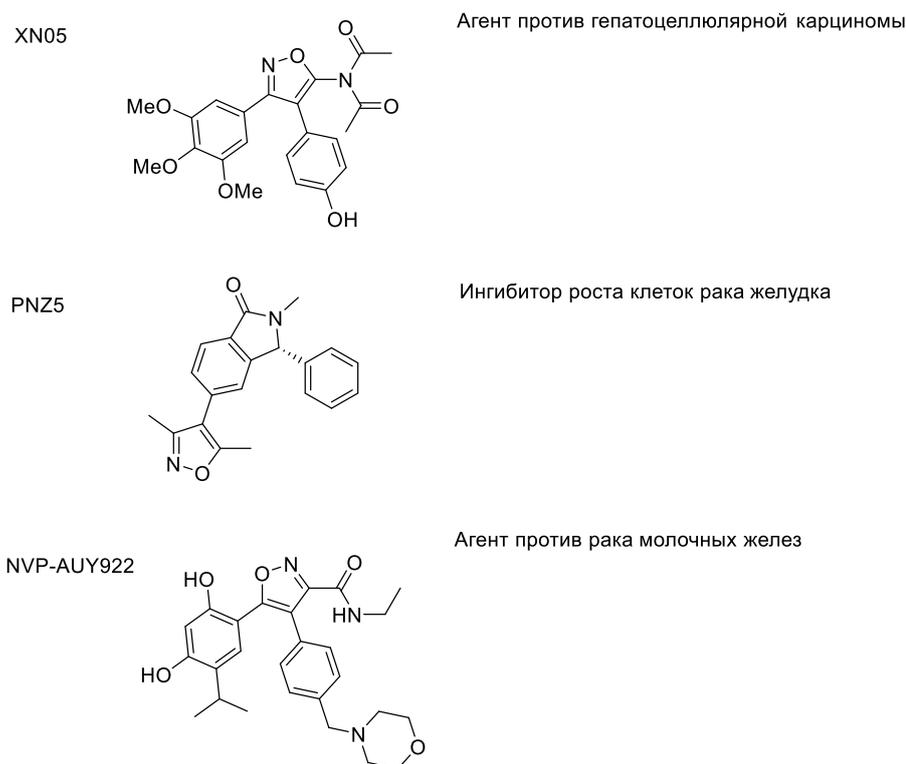
Кузьмина М.С., **Астахова Н.Е.**, Василенко Д.А., Седенкова К.Н., Гришин Ю.К., Грачева Ю.А., Милаева Е.Р., Аверина Е.Б. Синтез и изучение антипролиферативной активности новых аналогов комбретастина А4 ряда изоксазола // *Известия Академии наук. Серия химическая.* – 2025. – Т. 74, № 7. – С. 2184-2189.

[перевод: Kuzmina M.S., **Astakhova N.E.**, Vasilenko D.A., Sedenkova K.N., Grishin Yu.K., Gracheva Yu.A., Milaeva E.R., Averina E.B. Synthesis and investigation of antiproliferative activity of novel analogs of combretastatin A4 of isoxazole series // *Russian Chemical Bulletin.* – 2025. – Vol. 74, No. 7. – P. 2184-2189.];

**Astakhova N.E.**, Kuzmina M.S., Vasilenko D.A., Shashurin D.A., Vasileva V.Yu., Sudarikova A.V., Zefirov N.A., Averina E.B., Chubinskiy-Nadezhdin V.I., Milaeva E.R., Medvedev O.S., Zefirova O.N. Substituted 3-aryl-4-nitroisoxazoles as potential blockers of the transport protein GLUT5: molecular design, synthesis and primary biotesting // *Mendeleev Communications.* – 2026. – Vol. 36, No. 1. – P. 12-14.

ингибирование специфических белков или сигнальных путей опухолевой клетки, является одной из современных достижений терапии онкологии, однако данная стратегия лечения сопряжена с проблемами резистентности, вызванной активацией компенсаторных сигнальных путей или генетическими мутациями [159]. Таким образом, остается актуальной потребность в инновационных экономически выгодных и высокоспецифичных противоопухолевых средствах.

Одним из перспективных скаффолдов в дизайне соединений с противоопухолевой активностью является изоксазольный цикл. Примерами производных изоксазола, которые на сегодняшний день проходят доклинические испытания являются структуры XN05, PNZ5 и NVP-AUY922 [160] (Рисунок 3.64).



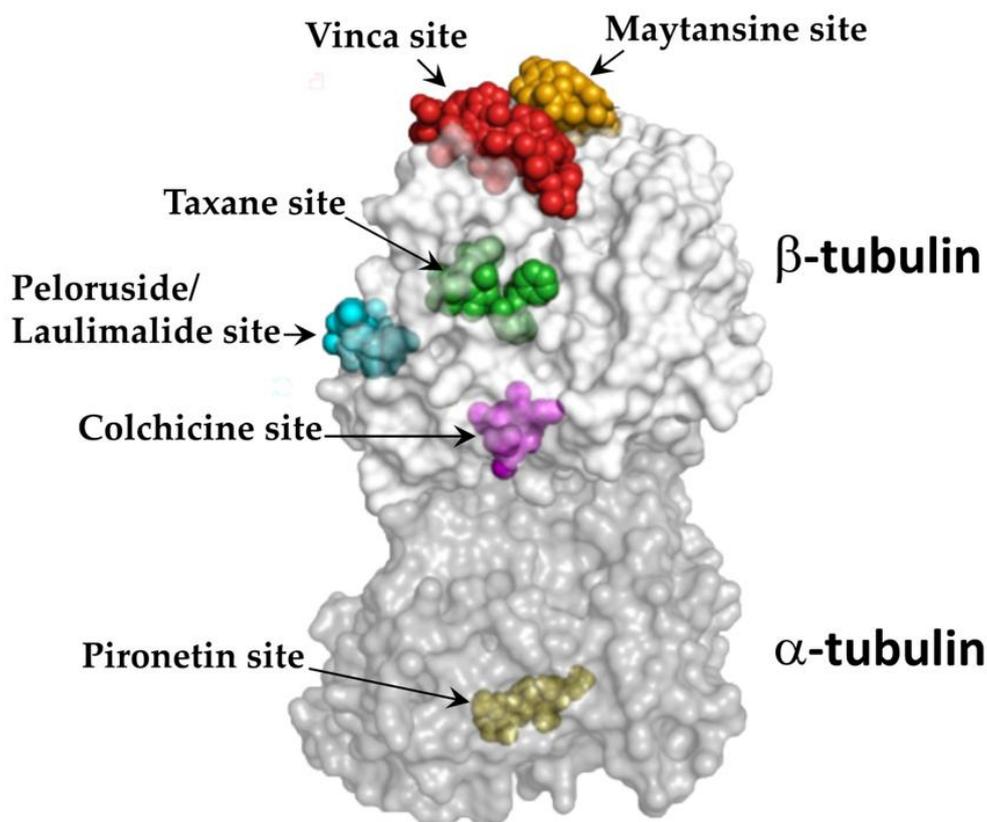
**Рисунок 3.64.** Примеры производных изоксазола, которые проходят доклинические испытания.

Разработанные в рамках диссертационной работы новые методы синтеза неизвестных ранее структурных типов производных изоксазола представляют интерес для получения новых библиотек соединений с разнообразной биологической активностью. Мы использовали методы синтеза и функционализации 5-метил- и 5-циано-4-нитроизоксазолов для получения соединений с противораковой активностью.

### 3.3.1. Синтез ингибиторов полимеризации тубулина

Клеточный белок тубулин является одной из наиболее изученных молекулярных мишеней для разработки противораковых препаратов. Он представляет собой глобулярный гетеродимерный белок, состоящий  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц (Рисунок 3.65). При его полимеризации образуются микротрубочки, которые играют важную роль в митотическом делении клеток,

формировании цитоскелета и других жизненно важных клеточных процессах [161, 162]. Известно не менее шести сайтов связывания тубулина, включая сайты таксола, колхицина, винбластина, лаулималида/пелорусида А, майтанзина и пиронетина. В клиническую практику вошёл ряд препаратов, действующих на различные сайты связывания тубулина, таких как таксол (паклитаксел), иксабепилон, винбластин и др.



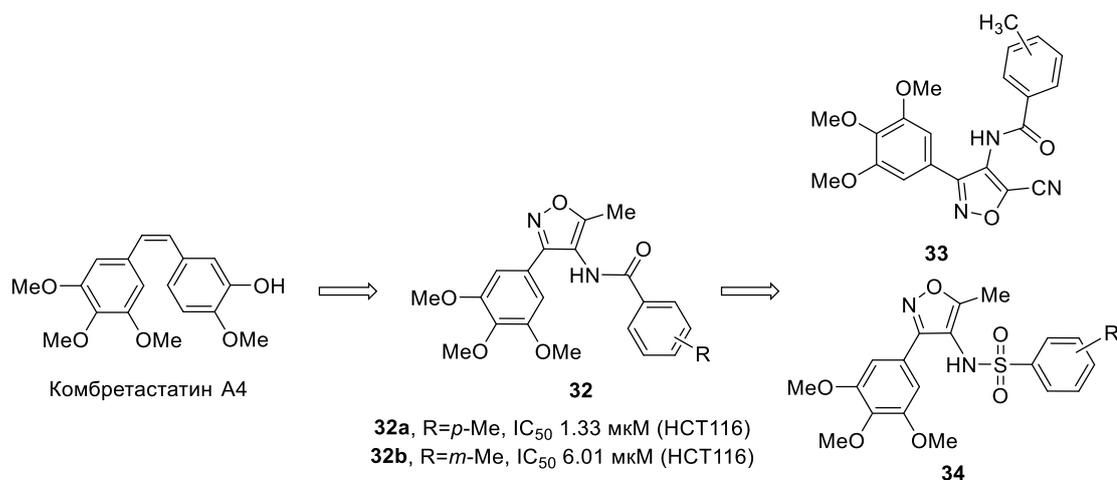
**Рисунок 3.65.** Клеточный белок тубулин и его сайты связывания.

Особое внимание в дизайне новых противораковых препаратов привлекают лиганды колхицинового сайта связывания вследствие их относительной структурной простоты и синтетической доступности, а также способности проявлять антиангиогенный эффект, который заключается в блокировке действия факторов роста кровеносных сосудов, замедлении процесса образования новых капилляров в опухоли, что вызывает прекращение ее роста. Среди ингибиторов полимерации тубулина, взаимодействующих с колхициновым сайтом, важное место занимают аналоги комбретастина, основным структурным фрагментом которых является изоксазольный цикл [90, 92, 93, 153, 160, 163]. В частности, к аналогам комбретастина относится производное изоксазола XN05, которое проходит доклинические испытания (Рисунок 3.66).

В предыдущих исследованиях нашей научной группы было показано, что изоксазолсодержащие аналоги комбретастина **32** являются перспективным структурным типом для разработки новых противоопухолевых агентов [153]. При этом наибольшую активность показали 4-(ациламино)-5-метил-3-(триметоксифенил)изоксазолы **32a,b** (Рисунок

3.67). Было найдено, что триметоксифенильный заместитель в положении 3 изоксазольного цикла является определяющим фактором в обеспечении цитотоксичности. Также было установлено, что наличие метильных заместителей в *para*- и *meta*-положениях ароматического кольца амидного фрагмента позволяет достичь высокой активности производных изоксазола. В рамках настоящей работы планировалось осуществить дополнительную вариацию заместителей в положениях 4 и 5 изоксазольного цикла с целью получения новых сведений о зависимости структура-активность и создания новых более активных и селективных аналогов соединений **32a,b**.

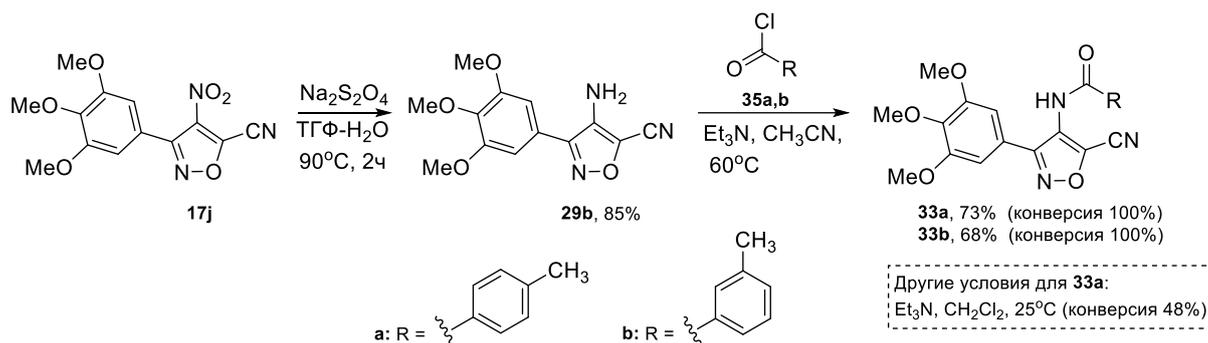
Согласно литературным данным наличие цианогруппы в структуре молекулы лекарственных препаратов может улучшать их фармакокинетические параметры [90, 92, 93], в связи с чем было предложено изучить влияние на активность замены метильной группы в положении 5 изоксазольного цикла соединений **32** на цианогруппу (Рисунок 3.67). С другой стороны, биоизостерическая замена амидной группы на сульфонамидную представляет интерес для получения более активных и стабильных к гидролизу в физиологических условиях молекул [163]. Поэтому в настоящей работе была также проведена биоизостерическая замена амидного фрагмента на сульфонамидный с получением серии соединений **34** (Рисунок 3.67).



**Рисунок 3.67.** Дизайн новых аналогов соединений **32a,b**.

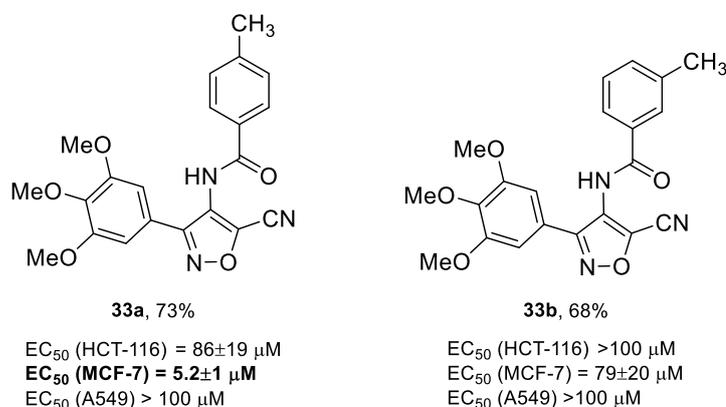
Исходным соединением для получения целевых 5-цианоизоксазолов **33a,b** послужил 4-нитро-5-цианоизоксазол **17j**, синтез которого описан в разделе **3.2**. Восстановление нитроизоксазола **17j** протекало в стандартных условиях под действием дитионита натрия с образованием 4-аминоизоксазола **29b** с выходом 85%. При дальнейшем ацилировании амина **29b** в ранее найденных условиях [153] происходит его неполная конверсия, что указывает на снижение нуклеофильности аминогруппы за счет наличия в соседнем положении сильного акцептора электронной плотности – цианогруппы. Ацилирование удалось провести с полной конверсией исходного соединения при замене растворителя хлористого метилена на

ацетонитрил и повышении температуры реакции. В найденных условиях ацилированные аминоизоксазолы **33a,b** были получены с выходами 68 и 73% (Рисунок 3.68).



**Рисунок 3.68.** Синтез новых ингибиторов полимеризации тубулина **33a,b**.

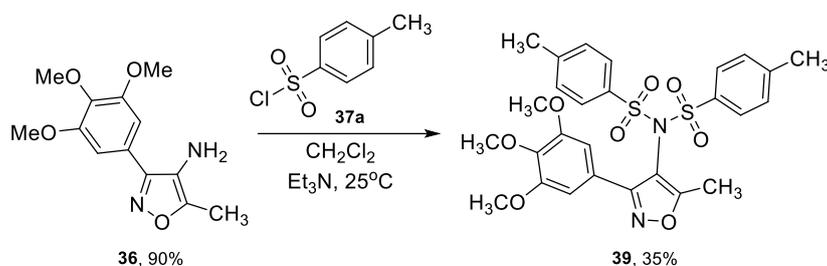
Тестирование цитотоксической активности производных изоксазола **33a,b** было проведено с использованием МТТ теста<sup>12</sup> на клеточных линиях НСТ-116 (клетки колоректальной карциномы), МСF-7 (клетки карциномы молочной железы) и А549 (эпителиальные клетки карциномы легких). Оказалось, что при замене Me-группы на нитрильный фрагмент происходит заметное понижение активности соединений **33a,b**, однако для соединения **33a** была обнаружена цитотоксичность в низком микромолярном диапазоне концентраций (5 мкМ) на клеточной линии МСF-7 (Рисунок 3.69). Данный результат является неожиданным и требует дополнительного изучения.



**Рисунок 3.69.** Результаты скрининга противораковой активности соединений **33a,b**.

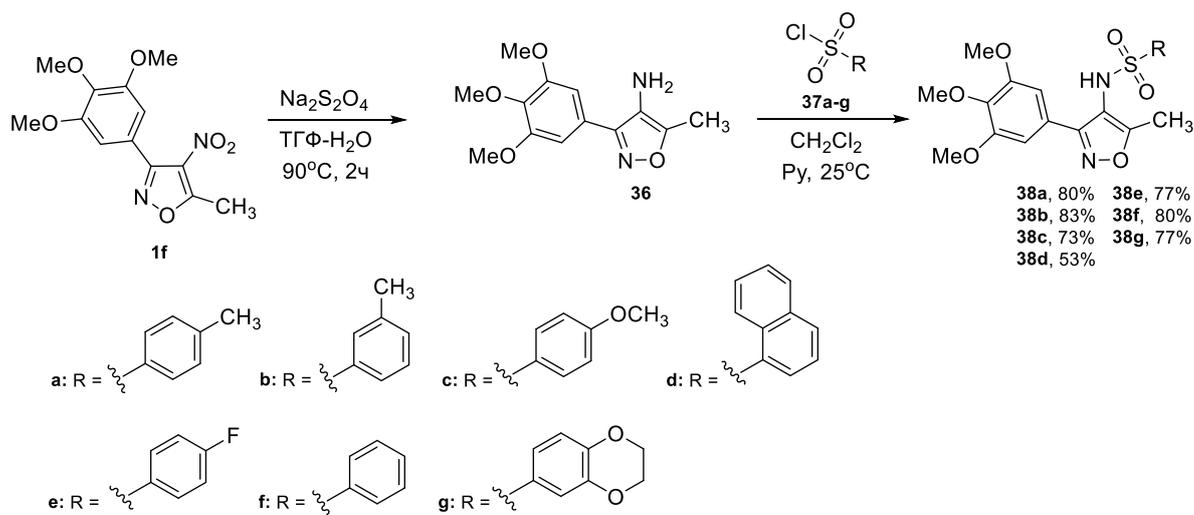
Другая серия соединений была синтезирована на основе 4-нитроизоксазола **1f**, который был восстановлен дитионитом натрия с образованием 4-аминоизоксазола **36**. Последующее сульфонилирование амина **36** *n*-толилсульфонилхлоридом **37a** в стандартных условиях в присутствии триэтиламина [164] неожиданно привело к образованию биссульфонамид **39** (Рисунок 3.70).

<sup>12</sup> Тестирование биологической активности выполнялось на кафедре МХиТОС к.х.н. Грачёвой Ю. А.



**Рисунок 3.70.** Сульфонирование амина **36** *p*-толилсульфонилхлоридом.

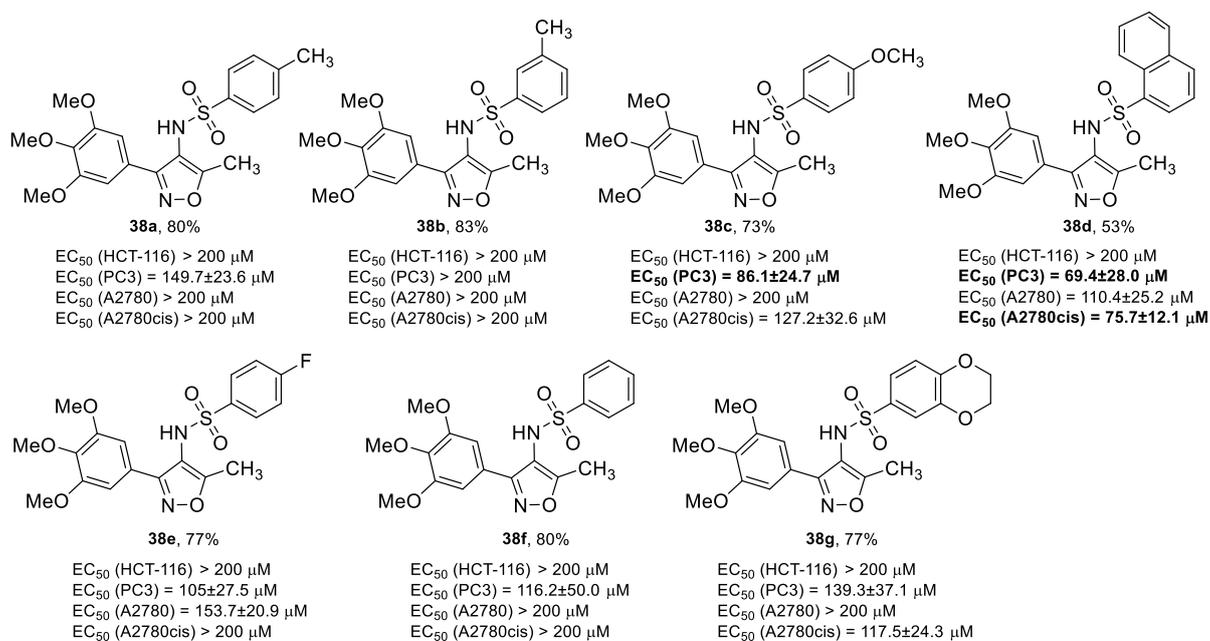
Варьирование условий путем замены основания и уменьшения концентрации реагентов позволило хемоселективно получить целевые сульфонамиды **38a-g** с хорошими выходами (Рисунок 3.71).



**Рисунок 3.71.** Синтез новых ингибиторов полимеризации тубулина **38a-g**.

С помощью МТТ-теста<sup>13</sup> была произведена оценка противоопухолевой активности полученной серии сульфонамидов **38a-g** на клеточных линиях НСТ-116 (клетки колоректальной карциномы), РС3 (клетки рака предстательной железы), А2780 (клетки рака яичника), А2780cis (клетки цисплатинрезистентного рака яичника). На основании полученных результатов, можно сделать вывод, что амидная группа является необходимым для наличия противоопухолевой активности фрагментом, его замена на сульфонамидную группу значительно ухудшает цитотоксические свойства производных изоксазола **38a-g**. Можно отметить отсутствие противоопухолевой активности для большинства протестированных соединений, тем не менее гетероциклы **38c** и **38d**, содержащие *n*-метоксифенильный или нафтильный заместители в сульфонамидной группе показали эффективные концентрации цитотоксичности ниже 100 мкМ (Рисунок 3.72).

<sup>13</sup> Тестирование биологической активности выполнялось на кафедре МХиТОС к.х.н. Грачёвой Ю. А.



**Рисунок 3.72.** Результаты скрининга противораковой активности соединений **38a-g**.

Таким образом, оказалось, что проведенная структурная модификация соединений-хитов **32a,b** с заменой метильной и карбоксильной групп оказалась неэффективной, и полученные сульфонильные производные 5-цианоизоксазолов **38a,b** не является перспективными для дальнейшего поиска активных и/или селективных аналогов комбретастина А4.

### 3.3.2. Синтез потенциальных ингибиторов GLUT5

Фруктоза является одним из наиболее распространенных моносахаридов, и ее вклад в калорийность составляет примерно 5-15% от общего числа потребляемых человеком калорий. В прошлом фруктоза поступала в человеческий организм в небольшом количестве, в основном, в составе фруктов, однако на сегодняшний день число фруктозосодержащих продуктов неизменно растет [165, 166]. В отличие от глюкозы, уровень содержания фруктозы в сыворотке крови не регулируется инсулином, и ее большое количество в организме является причиной различных заболеваний, включая образование опухолей, ожирение, диабет, а также заболевания сердца и почек [167, 168].

Фруктоза, как и другие углеводы, пассивно транспортируется через мембраны клеток при участии специальных белков-переносчиков GLUT. Семейство белков GLUT состоит из 14 разновидностей, разделенных на три основных класса на основе гомологии последовательностей и селективности к субстрату [169]. В транспорте фруктозы могут участвовать семь представителей семейства GLUT (GLUT2, GLUT5, GLUT7, GLUT9a/b, GLUT8, GLUT11 и GLUT12), однако только GLUT5 является единственным фруктозоспецифичным транспортером, который не способен транспортировать другие углеводы, например, глюкозу или галактозу [170].

Белок GLUT5 обнаруживается в нормальных клетках, а именно, в таких тканях и органах как кишечник, сперматозоиды, почки, жировая ткань, скелетные мышцы и головной мозг [171]. Экспрессия GLUT5 в нормальных клетках может повышаться под действием фруктозы, что может рассматриваться как ключевой механизм запуска метаболических нарушений. Например, повышенная экспрессия белка GLUT5 была обнаружена у некоторых пациентов с диабетом второго типа, при этом она уменьшалась в ходе лечения [171].

Значительно более важную функцию белок GLUT5 выполняет в опухолевых клетках. Известно, что раковые клетки требуют больше энергии для своего неконтролируемого роста и обычно демонстрируют повышенную скорость транспорта углеводов по сравнению с нормальными клетками. Более того, сверхэкспрессия GLUT5 происходит примерно в 27% опухолевых клеток [171]. Например, GLUT5 в норме отсутствует в клетках молочной железы млекопитающих, но линии клеток карциномы молочной железы MCF7 и MDA-MB-231 демонстрируют повышенный уровень мРНК GLUT5 и высокую скорость транспорта фруктозы [172]. В свою очередь, клетки рака поджелудочной железы предпочитают фруктозу для синтеза нуклеиновых кислот, и как следствие, повышенная концентрация фруктозы способствует пролиферации клеток рака поджелудочной железы [173].

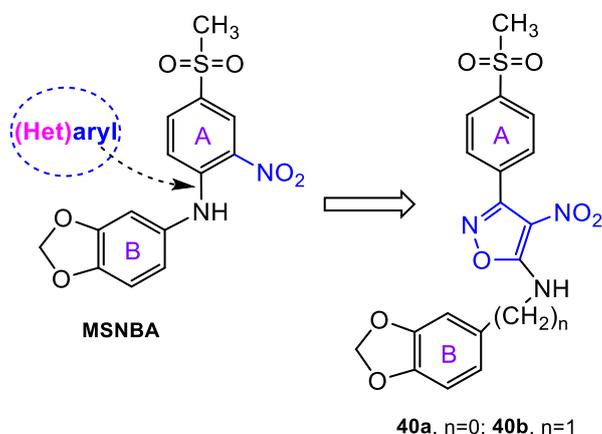
Таким образом, транспортный белок GLUT5 может рассматриваться в качестве новой потенциальной мишени в терапии некоторых видов онкологических заболеваний. Действительно, было показано, что подавление экспрессии GLUT5 или селективное ингибирование GLUT5 может быть использовано для лечения рака молочной железы (MCF7 и MDA-MB-231) и колоректального рака (HT-29) [174, 175].

Разработка селективных ингибиторов GLUT5, имеющих неуглеводную природу, относится к актуальным, но сложным задачам современной медицинской химии в виду структурной близости представителей семейства GLUT. На сегодняшний день известен единственный селективный ингибитор GLUT5 – диариламин **MSNBA**, который демонстрирует эффективное действие на раковые клетки ( $IC_{50}$  (протеолитосомы)  $\sim 0.1$  мМ,  $IC_{50}$  (клетки MCF7)  $\sim 6$  мкМ [176, 177] (Рисунок 3.73). В связи с этим весьма перспективным является поиск новых аналогов **MSNBA**, в том числе, имеющих заметные структурные отличия по сравнению с исходной молекулой.

Известно, что близкие аналоги **MSNBA**, содержащие удлиненный линкер между двумя ароматическими кольцами, также ингибируют GLUT5 [178], что позволяет использовать в дизайне<sup>14</sup> новых лигандов так называемую цикловинилогию, а именно введение (гетеро)ароматического линкера между двумя фрагментами (А и В) исходной молекулы **MSNBA**. В качестве такого линкера, связывающего ароматические кольца А и В, мы

<sup>14</sup> Совместно с профессором кафедры Медицинской химии и тонкого органического синтеза Зефировой О.Н.

предложили использовать изоксазольный цикл. Также было предложено перенести нитрогруппу из кольца А в изоксазольный цикл с учетом синтетической доступности 4-нитроизоксазолов **40a,b**. Предварительно с использованием метода молекулярного докинга<sup>15</sup> была проведена оценка сродства соединения **40a** к сайту связывания мишени белка GLUT5.

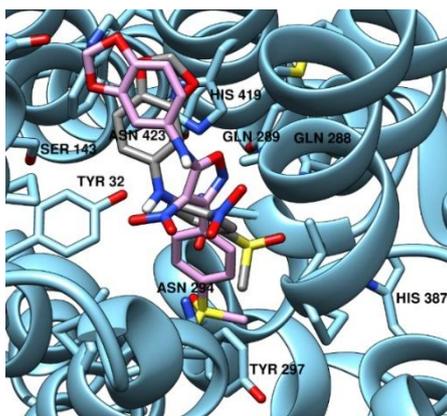


**Рисунок 3.73.** Дизайн потенциальных ингибиторов рецептора GLUT5 – производных изоксазола **40a** и **40b**.

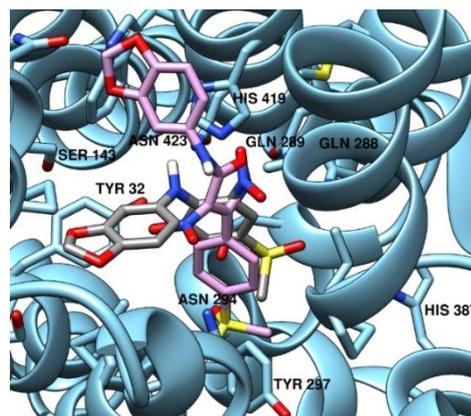
Молекулярное моделирование было выполнено с использованием модели предполагаемого сайта связывания MSNBA в бычьем GLUT5 в конформации канала, открывающегося внутрь (PDB ID:4YB9). Согласно результатам молекулярного докинга в сайте связывания GLUT5 кольца А в соединениях MSNBA и **40a** располагаются подобным образом, несмотря на отсутствие нитрогруппы в кольце А у изоксазола **40a**. Метилсульфонильные группы обеих молекул расположены вблизи аминокислотного остатка His 387, что является определяющим фактором в ингибировании GLUT5 [176]. Для положения бензодиоксоланового фрагмента в структуре MSNBA молекулярный докинг предсказывает два возможных положения в сайте связывания GLUT5, одно из которых соответствует предсказанному для соединения **40a**, а другое отличается от него. Поскольку, согласно данным SAR [178], бензодиоксолановый фрагмент важен для ингибирующей активности по отношению к белку GLUT5, представлялось логичным получить также аналог молекулы **40a**, соединение **40b**, с удлиненной и конформационно более гибкой линкерной цепью, которая обеспечит сходное расположение остатка бензодиоксолана молекулы производного изоксазола **40b** и MSNBA в соответствии с его положением во втором типе связывания в этом сайте (Рисунки 3.73, 3.74).

<sup>15</sup> Молекулярное моделирование выполнялось н.с. к.х.н. той же кафедры Зефириным Н.А.

A

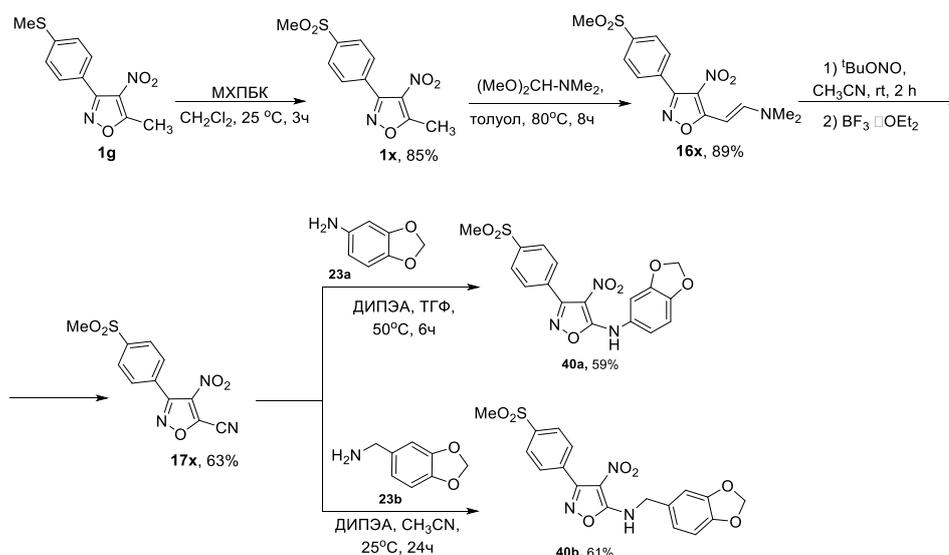


B



**Рисунок 3.74.** Расположение соединения **40a** (представлено розовой стержневой моделью) в предполагаемом сайте связывания **MSNBA** белка GLUT5 в конформации открытого внутрь клетки канала (PDB ID: 4YB9). Два предсказанных положения молекулы **MSNBA** (A – вариант связывания №1, B – вариант связывания №2) показаны серой стержневой моделью. Большинство атомов водорода опущены для удобства восприятия.

Синтез производных изоксазола **40a,b** представлен на рисунке 3.75. Целевые соединения **40a,b** были получены последовательностью стадий исходя из 4-нитроизоксазола **1g** путем окисления тиометильной группы под действием МХПБК с образованием гетероцикла **1x**. Его дальнейшее превращение в енамин **16x** и обработка енамина *трет*-бутилнитритом привели к получению соответствующего 5-цианоизоксазола **17x**, который в реакции нуклеофильного замещения цианогруппы с анилином **23a** или бензиламином **23b** давал целевые изоксазолы **40a,b**. Условия реакций нуклеофильного замещения были выбраны в соответствии с реакционной способностью аминов **23a,b** (Рисунок 3.75).



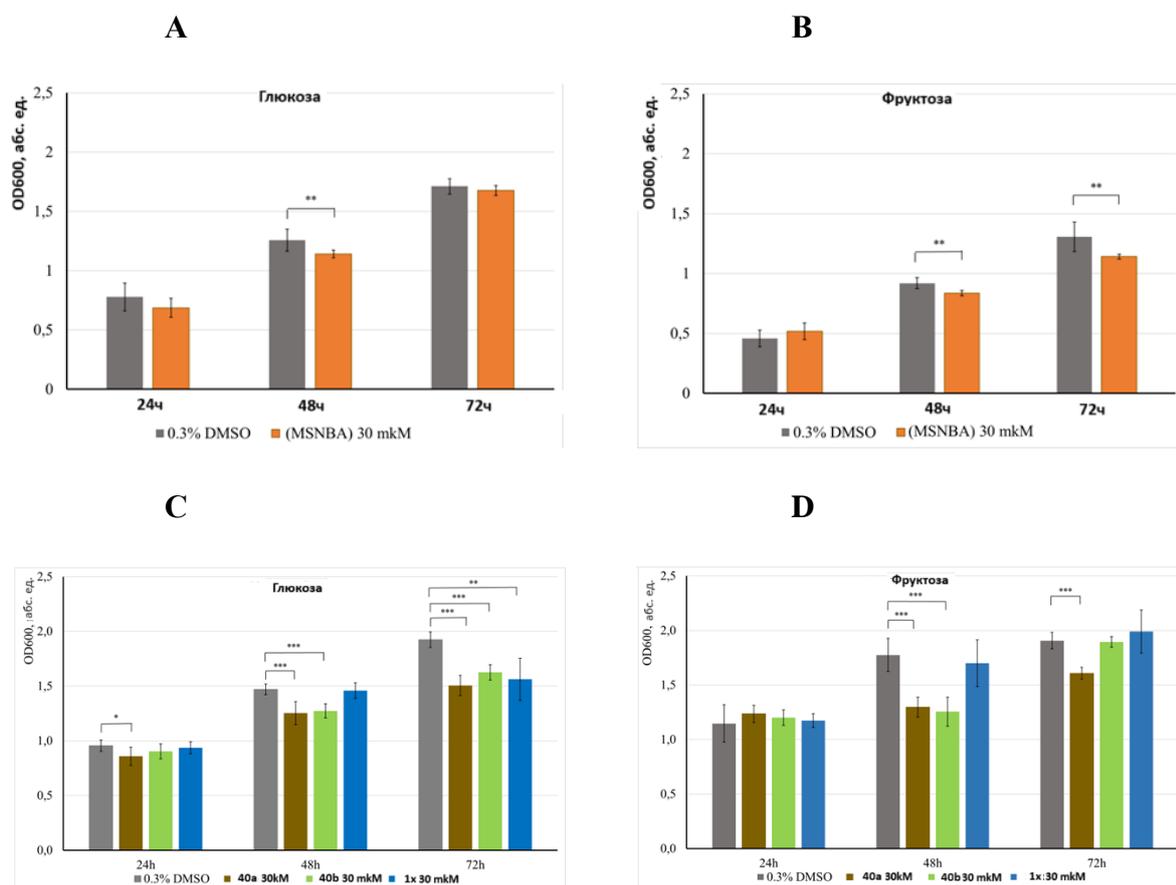
**Рисунок 3.75.** Синтез производных изоксазола **40a** и **40b**.

Первичная оценка ингибирующей активности 5-аминоизоксазолов **40a,b** на транспорт фруктозы была проведена с использованием клеток K562 (хронический миелолейкоз). При инкубации клеток этой линии в среде с дефицитом глюкозы, но в присутствии фруктозы, происходит экспрессия белка GLUT5, поэтому при ингибирование этого белка подавляется их пролиферация [159]. В качестве контроля использовали ДМСО и синтетический предшественник соединений **40a,b** – 5-метил-4-нитроизоксазол **1x**, для которого не ожидалось никакой активности из-за отсутствия в его молекуле критически важного фрагмента бензодиоксолана. Полученные результаты также сравнивались с активностью соединения-хита **MSNBA**. Недавно было показано [160], что в концентрациях менее 30 мкМ **MSNBA** не влияет на пролиферацию клеток K562 в стандартной глюкозосодержащей среде, но вызывает статистически значимое ингибирование их пролиферации в среде с фруктозой.

Согласно результатам МТТ теста<sup>16</sup>, соединения **40a** и **40b** в концентрации 30 мкМ практически не ингибируют пролиферацию клеток K562 примерно в одинаковой степени как в среде с глюкозой, так и в среде с фруктозой. Однако через 48 часов инкубации в присутствии изоксазолов **40a** и **40b** происходит подавление роста клеток K562, причем этот эффект более выражен в среде с фруктозой (Рисунок 3.76). Отметим, что активность соединения **40a** и его гомолога **40b** практически одинакова в обеих средах (и глюкозной, и фруктозной). Таким образом, низкоспецифичное действие цикловинилогов **40a,b** на пролиферацию клеток K562 отличается от действия соединения-хита **MSNBA**. Это может быть обусловлено для соединений **40a,b** как одновременным ингибированием GLUT5 наряду с другими белками семейства GLUT, так и цитотоксическим эффектом, связанным с действием на другие специфические молекулярные мишени. Первый вариант – отсутствие селективности к белкам GLUT, очевидно, является более перспективным, поскольку ограничивает круг молекулярных мишеней транспортерами GLUT. На возможность реализации данного варианта косвенно указывает тот факт, что исходный изоксазол **1x**, как и ожидалось, не ингибирующий GLUT5, не оказывал существенного влияния на пролиферацию клеток K562 в обеих средах (Рисунок 3.76). Однако для точного понимания природы ингибирующего действия на пролиферацию клеток K562 необходимы дополнительные исследования, в том числе с использованием радиоактивно меченых моносахаридов.

---

<sup>16</sup> МТТ тест был выполнен в Институте цитологии РАН к.б.н. В.И. Чубинским-Надеждиным.



**Рисунок 3.76.** Пролиферация клеток K562 в среде с глюкозой (А, С) или фруктозой (В, D) после 24, 48 и 72 ч обработки 30 мкМ MSNBA (А, В) или соединениями **40a**, **40b**, **1x** (С, D). Статистический тест ANOVA в сравнении с контролем: 0,3% ДМСО в среде ( $p < 0,05$ ). Различия в статистической значимости отмечены звездочками: \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,005$ , \*\*\* $p < 0,0005$ .

Таким образом, на основе разработанных методов функционализации изоксазольного цикла с использованием превращений с участием 4-нитро-5-цианоизоксазолов были получены новые потенциальные ингибиторы транспортеров семейства GLUT **40a,b**, представляющие интерес для дальнейших исследований.

#### 4. Экспериментальная часть

Спектры ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$  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 ( $^1\text{H}$ :  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta = 7.26$  м.д.,  $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta = 2.50$  м.д.;  $^{13}\text{C}$ :  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta = 77.16$  м.д.,  $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta = 39.52$  м.д.),  $\text{CFCl}_3$  в качестве внешнего стандарта для  $^{19}\text{F}$ . 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. Газраспылитель — азот (4 л/мин), температура интерфейса  $-180^\circ\text{C}$ .

MALDI-TOF масс-спектры регистрировали на приборе Bruker Autoflex II с применением дитранола в качестве матрицы и полиэтиленгликолей в качестве внутренних стандартов. Температуры плавления (т.п.) приведены без поправки. Контроль за ходом реакций и чистотой химических веществ осуществляли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) (Macherey-Nagel ALUGRAM SIL G/UV254.); визуализацию осуществляли при помощи УФ-лампы (254 и 365 нм) и химического проявления (5%-ный водный раствор  $\text{KMnO}_4$ ). Препаративная колоночная хроматография выполнялась с использованием силикагеля марки «Macherey-Nagel Kieselgel 60 0,04-0,063 mm/230-400 meshASTM.»

Анализ кристаллической структуры проводился на одноигльчатом рентгеновском дифрактометре Stoe STADI VARI PILATUS. Кристаллы, пригодные для рентгенографии, были выращены путем растворения образца в горячем растворителе, в котором он хорошо растворим ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{CHCl}_3$ , петролейный эфир или смесь петролейного эфира и ЭА). Полученные растворы охлаждали до комнатной температуры, и кристаллы медленно образовывались за счет концентрирования при испарении растворителя.

Все спектральные измерения проводились при комнатной температуре. Спектры в УФ и видимой области (диапазон 300–850 нм) регистрировали на спектрофотометрах Shimadzu UV-3101PC (Япония) и Agilent Cary 60 (Германия) в кварцевой кювете с оптической длиной пути равной 1 см. Флуоресцентные спектры регистрировали в кварцевой кювете размером  $1 \times 1$  см с использованием флуоресцентного спектрофотометра Hitachi F2700 (Япония) и спектрометра времени жизни флуоресценции FluoTime 300 (PicoQuant GmbH, Германия) с возбуждением от ксеноновой лампы.

Все реагенты и растворители очищали и высушивали в соответствии со стандартными методиками [179]. Исходные соединения и реагенты, если не указано иначе, были приобретены у Sigma-Aldrich, AcrosOrganics и Merck и использовались без дополнительной очистки.

В работе использовались коммерчески доступные: нафталин-1-карбальдегид, бензо-15-краун-5, бензо-18-краун-6, этиленхлоргидрин, 4-формилфенилбороновая кислота, анилин, 2-хлорэтан-1-ол, дитозилат триэтиленгликоля или (этан-1,2-диилбис(окси))бис(этан-2,1-диил)бис(4-метилбензилсульфонат), 4-метоксибензальдегид, 4-метилтиобензальдегид, бифенил-4-карбальдегид, 4-(диметиамино)бензальдегид, 2-гидроксibenзальдегид, 2-хлоро-1,1-диметоксиэтан, диэтилоксалат, 1,4,7,10-тетраокса-13-азациклопентадекан, 1,4,7,10,13-пентаокса-16-азациклооктадекан, 1,4,7,10-тетраазациклододекан, 1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан, 1-хлорацетон, бензойный альдегид, 3-метоксибензальдегид, 2-метоксибензальдегид, 3,4,5-триметоксибензальдегид, 4-хлоркарбальдегид, 4-(трифторметил)карбальдегид, 4-карбоксибензальдегид, 4-нитробензальдегид, 3-нитробензальдегид, 2-нитробензальдегид, фуран-2-карбальдегид, тиофен-2-карбальдегид, индол-3-карбальдегид, ацетилацетон, бутиральдегид, изобутиральдегид, пиколиновый альдегид, диметилацеталь диметилформамид, морфолин, н-бутиламин, бензиламин, бензо[d][1,3]диоксол-5-амин, тиофенол, 4-метоксибензен-1-тиол, 4-хлорксибензен-1-тиол, 3-метилбензойная кислота, 4-метилбензойная кислота, 4-метилбензол-1-сульфоная кислота, 3-метилбензол-1-сульфоная кислота, 4-метоксибензол-1-сульфоная кислота, нафталин-1-сульфоная кислота, 4-фторбензол-1-сульфоная кислота, бензолсульфоная кислота, 2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-6-сульфоная кислота, бензо[d][1,3]диоксол-5-илметанамин.

#### 4.1. Синтез стирилизоксазолов **5a-e**, **6a-f**

##### 4.1.1. Синтез исходных соединений

4'-Формилбензо-15-краун-5 **7a** (выход 87%) и 4'-формилбензо-18-краун-6 **7b** (выход 80%) были получены по методу [180].

4'-Бромбензо-15-краун-5 **9a** (выход 86%) 4'-бромбензо-18-краун-6 **9b** (выход 89%) были получены по методу [181].

4-(2,3,5,6,8,9,11,12-Октагидробензо[b][1,4,7,10,13]пентаоксациклопентадецин-15-ил) бензальдегид **7c** (выход 46%) и 4-(2,3,5,6,8,9,11,12,14,15-декагидробензо[b][1,4,7,10,13,16]гексаоксациклооктадецин-18-ил)бензальдегид **7d** (выход 58%) синтезировались реакцией Сузуки-Мияуры по методике [182].

2,2'-(Фенилазанэдиил)бис(этан-1-ол) **10** (выход 46%) было получено реакцией алкилирования анилина [183].

Сборку краунэфира 13-фенил-1,4,7,10-тетраокса-13-азациклопентадекан **12** (выход 65%) осуществляли по методике [184].

4-(1,4,7,10-Тетраокса-13-азациклопентадекан-13-ил)бензальдегид **7e** (выход 47%) был получен с помощью реакции Вильсмейера [116].

Макроциклические амины три-трет-бутил 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7-трикарбоксилат **14c** и три-трет-бутил 1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан-1,4,8-трикарбоксилат **14d** были получены согласно методикам [184, 185].

Амины 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7-триил триацетат **14e** и 1,4,8,11-тетраазациклотетрадекан-1,4,8-триил триацетат **14f** были синтезированы по методике [186].

Нафто[2,1-b]фуран-2-карбальдегид **4b** был получен в две стадии по литературной методике [187].

Винилкетон (E)-4-(нафталин-1-ил)бут-3-ен-2-он **2a** был получен по реакции Виттига с илидом 1-(трифенил-15-фосфаенилиден)пропан-2-он [188].

5-Метил-3-(нафталин-1-ил)-4-нитроизоксазол **1a** был получен реакцией гетероциклизации под действием трет-бутилнитрита [104].

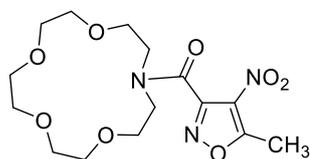
5-Метил-4-нитроизоксазол-3-карбоновая кислота была синтезирована из диэтиоксалата в ходе трехстадийного синтеза [189, 190].

5-Метил-4-нитроизоксазол-3-карбонил хлорид **15** с помощью двухстадийного синтеза [191].

#### 4.1.2. Синтез 5-метил-4-нитроизоксазолов 13a-f

Раствор хлорангидрида изоксазол-3-карбоновой кислоты **15** (0.38 г, 2.0 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 мл) по каплям добавили к смеси соответствующего макроцикла **14a-f** (1.8 ммоль) и  $\text{Et}_3\text{N}$  (0.50 мл, 0.36 г, 3.6 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (8 мл) при  $0^\circ\text{C}$  (лед-вода). Полученную смесь отогрели до комнатной температуры и перемешивали 8 часов. Затем растворитель удалили, продукт выделяли методом препаративной колоночной хроматографии на силикагеле.

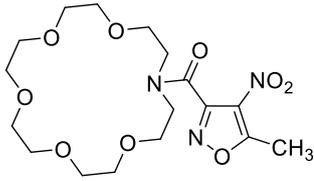
1,4,7,10-Тетраоксо-13-азациклопентадекан-13-ил(5-метил-4-нитроизоксазол-3-ил)метанон (**13a**)



Красно-оранжевое масло; выход: 91% (610 мг);  $R_f = 0.52$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH} = 15/1$ ). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.82 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.42–3.49 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.50–3.67 (м, 12H,  $6\text{CH}_2$ ), 3.68–3.74 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.74–3.80 (м, 4H,  $2\text{CH}_2$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.5 ( $\text{CH}_3$ ), 48.7 ( $\text{CH}_2$ ), 51.0 ( $\text{CH}_2$ ), 68.7 ( $\text{CH}_2$ ), 69.5 ( $\text{CH}_2$ ), 70.1 ( $\text{CH}_2$ ), 70.25 ( $\text{CH}_2$ ), 70.30 ( $\text{CH}_2$ ), 70.5 ( $\text{CH}_2$ ), 70.7 ( $\text{CH}_2$ ), 71.5 ( $\text{CH}_2$ ), 128.9 ( $\text{CNO}_2$ ), 153.4 (C), 158.9 (C), 171.4 (C)

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_8\text{Na}^+$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$ : 396.1377. Найдено: 396.1374.

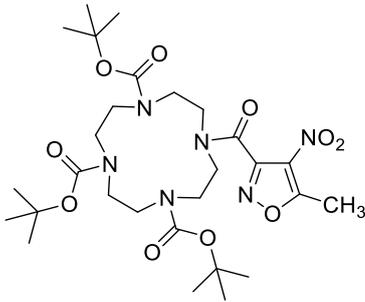
(1,4,7,10,13-Пентаоксо-16-азациклооктадекан-16-ил)(5-метил-4-нитроизоксазол-3-ил)метанон (**13b**)



Коричневое масло; выход: 80% (600 мг);  $R_f = 0.52$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH} = 15/1$ ). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.84 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.51–3.69 (м, 20H, 10 $\text{CH}_2$ ), 3.76–3.86 (м, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.6 ( $\text{CH}_3$ ), 46.6 ( $\text{CH}_2$ ), 49.9 ( $\text{CH}_2$ ), 69.2 ( $\text{CH}_2$ ), 69.4 ( $\text{CH}_2$ ), 70.48 ( $\text{CH}_2$ ), 70.56 ( $\text{CH}_2$ ), 70.58 ( $\text{CH}_2$ ), 70.69 (2 $\text{CH}_2$ ), 70.75 (2 $\text{CH}_2$ ), 70.84 ( $\text{CH}_2$ ), 129.0 ( $\text{CNO}_2$ ), 153.5 (C), 158.8 (C), 171.5 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_9\text{Na}^+$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$ : 440.1640. Найдено: 440.1635.

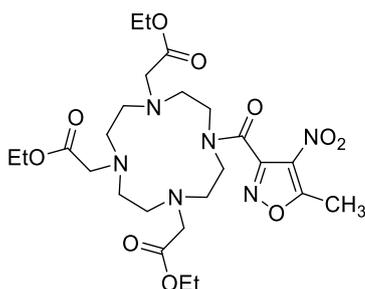
Три-трет-бутил 10-(5-метил-4-нитроизоксазол-3-карбонил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7-трикарбоксилат (**13c**)



Светло-оранжевые кристаллы; выход: 86% (970 мг);  $T_{\text{пл}} = 142\text{--}144^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.23$  (ПЭ /ЭА = 2/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.36 (уш.с, 9H, 3 $\text{CH}_3$ ), 1.46 (с, 9H, 3 $\text{CH}_3$ ), 1.49 (с, 9H, 3 $\text{CH}_3$ ), 2.84 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.23–3.96 (м, 16H, 8 $\text{CH}_2$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.5 ( $\text{CH}_3$ ), 28.3 (3 $\text{CH}_3$ ), 28.5 (3 $\text{CH}_3$ ), 28.6 (3 $\text{CH}_3$ ), 49.7 (2 $\text{CH}_2$ ), 50.3 (2 $\text{CH}_2$ ), 51.2 (2 $\text{CH}_2$ ), 51.7 (2 $\text{CH}_2$ ), 80.1 (C), 80.4 (уш.с, C), 80.9 (C), 128.6 (C- $\text{NO}_2$ ), 153.4 (C), 155.4 (C), 157.2 (уш. с, 3COO), 171.4 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{28}\text{H}_{47}\text{N}_6\text{O}_{10}^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 627.3348. Найдено: 627.3337.

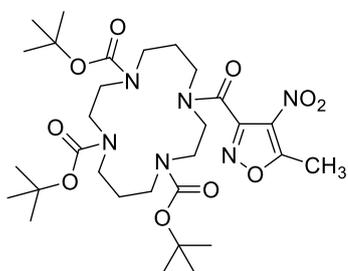
Триэтил 2,2',2''-(10-(5-метил-4-нитроизоксазол-3-карбонил)-1,4,7,10-тетраазацикло-  
додекан-1,4,7-триил)триацетат (**13d**)



Коричневое масло, выход: 80% (840 мг);  $R_f = 0.29$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH} = 20/1$ ). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.19–1.25 (м, 9H,  $3\text{CH}_3$ ), 2.64–2.72 (м, 4H,  $2\text{CH}_2$ ), 2.72–2.78 (м, 4H,  $2\text{CH}_2$ ), 2.83 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.83–2.88 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.05–3.11 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.25 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.36 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.47 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.73–3.79 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.81–3.86 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.04–4.14 (м, 6H,  $3\text{CH}_2\text{O}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.6 ( $\text{CH}_3$ ), 14.3 ( $\text{CH}_3$ ), 14.4 ( $2\text{CH}_3$ ), 45.0 ( $\text{CH}_2$ ), 48.5 ( $\text{CH}_2$ ), 51.7 ( $\text{CH}_2$ ), 52.6 ( $\text{CH}_2$ ), 53.0 ( $\text{CH}_2$ ), 53.5 ( $\text{CH}_2$ ), 53.8 ( $\text{CH}_2$ ), 54.3 ( $\text{CH}_2$ ), 55.5 ( $\text{CH}_2$ ), 56.7 ( $\text{CH}_2$ ), 58.1 ( $\text{CH}_2$ ), 60.33 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 60.35 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 60.5 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 128.8 (C- $\text{NO}_2$ ), 153.7 (C), 158.4 (C), 171.2 (C), 171.3 (C), 171.5 (C), 171.7 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{N}_6\text{O}_{10}^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 585.2879. Найдено: 585.2894.

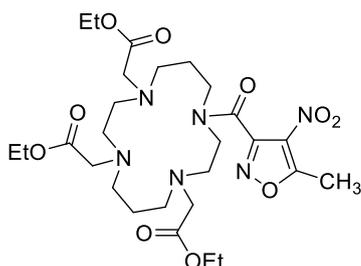
Три-трет-бутил 11-(5-метил-4-нитроизоксазол-3-карбонил)-1,4,8,11-тетраазацикло-  
тетрадекан-1,4,8-трикарбоксилат (**13e**)



Светло-оранжевые кристаллы, выход: 84% (990 мг);  $T_{\text{пл}} = 97\text{--}98^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.57$  (ПЭ/ЭА = 2/3). В спектре ЯМР представлены два ротамера в соотношении **A**:**B** = 57:43. В спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  невозможно определить, какому из ротамеров принадлежат сигналы из-за уширения линий, здесь приведена последовательность наблюдаемых сигналов. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.34 (уш.с., 9H,  $3\text{CH}_3$ , **A**), 1.42 (с, 9H,  $3\text{CH}_3$ , **B**), 1.44 (с, 9H,  $3\text{CH}_3$ , **A**), 1.45 (с, 9H,  $3\text{CH}_3$ , **B**), 1.44 (с, 9H,  $3\text{CH}_3$ , **A**), 1.48 (с, 9H,  $3\text{CH}_3$ , **B**), 1.70–1.96 (м, 4H+4H,  $2\text{CH}_2$ , **A** и **B**), 2.84 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ , **A**), 2.86 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ , **B**), 3.19–3.56 (м, 14H+14H,  $7\text{CH}_2$ , **A** и **B**), 3.66–3.76 (м, 2H+2H,  $\text{CH}_2$ , **A** и **B**). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [13.5 (уш.с.), 13.6 ( $\text{CH}_3$ )], [28.3, 28.5, 28.5, 28.6 ( $9\text{CH}_3$ )], 46.5 (уш.с.,  $5\text{CH}_2$ ), 48.1 (уш.с.,  $5\text{CH}_2$ ), 80.06 (C), 80.11 (C), 80.3 (C), 128.7 (C- $\text{NO}_2$ ), [153.2, 153.3 (C)], [155.4, 155.8 (C)], 156.1 (уш.с.,  $3\text{COO}$ ), 171.7 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{30}\text{H}_{51}\text{N}_6\text{O}_{10}^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 655.3661. Найдено: 655.3660.

Триэтил 2,2',2''-(11-(5-метил-4-нитроизоксазол-3-карбонил)-1,4,8,11-тетраазабициклотетрадекан-1,4,8-триил)триацетат (**13f**)



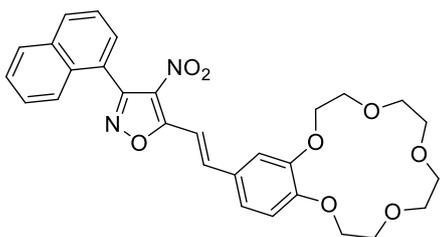
Оранжевое масло, выход: 81% (890 мг);  $R_f = 0.2$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 40/1$ ). В спектре ЯМР представлены два ротамера в соотношении **A**:**B** = 54:46. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.19–1.27 (м, 9H+9H, 3CH<sub>3</sub>, **A** и **B**), 1.45–1.59 (м, 4H, 2CH<sub>2</sub>, **A**), 1.60–1.68 (м, 2H, CH<sub>2</sub>, **B**), 1.84–1.93 (м, 2H, CH<sub>2</sub>, **A**), 2.54–2.59 (м, 2H, CH<sub>2</sub>, **B**), 2.59–2.77 (м, 10H+10H, 5CH<sub>2</sub>, **A** и **B**), 2.84 (с, 3H, CH<sub>3</sub>, **B**), 2.85 (с, 3H, CH<sub>3</sub>, **A**), 2.98–3.03 (м, 2H, CH<sub>2</sub>, **B**), 3.22 (с, 2H, CH<sub>2</sub>, **A**), 3.28 (с, 2H, CH<sub>2</sub>, **A**), 3.29 (с, 2H, CH<sub>2</sub>, **B**), 3.37 (с, 2H, CH<sub>2</sub>, **B**), 3.38–3.42 (м, 2H, CH<sub>2</sub>, **B**), 3.42 (с, 2H, CH<sub>2</sub>, **B**), 3.43 (с, 2H, CH<sub>2</sub>, **A**), 3.44–3.51 (м, 2H, CH<sub>2</sub>, **A**), 3.63–3.68 (м, 2H, CH<sub>2</sub>, **B**), 3.68–3.73 (м, 2H, CH<sub>2</sub>, **A**), 4.04–4.15 (м, 6H+6H, 3CH<sub>2</sub>O, **A** и **B**). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.6 (CH<sub>3</sub>, **A** и **B**), [14.29, 14.36, 14.40] (3CH<sub>3</sub>, **A** и **B**), 24.9 (CH<sub>2</sub>, **A**), 25.5 (CH<sub>2</sub>, **A**), 25.9 (CH<sub>2</sub>, **A**), 27.4 (CH<sub>2</sub>, **B**), 43.8 (CH<sub>2</sub>, **A**), 44.8 (CH<sub>2</sub>, **B**), 47.6 (CH<sub>2</sub>, **B**), 48.1 (CH<sub>2</sub>, **B**), 51.2 (CH<sub>2</sub>, **B**), 53.5 (CH<sub>2</sub>, **A**), 53.9 (CH<sub>2</sub>, **B**), 54.5 (CH<sub>2</sub>, **B**), 54.6 (CH<sub>2</sub>, **A**), 55.1 (CH<sub>2</sub>, **B**), 56.2 (CH<sub>2</sub>, **B**), 56.5 (CH<sub>2</sub>, **A**), [49.6, 50.1, 50.5, 50.68, 50.70, 50.9, 51.0, 52.3, 52.4, 56.6 (5CH<sub>2</sub>, **A** и **B**), [60.23, 60.28, 60.31, 60.4 (3CH<sub>2</sub>O, **A** и **B**), [128.7, 128.8 (CNO<sub>2</sub>, **A** и **B**), [153.58, 153.60 (C, **A** и **B**), [158.2, 158.4 (C, **A** и **B**), [171.3, 171.39, 171.42, 171.5, 171.6 (C + 3COO<sup>-</sup>) **A** и **B**].

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{N}_6\text{O}_{10}^+$  [ $\text{M} + \text{H}$ ]<sup>+</sup>: 613.3192. Найдено: 613.3193.

#### 4.2.3. Синтез стирлизоксазолов 3с-е, 5а-е, 6а-ф

К раствору соответствующего 4-нитроизоксазола (0.6 ммоль) в EtOH (3 мл) добавили ароматические альдегиды **7а-е** или **4с-е** (0.6 ммоль) и несколько капель пиперидина. Полученную смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч или при 25°C в течение 24 ч. Образовавшийся неочищенный осадок отфильтровывали и промывали холодным EtOH, далее осадок очищали методом препаративной колоночной хроматографии на силикагеле [192].

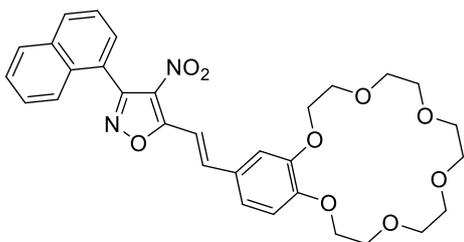
(*E*)-3-(нафтил-1-ил)-4-нитро-5-(2-(2,3,5,6,8,9,11,12-октагидробензо[*b*][1,4,7,10,13]пентаоксациклопентадецин-15-ил)винил)изоксазол (**5a**)



**5a** был получен из 4-нитроизоксазола **1a** и макроциклического ароматического альдегида **7a**. Желто-оранжевые кристаллы, выход: 52% (166 мг);  $T_{пл} = 164\text{--}165^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.41$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 10/1$ ). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.73–3.83 (м, 8H,  $4\text{CH}_2$ ), 3.89–3.98 (м, 4H,  $2\text{CH}_2$ ), 4.16–4.25 (м, 4H,  $2\text{CH}_2$ ), 6.90 (д,  $^3J = 8.2$  Гц, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.20 (д,  $^4J = 1.8$  Гц, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.26 (дд,  $^3J = 8.2$  Гц,  $^4J = 1.8$  Гц, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.46–7.66 (м, 6H,  $5\text{CH}(\text{Ar}) + \text{CH}=\text{)$ , 7.85 (д,  $^3J = 16.5$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{)$ , 7.91–7.96 (м, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.99–8.06 (м, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ); Спектры ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  68.8 ( $\text{CH}_2$ ), 69.3 ( $2\text{CH}_2$ ), 69.5 ( $\text{CH}_2$ ), 70.4 ( $\text{CH}_2$ ), 70.5 ( $\text{CH}_2$ ), 71.2 ( $\text{CH}_2$ ), 71.3 ( $\text{CH}_2$ ), 108.6 ( $\text{CH}=\text{)$ , 112.7 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 113.1 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 124.0 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 124.2 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 124.5 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 125.1 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 126.5 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 127.3 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 127.7 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 127.8 ( $\text{CNO}_2$ ), 128.2 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 128.7 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 131.0 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 131.6 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 133.4 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 143.7 ( $\text{CH}=\text{)$ , 149.5 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 152.5 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 157.9 (C), 168.0 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}^+ [\text{M} + \text{Na}]^+$ : 555.1738. Найдено: 555.1733.

(*E*)-5-(2-(2,3,5,6,8,9,11,12,14,15-Декагидробензо[*b*][1,4,7,10,13,16]гексаоксациклооктадецин-18-ил)винил)-3-(нафтил-1-ил)-4-нитроизоксазол (**5b**)

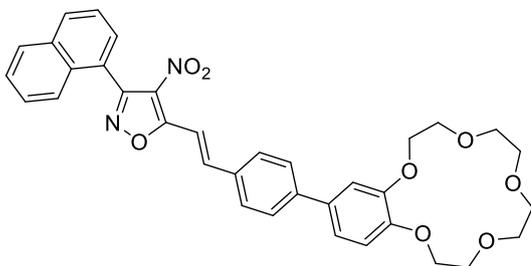


**5b** был получены из 4-нитроизоксазола **1a** и макроциклического ароматического альдегида **7b**. Желто-оранжевые кристаллы, выход: 33% (114 мг);  $T_{пл} = 136\text{--}137^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.22$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 20/1$ ). Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.67–3.71 (м, 4H,  $2\text{CH}_2$ ), 3.71–3.76 (м, 4H,  $2\text{CH}_2$ ), 3.77–3.82 (м, 4H,  $2\text{CH}_2$ ), 3.94–4.01 (м, 4H,  $2\text{CH}_2$ ), 4.21–4.29 (м, 4H,  $2\text{CH}_2$ ), 6.93 (д,  $^3J = 8.3$  Гц, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.23 (д,  $^4J = 2.0$  Гц, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.28 (дд,  $^3J = 8.3$  Гц,  $^4J = 2.0$  Гц, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 7.47–7.65 (м, 6H,  $5\text{CH}(\text{Ar}) + \text{CH}=\text{)$ , 7.87 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{)$ , 7.92–7.96 (м, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 8.02–8.06 (м, 1H,  $\text{CH}(\text{Ar})$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  69.0 ( $\text{CH}_2$ ), 69.5 ( $2\text{CH}_2$ ), 69.6 ( $\text{CH}_2$ ), 70.80 ( $2\text{CH}_2$ ), 70.82 ( $\text{CH}_2$ ), 70.9 ( $\text{CH}_2$ ), 71.02 ( $\text{CH}_2$ ), 71.05 ( $\text{CH}_2$ ), 108.7 ( $\text{CH}=\text{)$ , 112.8 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 113.3 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 124.0 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 124.1 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 124.6 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 125.1 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 126.5 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 127.3 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 127.8 ( $\text{C}(\text{Ar})$ ), 127.9 ( $\text{CNO}_2$ ), 128.2 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ), 128.7 ( $\text{CH}(\text{Ar})$ ),

131.0 (CH(Ar)), 131.6 (C(Ar)), 133.4 (C(Ar)), 143.7 (CH=), 149.4 (C(Ar)), 152.3 (C(Ar)), 157.9 (C), 168.0 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $C_{31}H_{32}N_2O_9K^+$   $[M + K]^+$ : 615.1739. Найдено: 615.1736.

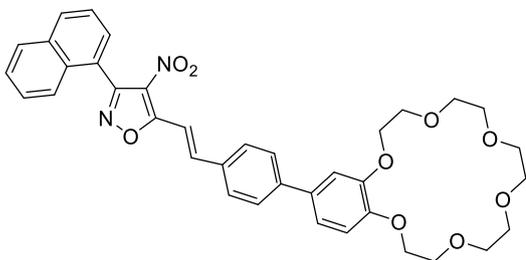
(*E*)-3-(Нафтил-1-ил)-4-нитро-5-(4-(2,3,5,6,8,9,11,12-октагидробензо [b][1,4,7,10,13] пентаоксациклопентадецин-15-ил)стирил)изоксазол (**5c**)



**5c** был получен из 4-нитроизоксазола **1a** и макроциклического ароматического альдегида **7c**. Оранжевые кристаллы, выход: 33% (121 мг);  $T_{пл} = 165-166^\circ C$ ;  $R_f = 0.10$  ( $CHCl_3/MeOH = 20/1$ ). Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.73–3.85 (м, 8H, 4CH<sub>2</sub>), 3.90–4.00 (м, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 4.16–4.28 (м, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 6.97 (д,  $^3J = 8.3$  Гц, 1H, CH(Ar)), 7.18 (д,  $^4J = 2.1$  Гц, 1H, CH(Ar)), 7.22 (дд,  $^3J = 8.3$  Гц,  $^4J = 2.1$  Гц, 1H, CH(Ar)), 7.47–7.69 (м, 7H, 7CH(Ar)), 7.73–7.78 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.81 (д,  $^3J = 16.5$  Гц, 1H, CH=), 7.93–7.98 (м, 1H, CH(Ar)), 7.97 (д,  $^3J = 16.5$  Гц, 1H, CH=), 8.02–8.07 (м, 1H, CH(Ar)). Спектры ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  69.1 (CH<sub>2</sub>), 69.5 (CH<sub>2</sub>), 69.65 (CH<sub>2</sub>), 69.73 (CH<sub>2</sub>), 70.6 (CH<sub>2</sub>), 70.7 (CH<sub>2</sub>), 71.2 (CH<sub>2</sub>), 71.3 (CH<sub>2</sub>), 110.5 (CH=), 113.3 (CH(Ar)), 114.2 (CH(Ar)), 120.4 (CH(Ar)), 123.9 (C(Ar)), 124.5 (CH(Ar)), 125.1 (CH(Ar)), 126.6 (CH(Ar)), 127.3 (CH(Ar)), 127.5 (2CH(Ar)), 128.27 (CH(Ar)), 128.34 (CNO<sub>2</sub>), 128.8 (CH(Ar)), 129.2 (2CH(Ar)), 131.1 (CH(Ar)), 131.6 (C(Ar)), 133.0 (C(Ar)), 133.2 (C(Ar)), 133.5 (C(Ar)), 143.3 (CH=), 143.9 (C(Ar)), 149.6 (C(Ar)), 149.7 (C(Ar)), 158.0 (C), 167.8 (C).

MALDI-TOF рассчитано для  $C_{35}H_{32}N_2NaO_8^+$   $[M+Na]^+$ : 631.2051. Найдено: 631.2104.

(*E*)-5-(4-(2,3,5,6,8,9,11,12,14,15-Декагидробензо [b][1,4,7,10,13,16] гексаоксациклооктадецин-18-ил)стирил)-3-(нафтил-1-ил)-4-нитроизоксазол (**5d**)

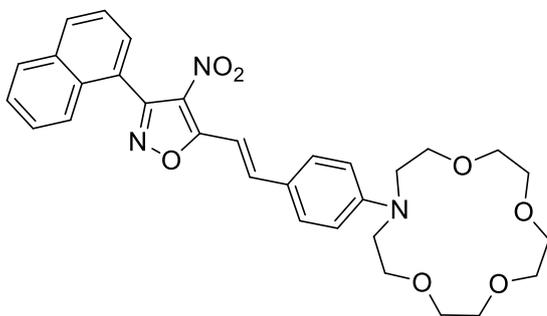


**5d** был получен из 4-нитроизоксазола **1a** и макроциклического ароматического альдегида **7d**. Оранжевые кристаллы, выход: 46% (180 мг),  $T_{пл} = 133-134^\circ C$ ;  $R_f = 0.21$  ( $CHCl_3/MeOH = 15/1$ ). Спектр ЯМР  $^1H$  NMR (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.66–3.71 (м, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 3.71–3.76 (м, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 3.76–3.82 (м, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 3.93–3.99 (м, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 4.19–4.28 (м, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 6.97 (д,  $^3J = 8.3$  Гц, 1H, CH(Ar)), 7.18 (д,  $^4J = 2.1$  Гц, 1H, CH(Ar)), 7.21 (дд,  $^3J = 8.3$  Гц,  $^4J = 2.0$

Гц, 1H, CH(Ar)), 7.47–7.67 (м, 7H, 7CH(Ar)), 7.71–7.73 (м, 2H, 2CH(Ar)), 7.78 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=), 7.92–7.96 (м, 1H, CH(Ar)), 7.95 (д,  $^3J = 16.4$  Гц, 1H, CH=), 8.01–8.05 (м, 1H, CH(Ar)). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  69.1 ( $\text{CH}_2$ ), 69.4 ( $\text{CH}_2$ ), 69.6 ( $\text{CH}_2$ ), 69.7 ( $\text{CH}_2$ ), 70.80 ( $2\text{CH}_2$ ), 70.82 ( $2\text{CH}_2$ ), 70.9 ( $2\text{CH}_2$ ), 110.4 (CH=), 113.2 (CH(Ar)), 114.2 (CH(Ar)), 120.3 (CH(Ar), 123.8 (C(Ar)), 124.5 (CH(Ar)), 125.0 (CH(Ar)), 126.5 (CH(Ar)), 127.3 (CH(Ar)), 127.4 ( $2\text{CH(Ar)}$ ), 128.23 (CH(Ar), 128.26 (CNO<sub>2</sub>), 128.7 (CH(Ar)), 129.1 ( $2\text{CH(Ar)}$ ), 131.0 (CH(Ar)), 131.6 (C(Ar)), 132.9 (C(Ar)), 133.1 (C(Ar)), 133.4 (C(Ar)), 143.2 (CH=), 143.7 (C(Ar)), 149.3 (C(Ar)), 149.5 (C(Ar)), 157.9 (C), 167.7 (C).

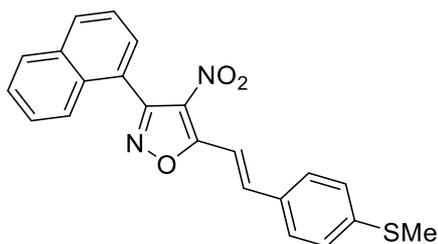
MALDI-TOF рассчитан для  $\text{C}_{37}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{NaO}_9^+$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 675.2313. Найдено 675.2296.

(*E*)-13-(4-(2-(3-(Нафтил-1-ил)-4-нитроизоксазол-5-ил)винил)фенил)-1,4,7,10-тетраокса-13-азациклопентадекан (**5e**)



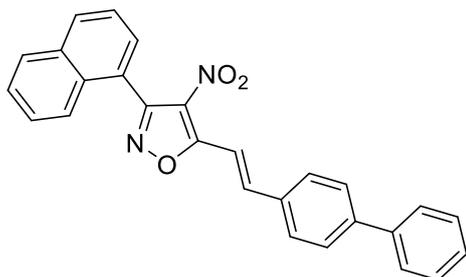
**5e** был получен из 4-нитроизоксазола **1a** и макроциклического ароматического альдегида **7e**. Красные кристаллы, выход: 265 мг, 79% (265 мг);  $T_{\text{пл}} = 201\text{--}203^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.43$  ( $\text{CHCl}_3/\text{ЭА} = 1/1$ ). Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.64 (с, 4H,  $2\text{CH}_2$ , краун-эфир), 3.66–3.72 (м, 12H,  $6\text{CH}_2$ , краун-эфир), 3.78–3.84 (м, 4H,  $2\text{CH}_2$ , краун-эфир), 6.70–6.76 (м, 2H,  $2\text{CH(Ar)}$ ), 7.46–7.63 (м, 7H,  $6\text{CH(Ar)}+\text{CH=}$ ), 7.64–7.68 (м, 1H, CH(Ar)), 7.88 (д,  $^3J = 16.2$  Гц, 1H, CH=), 7.91–7.96 (м, 1H, CH(Ar)), 8.00–8.04 (м, 1H, CH(Ar)). Спектры ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  53.0 ( $2\text{CH}_2$ ), 68.4 ( $2\text{CH}_2$ ), 70.2 ( $2\text{CH}_2$ ), 70.5 ( $2\text{CH}_2$ ), 71.5 ( $2\text{CH}_2$ ), 105.2 (CH=), 112.0 ( $2\text{CH(Ar)}$ ), 122.5 (C(Ar)), 124.5 (C(Ar), 124.8 (CH(Ar)), 125.1 (CH(Ar)), 126.5 (CH(Ar)), 126.9 (C-NO<sub>2</sub>), 127.2 (CH(Ar)), 128.1 (CH(Ar)), 128.7 (CH(Ar)), 130.8 (CH(Ar)), 131.1 ( $2\text{CH(Ar)}$ ), 131.8 (C(Ar)), 133.5 (C(Ar)), 144.5 (CH=), 150.5 (C(Ar)), 157.9 (C, изоксазол), 168.8 (C, изоксазол).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитан для  $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_7^+$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 560.2391. Найдено 560.2382.

*(E)*-5-(4-(Метилтио)стирил)-3-(нафталин-1-ил)-4-нитроизоксазол (**3c**)

**3c** был получен из 4-нитроизоксазола **1a** и 4-метилтиобензальдегида **4c**. Желтые кристаллы; выход: 57 мг (74 %);  $T_{пл} = 209\text{--}211^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H NMR}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.55 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{S}$ ), 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));  $^{13}\text{C NMR}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  15.2 ( $\text{CH}_3\text{S}$ ), 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).

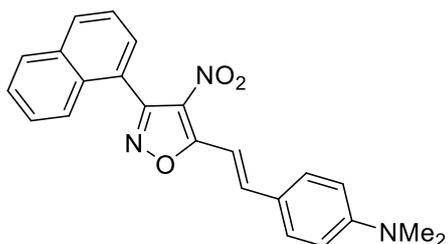
HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{SNa}^+ [\text{M}+\text{Na}]^+$ : 411.0774; найдено 411.0769

*(E)*-5-(2-([1,1'-Бифенил]-4-ил)винил)-3-(нафтил-1-ил)-4-нитроизоксазол (**3d**)

**3d** был синтезирован из 4-нитроизоксазола **1a** и бифенил-4-карбальдегида **4d**. Оранжевые кристаллы, выход: 96% (241 мг);  $T_{пл} = 212\text{--}215^\circ\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.39–7.46 (м, 1H, CH), 7.47–7.70 (м, 9H, 9CH), 7.70–7.76 (м, 2H, 2CH), 7.77–7.82 (м, 2H, 2CH), 7.84 (д,  $^3J=16.5$  Гц, 1H, CH=), 7.94–7.99 (м, H, CH), 8.00 (д,  $^3J=16.5$  Гц, 1H, CH=), 8.03–8.09 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  110.8 (CH=), 123.8 (C), 124.5 (CH), 125.1 (CH), 126.6 (CH), 127.2 (2CH), 127.4 (CH), 128.0 (2CH), 128.3 (2CH), 128.4 (C-NO<sub>2</sub>), 128.8 (CH), 129.1 (2CH), 129.2 (2CH), 131.1 (CH), 131.6 (C), 133.5 (2C), 140.0 (C), 143.2 (CH=), 144.1 (C), 158.0 (C), 167.7 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитан для  $\text{C}_{27}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3^+ [\text{M}+\text{H}]^+$ : 419.1391. Найдено: 419.1390.

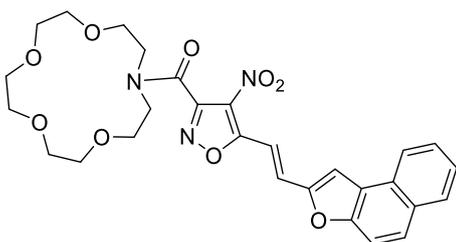
(*E*)-*N,N*-Диметил-4-(2-(3-(нафтил-1-ил)-4-нитроизоксазол-5-ил)винил)анилин (**3e**)



**3e** был получен из 4-нитроизоксазола **1a** и 4-(диметиламино)бензальдегида **4e**. Красные кристаллы, выход: 82% (190 мг);  $T_{\text{пл}} = 207\text{--}209^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.33$  (ПЭ/ЭА = 4/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.09 (с, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 6.71-6.77 (м, 2H, 2CH), 7.46-7.70 (м, 8H, 8CH), 7.90 (д,  $^3J=16.4$  Гц, 1H, CH=), 7.93-7.96 (м, 1H, CH), 8.01-8.05 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  40.3 (2CH<sub>3</sub>), 105.2 (CH=), 112.0 (2CH), 122.4 (C), 124.5 (C), 124.7 (CH), 125.1 (CH), 126.5 (CH), 126.9 (C-NO<sub>2</sub>), 127.2 (CH), 128.1 (CH), 128.7 (CH), 130.8 (CH), 130.9 (2CH), 131.8 (C), 133.5 (C), 144.7 (CH=), 152.6 (C), 157.9 (C), 168.8 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_3^+ [\text{M}+\text{H}]^+$ : 386.1500. Найдено: 386.1499.

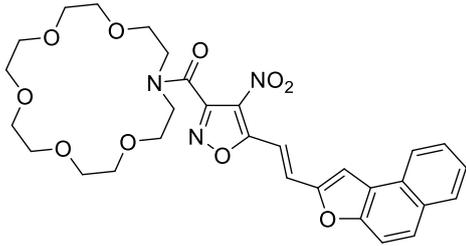
(*E*)-(1,4,7,10-Тетраокса-13-азациклопентадекан-13-ил)(5-(2-(нафто[2,1-*b*]фуран-2-ил)винил)-4-нитроизоксазол-3-ил)метанон (**6a**)



**6a** был получен из 4-нитроизоксазола **13a** и нафто[2,1-*b*]фуран-2-карбальдегида **4b**. Оранжевые кристаллы, выход: 61% (202 мг);  $T_{\text{пл}} = 173\text{--}175^\circ\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  NMR (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.52-3.72 (м, 14H, 7CH<sub>2</sub>), 3.76-3.82 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.83-3.90 (м, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 7.48-7.55 (м, 2H, 2CH), 7.58-7.68 (м, 4H, 2CH + 2CH=), 7.80-7.86 (м, 1H, CH), 7.90-7.95 (м, 1H, CH), 8.07-8.12 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  NMR (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  48.9 (CH<sub>2</sub>), 51.2 (CH<sub>2</sub>), 68.8 (CH<sub>2</sub>), 69.6 (CH<sub>2</sub>), 70.2 (CH<sub>2</sub>), 70.3 (CH<sub>2</sub>), 70.4 (CH<sub>2</sub>), 70.6 (CH<sub>2</sub>), 70.7 (CH<sub>2</sub>), 71.6 (CH<sub>2</sub>), 109.0 (CH=), 112.3 (CH), 112.8 (CH), 123.5 (CH), 124.4 (C), 125.6 (CH), 126.5 (CNO<sub>2</sub>), 127.4 (CH), 127.5 (C), 129.1 (CH), 129.3 (CH), 129.6 (CH=), 130.8 (C), 151.6 (C), 154.1 (C), 154.6 (C), 159.0 (C), 166.1 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{28}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_9\text{Na}^+ [\text{M}+\text{Na}]^+$ : 574.1796. Найдено: 574.1788.

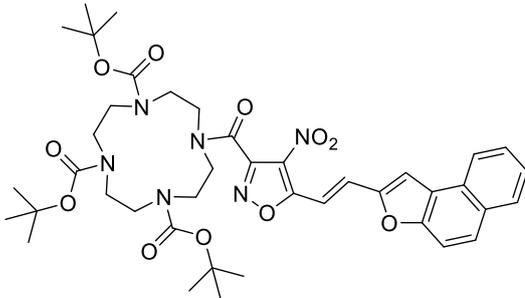
(*E*)-(1,4,7,10,13-Пентаокса-16-азициклооктадекан-16-ил)(5-(2-(нафто[2,1-*b*]фуран-2-ил)винил)-4-нитроизоксазол-3-ил)метанон (**6b**)



**6b** был получен из 4-нитроизоксазола **13b** и нафто[2,1-*b*]фуран-2-карбальдегида **4b**. Оранжевые кристаллы, выход: 50% (179 мг);  $T_{пл} = 179\text{--}180^\circ\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.55–3.75 (м, 20H, 10 $\text{CH}_2$ ), 3.80–3.94 (м, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ), 7.54 (ддд,  $^3J = 8.1$ ,  $^3J = 6.9$ ,  $^3J = 1.2$ , Гц, 1H, CH), 7.57 (д,  $^5J = 0.9$ , Гц, 1H, CH, фуран), 7.63 (ддд,  $^3J = 8.1$ ,  $^3J = 6.9$ ,  $^3J = 1.3$ , Гц, 1H, CH), 7.67 (дд,  $^3J = 9.0$ ,  $^5J = 0.9$ , Гц, 1H, CH), 7.69 (д,  $^3J = 16.0$  Гц, 1H, CH=), 7.70 (д,  $^3J = 16.0$  Гц, 1H, CH=), 7.86 (д,  $^3J = 9.0$ , 1H, CH), 7.95 (д,  $^3J = 8.1$ , 1H, CH), 8.13 (уш. д,  $^3J = 8.1$ , 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  46.7 ( $\text{CH}_2$ ), 50.0 ( $\text{CH}_2$ ), 69.35 ( $\text{CH}_2$ ), 69.43 ( $\text{CH}_2$ ), 70.60 (2 $\text{CH}_2$ ), 70.62 ( $\text{CH}_2$ ), 70.70 ( $\text{CH}_2$ ), 70.74 ( $\text{CH}_2$ ), 70.8 (2 $\text{CH}_2$ ), 70.9 ( $\text{CH}_2$ ), 109.1 (CH=), 112.3 (CH), 112.9 (CH, Fur), 123.5 (CH), 124.5 (C), 125.6 (CH), 126.6 (CNO $_2$ ), 127.5 (CH), 127.6 (C), 129.2 (CH), 129.4 (CH), 129.7 (CH=), 130.6 (C), 151.7 (C), 154.2 (C), 154.7 (C), 158.9 (C), 166.2 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{Na}^+$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ : 618.2058. Найдено: 618.2051.

Три-трет-бутил (*E*)-10-(5-(2-(нафто[2,1-*b*]фуран-2-ил)винил)-4-нитроизоксазол-3-карбонил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7-трикарбоксилат (**6c**)

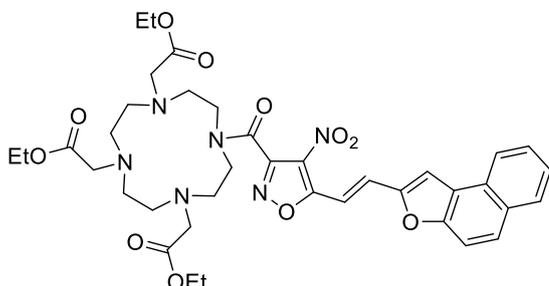


**6c** был получен из 4-нитроизоксазола **13c** и нафто[2,1-*b*]фуран-2-карбальдегида **4b**. Оранжевые кристаллы, выход: 68% (328 мг);  $T_{пл} = 150\text{--}152^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.35$  (ПЭ/ЭА = 8/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.36 (уш.с, 9H, 3 $\text{CH}_3$ ), 1.47 (с, 9H, 3 $\text{CH}_3$ ), 1.51 (с, 9H, 3 $\text{CH}_3$ ), 3.22–3.92 (м, 16H, 8 $\text{CH}_2$ ), 7.54 (ддд,  $^3J = 8.1$ ,  $^3J = 7.0$ ,  $^3J = 1.2$ , Гц, 1H, CH), 7.57 (с, 1H, CH), 7.63 (ддд,  $^3J = 8.1$ ,  $^3J = 7.0$ ,  $^3J = 1.2$ , Гц, 1H, CH), 7.64–7.71 (м, 3H, 2CH + 2CH=), 7.86 (д,  $^3J = 9.1$ , Гц, 1H, CH), 7.94 (уш. д,  $^3J = 8.1$ , 1H, CH), 8.12 (уш. д,  $^3J = 8.1$ , 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  28.4 (3 $\text{CH}_3$ ), 28.5 (3 $\text{CH}_3$ ), 28.6 (3 $\text{CH}_3$ ), 49.8 (2 $\text{CH}_2$ ), 50.4 (2 $\text{CH}_2$ ), 51.3 (2 $\text{CH}_2$ ), 51.8 (2 $\text{CH}_2$ ), 80.2 (C), 80.5 (C), 81.0 (C), 108.9 (CH=), 112.3 (CH), 113.1 (CH), 123.5 (CH), 124.4 (C),

125.7 (CH), 126.1 (CNO<sub>2</sub>), 127.5 (CH), 127.6 (C), 129.1 (CH), 129.5 (CH), 129.7 (CH=), 130.8 (C), 151.6 (C), 154.0 (C), 154.8 (C), 155.4 (C), 157.3 (3COO), 166.2 (C).

HRMS-ESI *m/z* рассчитано для C<sub>41</sub>H<sub>53</sub>N<sub>6</sub>O<sub>11</sub><sup>+</sup>[M+H]<sup>+</sup>: 805.3767. Найдено: 805.3759.

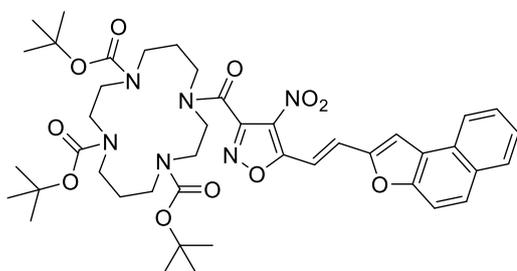
*Триэтил* 2,2',2''-(10-(5-(2-(нафто[2,1-*b*]фуран-2-ил)винил)-4-нитроизоксазол-3-карбонил)-1,4,7,10-тетрациклододекан-1,4,7-триил)(*E*)-триацетат (**6d**)



**6d** был получен из 4-нитроизоксазола **13d** и нафто[2,1-*b*]фуран-2-карбальдегида **4b**. Оранжевые кристаллы, выход: 62% (284 мг); *T*<sub>пл</sub> = 142–144°C; *R*<sub>f</sub> = 0.48 (CHCl<sub>3</sub>/MeOH = 20/1). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.17–1.32 (м, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 2.67–2.85 (м, 8H, 4CH<sub>2</sub>), 2.88–2.98 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.10–3.19 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.31 (с, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.39 (с, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.53 (с, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.78–3.87 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.87–3.96 (м, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.05–4.19 (м, 6H, 3CH<sub>2</sub>), 7.48–7.56 (м, 2H, 2CH), 7.58–7.70 (м, 4H, 2CH + 2CH=), 7.83 (д, <sup>3</sup>*J* = 9.0, 1H, CH), 7.92 (уш. д, <sup>3</sup>*J* = 8.1, 1H, CH), 8.10 (уш.д, <sup>3</sup>*J* = 8.1, 1H, CH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 14.33 (CH<sub>3</sub>), 14.38 (CH<sub>3</sub>), 14.40 (CH<sub>3</sub>), 45.1 (CH<sub>2</sub>), 48.6 (CH<sub>2</sub>), 51.9 (CH<sub>2</sub>), 52.6 (CH<sub>2</sub>), 53.0 (CH<sub>2</sub>), 53.5 (CH<sub>2</sub>), 53.8 (CH<sub>2</sub>), 54.7 (CH<sub>2</sub>), 55.5 (CH<sub>2</sub>), 56.9 (CH<sub>2</sub>), 58.1 (CH<sub>2</sub>), 60.4 (2CH<sub>2</sub>), 60.5 (CH<sub>2</sub>), 109.1 (CH), 112.3 (CH), 112.7 (CH), 123.5 (CH), 124.4 (C), 125.6 (CH), 126.4 (CNO<sub>2</sub>), 127.4 (CH), 127.5 (C), 129.1 (CH), 129.3 (CH), 129.5 (CH), 130.5 (C), 151.6 (C), 154.4 (C), 154.6 (C), 158.5 (C), 166.1 (C), 171.25 (COO), 171.33 (COO), 171.8 (COO).

MALDI-TOF рассчитано для C<sub>38</sub>H<sub>47</sub>N<sub>6</sub>O<sub>11</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 763.3298. Найдено: 763.3350.

*Три-трет-бутил* (*E*)-11-(5-(2-(нафто[2,1-*b*]фуран-2-ил)винил)-4-нитроизоксазол-3-карбонил)-1,4,8,11-тетраазацислотетрадекан-1,4,8-трикарбоксалат (**6e**)

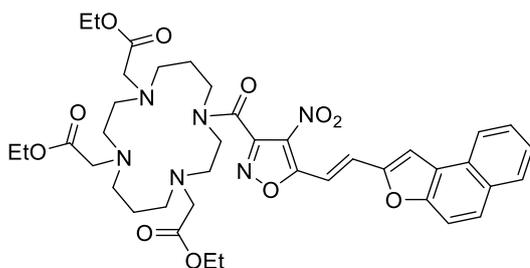


**6e** был получен из 4-нитроизоксазола **13e** и нафто[2,1-*b*]фуран-2-карбальдегида **4b**. Оранжевые кристаллы, выход: 16% (80 мг); *T*<sub>пл</sub> = 143–145°C; *R*<sub>f</sub> = 0.33 (CHCl<sub>3</sub>/ЭА = 8/1). В спектре ЯМР представлены два ротамера в соотношении **A**:**B** = 57:43. В спектре ЯМР <sup>13</sup>C невозможно определить, какому из ротамеров принадлежат сигналы из-за уширения линий,

здесь приведена последовательность наблюдаемых сигналов. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.33 (уш.с, 9H,  $3\text{CH}_3$ , **A**), 1.43 (с, 9H,  $3\text{CH}_3$ , **B**), 1.46 (с, 9H,  $3\text{CH}_3$ , **A**), 1.47 (с, 9H,  $3\text{CH}_3$ , **B**), 1.49 (с, 9H,  $3\text{CH}_3$ , **A**), 1.52 (с, 9H,  $3\text{CH}_3$ , **B**), 1.72–2.01 (м, 4H+4H,  $2\text{CH}_2$ , **A** и **B**), 3.23–3.61 (м, 14H+14H,  $7\text{CH}_2$ , **A** и **B**), 3.71–3.80 (м, 2H+2H,  $\text{CH}_2$ , **A** и **B**), 7.52–7.58 (м, 1H+1H,  $\text{CH}$ , **A** и **B**), 7.59–7.78 (м, 5H+5H,  $3\text{CH} + 2\text{CH}=\text{}$ , **A** и **B**), 7.85–7.91 (м, 1H+1H,  $\text{CH}$ , **A** и **B**), 7.94–7.99 (м, 1H+1H,  $\text{CH}$ , **A** и **B**), 8.12–8.18 (м, 1H+1H,  $\text{CH}$ , **A** и **B**). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [28.4, 28.57, 28.62, 28.7 ( $9\text{CH}_3$ )], [44.2, 46.6, 47.3, 47.8, 48.3, 49.6, 50.3 ( $10\text{CH}_2$ )], [80.15, 80.21, 80.4, 80.5 ( $3\text{C}$ )], 109.0 ( $\text{CH}$ ), [112.37, 112.40 ( $\text{CH}$ )], 113.2 ( $\text{CH}$ ), [123.54, 123.57 ( $\text{CH}$ )], 124.5 ( $\text{C}$ ), 125.7 ( $\text{CH}$ ), [126.2, 126.3 ( $\text{CNO}_2$ )], 127.5 ( $\text{CH}$ ), 127.6 ( $\text{C}$ ), 129.3 ( $\text{CH}$ ), 129.5 ( $\text{CH}$ ), [129.9, 130.1 ( $\text{CH}$ )], 130.6 ( $\text{C}$ ), [151.65, 151.69 ( $\text{C}$ )], [153.9, 154.0 ( $\text{C}$ )], 154.8 ( $\text{C}$ ), [155.5, 155.7, 156.0, 156.3 ( $3\text{COO}$ )], [166.4, 166.5 ( $\text{C}$ )].

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{43}\text{H}_{57}\text{N}_6\text{O}_{11}^+$  [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ : 833.4080. Найдено: 833.4088.

Трифенил 2,2',2''-(11-(5-(2-(нафто[2,1-*b*]фуран-2-ил)винил)-4-нитроизоксазол-3-карбонил)-1,4,8,11-тетраазабициклотетрадекан-1,4,8-триил)(*E*)-триацетат (**6f**)



**6f** был получен из 4-нитроизоксазола **13f** и нафто[2,1-*b*]фуран-2-карбальдегида **4b**. Оранжевые кристаллы, выход: 28% (133 мг);  $T_{\text{пл}} = 109\text{--}110^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.49$  ( $\text{CHCl}_3/\text{TГФ} = 10/1$ ). В спектре ЯМР представлены два ротамера в соотношении **A**:**B** = 54:46. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.19–1.33 (м, 9H+9H,  $3\text{CH}_3$ , **A** и **B**), 1.50–1.57 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ , **A**), 1.57–1.64 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ , **B**), 1.66–1.76 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ , **B**), 1.90–2.00 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ , **A**), 2.58–2.84 (м, 10H+10H,  $5\text{CH}_2$ , **A** и **B**), 3.04–3.11 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ , **B**), 3.28 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ , **A**), 3.32 (пс.с., 2H+2H,  $\text{CH}_2$ , **A** и **B**), 3.41 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ , **B**), 3.45–3.52 (м, 2H+2H,  $\text{N-CH}_2\text{-CO}$ , **A** и **B**, + 2H,  $\text{CH}_2$ , **B**), 3.52–3.59 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ , **A**), 3.69–3.74 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ , **B**), 3.74–3.81 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ , **A**), 4.06–4.21 (м, 6H+6H,  $3\text{CH}_2\text{O}$ , **A** и **B**), 7.51–7.58 (м, 1H+1H,  $\text{CH}$ , **A** и **B**), 7.59 (пс.с., 1H+1H,  $\text{CH}$ , **A** и **B**), 7.61–7.80 (м, 4H+4H,  $2\text{CH} + 2\text{CH}=\text{}$ , **A** и **B**), 7.84–7.90 (м, 1H+1H,  $\text{CH}$ , **A** и **B**), 7.93–7.99 (м, 1H+1H,  $\text{CH}$ , **A** и **B**), 8.11–8.18 (м, 1H+1H,  $\text{CH}$ , **A** и **B**). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [14.42, 14.43 ( $3\text{CH}_3$ )], [24.9, 25.6, 26.0, 27.5 ( $2\text{CH}_2$ )], [43.9, 44.9, 47.6, 48.2, 49.6, 50.1, 50.3, 50.71, 50.76, 50.9, 51.3, 51.3, 52.4, 53.6, 54.0, 54.6, 54.7, 54.8, 55.2, 56.2, 56.5 ( $11\text{CH}_2$ )], [60.3, 60.5 ( $3\text{CH}_2$ )], [109.1, 190.3 ( $\text{CH}$ )], 112.3 ( $\text{CH}$ ), [112.9, 113.0 ( $\text{CH}$ )], 123.6 ( $\text{CH}$ ), 124.5 ( $\text{C}$ ), 125.6 ( $\text{CH}$ ), 126.3 ( $\text{CNO}_2$ ), 127.5 ( $\text{CH}$ ), 127.6 ( $\text{C}$ ), 129.2 ( $\text{CH}$ ), 129.4 ( $\text{CH}$ ), [129.7, 129.8 ( $\text{CH}$ )], 130.6 ( $\text{C}$ ), 151.7 ( $\text{C}$ ), 154.3 ( $\text{C}$ ), 154.7 ( $\text{C}$ ), [158.4, 158.5 ( $\text{C}$ )], [166.25, 166.32 ( $\text{C}$ )], [171.4, 171.5, 171.6, 171.7 ( $3\text{COO}$ )].

MALDI-TOF рассчитано для  $C_{40}H_{51}N_6O_{11}$   $[M+H]^+$ : 791.3611. Найдено: 791.3620.

## 4.2. Синтез 4-нитро-5-цианоизоксазолов **17a-w**

### 4.2.1. Синтез 5-метил-4-нитроизоксазолов **1a-w**

#### *Синтез исходных соединений*

Хлороксимы **19a-c** были получены по методике [193]. Альдоксимы для синтеза **19a-c** были получены согласно описанной методике [194].

Раствор нитроацетона в дихлорметане был получен с использованием подхода описанного в [195].

Ароматические винилкетоны необходимые для гетероциклизации с образованием соответствующих 4-нитроизоксазолов **1b-q** получали по реакции Виттига [196].

#### *Синтез 4-нитроизоксазолов **1b-q***

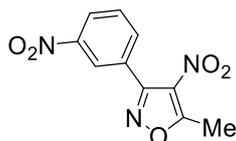
Изоксазолы **1b-q** были получены по методике [104]. Ниже приводится методика и спектральные данные неописанных ранее соединений.

К раствору соответствующего непредельного кетона (1 ммоль, 1 экв.) в смеси 1,4-диоксана (0.4 мл, 2.5 М) и воды (1.2 мл, 0.8 М) при атмосфере аргона по каплям добавляли *трет*-бутилнитрит (*t*-BuONO) (10 ммоль, 10 экв.) в течение 1 часа при температуре 60 °С. Полученную реакционную смесь перемешивали при данной температуре ещё в течение 1 часа, после чего охлаждали до комнатной температуры. Затем смесь вылили в воду (10 мл) и экстрагировали дихлорметаном ( $CH_2Cl_2$ ) ( $4 \times 10$  мл). Объединённые органические слои промыли насыщенным раствором хлористого натрия (20 мл) и сушили над безводным сульфатом магния ( $MgSO_4$ ). Растворитель удалили в вакууме, а оставшийся остаток очищали с помощью препаративной колоночной хроматографии на силикагеле.

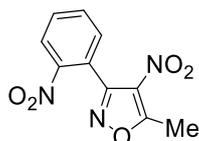
#### *5-Метил-4-нитро-3-(4-хлорфенил)-изоксазол (**1h**)*



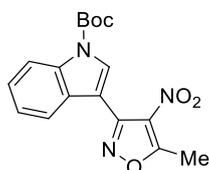
Бесцветные кристаллы, выход: 61% (582 мг);  $T_{пл.} = 110-112^\circ C$ ;  $R_f = 0.42$  (ПЭ/ЭА = 10/1). Спектр ЯМР  $^1H$  ( $CDCl_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 2.87 (с, 3H,  $CH_3$ ), 7.44–7.48 (м, 2H, 2CH), 7.54–7.57 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  14.26 ( $CH_3$ ), 124.41 (C), 128.95 (CH), 129.66 ( $CNO_2$ ), 130.83 (CH), 137.22 (C), 156.96 (C), 173.14 (C).

*5-Метил-4-нитро-3-(3-нитрофенил)изоксазол (1l)*

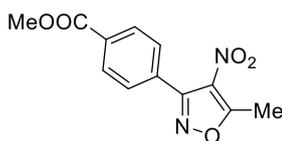
Желтые кристаллы, выход: 38% (95 мг);  $T_{пл.} = 90-92^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.42$  (ПЭ/ЭА = 3/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 2.39 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.69–7.73 (м, 1H, 1CH), 7.95–7.97 (м, 1H, CH), 8.39–8.42 (м, 1H, CH), 8.52–8.53 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.3 ( $\text{CH}_3$ ), 124.8 (CH), 125.6 (CH), 127.8 (C), 129.8 (CH), 135.4 (C), 148.3 (C), 156.2 (C), 173.6 (C).

*5-Метил-4-нитро-3-(2-нитрофенил)изоксазол (1m)*

Желтые кристаллы, выход: 27% (67 мг);  $T_{пл.} = 102-104^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.28$  (ПЭ/ЭА = 3/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 2.92 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.55–7.57 (м, 1H, CH), 7.73–7.81 (м, 2H, 2CH), 8.34–8.36 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 122.5 (C), 125.4 (CH), 130.0 ( $\text{CNO}_2$ ), 131.9 (CH), 132.3 (CH), 134.1 (CH), 147.9 (C), 156.8 (C), 172.1 (C).

*Трет-бутил 3-(5-метил-4-нитроизоксазол-3-ил)-1H-индол-1-карбоксилат (1q)*

Светло-желтые кристаллы, выход: 28% (96 мг);  $T_{пл.} = 140-142^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.602$  (ПЭ/ЭА = 4/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 1.71 (с, 9H,  $3\text{CH}_3$ ), 2.91 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.32–7.43 (м, 2H, 2CH), 8.04–8.06 (м, 1H, CH), 8.23–8.25 (м, 1H, CH), 8.49 (уш.с., 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.44 ( $\text{CH}_3$ ), 28.26 ( $3\text{CH}_3$ ), 84.99 (C), 106.13 (C), 115.35 (CH), 121.99 (CH), 123.87 (CH), 125.48 (CH), 128.02 (C), 129.93 (CH), 130.08 ( $\text{CNO}_2$ ), 135.29 (C), 149.24 (C), 151.65 (C), 172,98 (C).

*Метил 4-(5-метил-4-нитроизоксазол-3-ил)бензоат (1j)*

Бесцветные кристаллы, выход: 18% (236 мг);  $T_{пл.} = 125-127^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.25$  (ПЭ/ЭА = 10/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.85 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.92 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 7.62–7.69 (м, 2H, 2CH), 8.08–8.15 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 52.4 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 129.5 (2CH), 129.6 (2CH), 130.2 (C), 132.1 (C), 132.3 (C- $\text{NO}_2$ ), 157.1 (C), 166.3 (C), 173.1 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_5^+$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 263.0663. Найдено: 263.0662.

### Синтез 4-нитроизоксазолов **1r-t**

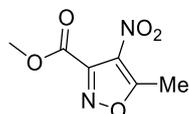
3,5-Диметил-4-нитроизоксазол **1r** был получен по описанной методике [197].

Сложный эфир метил 5-метил-4-нитроизоксазол-3-карбоксилат **1s** и амид N,N-диэтил-5-метил-4-нитроизоксазол-3-карбоксамид **1t** были получены ацилированием метанола и, соответственно, диэтиламина хлорангидридом 4-нитроизоксазол-3-карбоновой кислоты **15** по следующим методикам.

Для синтеза **1s** к раствору соответствующей изоксазолкарбоновой кислоты (1 г, 6 ммоль) в метаноле (30 мл) при охлаждении до 0°C добавляют тионилхлорид (2.18 мл, 3.6 г, 30 ммоль), затем смесь нагревают до комнатной температуры и кипятят с обратным холодильником в течение 2 часов. После этого отгоняют оставшийся тионилхлорид, после чего удаляют растворитель на роторном испарителе. Целевое соединение **1s** получали экстракцией остатка в системе вода/ДХМ (3 × 30 мл) органическую вытяжку сушили над безводным MgSO<sub>4</sub>. Затем растворитель удаляли на роторном испарителе с получением целевого эфира **1s**.

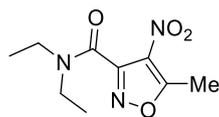
Для синтеза **1t** использовали двухстадийную методику, первый этап включал в себя синтез соответствующего хлорангидрида. Для этого смесь изоксазолкарбоновой кислоты (1 г, 6 ммоль), тионилхлорида (0,436 мл, 1.1 г, 9 ммоль) и нескольких капель ДМФА при перемешивании кипятят с обратным холодильником в течение 2 часов. После этого избыток тионилхлорида отгоняют, а остаток без выделения хлорангидрида вводят в реакцию ацилирования. На втором этапе хлорангидрид растворяли в метаноле (15 мл) и по каплям при перемешивании добавляли раствор диэтиламина в метаноле (0.74 мл, 526 мг, 7.2 ммоль). Реакцию перемешивали 4 часа при комнатной температуре, после чего реакционную смесь вливали в воду и экстрагировали ДХМ (3 × 15 мл), органическую вытяжку сушили над безводным MgSO<sub>4</sub>. Затем растворитель удаляли на роторном испарителе, целевой амид **1r** выделяли методом препаративной колоночной хроматографии.

#### Метил 5-метил-4-нитроизоксазол-3-карбоксилат (**1s**)



Бесцветное масло, выход: 63% (703 мг). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.84 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.01 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 13.3 (CH<sub>3</sub>), 54.1 (CH<sub>3</sub>O), 110.2 (C-NO<sub>2</sub>), 151.0 (C), 158.3 (C), 171.9 (C).

HRMS-ESI m/z рассчитано для C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Na<sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 209.0169. Найдено: 209.0179.

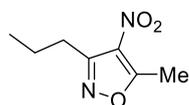
*N,N*-Диэтил-5-метил-4-нитроизоксазол-3-карбоксамид (**1t**)

Светло-желтые кристаллы, выход: 84% (419 мг),  $T_{пл} = 84-86^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.45$  (ПЭ/ЭА = 3/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  0.98 (т,  $^3J = 7.2$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.11 (т,  $^3J = 7.2$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.70 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.08 (кв., 2H,  $^3J = 7.2$  Гц,  $\text{CH}_2$ ), 3.41 (кв., 2H,  $^3J = 7.2$  Гц,  $\text{CH}_2$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  11.9 ( $\text{CH}_3$ ), 13.1 ( $\text{CH}_3$ ), 13.7 ( $\text{CH}_3$ ), 39.4 ( $\text{CH}_2$ ), 42.8 ( $\text{CH}_2$ ), 128.2 (C- $\text{NO}_2$ ), 153.2 (C), 157.3 (C), 171.5 (C).

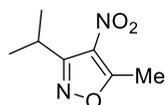
HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_4^+$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 228.0979. Найдено: 228.0994.

**Синтез 4-нитроизоксазолов 1u-w**

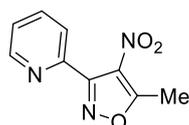
Изоксазолы **1u-w** были получены по описанной реакции гетероциклизации [198].

*5*-Метил-4-нитро-3-пропилизоксазол (**1u**)

Бесцветное масло, выход: 82% (776 мг);  $R_f = 0.32$  (ПЭ/ЭА = 20/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.00 (т,  $^3J = 7.4$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.67-1.78 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.79 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.87-2.93 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.8 ( $\text{CH}_3$ ), 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 20.4 ( $\text{CH}_2$ ), 27.7 ( $\text{CH}_2$ ), 129.9 (C- $\text{NO}_2$ ), 158.8 (C), 172.3 (C).

*3*-Изопропил-5-метил-4-нитроизоксазол (**1v**)

Бесцветное масло, выход: 89% (843 мг);  $R_f = 0.34$  (ПЭ/ЭА = 20/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.34 (д,  $^3J = 6.9$  Гц, 6H, 2 $\text{CH}_3$ ), 2.79 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.52 (гепт,  $^3J = 6.9$  Гц, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 20.5 (2 $\text{CH}_3$ ), 26.7 (CH), 129.6 (C- $\text{NO}_2$ ), 163.5 (C), 172.5 (C).

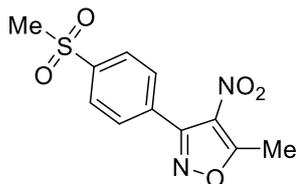
*5*-Метил-4-нитро-3-(пиридин-2-ил)изоксазол (**1w**).

Желтое масло, выход: 39% (460 мг);  $R_f = 0.34$  (ПЭ/ЭА = 3/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.86 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.45 (ддд,  $J = 1.2, 4.9, 7.7$  Гц, 1H, CH), 7.67-7.72 (м, 1H, 1CH), 7.82-7.89 (м, 1H, 1CH), 8.84 (ддд,  $J = 0.9, 1.6, 4.8$  Гц, 1H, 1CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.4 ( $\text{CH}_3$ ), 124.3 (CH), 125.0 (CH), 129.8 (C- $\text{NO}_2$ ), 136.8 (CH), 145.9 (C), 149.9 (CH), 157.0 (C), 171.9 (C).

### Синтез 5-метил-4-нитроизоксазола 27

К раствору изоксазола **1g** (1.00 г, 4 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (16 мл) порциями добавили метаклорпербензойную кислоту (МХПБК) (1.97 г, 8 ммоль). Полученную смесь перемешивали 3 часа при комнатной температуре, после чего осадок отфильтровали и промыли  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 раза по 20 мл). Фильтрат промыли водным раствором  $\text{NaHCO}_3$  (30 мл) и  $\text{NaCl}$  (30 мл). Органический слой сушили над  $\text{MgSO}_4$ , растворитель отогнали при пониженном давлении. Продукт очищали перекристаллизацией из хлороформа.

#### 5-Метил-3-(4-(метилсульфонил)фенил)-4-нитроизоксазол (**1x**)



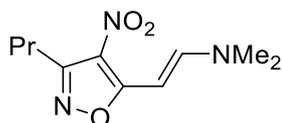
Бесцветные кристаллы, выход: 85% (959 мг);  $T_{\text{пл}} = 184\text{--}186^\circ\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 2.93 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.12 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.81–7.87 (м, 2H, 2CH), 8.06–8.12 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 14.3 ( $\text{CH}_3$ ), 44.6 ( $\text{CH}_3$ ), 127.7 (2CH), 130.7 (2CH), 131.5 (C), 142.6 (C), 156.6 (C), 173.5 (C).

HRMS-ESI  $m/z$ : вычислено для  $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_5\text{SNH}_4^+ [\text{M}+\text{NH}_4^+]$ : 300.0649; найдено: 300.0651.

#### 4.2.2. Синтез енаминов 16 а-х

Енамины **2a-x** получали с помощью модифицированной методики [111]. *N,N*-диметилацеталь диметилформамид (1.5 ммоль) был добавлен к раствору 4-нитроизоксазола **1a-o** (1 ммоль) в толуоле (5 мл) при нагревании до  $80^\circ\text{C}$  и полученный раствор кипятили в течении 8 часов. Реакционную смесь остудили до комнатной температуры после этого в колбу добавили избыток петролейного эфира и перемешивали до полного выпадения кристаллов. Полученный осадок отфильтровали и промыли холодным метанолом. В случае енаминов **1b,c,w** целевые вещества не удалось высадить в петролейном эфире, поэтому их очистка производилась методом препаративной колоночной хроматографии.

#### (*E*)-*N,N*-Диметил-2-(4-нитро-3-пропилизоксазол-5-ил)этен-1-амин (**16b**)

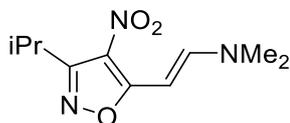


**16b** был получен из изоксазола **1u**. Желтые кристаллы, выход: 91% (205 мг);  $T_{\text{пл}} = 77\text{--}79^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.48$  (ПЭ/ЭА=1/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.99 (т, 3H,  $^3J = 7.3$  Гц,  $\text{CH}_3$ ), 1.66–1.78 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.83–2.90 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.98 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.20 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.89 (д, 1H,  $^3J = 13.2$  Гц,  $\text{CH}=\text{N}$ ), 7.65 (д, 1H,  $^3J = 13.2$  Гц,  $=\text{CH}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100.6 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.9

(CH<sub>3</sub>), 20.5 (CH<sub>2</sub>), 28.3 (CH<sub>2</sub>), 37.4 (CH<sub>3</sub>), 45.6 (CH<sub>3</sub>), 82.3 (CH=), 121.8 (CNO<sub>2</sub>), 152.0 (=CH), 159.0 (C), 170.5 (C).

HRMS-ESI m/z: вычислено для C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M+H<sup>+</sup>]: 226.1186. Найдено: 226.1184.

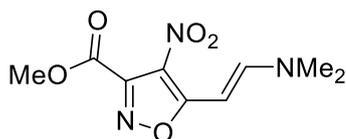
(*E*)-2-(3-Изопропил-4-нитроизоксазол-5-ил)-*N,N*-диметилэтен-1-амин (**16c**)



**16b** был получен из изоксазола **1v**. Оранжевые кристаллы, выход: 95% (214 мг); T<sub>пл.</sub> 110-112°C; R<sub>f</sub> = 0.20 (ПЭ/ЭА=3/1). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.32 (д, 6H, <sup>3</sup>J = 6.9 Гц, CH<sub>3</sub>), 2.99 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.20 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.55 (гепт, 1H, <sup>3</sup>J = 6.9 Гц, CH), 5.91 (д, 1H, <sup>3</sup>J = 13.2 Гц, CH=), 7.65 (д, 1H, <sup>3</sup>J = 13.2 Гц, =CH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100.6 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 20.5 (CH<sub>3</sub>), 27.0 (CH), 37.4 (CH<sub>3</sub>), 45.6 (CH<sub>3</sub>), 82.4 (CH=), 152.0 (=CH), 163.7 (C), 170.8 (C).

HRMS-ESI m/z: вычислено для C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M+H<sup>+</sup>]: 226.1186. Найдено: 226.1186.

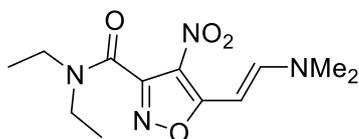
(*E*)-Метил-5-(2-(диметиламино)винил)-4-нитроизоксазол-3-карбоксилат (**16d**)



**16b** был получен из 4-нитроизоксазола **1s**. Оранжевые кристаллы, выход: 83% (200 мг); T<sub>пл.</sub> = 134-135°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>): δ 3.03 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.29 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.94 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 5.74 (д, <sup>3</sup>J = 12.8 Гц, 1H, CH=), 8.16 (д, <sup>3</sup>J = 12.8 Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>): δ 37.4 (CH<sub>3</sub>), 45.4 (CH<sub>3</sub>), 53.9 (CH<sub>3</sub>O), 79.3 (CH=), 117.6 (C-NO<sub>2</sub>), 151.3 (C), 154.8 (CH=), 159.6 (C), 168.8 (C).

HRMS-ESI m/z рассчитано для C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup> [M+H<sup>+</sup>]: 242.0771. Найдено: 242.0779.

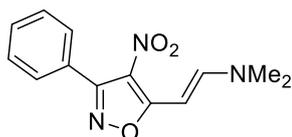
(*E*)-5-(2-(Диметиламино)винил)-*N,N*-диэтил-4-нитроизоксазол-3-карбоксамид (**16e**)



**16e** был получен из 4-нитроизоксазола **1t**. Желто-оранжевые кристаллы, выход: 62% (175 мг); T<sub>пл.</sub> = 141-142°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>): δ 1.04 (т, <sup>3</sup>J = 7.1 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.14 (т, <sup>3</sup>J = 7.1 Гц, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.02 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.20 (кв., 2H, <sup>3</sup>J = 7.1 Гц, CH<sub>2</sub>), 3.28 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.45 (кв, 2H, <sup>3</sup>J = 7.1 Гц, CH<sub>2</sub>), 5.77 (д, <sup>3</sup>J = 12.8 Гц, 1H, CH=), 8.12 (д, <sup>3</sup>J = 12.8 Гц, 1H, CH=). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>): δ 12.2 (CH<sub>3</sub>), 13.9 (CH<sub>3</sub>), 37.3 (CH<sub>3</sub>), 38.9 (CH<sub>2</sub>), 42.4 (CH<sub>2</sub>), 45.3 (CH<sub>3</sub>), 79.7 (CH=), 117.9 (C-NO<sub>2</sub>), 153.6 (C), 154.5 (=CH), 158.3 (C), 168.6 (C).

HRMS-ESI m/z рассчитано для C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> [M+H<sup>+</sup>]: 283.1401. Найдено: 283.1399.

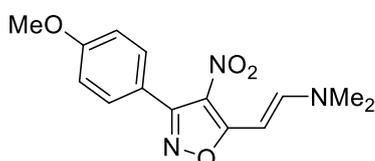
(*E*)-*N,N*-Диметил-2-(4-нитро-3-фенилизоксазол-5-ил)этенамин (**16f**)



**16f** был получен из 4-нитроизоксазола **1b**. Оранжевые кристаллы, выход: 75% (194 мг);  $T_{пл} = 101-103^{\circ}\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  3.01 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.27 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.85 (д,  $^3J = 12.9$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{}$ ), 7.45-7.56 (м, 3H, 3CH), 7.55-7.60 (м, 2H, 2CH), 8.11 (д,  $^3J = 12.9$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  37.2 ( $\text{CH}_3$ ), 45.1 ( $\text{CH}_3$ ), 80.2 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 119.4 (C- $\text{NO}_2$ ), 127.5 (C), 128.1 (2CH), 129.3 (2CH), 129.9 (CH), 153.8 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 157.6 (C), 170.4 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_3^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 260.1030. Найдено: 260.1031.

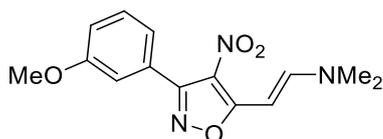
(*E*)-2-(3-(4-Метоксифенил)-4-нитроизоксазол-5-ил)-*N,N*-диметиленамин (**16g**)



**16g** был получен из 4-нитроизоксазола **1c**. Красно-оранжевые кристаллы, выход: 90% (260 мг);  $T_{пл} = 167-168^{\circ}\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.03 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.24 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.86 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 5.98 (д,  $^3J = 13.1$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{}$ ), 6.95-7.00 (м, 2H, 2CH), 7.56-7.62 (м, 2H, 2CH), 7.73 (д,  $^3J = 13.1$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  37.3 ( $\text{CH}_3$ ), 45.6 ( $\text{CH}_3$ ), 55.4 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 82.1 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 113.6 (2CH), 119.5 (C), 121.0 (C- $\text{NO}_2$ ), 130.9 (2CH), 152.1 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 157.7 (C), 161.1 (C), 171.1 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_4^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 290.1135. Найдено: 290.1137.

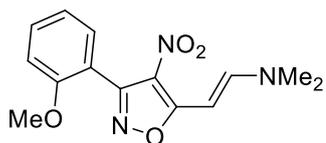
(*E*)-2-(3-(3-Метоксифенил)-4-нитроизоксазол-5-ил)-*N,N*-диметилэтен-1-амин (**16h**)



**16h** был получен из 4-нитроизоксазола **1d**. Желто-оранжевые кристаллы, выход: 97% (280 мг);  $T_{пл} = 116-117^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.31$  (ПЭ/ЭА=1/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.01 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.22 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.84 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.96 (д, 1H,  $^3J = 13.1$  Гц,  $\text{CH}=\text{}$ ), 7.00-7.05 (м, 1H, CH), 7.13-7.16 (м, 1H, CH), 7.17-7.22 (м, 1H, CH), 7.33-7.40 (м, 1H, CH), 7.73 (д, 1H,  $^3J = 13.1$  Гц,  $=\text{CH}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100.6 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  37.4 ( $\text{CH}_3$ ), 45.7 ( $\text{CH}_3$ ), 55.5 ( $\text{CH}_3$ ), 82.1 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 114.6 (CH), 116.4 (CH), 121.1 (C- $\text{NO}_2$ ), 121.9 (CH), 128.6 (C), 129.3 (CH), 152.2 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 158.1 (C), 159.3 (C), 171.1 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  вычислено для  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_4^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 290.1135. Найдено: 290.1131.

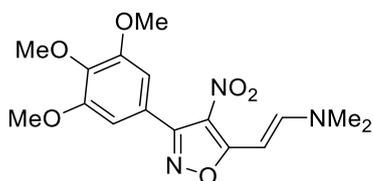
(*E*)-2-(3-(2-Метоксифенил)-4-нитроизоксазол-5-ил)-*N,N*-диметилэтен-1-амин (**16i**)



**16i** был получен из 4-нитроизоксазола **1e**. Желто-оранжевые кристаллы, выход: 92% (266 мг);  $T_{пл.} = 157-159^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.30$  (ПЭ/ЭА=1/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.97 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.17 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.77 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.91 (д, 1H,  $^3J = 13.2$  Гц,  $\text{CH}=\text{}$ ), 6.95-6.99 (м, 1H, CH), 7.00-7.06 (м, 1H, CH), 7.37-7.42 (м, 1H, CH), 7.42-7.48 (м, 1H, CH), 7.68 (д, 1H,  $^3J = 13.2$  Гц,  $=\text{CH}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100.6 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  37.3 ( $\text{CH}_3$ ), 45.5 ( $\text{CH}_3$ ), 55.7 ( $\text{CH}_3$ ), 81.9 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 111.0 (CH), 117.2 (C), 120.5 (CH), 122.5 (CNO<sub>2</sub>), 130.1 (CH), 131.6 (CH), 151.6 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 156.3 (C), 158.0 (C), 170.1 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  вычислено для  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_4^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 290.1135. Найдено: 290.1133.

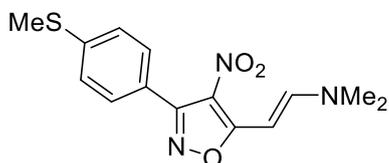
(*E*)-*N,N*-Диметил-2-(4-нитро-3-(3,4,5-триметоксифенил) изоксазол-5-ил)этенамин (**16j**)



**16j** был получен из 4-нитроизоксазола **1f**. Желтые кристаллы, выход: 91% (318 мг);  $T_{пл.} = 151-152^{\circ}\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ ):  $\delta$  3.01 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.28 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.73 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.79 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 5.84 (д,  $^3J = 13.0$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{}$ ), 6.90 (с, 2H, CH), 8.07 (д,  $^3J = 13.0$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ ):  $\delta$  37.2 ( $\text{CH}_3$ ), 45.1 ( $\text{CH}_3$ ), 56.1 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 60.1 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 80.2 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 107.0 (2CH), 119.5 (CNO<sub>2</sub>), 122.7 (C), 138.8 (C), 152.5 ( $=\text{CH}$ ), 153.6 (C), 157.4 (C), 170.4 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_6^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 350.1347. Найдено: 350.1343.

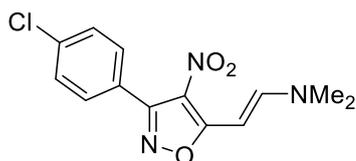
(*E*)-*N,N*-Диметил-2-(3-(4-(метилтио)фенил)-4-нитроизоксазол-5-ил)этенамин (**16k**)



**16k** был получен из 4-нитроизоксазола **1g**. Желтые кристаллы, выход: 88% (268 мг);  $T_{пл.} = 161-162^{\circ}\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ ):  $\delta$  2.53 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.00 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.27 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.84 (д,  $^3J = 12.9$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{}$ ), 7.31-7.38 (м, 2H, 2CH), 7.48-7.55 (м, 2H, 2CH), 8.09 (д,  $^3J = 12.9$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ ):  $\delta$  14.3 ( $\text{CH}_3$ ), 37.2 ( $\text{CH}_3$ ), 45.1 ( $\text{CH}_3$ ), 80.3 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 119.3 (C-NO<sub>2</sub>), 123.4 (C), 124.9 (2CH), 129.7 (2CH), 140.9 (C), 153.7 ( $=\text{CH}$ ), 157.1 (C), 170.5 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 306.0907. Найдено: 306.0901.

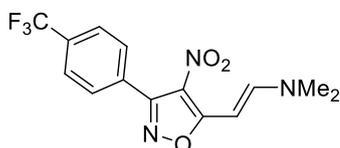
(*E*)-2-(3-(4-Хлорофенил)-4-нитроизоксазол-5-ил)-*N,N*-диметил-этенамин (**16l**)



**16l** был получен из 4-нитроизоксазола **1h**. Желтые кристаллы, выход: 75% (220 мг);  $T_{пл} = 203-204^\circ\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  3.02 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.29 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.85 (д,  $^3J = 12.9$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{}$ ), 7.53-7.59 (м, 2H, 2CH), 7.60-7.66 (м, 2H, 2CH), 8.13 (д,  $^3J = 12.9$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  37.3 ( $\text{CH}_3$ ), 45.2 ( $\text{CH}_3$ ), 80.2 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 119.3 (C- $\text{NO}_2$ ), 126.4 (C), 128.2 (2CH), 131.2 (2CH), 134.9 (C), 153.9 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 156.7 (C), 170.4 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{ClN}_3\text{O}_3^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 294.0640. Найдено: 294.0640.

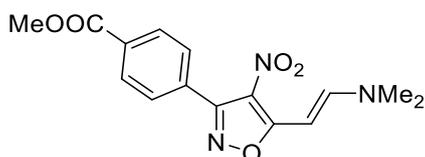
(*E*)-*N,N*-Диметил-2-(4-нитро-3-(4-(трифторметил)фенил)изоксазол-5-ил)этенамин (**16m**)



**16m** был получен из 4-нитроизоксазола **1i**. Желтые кристаллы, выход: 77% (277 мг);  $T_{пл} = 199-200^\circ\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  3.03 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.29 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.86 (д,  $^3J = 12.8$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{}$ ), 7.80-7.90 (м, 4H, 4CH), 8.14 (д,  $^3J = 12.8$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  37.3 ( $\text{CH}_3$ ), 45.2 ( $\text{CH}_3$ ), 80.1 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 119.3 (C- $\text{NO}_2$ ), 124.0 ( $\text{CF}_3$ ,  $^1J_{\text{CF}} = 272.6$  Гц), 125.0 (2CH,  $^3J_{\text{CF}} = 3.7$  Гц), 130.2 (C,  $^2J_{\text{CF}} = 32$  Гц), 130.3 (2CH), 131.8 (C), 154.0 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 156.7 (C), 170.4 (C). Спектр ЯМР  $^{19}\text{F}$  (376.3 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  -61.35 ( $\text{CF}_3$ ).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_3^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 328.0904. Найдено: 328.0905.

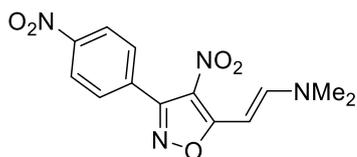
(*E*)-Метил-4-(5-(2-(диметиламино)винил)-4-нитроизоксазол-3-ил)бензоат (**16n**)



**16n** был получен из 4-нитроизоксазола **1j**. Оранжевые кристаллы, выход: 67% (212 мг);  $T_{пл} = 188-190^\circ\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  3.02 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.29 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.89 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 5.85 (д,  $^3J = 12.9$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{}$ ), 7.72-7.77 (м, 2H, 2CH), 8.03-8.08 (м, 2H, 2CH), 8.14 (д,  $^3J = 12.9$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  37.3 ( $\text{CH}_3$ ), 45.2 ( $\text{CH}_3$ ), 52.4 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 80.1 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 119.3 (C- $\text{NO}_2$ ), 128.8 (2CH), 129.8 (2CH), 130.8 (C), 132.1 (C), 154.0 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 157.0 (C), 165.8 (C), 170.4 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_3^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 318.1084. Найдено: 318.1087.

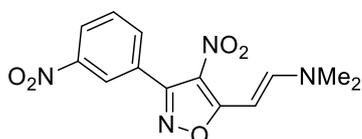
(*E*)-2-(4-Нитро-3-(4-нитрофенил)изоксазол-5-ил)-*N,N*-диметил-этенамин (**16o**)



**16o** был получен из 4-нитроизоксазола **1k**. Оранжевые кристаллы, выход: 82% (249 мг);  $T_{\text{пл}} = 234\text{-}236^\circ\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  3.04 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.30 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.86 (д,  $^3J = 12.9$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{}$ ), 7.87-7.93 (м, 2H, 2CH), 8.17 (д,  $^3J = 12.9$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{}$ ), 8.30-8.37 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  37.3 ( $\text{CH}_3$ ), 45.2 ( $\text{CH}_3$ ), 80.0 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 119.3 (C- $\text{NO}_2$ ), 124.2 (2CH), 130.9 (2CH), 134.0 (C), 148.4 (C), 154.1 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 156.4 (C), 170.4 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_5^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 305.0880. Найдено: 305.0884.

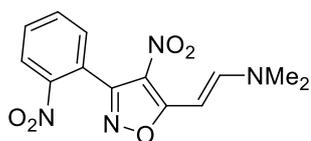
(*E*)-*N,N*-Диметил-2-(4-нитро-3-(3-нитрофенил)изоксазол-5-ил)этен-1-амин (**16p**)



**16o** был получен из 4-нитроизоксазола **1l**. Оранжевые кристаллы, выход: 79% (240 мг);  $T_{\text{пл}} = 217\text{-}219^\circ\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.04 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.30 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.87 (д, 1H,  $^3J = 13.0$  Гц,  $\text{CH}=\text{}$ ), 7.77-7.84 (м, 1H, CH), 8.06-8.11 (м, 1H, CH), 8.16 (д, 1H,  $^3J = 13.0$  Гц,  $=\text{CH}$ ), 8.36-8.42 (м, 1H, CH), 8.45-8.49 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100.6 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  37.3 ( $\text{CH}_3$ ), 45.5 ( $\text{CH}_3$ ), 80.1 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 119.3 (C- $\text{NO}_2$ ), 124.1 (CH), 124.8 (CH), 129.1 (C), 129.8 (CH), 135.9 (CH), 147.4 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 154.0 (C), 156.0 (C), 170.4 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  вычислено для  $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}_5^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 305.0880. Найдено: 305.0884.

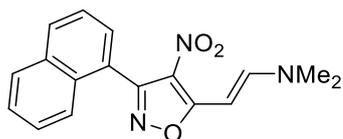
(*E*)-*N,N*-Диметил-2-(4-нитро-3-(2-нитрофенил)изоксазол-5-ил)этен-1-амин (**16q**)



**16q** был получен из 4-нитроизоксазола **1m**. Желто-оранжевые кристаллы, выход: 87% (265 мг);  $T_{\text{пл}} = 196\text{-}198^\circ\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.04 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.30 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.85 (д, 1H,  $^3J = 12.9$  Гц,  $\text{CH}=\text{}$ ), 7.68-7.76 (м, 1H, CH), 7.81-7.96 (м, 2H, CH), 8.18 (д, 1H,  $^3J = 12.9$  Гц,  $=\text{CH}$ ), 8.29-8.31 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100.6 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  37.3 ( $\text{CH}_3$ ), 45.2 ( $\text{CH}_3$ ), 80.2 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 119.1 (C- $\text{NO}_2$ ), 123.0 (C), 124.8 (CH), 131.7 (CH), 132.2 (CH), 134.3 (CH), 147.7 ( $\text{CH}=\text{}$ ), 154.3 (C), 156.1 (C), 169.5 (C).

HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ] calcd for  $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}_5^+$ : 305.0880, found: 305.0884.

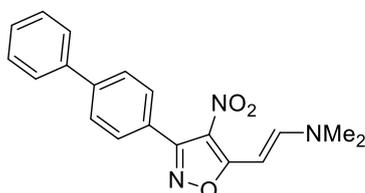
(*E*)-*N,N*-Диметил-2-(3-(нафталин-1-ил)-4-нитроизоксазол-5-ил) этенамин (**16r**)



**16r** был получен из 4-нитроизоксазола **1a**. Желто-зеленые кристаллы, выход: 88% (272 мг);  $T_{пл} = 144-145^{\circ}\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  3.04 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.30 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.92 (д,  $^3J = 12.9$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{)$ , 7.49-7.66 (м, 5H, 5CH), 8.00-8.06 (м, 1H, CH), 8.06-8.14 (м, 1H, CH), 8.20 (д,  $^3J = 12.9$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{)$ . Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  37.3 ( $\text{CH}_3$ ), 45.2 ( $\text{CH}_3$ ), 80.3 ( $\text{CH}=\text{)$ , 120.8 (C- $\text{NO}_2$ ), 124.6 (CH), 125.2 (CH), 125.4 (C), 126.4 (CH), 127.1 (CH), 127.7 (CH), 128.4 (CH), 130.0 (CH), 131.3 (C), 132.8 (C), 154.0 ( $\text{CH}=\text{)$ , 156.8 (C), 170.1 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3\text{H}^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 310.1186. Найдено: 310.1186.

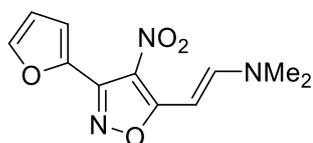
(*E*)-2-(3-([1,1'-Бифенил]-4-ил)-4-нитроизоксазол-5-ил)-*N,N*-диметилэтенамин (**16s**)



**16s** был получен из 4-нитроизоксазола **1n**. Желтые кристаллы, выход: 82% (249 мг);  $T_{пл} = 223-224^{\circ}\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  3.03 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.29 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.87 (д,  $^3J = 12.9$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{)$ , 7.37-7.45 (м, 1H, CH), 7.48-7.54 (м, 2H, 2CH), 7.65-7.71 (м, 2H, 2CH), 7.72-7.82 (м, 4H, 4CH), 8.13 (д,  $^3J = 12.9$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{)$ . Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  37.3 ( $\text{CH}_3$ ), 45.2 ( $\text{CH}_3$ ), 80.2 ( $\text{CH}=\text{)$ , 119.4 (C- $\text{NO}_2$ ), 126.4 (2CH), 126.4 (CH), 126.9 (2CH), 128.0 (CH), 129.1 (2CH), 129.9 (2CH), 139.4 (C), 141.7 (C), 153.8 ( $=\text{CH}$ ), 157.3 (C), 170.5 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_3$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 336.1343. Найдено: 336.1338.

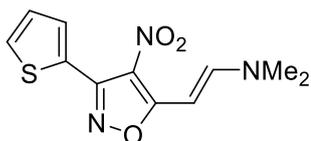
(*E*)-2-(3-(Фуран-2-ил)-4-нитроизоксазол-5-ил)-*N,N*-диметил этенамин (**16t**)



**16t** был получен из 4-нитроизоксазола **1o**. Оранжевые кристаллы, выход: 98% (244 мг);  $T_{пл} = 192-193^{\circ}\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  3.01 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.22 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.96 (д,  $^3J = 13.2$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{)$ , 6.55 (дд,  $^3J = 1.9$  Гц,  $^3J = 3.8$  Гц, 1H, CH), 7.48 (дд,  $^4J = 0.8$  Гц,  $^3J = 3.8$  Гц, 1H, CH), 7.58 (дд,  $^4J = 0.8$  Гц,  $^3J = 1.9$  Гц, 1H, CH), 7.73 (д,  $^3J = 13.2$  Гц, 1H,  $\text{CH}=\text{)$ . Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  37.4 ( $\text{CH}_3$ ), 45.7 ( $\text{CH}_3$ ), 82.0 ( $\text{CH}=\text{)$ , 111.8 (CH), 116.9 (CH), 120.2 (C- $\text{NO}_2$ ), 141.5 (C), 144.7 (CH), 148.8 (C), 152.4 ( $=\text{CH}$ ), 171.3 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_4^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 250.0822. Найдено: 250.0826.

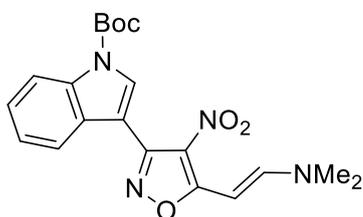
(*E*)-*N,N*-Диметил-2-(4-нитро-3-(тиофен-2-ил)изоксазол-5-ил)этенамин (**16u**)



**16u** был получен из 4-нитроизоксазола **1p**. Коричневые кристаллы, выход: 89% (330 мг);  $T_{пл} = 172-173^{\circ}\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  3.01 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.27 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.86 (д,  $^3J = 12.9$  Гц, 1H, CH), 7.21-7.25 (м, 1H, CH), 7.80-7.83(м, 2H, CH), 8.09 (д,  $^3J = 12.9$  Гц, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  37.3 ( $\text{CH}_3$ ), 45.2 ( $\text{CH}_3$ ), 80.3 (CH=), 118.6 (C- $\text{NO}_2$ ), 126.6 (C), 127.7 (CH), 130.0 (CH), 131.6 (CH), 151.5 (C), 154.0 (CH=), 171.0 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  Рассчитано для  $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3\text{SNa}^+$  [ $\text{M}+\text{Na}^+$ ]: 288.0413. Найдено: 288.0416.

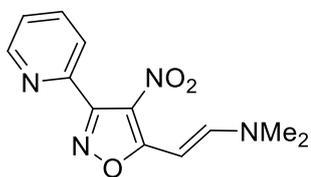
Трет-бутил (*E*)-3-(5-(2-(диметиламино)винил)-4-нитроизоксазол-3-ил)-1H-индол-1-карбоксилате (**16v**)



**16v** был получен из 4-нитроизоксазола **1q**. Оранжевые кристаллы, выход: 79% (314 мг);  $T_{пл} = 198-199^{\circ}\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.69 (с, 9H,  $\text{CH}_3$ ), 3.02 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.21 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 6.03 (д, 1H,  $^3J = 13.1$  Гц, CH=), 7.27-7.34 (м, 1H, CH), 7.34-7.41 (м, 1H, CH), 8.46 (с, 1H, CH), 7.75 (д, 1H,  $^3J = 13.1$  Гц, CH=), 7.96-8.03 (м, 1H, CH), 8.21-8.28 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100.6 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  28.3 (3 $\text{CH}_3$ ), 37.4 ( $\text{CH}_3$ ), 45.7 ( $\text{CH}_3$ ), 82.3 (CH=), 84.5 (C), 107.4 (C), 115.2 (CH), 121.6, 122.1 (CH), 123.5 (CH), 125.0 (CH), 128.6, 129.7 (CH), 135.3 (C), 149.4 (C), 151.9 (C), 152.2 (=CH), 171.2 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  вычислено для:  $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{O}_5^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 399.1663. Найдено: 399.1660.

(*E*)-*N,N*-Диметил-2-(4-нитро-3-(пиридин-2-ил)изоксазол-5-ил)этен-1-амин (**1w**)

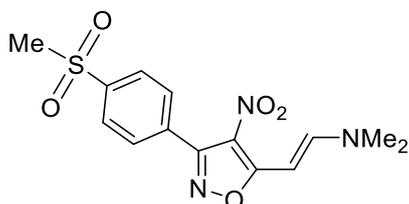


**16w** был получен из 4-нитроизоксазола **1w**. Коричневые кристаллы, выход: 51% (133 мг);  $R_f = 0.14$  (ПЭ /ЭА=1/1);  $T_{пл} = 152-154^{\circ}\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.98 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.18 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.89 (д, 1H,  $^3J = 13.1$  Гц, =CH), 7.34-7.42 (м, 1H, CH), 7.56-7.63 (м, 1H, CH), 7.72 (д, 1H,  $^3J = 13.1$  Гц, CH=), 7.75-7.83 (м, 1H, CH), 8.68-8.75 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100.6 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  37.3 ( $\text{CH}_3$ ), 45.6 ( $\text{CH}_3$ ), 81.6 (CH=), 121.0 (C $\text{NO}_2$ ), 124.5 (CH), 124.9 (CH), 136.4 (CH), 147.5 (C), 149.7 (CH), 152.2 (=CH), 157.6 (C), 170.6 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  вычислено для  $C_{12}H_{13}N_4O_3^+$   $[M+H^+]$ : 261.0982. Найдено: 261.0982.

(*E*)-*N,N*-Диметил-2-(3-(4-(метилсульфонил)фенил)-4-нитроизоксазол-5-ил)этен-1-амин

(16x)



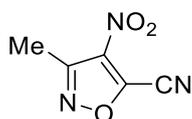
**16x** был получен из 4-нитроизоксазола **27**. Желто-зеленые кристаллы, выход: 89% (300 мг);  $T_{пл} = 230-232^\circ\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 3.03 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.29 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.31 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.86 (д,  $^3J = 12.9$  Гц, 1H, CH), 7.85–7.91 (м, 2H, 2CH), 8.03–8.05 (м, 2H, 2CH), 8.15 (д,  $^3J = 12.9$  Гц, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (ДМСО- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 37.3 ( $\text{CH}_3$ ), 43.3 ( $\text{CH}_3$ ), 45.2 ( $\text{CH}_3$ ), 80.1 (CH=), 119.3 (C- $\text{NO}_2$ ), 126.7 (2CH), 130.4 (2CH), 132.6 (C), 142.0 (C), 154.0 (=CH), 156.6 (C), 170.4 (C).

HRMS-ESI: вычислено для  $C_{14}H_{16}N_3O_5S^+$   $[M+H^+]$ : 338.0805; найдено: 338.0797.

#### 4.2.3 Синтез 4-нитро-5-цианоизоксазолов 17 a-w

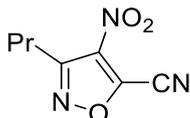
К раствору енамина (1 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (2 мл) добавили  $t\text{BuONO}$  (0.238 мл, 206 мг, 2 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Далее к реакционной смеси добавили по каплям  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (0.102 мл, 116 мг, 1 ммоль) или ТФА (0.139 мл, 210 мг, 1 ммоль), результирующий раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов. Полученную смесь вылили в воду и экстрагировали  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3×15 мл). Органический слой отделили и сушили над безводным  $\text{MgSO}_4$ , растворитель удалили при пониженном давлении. Остаток разделяли методом колоночной хроматографии с получением продуктов **17 a-w** [199].

#### 3-Метил-4-нитроизоксазол-5-карбонитрил (17a)



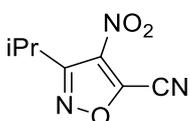
**17a** был получен из енамина **16a**. Бледно-желтые кристаллы, выход: 76% (116 мг) с использованием  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  или 80% (122 мг) с использованием ТФА;  $T_{пл} = 37-38^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.44$  (ПЭ/ЭА=8/1). Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.69 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.2 ( $\text{CH}_3$ ), 105.6 (CN), 137.6 (C- $\text{NO}_2$ ), 142.3 (C), 156.2 (C).

Рассчитано для  $\text{C}_5\text{H}_3\text{N}_3\text{O}_3$ : C, 39.23; H, 1.98; N, 27.45. Найдено: C, 39.37; H, 1.81; N, 27.24.

*4-Nitro-3-propylisoxazole-5-carbonitrile (17b)*

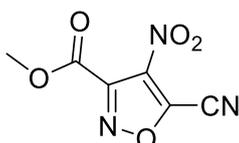
**17b** был получен из енамина **16b**. Бесцветное масло, выход: 76% (138 мг) с использованием  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  или 141 мг, 78% (141 мг) с использованием ТФА;  $R_f = 0.48$  (ПЭ/ЭА=10/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.05 (т, 3H,  $J = 7.4$  Гц,  $\text{CH}_3$ ), 1.75-1.87 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.00-3.07 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100.6 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.2 ( $\text{CH}_3$ ), 19.8 ( $\text{CH}_2$ ), 26.8 ( $\text{CH}_2$ ), 105.2 (CN), 136.7 (C- $\text{NO}_2$ ), 142.0 (C), 158.8 (C).

Рассчитано для  $\text{C}_7\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_3$ : C, 46.41; H, 3.90; N, 23.20. Найдено: C, 46.78; H, 3.36; N, 22.55.

*3-Isopropyl-4-nitroisoxazole-5-carbonitrile (17c)*

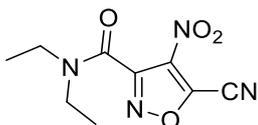
**17c** был получен из енамина **16c**. Бесцветные кристаллы, выход: 74% (134 мг) с использованием  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  или 82% (148 мг) с использованием ТФА;  $T_{\text{пл.}} = 45-47^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.49$  (ПЭ/ЭА=10/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.42 (д, 6H,  $J = 6.9$  Гц,  $\text{CH}_3$ ), 3.60 (гепт, 1H,  $J = 6.9$  Гц, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100.6 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  20.5 ( $\text{CH}_3$ ), 26.9 (CH), 105.8 (CN), 142.8 (C), 164.0 (C).

Рассчитано для  $\text{C}_7\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_3$ : C, 46.41; H, 3.90; N, 23.20. Найдено: C, 46.37; H, 4.01; N, 22.91.

*Метил-5-циано-4-нитроизоксазол-3-карбоксилат (17d)*

**17d** был получен из енамина **16d**. Бледно-желтое масло, выход: 64% (126 мг) с использованием  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  или 79% (156 мг) с использованием ТФА;  $R_f = 0.60$  (ПЭ/ЭА=3/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.09 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  54.9 ( $\text{CH}_3$ ), 104.6 (CN), 136.7 (C- $\text{NO}_2$ ), 142.3 (C), 150.8 (C), 155.9 (C).

Рассчитано для  $\text{C}_6\text{H}_3\text{N}_3\text{O}_5$ : C, 36.56; H, 1.53; N, 21.32. Найдено: C, 36.62; H, 1.50; N, 21.15.

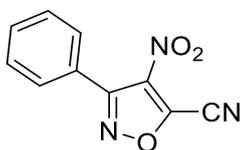
*5-Циано-N,N-диэтил-4-нитроизоксазол-3-карбоксамид (17e)*

**17e** был получен из енамина **16e**. Бледно-желтые кристаллы, выход: 85% (202 мг);  $T_{\text{пл.}} = 48-49^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.33$  (ПЭ/ЭА=4/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.18 (т,  $^3J = 7.2$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.28 (т,  $^3J = 7.2$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.24 (кв., 2H,  $^3J = 7.2$  Гц,  $\text{CH}_2$ ), 3.59 (кв., 2H,  $^3J = 7.2$  Гц,

CH<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 12.3 (CH<sub>3</sub>), 14.3 (CH<sub>3</sub>), 40.5 (CH<sub>2</sub>), 43.5 (CH<sub>2</sub>), 104.9 (CN), 136.2 (C-NO<sub>2</sub>), 141.6 (C), 153.4 (C), 154.8 (C).

Рассчитано для C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>: С, 45.38; Н, 4.23; N, 23.52. Найдено: С, 45.36; Н, 4.13; N, 23.47.

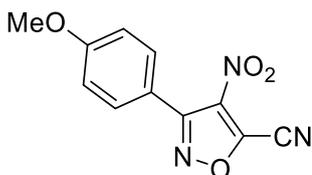
*4-Нитро-3-фенилизоксазол-5-карбонитрил (17f)*



**17f** был получен из енамина **16f**. Бесцветные кристаллы, выход: 77% (166 мг); T<sub>пл</sub> = 83-84°C, R<sub>f</sub> = 0.36 (ПЭ/ЭА=10/1). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.30-8.38 (м, 2H, 2CH), 8.38-8.47 (м, 3H, 3CH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 105.6 (CN), 123.1 (C), 129.1 (2CH), 129.6 (2CH), 132.1 (CH), 137.0 (C-NO<sub>2</sub>), 143.4 (C), 158.0 (C).

Рассчитано для C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>: С, 55.82; Н, 2.34; N, 19.53. Найдено: С, 55.97; Н, 2.43; N, 19.43.

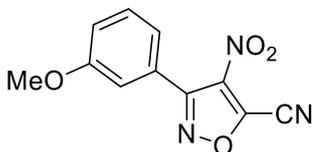
*3-(4-Метоксифенил)-4-нитроизоксазол-5-карбонитрил (17g)*



**17g** был получен из енамина **16g**. Желтые кристаллы, выход: 75% (184 мг) при использовании VF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O или 83% (203 мг) при использовании ТФА; T<sub>пл</sub> = 104-105°C; R<sub>f</sub> = 0.35 (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>), 7.00-7.06 (м, 2H, 2CH), 7.58-7.65 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 55.6 (CH<sub>3</sub>), 105.7 (CN), 114.6 (2CH), 115.0 (C), 131.2 (2CH), 137.0 (CNO<sub>2</sub>), 143.4 (C), 157.5 (C), 162.6 (C).

Рассчитано для C<sub>11</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>: С, 53.88; Н, 2.88; N, 17.14, found: С, 53.92; Н, 2.77; N, 17.12.

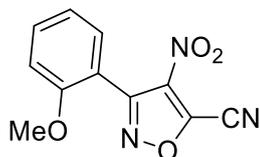
*3-(3-Метоксифенил)-4-нитроизоксазол-5-карбонитрил (17h)*



**17h** был получен из енамина **16h**. Бесцветные кристаллы, выход: 68% (167 мг) с использованием VF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O или 75% (184 мг) с использованием ТФА; T<sub>пл</sub> = 83-84°C; R<sub>f</sub> = 0.28 (ПЭ/ЭА=10/1). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.86 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 7.18-7.12 (м, 2H, CH), 7.24-7.19 (м, 1H, CH), 7.49-7.42 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100.6 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 55.6 (CH<sub>3</sub>), 105.6 (CN), 114.9 (CH), 118.0 (CH), 121.8 (CH), 124.2 (C), 130.3 (CH), 137.1 (CNO<sub>2</sub>), 143.4 (C), 157.9 (C), 159.9 (C).

Рассчитано для  $C_{11}H_7N_3O_4$ : С, 53.88; Н, 2.88; N, 17.14. Найдено: С, 53.89; Н, 2.83; N, 17.21.

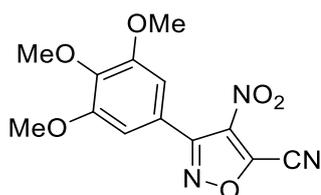
*3-(2-Метоксифенил)-4-нитроизоксазол-5-карбонитрил (17i)*



**17i** был получен из енамина **16i**. Желтые кристаллы, выход: 77% (189 мг) при использовании  $BF_3 \cdot Et_2O$  или 82% (201 мг) при использовании ТФА;  $T_{пл} = 69-71^\circ C$ ;  $R_f = 0.26$  (ПЭ/ЭА=10/1). Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.78 (с, 3H,  $CH_3$ ), 7.01-7.05 (м, 1H, CH), 7.10-7.16 (м, 1H, CH), 7.51-7.55 (м, 1H, CH), 7.56-7.62 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100.6 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  55.7 ( $CH_3$ ), 105.6 (CN), 111.4 (CH), 112.7 (C), 121.4 (CH), 130.4 (CH), 133.8 (CH), 141.5 (C), 156.0 (C), 157.4 (C).

Рассчитано для  $C_{11}H_7N_3O_4$ : С, 53.88; Н, 2.88; N, 17.14. Найдено: С, 53.83; Н, 2.79; N, 17.21.

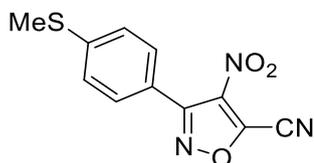
*4-Нитро-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-5-карбонитрил (17J)*



**17J** был получен из енамина **16J**. Оранжевые кристаллы, выход: 51% (156 мг);  $T_{пл} = 108-109^\circ C$ ;  $R_f = 0.42$  (ПЭ/ЭА=3/1). Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.89 (с, 6H,  $2CH_3O$ ), 3.93 (с, 3H,  $CH_3O$ ), 6.90 (с, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  56.5 ( $2CH_3O$ ), 61.1 ( $CH_3O$ ), 105.6 (CN), 107.1 (2CH), 117.9 (C), 141.4 (C), 143.6 (C), 153.7 (2C), 157.7 (C).

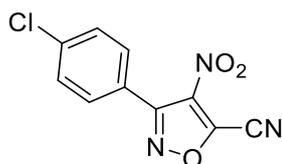
Рассчитано для  $C_{13}H_{11}N_3O_6$ : С, 51.15; Н, 3.63; N, 13.77. Найдено: С, 51.11; Н, 3.75; N, 13.81.

*3-(4-(Метилтио)фенил)-4-нитроизоксазол-5-карбонитрил (17k)*



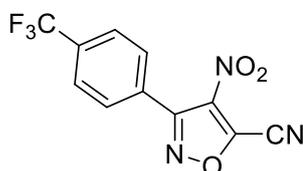
**17k** был получен из енамина **16k**. Желтые кристаллы, выход: 52% (136 мг);  $T_{пл} = 121-122^\circ C$ ;  $R_f = 0.26$  (ПЭ/ЭА=10/1). Спектры ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2.55 (с, 3H,  $CH_3S$ ), 7.33-7.39 (м, 2H, 2CH), 7.54-7.61 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  15.0 ( $CH_3S$ ), 105.6 (CN), 118.9 (C), 125.7 (2CH), 129.8 (2CH), 137.2 (C- $NO_2$ ), 143.5 (C), 144.9 (C), 157.6 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $C_{11}H_7N_3O_5SH^+$  [ $M+H^+$ ]: 262.0281. Найдено: 262.0281.

*3-(4-Хлорофенил)-4-нитроизоксазол-5-карбонитрил (17l)*

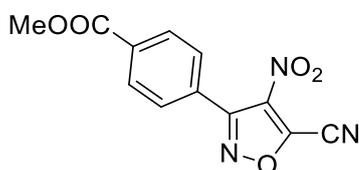
**17l** был получен из енамина **16l**. Бесцветные кристаллы, выход: 75% (187 мг);  $T_{пл} = 127-128^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.40$  (ПЭ/ЭА=10/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.52-7.57 (м, 2H, 2CH), 7.60-7.65 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  105.5 (CN), 121.6 (C), 129.6 (2CH), 131.0 (2CH), 136.9 (C-NO<sub>2</sub>), 138.8 (C), 143.7 (C), 157.2 (C).

Рассчитано для  $\text{C}_{10}\text{H}_4\text{ClN}_3\text{O}_3$ : C, 48.12; H, 1.62; N, 16.83. Найдено: C, 48.24; H, 1.78; N, 16.68.

*4-Нитро-3-(4-(трифторметил)фенил)изоксазол-5-карбонитрил (17m)*

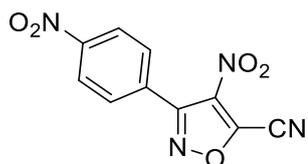
**17m** был получен из енамина **16m**. Бледно-желтые кристаллы, выход: 58% (164 мг) при использовании  $\text{VF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  или 68% (192 мг) при использовании ТФА;  $T_{пл} = 55-56^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.42$  (ПЭ/ЭА=10/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.79-7.87 (м, 3H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  105.4 (CN), 123.5 ( $\text{CF}_3$ ,  $^1J_{\text{CF}} = 272.9$  Гц), 126.2 (2CH,  $^3J_{\text{CF}} = 3.9$  Гц), 126.8 (C), 130.3 (2CH), 134.1 (C,  $^2J_{\text{CF}} = 33.0$  Гц), 136.9 (C-NO<sub>2</sub>), 143.8 (C), 157.1 (C). Спектр ЯМР  $^{19}\text{F}$  (376.3 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -63.23 ( $\text{CF}_3$ ).

Рассчитано для  $\text{C}_{11}\text{H}_4\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_3$ : C, 46.66; H, 1.42; N, 14.84. Найдено: C, 47.17; H, 2.03; N, 14.54.

*Метил-4-(5-циано-4-нитроизоксазол-3-ил)бензоат (17n)*

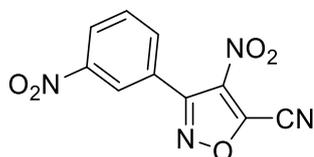
**17n** был получен из енамина **16n**. Бесцветные кристаллы, выход: 63% (172 мг);  $T_{пл} = 126-128^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.33$  (ПЭ/ЭА=6/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.95 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 7.70-7.76 (м, 2H, 2CH), 8.15-8.21 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  52.7 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 105.4 (CN), 127.3 (C), 129.8 (2CH), 130.1 (2CH), 133.4 (C), 137.0 (CNO<sub>2</sub>), 143.6 (C), 157.4 (C), 170.0 (C).

Рассчитано для  $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_6$ : C, 52.64; H, 2.58; N, 15.38. Найдено: C, 52.64; H, 2.68; N, 15.26.

*4-Нитро-3-(4-нитрофенил)изоксазол-5-карбонитрил (17o)*

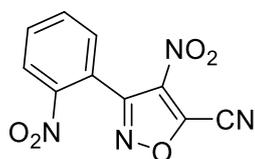
**17o** был получен из енамина **16o**. Бесцветные кристаллы, выход: 41% (107 мг) при использовании  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  или 60% (156 мг) при использовании ТФА;  $T_{\text{пл}} = 170\text{-}171^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.35$  (ПЭ/ЭА=8/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ ):  $\delta$  8.02-8.09 (м, 2H, 2CH), 8.41-8.48 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ ):  $\delta$  106.5 (CN), 123.8 (2CH), 129.8 (C), 131.4 (2CH), 137.9 (C- $\text{NO}_2$ ), 143.0 (C), 149.4 (C), 156.5 (C).

Рассчитано для  $\text{C}_{10}\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_5$ : C, 46.17; H, 1.55; N, 21.54. Найдено: C, 46.27; H, 1.78; N, 20.98.

*4-Нитро-3-(3-нитрофенил)изоксазол-5-карбонитрил (17p)*

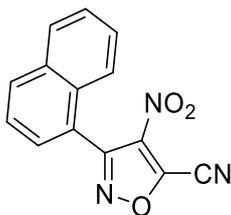
**17p** был получен из енамина **16p**. Бесцветные кристаллы, выход: 64% (166 мг) при использовании  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  или 74% (192 мг) при использовании ТФА;  $T_{\text{пл}} = 129\text{-}131^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.36$  (ПЭ/ЭА=10/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.77-7.84 (м, 1H, CH), 8.01-8.05 (м, 1H, CH), 8.49-8.54 (м, 1H, CH), 8.59-8.61 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100.6 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  105.3 (CN), 124.95(C), 124.99 (CH), 126.8 (CH), 130.4 (CH), 135.5 (CH), 144.0 (C), 148.4 (C), 156.3 (C).

Рассчитано для  $\text{C}_{10}\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_5$ : C, 46.17; H, 1.55; N, 21.54. Найдено: C, 49.19; H, 1.61; N, 21.25.

*4-Нитро-3-(2-нитрофенил)изоксазол-5-карбонитрил (17q)*

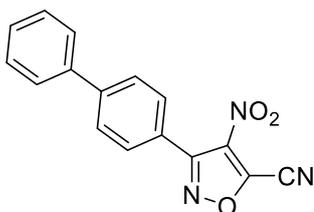
**17q** был получен из енамина **16q**. Бесцветные кристаллы, выход: 64% (166 мг) при использовании  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  или 73% (190 мг) при использовании ТФА;  $T_{\text{пл}} = 109\text{-}111^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.21$  (ПЭ/ЭА=10/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.64-7.58 (м, 1H, CH), 7.93-7.84 (м, 2H, CH), 8.48-8.40 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100.6 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  105.4 (CN), 119.5 (C), 125.9 (CH), 132.6 (CH), 133.2 (CH), 134.8 (CH), 142.2 (C), 147.3 (C), 157.2 (C).

Рассчитано для  $\text{C}_{10}\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_5$ : C, 46.17; H, 1.55; N, 21.54. Найдено: C, 46.12; H, 1.58; N, 21.37.

3-(Нафталин-1-ил)-4-нитроизоксазол-5-карбонитрил (**17r**)

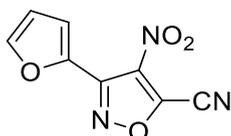
**17r** был получен из енамина **16r**. Желтые кристаллы, выход: 55% (146 мг) при использовании  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  или 68% (180 мг) при использовании ТФА;  $T_{\text{пл}} = 101\text{-}102^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.36$  (ПЭ/ЭА=8/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.48-7.65 (м, 5H, 5CH), 7.96-8.01 (м, 1H, CH), 8.08-8.14 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  105.6 (CN), 120.4 (C), 123.8 (CH), 125.1 (CH), 127.1 (CH), 128.0 (CH), 129.1 (2CH), 131.1 (C), 132.4 (CH), 133.5 (C), 137.8 (CNO<sub>2</sub>), 143.0 (C), 157.7 (C).

Рассчитано для  $\text{C}_{14}\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_3$ : C, 63.40; H, 2.66; N, 15.84. Найдено: C, 63.24; H, 2.81; N, 15.91.

3-([1,1'-Бифенил]-4-ил)-4-нитроизоксазол-5-карбонитрил (**17s**)

**17s** получали из енамина **16s**. Желтые кристаллы, выход: 56% (163 мг);  $T_{\text{пл}} = 169\text{-}171^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.55$  (ПЭ/ЭА=10/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  7.41-7.48 (м, 1H, CH), 7.48-7.56 (м, 2H, 2CH), 7.74-7.81 (м, 2H, 2CH), 7.82-7.87 (м, 2H, 2CH), 7.87-7.94 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  106.7 (CN), 122.5 (C), 125.9 (C), 127.0 (4CH), 128.3 (CH), 129.1 (2CH), 130.2 (2CH), 137.7 (C-NO<sub>2</sub>), 138.9 (C), 143.2 (C), 157.4 (C).

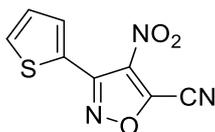
Рассчитано для  $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_3$ : C, 65.98; H, 3.11; N, 14.43. Найдено: C, 65.31; H, 3.24; N, 14.01.

3-(Фуран-2-ил)-4-нитроизоксазол-5-карбонитрил (**17t**)

**17t** был получен из енамина **16t**. Желтые кристаллы, выход: 38% (78 мг) при использовании  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  или 58% (119 мг) при использовании ТФА;  $T_{\text{пл}} = 98\text{-}100^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.28$  (ПЭ/ЭА=10/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 6.68 (дд,  $^3J = 1.8$  Гц,  $^3J = 3.7$  Гц, 1H, CH), 7.55 (дд,  $^4J = 0.7$  Гц,  $^3J = 3.7$  Гц, 1H, CH), 7.72 (дд,  $^4J = 0.7$  Гц,  $^3J = 1.8$  Гц, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  105.4 (CN), 112.7 (CH), 119.2 (CH), 137.8 (C), 143.7 (C), 147.0 (CH), 148.5 (C).

Рассчитано для  $C_8H_3N_3O_4$ : С, 46.84; Н, 1.47; N, 20.48. Найдено: С, 46.03; Н, 1.66; N, 19.73.

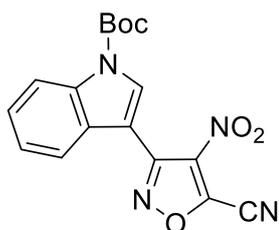
*4-Нитро-3-(тиофен-2-ил)изоксазол-5-карбонитрил (17u)*



**17u** был получен из 4-нитроизоксазола **16u**. Желтые кристаллы, выход: 47% (104 мг) при использовании  $BF_3 \cdot Et_2O$  или 64% (141 мг) при использовании ТФА;  $T_{пл} = 78-79^\circ C$ ;  $R_f = 0.42$  (ПЭ/ЭА=8/1). Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.25 (дд,  $^3J = 3.9$  Гц,  $^3J = 5.1$  Гц, 1H, CH), 7.69 (дд,  $^4J = 1.1$  Гц,  $^3J = 5.1$  Гц, 1H, CH), 7.99 (дд,  $^4J = 1.1$  Гц,  $^3J = 3.9$  Гц, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  105.5 (CN), 123.0 (C), 128.5 (CH), 132.1 (CH), 135.5 (CH), 136.4 (C- $NO_2$ ), 144.0 (C), 152.4 (C).

Рассчитано для  $C_8H_3N_3O_3S$ : С, 43.44; Н, 1.37; N, 19.00. Найдено: С, 43.48; Н, 1.26; N, 19.03.

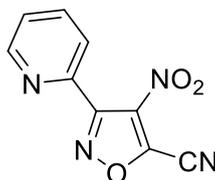
*Трет-бутил 3-(5-циано-4-нитроизоксазол-3-ил)-1H-индол-1-карбоксилат (17v)*



**17v** был получен из 4-нитроизоксазола **16v**. Желтые кристаллы, выход: 64% (227 мг) при использовании ТФА;  $T_{пл} = 167-169^\circ C$ ;  $R_f = 0.36$  (ПЭ/ЭА=10/1). Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  1.74 (с, 9H, 3 $CH_3$ ), 7.38-7.32 (м, 1H, CH), 7.46-7.40 (м, 1H, CH), 8.07-8.02 (м, 1H, CH), 8.24-8.18 (м, 1H, CH), 8.56 (с, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100.6 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  28.2 ( $CH_3$ ), 85.8 (C), 103.7 (C), 105.8 (CN), 115.4 (CH), 122.0 (CH), 124.4 (CH), 126.1 (CH), 127.0 (C), 131.4 (CH), 135.1 (C), 137.1 (C $NO_2$ ), 143.6 (C), 148.8 (C), 151.7 (C).

Рассчитано для  $C_{17}H_{14}N_4O_5$ : С, 57.63; Н, 3.98; N, 15.81. Найдено: С, 57.57; Н, 4.04; N, 15.85.

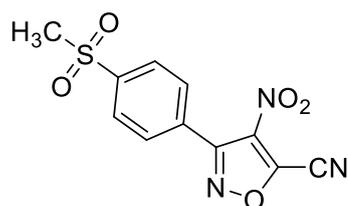
*4-Нитро-3-(пиридин-2-ил)изоксазол-5-карбонитрил (17w)*



**17w** был получен из 4-нитроизоксазола **16w**. Бесцветные кристаллы, выход: 57% (123 мг) с использованием ТФА;  $T_{пл} = 77-78^\circ C$ ;  $R_f = 0.34$  (ПЭ/ЭА=4/1). Спектр ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.52 (ддд, 1H,  $J = 1.2, 4.8, 7.6$  Гц, CH), 7.87-7.82 (м, 1H, CH), 7.96-7.89 (м, 1H, CH), 8.73 (ддд, 1H,  $J = 0.9, 1.6, 4.8$  Гц, CH). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (100.6 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  105.2 (CN), 124.3 (CH), 126.3 (CH), 137.4 (CH), 142.0 (C), 143.5 (C), 150.5 (CH), 157.1 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  вычислено для  $C_9H_5N_4O_3^+$   $[M+H^+]$ : 217.0356. Найдено: 217.0365.

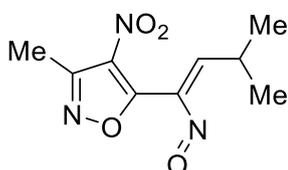
*3-(4-(Метилсульфонил)фенил)-4-нитроизоксазол-5-карбонитрил (17x)*



**17x** был получен из енамина **16x**. Бесцветные кристаллы, выход: 53% (155 мг);  $T_{пл} = 156-158^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.34$  (ПЭ/ЭА = 2/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 3.14 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.87–7.93 (м, 2H, 2CH), 8.12–8.18 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMCO-d}_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 43.2 ( $\text{CH}_3$ ), 106.6 (CN), 127.4 (2CH), 128.5 (C), 130.8 (2CH), 137.9 (C- $\text{NO}_2$ ), 143.1 (C), 143.5 (C), 156.7 (C).

Вычислено для  $C_{11}H_7N_3O_5S$ : C, 45.05; H, 2.41; N, 14.33. Найдено: C, 45.17; H, 2.51; N, 14.28.

*Синтез N,N-диметил-2-(3-метил-4-нитроизоксазол-5-ил)-2-нитроэтен-1-амина (B)*



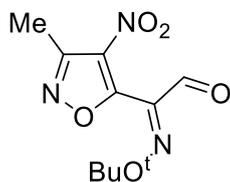
Соединение **B** было охарактеризовано методом ЯМР спектроскопии реакционной смеси. Образец приготовили согласно следующей методике:  $t\text{BuONO}$  (80 мкл, 0,609 ммоль, 2 экв.) добавили к суспензии енамина **16a** (60 мг, 0,305 ммоль, 1 экв.) в сухом  $\text{CD}_3\text{CN}$  (600 мкл, 0.51 M), образовавшийся при этом раствор перенесли в ампулу для ЯМР. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  NMR (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ):  $\delta$  2.49 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.06 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.54 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 8.82 (с, 1H, CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  NMR (100.6 МГц,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ):  $\delta$  11.8 ( $\text{CH}_3$ ), 42.4 ( $\text{CH}_3$ ), 49.5 ( $\text{CH}_3$ ), 133.7 (C- $\text{NO}_2$ ), 146.6 (C), 157.0 (C), 162.7 (C), 167.8 (CH).

*Синтез (E)-2-(гидроксиимино)-2-(3-метил-4-нитроизоксазол-5-ил)ацетальдегид (20a)*

Соединение **20a** было выделено из реакционной смеси, полученной в результате контрольного эксперимента (рисунок 3.52 реакция (a)). Это же соединение было получено в ходе оптимизации условий реакции.  $t\text{BuONO}$  (0.26 мл, 2 ммоль, 2 экв.) добавили в раствор енамина **16a** (197 мг, 1 ммоль, 1 экв.) в сухом ацетонитриле (2 мл, 0.5 M) и полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Затем к раствору добавили концентрированный раствор  $\text{HCl}$  (2 мл), и смесь в течение еще 2 часов нагревали до  $70^\circ\text{C}$  при перемешивании. Полученную смесь вылили в воду (10 мл) и экстрагировали  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 20$  мл). Объединенные органические вытяжки промыли водным раствором  $\text{NaHCO}_3$  ( $2 \times 20$  мл) и сушили над безводным  $\text{MgSO}_4$ . Растворитель удалили на ротаторном испарителе, целевое

соединение **20a** было выделено методом колоночной хроматографии в системе петролейный эфир/этилацетат.

*(E)*-2-(Трет-бутоксимино)-2-(3-метил-4-нитроизоксазол-5-ил)ацетальдегид (**20a**)



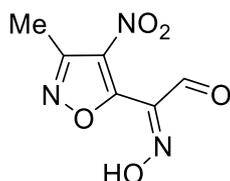
Бесцветное масло, выход: 52% (66 мг);  $R_f = 0.29$  (ПЭ/ЭА=10/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.41 (с, 9H, 3 $\text{CH}_3$ ), 2.62 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 9.73 (с, 1H, CHO). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.3 ( $\text{CH}_3$ ), 27.3 (3 $\text{CH}_3$ ), 87.1 (C), 143.2 (C), 155.3 (C), 158.3 (C), 185.7 (CH).

HRMS-ESI  $m/z$  вычислено для  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_5\text{Na}^+$  [ $\text{M}+\text{Na}^+$ ]: 278.0747. Найдено: 278.0751.

*Синтез (E)*-2-(гидроксиимино)-2-(3-метил-4-нитроизоксазол-5-ил)ацетальдегид (**20b**)

Соединение **20b** было получено из реакционной смеси, полученной в результате контрольного эксперимента (рисунок 3.52 реакция (а)). Это же соединение было получено в процессе оптимизации условий реакции.  $t\text{BuONO}$  (0.26 мл, 2 ммоль, 2 экв.) добавляли к раствору енамина **16a** (197 мг, 1 ммоль, 1 экв.) в сухом ацетонитриле (2 мл, 0.5 М), полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Далее к раствору добавляли концентрированную  $\text{HCl}$  (2 мл), смесь 2 часа нагревали при  $70^\circ\text{C}$ . Реакционную смесь вылили в воду (10 мл) и экстрагировали  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 $\times$ 20 мл). Объединенную органическую вытяжку промыли водным раствором  $\text{NaHCO}_3$  (2 $\times$ 20 мл) и сушили над безводным  $\text{MgSO}_4$ . Растворитель удалили на роторном испарителе, целевое вещество **20b** было выделено методом колоночной хроматографии в системе петролейный эфир/этилацетат.

*(E)*-2-(Гидроксиимино)-2-(3-метил-4-нитроизоксазол-5-ил)ацетальдегид (**20b**)



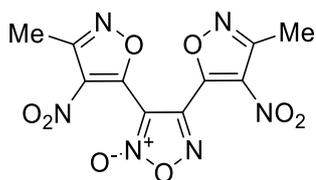
Бесцветное масло, выход: 94% (187 мг);  $R_f = 0.27$  (ПЭ/ЭА=3/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.63 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 9.72 (с, 1H, CHO), 11.76 (уш. с, 1H, OH).  $^{13}\text{C}$  NMR (100.6 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.3 ( $\text{CH}_3$ ), 133.4 (C- $\text{NO}_2$ ), 145.4 (C), 155.7 (C), 158.0 (C), 186.3 (CH).

HRMS-ESI  $m/z$  вычислено для  $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}_3\text{O}_5^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 200.0302. Найдено: 200.0297.

*Синтез 3,4-бис(3-метил-4-нитроизоксазол-5-ил)-1,2,5-оксадиазол-2-оксид (21)*

Соединение **21** было выделено из реакционной смеси, полученной в результате процедуры оптимизации условий реакции (Таблица 3.7).

*3,4-Бис(3-метил-4-нитроизоксазол-5-ил)-1,2,5-оксадиазол 2-оксид (21).*



Бесцветные кристаллы, выход: 9% (8 мг);  $T_{пл.} = 163-165^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.18$  (ПЭ/ЭА=10/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.65 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.69 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  NMR (100.6 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  11.4 ( $\text{CH}_3$ ), 11.5 ( $\text{CH}_3$ ), 104.3 (C), 132.7 (2C- $\text{NO}_2$ ), 133.0 (2C- $\text{NO}_2$ ), 142.7 (C), 152.9 (C), 154.7 (C), 156.8 (C), 156.9 (C).

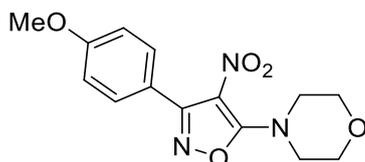
### 4.3. Изучение химических свойств 4-нитро-5-цианоизоксазолов

#### 4.3.1. Синтез изоксазолов 22a-c

##### Общая методика 1

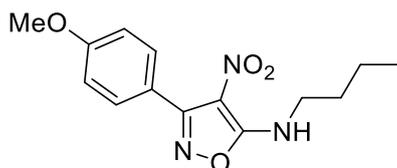
В раствор 4-нитро-5-цианоизоксазола **17g** (122.5 мг, 0.5 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (2 мл) последовательно добавили соответствующего амина (0.5 ммоль) и ДИПЭА (0.048 мл, 64.5 мг, 0.5 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 час. По окончании реакции смесь вылили в воду и экстрагировали  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 15$  мл), органический слой сушили над безводным  $\text{MgSO}_4$ . Растворитель удалили при пониженном давлении, остаток разделяли методом конечной хроматографии с выделением аминов **22b,c**. В случае амина **22a**, целевое вещество выпало из реакционной смеси в виде бесцветного осадка, который отфильтровали и промыли холодным ацетонитрилом.

##### 4-(3-(4-Метоксифенил)-4-нитроизоксазол-5-ил)морфолин (**22a**)



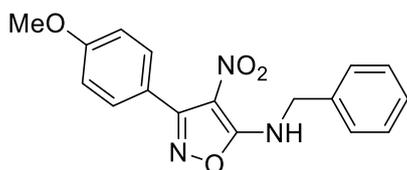
**22a** был синтезирован из 4-нитроизоксазола-5-карбонитрила **17g** и морфолина. Бесцветные кристаллы, выход: 100% (204 мг);  $T_{пл.} = 138-140^{\circ}\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ ):  $\delta$  3.68-3.74 (м, 4H,  $2\text{CH}_2$ ), 3.75-3.80 (м, 4H,  $2\text{CH}_2$ ), 3.82 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 7.02-7.08 (м, 2H, 2CH), 7.49-7.56 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ ):  $\delta$  48.3 ( $2\text{CH}_2$ ), 55.3 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 65.6 ( $2\text{CH}_2$ ), 111.7 (C- $\text{NO}_2$ ), 113.7 (2CH), 119.3 (C), 130.8 (2CH), 159.6 (C), 160.8 (C), 164.9 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_5^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 306.1084. Найдено: 306.1085.

*N*-Бутил-3-(4-метоксифенил)-4-нитроизоксазол-5-амин (**22b**)

**22b** был синтезирован из 4-нитроизоксазола-5-карбонитрила **17g** и бутиламина. Желтые кристаллы, выход: 94% (273.5 мг);  $T_{пл} = 100-102^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.41$  (ПЭ/ЭА=3/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.99 (т,  $^3J = 7.4$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.40-1.51 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.68-1.77 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.56-3.63 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.85 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.95-7.02 (м, 2H, 2CH), 7.60-7.67 (м, 2H, 2CH), 7.79 (уш. т,  $^3J = 5.6$  Гц, 1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13.7 ( $\text{CH}_3$ ), 19.9 ( $\text{CH}_2$ ), 31.6 ( $\text{CH}_2$ ), 42.7 ( $\text{CH}_2$ ), 55.5 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 110.0 (C- $\text{NO}_2$ ), 113.9 (2CH), 118.3 (C), 131.1 (2CH), 158.0 (C), 161.7 (C), 166.4 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_4^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 292,1292. Найдено: 292.1290.

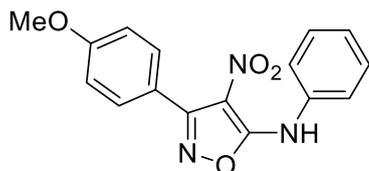
*N*-Бензил-3-(4-метоксифенил)-4-нитроизоксазол-5-амин (**22c**)

**22c** был синтезирован из 4-нитроизоксазола-5-карбонитрила **17d** и бензиламина. Желтые кристаллы, выход: 86% (279.5 мг);  $T_{пл} = 118-119^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.36$  (ПЭ/ЭА=3/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.86 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 4.76 (д,  $^3J = 6.3$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.96-7.02 (м, 2H, 2CH $_2$ ), 7.34-7.45 (м, 5H, 5CH), 7.61-7.67 (м, 2H, 2CH), 8.05 (уш. т,  $^3J = 6.3$  Гц, 1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  46.8 ( $\text{CH}_2$ ), 55.5 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 110.2 (C- $\text{NO}_2$ ), 114.0 (2CH), 118.2 (C), 128.0 (2CH), 128.7 (CH), 129.3 (2CH), 131.1 (2CH), 135.5 (C), 158.1 (C), 161.7 (C), 166.2 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_4^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 326.1135. Найдено: 326.1137.

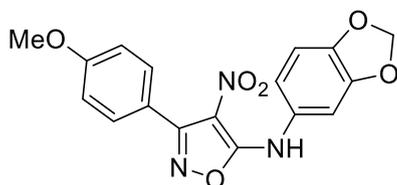
**Общая методика 2**

В раствор 4-нитро-5-цианоизоксазола **17g** (122.5 мг, 0.5 ммоль) в сухом ТГФ (2 мл) последовательно добавили соответствующий анилин (0.5 ммоль) и ДИПЭА (0.048 мл, 64.5 мг, 0.5 ммоль). Смесь перемешивали при  $50^{\circ}\text{C}$  в течение 6 часов в инертной атмосфере. По окончании реакции смесь вылили в воду и экстрагировали  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 15$  мл), объединенные органические слои сушили над безводным  $\text{MgSO}_4$ . Растворитель удалили на роторном испарителе, остаток разделяли методом колоночной хроматографии с получением продуктов **22d,e**.

*3-(4-Метоксифенил)-4-нитро-N-фенилизоксазол-5-амин (22d)*

**22d** был синтезирован из 4-нитроизоксазола-5-карбонитрила **17g** и анилина. Желтые кристаллы, выход: 47% (146 мг);  $T_{пл} = 165-167^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.32$  (ПЭ/ЭА=5/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  3.83 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 7.04-7.11 (м, 2H, CH), 7.27-7.34 (м, 1H, CH), 7.43-7.51 (м, 2H, 2CH), 7.55-7.65 (м, 4H, 4CH), 10.88 (уш. с, 1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  55.4 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 110.6 (C- $\text{NO}_2$ ), 113.8 (2CH), 118.3 (C), 123.2 (2CH), 126.4 (CH), 129.2 (2CH), 131.0 (2CH), 135.8 (C), 157.4 (C), 161.0 (C), 163.6 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_4^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 312.0979. Найдено: 312.0976.

*N-(Бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-3-(4-метоксифенил)-4-нитроизоксазол-5-амин (22e)*

**22e** был синтезирован из 4-нитроизоксазола-5-карбонитрила **17g** и анилина **23a**. Желтые кристаллы, выход: 32% (114 мг);  $T_{пл} = 165-167^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.38$  (ПЭ/ЭА=3/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  3.83 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.09 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.99 (д,  $^3J = 8.3$  Гц, 1H, CH), 7.03 (дд,  $^3J = 8.3$  Гц,  $^4J = 2.0$  Гц, 1H, CH), 7.05-7.10 (м, 2H, 2CH), 7.16 (д,  $^4J = 2.0$  Гц, 1H, CH), 7.56-7.62 (м, 2H, 2CH), 10.77 (уш. с, 1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  55.3 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 101.7 (O- $\text{CH}_2\text{-O}$ ), 105.6 (CH), 108.2 (CH), 110.2 (C- $\text{NO}_2$ ), 113.8 (2CH), 117.3 (CH), 118.4 (C), 129.4 (CH), 130.9 (2CH), 145.8 (C), 147.5 (C), 157.4 (C), 161.0 (C), 162.3 (C), 163.8 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_6^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 356.0877. Найдено: 356.0877.

**4.3.2. Синтез изоксазолов 26a-c****Общая методика 3**

К раствору 4-нитроизоксазол-5-карбонитрила **17g** (122.5 мг, 0.5 ммоль) в ацетонитриле (2 мл) последовательно добавили соответствующий тиофенол (0.5 ммоль) и ДБУ (0.075 мл, 76 мг, 0.5 ммоль). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. За ходом реакции следили методом тонкослойной хроматографии. После завершения реакции реакционную смесь вылили в воду и экстрагировали  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3×15 мл), органический слой сушили над безводным  $\text{MgSO}_4$ . Растворитель удалили на роторном испарителе, остаток разделяли методом колоночной хроматографии с получением целевых соединений **26a-c**.

3-(4-Метоксифенил)-4-(фенилтио)изоксазол-5-карбонитрил (**26a**)

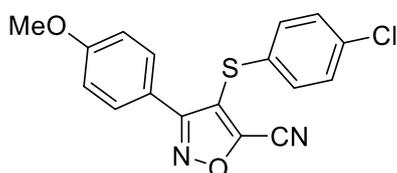
**7a** был синтезирован из 4-нитроизоксазола-5-карбонитрила **17g** и тиофенола **25a**. Бледно-желтые кристаллы, выход: 35% (54 мг);  $T_{пл} = 69-71^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.34$  (ПЭ/ЭА=10/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.85 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.94-6.98 (м, 2H, 2CH), 7.28-7.34 (м, 5H, 5CH), 7.79-7.85 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  55.5 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 107.8 (CN), 114.5 (2CH), 118.5 (C), 121.5 (C), 128.8 (CH), 129.8 (2CH), 129.9 (2CH), 131.1 (2CH), 131.4 (C), 145.3 (C), 161.9 (C), 162.4 (C).

Рассчитано для  $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ : C, 66.22; H, 3.92; N, 9.08, найдено: C, 66.85; H, 3.66; N, 8.38.

3-(4-Метоксифенил)-4-((4-метоксифенил)тио)изоксазол-5-карбонитрил (**26b**)

**26b** был синтезирован из 4-нитроизоксазола-5-карбонитрила **17g** и тиофенола **25b**. Желтые кристаллы, выход: 32% (54 мг);  $T_{пл} = 98-101^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.24$  (ПЭ/ЭА=10/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.79 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.87 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.83-6.88 (м, 2H, 2CH), 6.97-7.03 (м, 2H, 2CH), 7.34-7.40 (м, 2H, 2CH), 7.79-7.85 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  55.53 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 55.55 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 108.0 (CN), 114.5 (2CH), 115.4 (2CH), 118.7 (C), 120.7 (C), 124.3 (C), 130.0 (2CH), 135.1 (2CH), 143.3 (C), 161.0 (C), 161.78 (C), 161.81 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  вычислено для  $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3\text{SNa}^+$  [ $\text{M}+\text{Na}^+$ ]: 361.0617. Найдено: 361.0618.

4-((4-Хлорфенил)тио)-3-(4-метоксифенил)изоксазол-5-карбонитрил (**26c**)

**26c** был синтезирован из 4-нитроизоксазола-5-карбонитрила **17g** и тиофенола **25c**. Бесцветные кристаллы, выход: 42% (73 мг);  $T_{пл} = 88-91^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.42$  (ПЭ/ЭА=10/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.86 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.94-7.00 (м, 2H, 2CH), 7.20-7.30 (м, 4H, 4CH), 7.78-7.84 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  55.5 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 107.7 (CN), 114.6 (2CH), 118.3 (C), 120.6 (C), 129.8 (2CH), 130.0 (2CH), 132.1 (2CH), 135.1 (C), 145.7 (C), 162.0 (C), 162.4 (C).

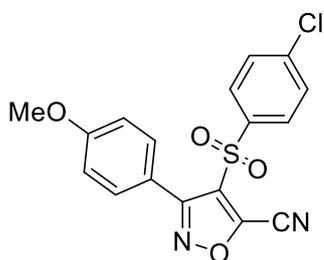
Рассчитано для  $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}$ : C, 59.56; H, 3.23; N, 8.17. Найдено: C, 59.81; H, 2.89; N, 8.17.

### 4.3.3. Синтез изоксазола 28

#### Синтез 4-((4-хлорфенил)сульфонил)-3-(4-метоксифенил)изоксазол-5-карбонитрила 27

К раствору изоксазола **26с** (171.5 мг, 0.5 ммоль) в дихлорметане (2 мл) при охлаждении (до 0°C) порционно добавили МПХБК (259 мг, 1.5 ммоль, 3 экв.), далее смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. По окончании реакции раствор разбавили хлороформом (10 мл) и полученный раствор промыли насыщенным раствором Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (15 мл) и затем насыщенным раствором NaCl (15 мл). Органическую фракцию отделили и сушили над безводным MgSO<sub>4</sub>. Растворитель удалили на роторном испарителе, остаток разделяли с помощью коночной хроматографии с образованием целевого вещества **27**.

#### 4-((4-Хлорфенил)сульфонил)-3-(4-метоксифенил)изоксазол-5-карбонитрил (**27**)

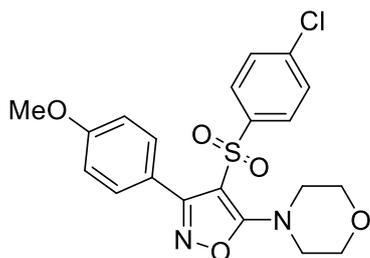


Бесцветные кристаллы, выход: 59% (110 мг); T<sub>пл</sub> = 114-116°C; R<sub>f</sub> = 0.38 (ПЭ/ЭА=6/1). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.88 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.97-7.01 (м, 2H, 2CH), 7.36-7.39 (м, 2H, 2CH), 7.53-7.59 (м, 4H, 4CH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 55.6 (CH<sub>3</sub>O), 107.3 (CN), 114.6 (2CH), 116.0 (C), 129.6 (2CH), 129.9 (2CH), 131.3 (2CH), 137.1 (C), 139.3 (CNO<sub>2</sub>), 142.1 (C), 145.5 (C), 160.6 (C), 162.3 (C).

#### Синтез 4-((4-хлорфенил)сульфонил)-3-(4-метоксифенил)изоксазол-5-карбонитрила 28

В раствор 4-нитро-5-цианоизоксазола **27** (75 мг, 0.2 ммоль) в CH<sub>3</sub>CN (2 мл) последовательно добавили морфолина (0.017 мл, 17 мг, 0.2 ммоль) и ДИПЭА (0.035 мл, 26 мг, 0.2 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 час. По окончании реакции смесь вылили в воду и экстрагировали CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×15 мл), органический слой сушили над безводным MgSO<sub>4</sub>. Растворитель удалили при пониженном давлении, остаток разделяли методом коночной хроматографии.

## 4-(4-((4-Хлорфенил)сульфонил)-3-(4-метоксифенил)изоксазол-5-ил)морфолин (28)

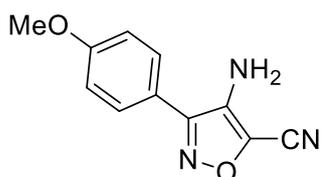


Бесцветные кристаллы, выход: 93% (81 мг);  $T_{пл} = 130-132^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.39$  (ПЭ/ЭА=2/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.77-3.80 (м, 4H,  $2\text{CH}_2$ ), 3.81 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.84-3.87 (м, 4H,  $2\text{CH}_2$ ), 6.80-6.83 (м, 2H, 2CH), 7.17-7.20 (м, 2H, 2CH), 7.21-7.25 (м, 2H, 2CH), 7.32-7.35 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  50.3 ( $2\text{CH}_2$ ), 55.5 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 66.5 ( $2\text{CH}_2$ ), 95.9 (C), 113.7 ( $2\text{CH}$ ), 119.7 (C), 128.6 ( $2\text{CH}$ ), 128.7 ( $2\text{CH}$ ), 130.8 ( $2\text{CH}$ ), 139.8 (C), 140.7 (C), 161.3 (C), 163.1 (C), 169.6 (C).

## 4.3.4. Синтез 4-аминоизоксазолов 29a,b и 36

К раствору 4-нитроизоксазол-5-карбонитрила **17g** (122.5 мг, 0.5 ммоль) в смеси ТГФ/ $\text{H}_2\text{O}$  (1:1) (3 мл) добавили  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  (522 мг, 3 ммоль, 6 экв.). Смесь нагревали при  $90^{\circ}\text{C}$  при перемешивании в течение 1 часа. После чего смесь охладили до комнатной температуры и добавили концентрированный раствор  $\text{HCl}$  (3.7 мл). Полученный раствор перемешивали при  $60^{\circ}\text{C}$  в течение 15 мин, после чего смесь охладили и добавили насыщенный раствор  $\text{NaHCO}_3$  до  $\text{pH} = 8$ . Продукт из смеси экстрагировали  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $4 \times 20$  мл), органический слой сушили над безводным  $\text{MgSO}_4$ . Полученный после удаления растворителя остаток представлял собой чистый амин, не требующий дальнейшей очистки.

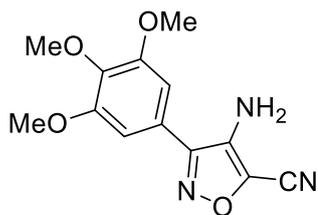
## 4-Амино-3-(4-метоксифенил)изоксазол-5-карбонитрил (29a)



**29a** был синтезирован из 4-нитроизоксазола-5-карбонитрила **17g**. Желтые кристаллы, выход: 90% (97 мг);  $T_{пл} = 128-130^{\circ}\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.87 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.92 (уш. с, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.02-7.08 (м, 2H, 2CH), 7.58-7.64 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  55.6 ( $\text{CH}_3$ ), 109.6 (CN), 115.1 ( $2\text{CH}$ ), 118.6 (C), 124.7 (C), 129.1 ( $2\text{CH}$ ), 135.7 (C), 155.7 (C), 161.6 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  рассчитано для  $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_2^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 216.0768. Найдено: 216.0768.

4-Амино-3-(3,4,5-триметоксифенил)-5-цианоизоксазол (**29b**)



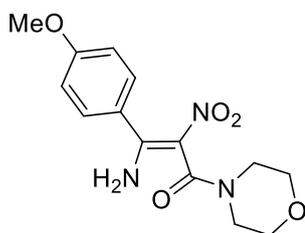
Изоксазол **29b** был получен из 4-нитро-5-цианоизоксазола **17f**. Желтые кристаллы, выход: 85%, (117 мг);  $T_{\text{пл}} = 169\text{--}170^\circ\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 3.87 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.87 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 4.11 (уш. с, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 6.84 (с, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 56.4 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 61.0 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 104.8 (2CH), 109.4 (CN), 121.6 (C), 124.9 (C- $\text{NH}_2$ ), 135.7 (C), 139.9 (C), 154.1 (2C), 155.9 (C).

HRMS-ESI: вычислено для  $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4\text{Na}^+$  [ $\text{M}+\text{Na}^+$ ]: 298.0798; найдено: 298.0805.

#### 4.3.5. Синтез соединения 31

В раствор 4-нитроизоксазола **22a** (101 мг, 0.33 ммоль) в смеси EtOH и ЭА (2:3, 10 мл) добавили 10% Pd/C (5 мг). Систему дегазировали и заполнили водородом. Реакционную смесь перемешивали в атмосфере водорода при комнатной температуре в течение 72 ч. После завершения реакции смесь фильтровали через слой силикагеля. Полученный органический раствор концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали методом колоночной хроматографии с получением целевого продукта.

(*E*)-3-Амино-3-(4-метоксифенил)-1-морфолино-2-нитропроп-2-ен-1-он (**31**)



Изоксазол **31** был получен из 4-нитроизоксазола **22a**. Желтые кристаллы, выход: 83 мг (82%);  $T_{\text{пл}} = 159\text{--}161^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.06$  (ПЭ/ЭА = 1/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 3.01–3.12 (м, 2H,  $4\text{CH}_2$ ), 3.19–3.35 (м, 3H,  $4\text{CH}_2$ ), 3.38–3.60 (м, 3H,  $4\text{CH}_2$ ), 3.79 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.85–6.91 (м, 2H, 2CH), 7.20 (уш. с, 1H,  $\text{NH}_2$ ), 7.35–7.41 (м, 2H, 2CH), 9.56 (уш. с, 1H,  $\text{NH}_2$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 42.1 ( $\text{CH}_2$ ), 46.8 ( $\text{CH}_2$ ), 55.5 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 66.1 ( $\text{CH}_2$ ), 66.3 ( $\text{CH}_2$ ), 114.4 (2CH), 117.6 (C), 129.2 (2CH), 134.0 (C- $\text{NO}_2$ ), 158.2 (C), 162.0 (C), 162.3 (C).

HRMS-ESI  $m/z$ : вычислено для  $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_5\text{Na}^+$  [ $\text{M}+\text{Na}^+$ ]: 330.1060; найдено: 330.1065.

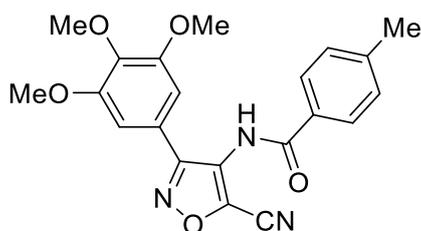
#### 4.4. Синтез изоксазолов с ожидаемой противораковой активностью

##### 4.4.1. Синтеза амидов 33a и 33b

К смеси аминоксазола **29b** (100 мг, 0.36 ммоль) и триэтиламина (0.10 мл, 0.72 ммоль) в 1.5 мл  $\text{CH}_3\text{CN}$  в атмосфере аргона прикапали раствор соответствующего хлорангидрида **35a,b**

(0.72 ммоль) в 0.5 мл  $\text{CH}_3\text{CN}$ . Смесь перемешивали при температуре  $60^\circ\text{C}$  в течение 48 ч. По окончании реакции смесь разбавили водой (10 мл), органический слой отделили, а водный слой экстрагировали хлористым метиленом ( $4 \times 10$  мл). Объединенные органические фракции промыли водным насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$  (10 мл) и высушили над  $\text{MgSO}_4$ . Растворитель упарили на роторном испарителе, продукт очистили методом перекристаллизации в  $\text{CH}_3\text{CN}$  [200].

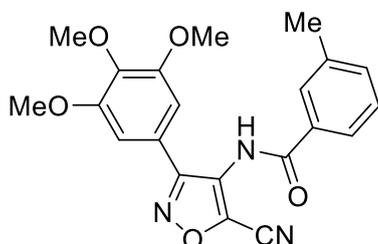
*N*-(3-(3,4,5-Триметоксифенил)-5-цианоизоксазол-4-ил)-4-метилбензамид (**33a**)



Изоксазол **33a** был получен с использованием 4-аминоизоксазола **29b** и хлорангирида **35a**. Светло-желтые кристаллы, выход: 73% (103 мг);  $T_{\text{пл}} = 211\text{--}213^\circ\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 2.39 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.72 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.77 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 7.08 (с, 2H, 2CH), 7.35–7.41 (м, 2H, 2CH), 7.88–7.94 (м, 2H, 2CH), 10.75 (уш. с, 1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 21.1 ( $\text{CH}_3$ ), 56.1 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 60.2 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 105.3 (2CH), 108.6 (CN), 121.1 (C), 123.2 (C), 125.1 (C), 128.1 (2CH), 129.3 (2CH), 136.6 (C), 139.6 (C), 143.2 (C), 153.4 (2C), 158.7 (C), 165.5 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  вычислено для  $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5\text{NH}_4^+$  [ $\text{M}+\text{NH}_4^+$ ]: 411.1663; найдено: 411.1658.

*N*-(3-(3,4,5-Триметоксифенил)-5-циано-изоксазол-4-ил)-3-метилбензамид (**33b**)



Изоксазол **33b** был получен с использованием 4-аминоизоксазола **29b** и хлорангирида **35b**. Светло-желтые кристаллы, выход: 68% (96 мг);  $T_{\text{пл}} = 209\text{--}211^\circ\text{C}$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 2.43 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.87 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.92 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.84 (с, 2H, 2CH), 7.36–7.47 (м, 2H, 2CH), 7.58–7.63 (м, 1H, CH), 7.71–7.74 (м, 1H, CH), 7.83 (уш. с, 1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 20.9 ( $\text{CH}_3$ ), 56.1 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 60.2 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 105.4 (2CH), 108.6 (CN), 121.1 (C), 125.0 (C), 125.2 (CH), 128.56 (CH), 128.64 (CH), 132.2 (C), 133.4 (CH), 136.6 (C), 138.1 (C), 139.6 (C), 153.4 (2C), 158.7 (C), 165.8 (C).

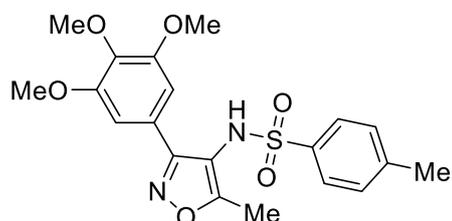
HRMS-ESI  $m/z$  вычислено для  $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5\text{NH}_4^+$  [ $\text{M}+\text{NH}_4^+$ ]: 411.1663; найдено: 411.1657.

#### 4.4.2. Синтез сульфонамидов 38a-g

Исходный изоксазол **36** был получен из 4-нитроизоксазола **1f** восстановлением в стандартных условиях с помощью дитионата натрия [153].

К смеси 0.1 г (0.38 ммоль) аминоизоксазола **36** и 0.034 мл (0.42 ммоль) пиридина в 6 мл  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  в атмосфере аргона при  $0^\circ\text{C}$  добавили в три порции соответствующий сульфонилхлорид **37a-g** (0.42 ммоль). Смесь перемешивали при охлаждении 2 ч, а затем при комнатной температуре 48 ч. По окончании реакции смесь разбавили водой (10 мл), добавили 1М  $\text{HCl}$  (5 мл), органический слой отделили, а водный слой экстрагировали хлористым метиленом ( $4 \times 10$  мл). Объединенные органические фракции промыли водным насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$  (10 мл) и высушили над  $\text{MgSO}_4$ . Растворитель упарили на роторном испарителе, продукт очищали методом колоночной хроматографии [200].

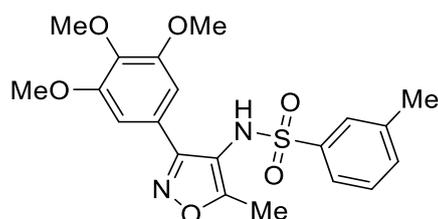
*4-Метил-N-[5-метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил]бензолсульфонамид*  
(**38a**)



Изоксазол **38a** был получен с использованием 4-аминоизоксазола **36** и сульфонилхлорида **37a**. Бесцветные кристаллы, выход: 80% (126 мг);  $T_{\text{пл}} = 135\text{--}137^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.18$  (ПЭ/ЭА = 2/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 2.29 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.32 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.77 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.84 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.61 (с, 2H, 2CH), 7.00–7.06 (м, 2H, 2CH), 7.09 (уш. с, 1H, NH), 7.40–7.45 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 11.1 ( $\text{CH}_3$ ), 21.5 ( $\text{CH}_3$ ), 56.2 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 60.9 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 105.1 (2CH), 111.0 (C-NH), 122.8 (C), 127.3 (2CH), 129.5 (2CH), 135.8 (C), 139.3 (C), 144.4 (C), 153.2 (2C), 160.1 (C), 169.7 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  вычислено для  $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}^+$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ]: 419.1271; найдено: 419.1266.

*3-Метил-N-[5-метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил]бензолсульфонамид*  
(**38b**)

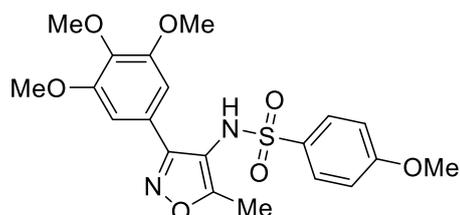


Изоксазол **38b** был получен с использованием 4-аминоизоксазола **36** и сульфонилхлорида **37b**. Бесцветные кристаллы, выход: 83% (131 мг);  $T_{\text{пл}} = 124\text{--}125^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.20$  (ПЭ/ЭА = 2/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 2.26 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.33 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.81 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.85 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.61 (с, 2H, 2CH), 7.00–7.06 (м, 2H, 2CH), 7.09 (уш. с, 1H, NH), 7.40–7.45 (м, 2H, 2CH).

CH<sub>3</sub>O), 6.42 (уш. с, 1H, NH), 6.65 (с, 2H, 2CH), 7.15–7.21 (м, H, CH), 7.22–7.26 (м, H, CH), 7.36–7.38 (м, H, CH), 7.38–7.43 (м, H, CH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, δ, м.д.): 11.0 (CH<sub>3</sub>), 21.1 (CH<sub>3</sub>), 56.1 (2CH<sub>3</sub>O), 60.7 (CH<sub>3</sub>O), 104.8 (2CH), 110.9 (C-NH), 122.7 (C), 124.2 (CH), 127.4 (CH), 128.7 (CH), 133.9 (CH), 138.8 (C), 138.9 (C), 139.3 (C), 153.0 (2C), 160.0 (C), 169.8 (C).

HRMS-ESI m/z вычислено для C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S<sup>+</sup> [M+H<sup>+</sup>]: 419.1271; найдено: 419.1265.

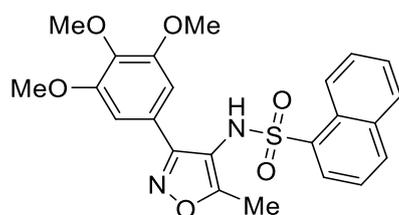
4-Метокси-N-[5-метил-3-(3,4,5-триметоксифенил) изоксазол-4-ил]бензолсульфонамид (38с)



Изоксазол **38с** был получен с использованием 4-аминоизоксазола **36** и сульфонила хлорида **37с**. Белые кристаллы, выход: 73% (120 мг); T<sub>пл</sub> = 134–135°C; R<sub>f</sub> = 0.38 (ПЭ/ЭА = 1/1). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, δ, м.д.): 2.36 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.81 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 3.83 (с, 6H, 2CH<sub>3</sub>O), 3.87 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.11 (уш. с, 1H, NH), 6.60 (с, 2H, 2CH), 6.68–6.73 (м, 2H, 2CH), 7.43–7.48 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, δ, м.д.): 11.3 (CH<sub>3</sub>), 55.7 (CH<sub>3</sub>O), 56.3 (2CH<sub>3</sub>O), 61.0 (CH<sub>3</sub>O), 105.0 (2CH), 111.1 (C-NH), 114.1 (2CH), 122.8 (C), 129.6 (2CH), 129.8 (C), 139.3 (C), 153.4 (2C), 160.2 (C), 163.4 (C), 169.8 (C).

HRMS-ESI m/z вычислено для C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>SNa<sup>+</sup> [M+Na<sup>+</sup>]: 457.1040; найдено: 457.1042.

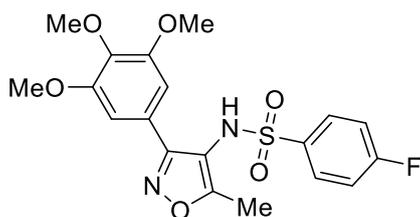
N-[5-Метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил]нафталин-1-сульфонамид (38d)



Изоксазол **38d** был получен с использованием 4-аминоизоксазола **36** и сульфонила хлорида **37d**. Бесцветные кристаллы, выход: 53% (91 мг); T<sub>пл</sub> = 184–185°C; R<sub>f</sub> = 0.41 (ПЭ/ЭА = 1/1). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, δ, м.д.): 2.21 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.61 (с, 6H, 2CH<sub>3</sub>O), 3.71 (с, 3H, CH<sub>3</sub>O), 6.25 (с, 2H, 2CH), 7.32 (уш. с, 1H, NH), 7.31–7.36 (м, 1H, CH), 7.45–7.54 (м, 2H, 2CH), 7.75–7.80 (м, 1H, CH), 7.86–7.91 (м, 1H, CH), 7.92 (дд, 1H, CH, <sup>3</sup>J = 7.3 Гц, <sup>4</sup>J = 1.2 Гц), 8.50–8.55 (м, 1H, CH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, δ, м.д.): 11.1 (CH<sub>3</sub>), 55.8 (2CH<sub>3</sub>O), 60.7 (CH<sub>3</sub>O), 104.2 (CH), 111.1 (C-NH), 121.9 (C), 123.8 (CH), 123.9 (CH), 127.0 (CH), 127.9 (C), 128.3 (CH), 129.0 (CH), 130.1 (CH), 133.7 (C), 134.0 (C), 135.0 (CH), 138.4 (C), 152.5 (2C), 160.6 (C), 169.8 (C).

HRMS-ESI m/z вычислено для C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>SNa<sup>+</sup> [M+Na<sup>+</sup>]: 477.1091; найдено: 477.1093.

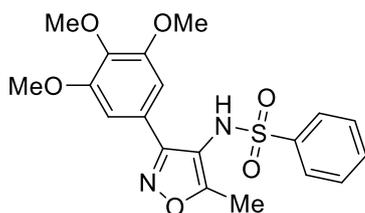
(38e)



Изоксазол **14e** был получен с использованием 4-аминоизоксазола **36** и сульфонилхлорида **37e**. Бесцветные кристаллы, выход: 77% (123 мг);  $T_{пл} = 155\text{--}157^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.54$  (ПЭ/ЭА = 1/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 2.35 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.80 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.86 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.59 (с, 2H, 2CH), 6.72 (уш. с, 1H, NH), 6.90–6.97 (м, 2H, 2CH), 7.53–7.59 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 11.3 ( $\text{CH}_3$ ), 56.4 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 61.0 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 105.0 (2CH), 110.7 (C-NH), 116.2 (2CH,  $^2J_{\text{CF}} = 22.7$ ), 122.6 (C), 130.2 (2CH,  $^3J_{\text{CF}} = 9.4$  Гц), 134.7 (C,  $^4J_{\text{CF}} = 3.0$  Гц), 139.5 (C), 153.5 (2C), 160.0 (C), 165.4 (C,  $^1J_{\text{CF}} = 256.5$  Гц), 169.9 (C). Спектр ЯМР  $^{19}\text{F}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): -103.77 (тт,  $^3J_{\text{FH}} = 8.2$  Гц,  $^4J_{\text{FH}} = 5.1$  Гц).

HRMS-ESI  $m/z$  вычислено для  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{FN}_2\text{O}_6\text{SNa}^+$  [ $\text{M}+\text{Na}^+$ ]: 445.0840; найдено: 445.0841.

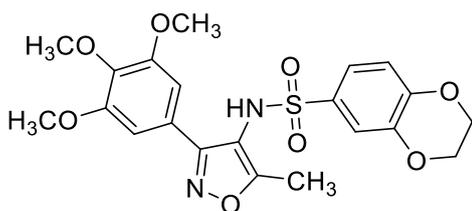
*N*-[5-Метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил] бензолсульфонамид (**38f**)



Изоксазол **38f** был получен с использованием 4-аминоизоксазола **36** и сульфонилхлорида **37f**. Бесцветные кристаллы, выход: 80% (123 мг);  $T_{пл} = 149\text{--}150^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.45$  (ПЭ/ЭА = 1/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 2.21 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.73 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.81 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.62 (с, 2H, 2CH), 7.21–7.25 (м, 2H, 2CH), 7.38–7.44 (м, 1H, CH), 7.52–7.57 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 11.0 ( $\text{CH}_3$ ), 56.2 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 60.8 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 105.0 (2CH), 110.9 (C-NH), 122.7 (C), 127.2 (2CH), 128.9 (2CH), 133.1 (CH), 138.9 (C), 139.1 (C), 153.2 (2C), 160.1 (C), 169.6 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  вычислено для  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6\text{SNa}^+$  [ $\text{M}+\text{Na}^+$ ]: 427.0934; найдено: 427.0939.

*N*-[5-Метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил]-2,3-дигидробензо[*b*][1,4]диоксин-6-сульфонамид (**38g**)



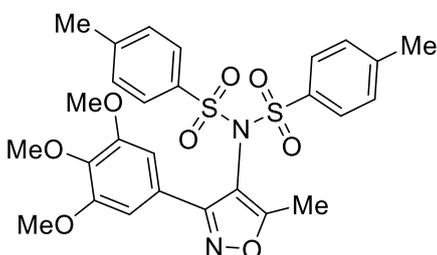
Изоксазол **38g** был получен с использованием 4-аминоизоксазола **36** и сульфонилхлорида **37g**. Бесцветные кристаллы, выход: 77% (135 мг);  $T_{\text{пл}} = 179\text{--}180^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.29$  (ПЭ/ЭА = 1/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 2.47 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.82 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.84 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 4.15–4.20 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.22–4.27 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.57 (с, 2H, 2CH), 6.65 (д, 1H, CH,  $^3J = 8.4$  Гц), 6.93 (уш. с, 1H, NH), 6.98 (д, 1H, CH,  $^4J = 2.2$  Гц), 7.00 (дд, 1H, CH,  $^4J = 2.2$  Гц,  $^3J = 8.4$  Гц). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 11.3 ( $\text{CH}_3$ ), 56.3 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 61.0 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 64.0 ( $\text{OCH}_2$ ), 64.5 ( $\text{OCH}_2$ ), 104.9 (2CH), 111.0 (C-NH), 116.6 (CH), 117.3 (CH), 121.1 (CH), 122.9 (C), 130.7 (C), 139.2 (C), 143.5 (C), 148.0 (C), 153.2 (2C), 160.1 (C), 170.4 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  вычислено для  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_8\text{SNa}^+$  [ $\text{M}+\text{Na}^+$ ]: 485.0989; найдено: 485.0990.

#### 4.4.3. Синтез изоксазола **39**

К смеси аминоксазола **36** (100 мг, 0.38 ммоль) и триэтиламина (0.11 мл, 0.76 ммоль) в 3 мл  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  прикапали раствор сульфонилхлорида (80 мг, 0.42 ммоль) в 1 мл  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Смесь перемешивали при комнатной температуре 48 ч. По окончании реакции смесь вылили в воду (10 мл), добавили 1M HCl (5 мл), органический слой отделили, а водный слой экстрагировали хлористым метиленом ( $4 \times 10$  мл). Объединенные органические фракции промыли водным насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$  (10 мл) и высушили над  $\text{MgSO}_4$ . Растворитель упарили на роторном испарителе, продукт очистили методом колоночной хроматографии.

*Ди-4-метил-N*-[5-метил-3-(3,4,5-триметоксифенил)изоксазол-4-ил]бензолсульфонамид (**39**)

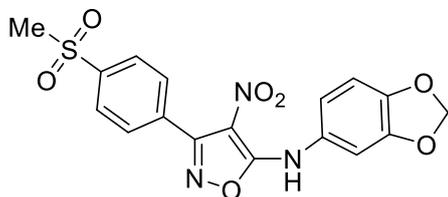


Желтое масло, выход: 35% (76 мг);  $R_f = 0.48$  (ПЭ/ЭА = 2/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 1.95 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.42 (с, 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 3.75 (с, 6H,  $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 3.86 (с, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 6.95 (с, 2H, 2CH), 7.18–7.24 (м, 4H, 4CH), 7.75–7.80 (м, 4H, 4CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 11.5 ( $\text{CH}_3$ ), 21.8 ( $2\text{CH}_3$ ), 56.2 ( $2\text{CH}_3\text{O}$ ), 61.0 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 105.5 (2CH), 111.8 (C), 122.5 (C-N), 128.9 (4CH), 129.7 (4CH), 136.0 (2C), 139.5 (C), 146.0 (2C), 153.2 (2C), 160.5 (C), 171.7 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  вычислено для  $C_{27}H_{29}N_2O_8S_2^+$   $[M+H^+]$ : 573.1360; найдено: 573.1371.

#### 4.5. Синтез потенциальных ингибиторов GLUT5 **20a,b**

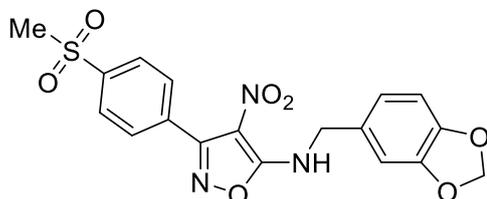
*N*-(Бензо[*d*][1,3]диоксол-5-ил)-3-(4-(метилсульфонил) фенил)-4-нитроизоксазол-5-амин (**40a**)



Изоксазол **40a** был получен по общей методике 2 с использованием 4-нитро-5-цианоизоксазола **17x** и амина **23a** [201]. Желтые кристаллы, выход: 59% (119 мг);  $T_{пл} = 243-245^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.46$  (ПЭ/ЭА = 1/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 3.31 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 6.09 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.96–7.05 (м, 2H, 2CH), 7.12–7.17 (м, 1H, CH), 7.89–7.95 (м, 2H, 2CH), 8.05–8.11 (м, 2H, 2CH), 10.90 (уш. с, 1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (ДМСО- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 43.3 ( $\text{CH}_3$ ), 101.7 ( $\text{CH}_2$ ), 105.5 (CH), 108.2 (CH), 110.4 (C- $\text{NO}_2$ ), 117.3 (CH), 126.9 (2CH), 129.9 (C), 130.4 (2CH), 131.8 (C), 142.4 (C), 145.7 (C), 147.5 (C), 156.9 (C), 163.3 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  вычислено для  $C_{17}H_{13}N_3O_7\text{SNa}^+$   $[M+\text{Na}^+]$ : 426.0366; найдено: 426.0362.

*N*-(Бензо[*d*][1,3]диоксол-5-илметил)-3-(4-(метилсульфонил)фенил)-4-нитроизоксазол-5-амин (**40b**)



Изоксазол **40b** был получен по общей методике 1 с использованием 4-нитро-5-цианоизоксазола **17x** и амина **23b** [201]. Желтые кристаллы, выход: 61% (127 мг);  $T_{пл} = 213-214^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0.53$  (ПЭ/ЭА = 1/1). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 3.12 (с, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.57 (д,  $^3J = 6.4$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.01 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.82–6.89 (м, 3H, 3CH), 7.86–7.90 (м, 2H, 2CH), 7.93 (уш. с,  $^3J = 6.4$  Гц, 1H, NH), 8.05–8.09 (м, 2H, 2CH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (ДМСО- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 43.3 ( $\text{CH}_3$ ), 45.5 ( $\text{CH}_2$ ), 101.1 ( $\text{CH}_2$ ), 108.3 (CH), 109.6 (C- $\text{NO}_2$ ), 121.2 (CH), 126.8 (2CH), 127.9 (C), 130.4 (2CH), 131.0 (CH), 131.7 (C), 142.4 (C), 146.8 (C), 147.4 (C), 157.0 (C), 165.1 (C).

HRMS-ESI  $m/z$  вычислено для  $C_{18}H_{15}N_3O_7\text{SNa}^+$   $[M+\text{Na}^+]$ : 440.0523; найдено: 440.0521.

#### 4.6. Биотестирование

##### 4.6.1. Изучения взаимодействия краун-содержащих стирилизоксазолов БСА

К  $1 \times 10^{-5}$  М растворам стирилизоксазолов **5a-e**, **6a** и **6b** с в 1 мм фосфатном буфере (рН 7.4) добавляли различные аликвоты исходного раствора БСА в концентрациях от 0 до  $2 \times 10^{-4}$  М. После часовой инкубации при комнатной температуре регистрировали спектры флуоресценции

( $\lambda_{ex}$  = 400 или 450 нм). Расчет константы связывания проводили в соответствии с методикой [202-203]:

#### **4.6.2. pH зависимая флуоресценция краун-содержащих стирилизоксазолов в водном растворе с БСА**

Зависимость флуоресценции комплекса **5c**-БСА от pH ( $1 \times 10^{-5}$  М **1c** и  $2 \times 10^{-4}$  М БСА) была изучена в буферных растворах Макилвейна с различным pH, варьирующимся от 3 до 8 согласно методике [204]. Спектры флуоресценции регистрировали после часовой инкубации при комнатной температуре ( $\lambda_{ex}$  = 405 нм).

#### **4.6.3. Тестирование на противораковую активность**

Полученные структуры были исследованы на цитотоксическую активность *in vitro* с помощью МТТ-теста [205, 206]<sup>1718</sup>.

Тестирование проводилось на пяти клеточных линиях: НСТ-116 (карцинома прямой кишки человека), РС3 (аденокарциномы предстательной железы), А2780 (рака яичника) и А2780cis (цисплатин резистентного рака яичника), К562 (миелоидного лейкоза человека).

Исследуемые соединения предварительно растворяли в ДМСО (концентрация ДМСО ниже 0.5% от объема готового раствора), после были приготовлены с растворы концентрациями от 0,1 до 50 мкмоль/л. Полученные растворы соединений вносили в стерильный 96-луночный планшет, где предварительно инкубировались клетки в течение 24-х часов при 37°C (5% CO<sub>2</sub>, во влажной атмосфере). Затем в каждую ячейку планшета, содержащую культуру и исследуемое вещество, добавляли 10 мкл раствора МТТ концентрацией 5 мкг/мл и инкубировали при 37°C в течение 2 часов во влажной атмосфере с 5% CO<sub>2</sub>. После экспозиции живые клетки восстанавливали желтый МТТ до темно-фиолетовых гранул формазана, который растворяли в 150 мкл ДМСО. Количество восстановленного продукта измеряли спектрофотометрически на планшетном ридере Zenyth 2000rt при длине волны 570 нм. Результаты теста представляли в виде графика зависимости % выживших клеток от концентрации исследуемых веществ.

#### **4.6.4. Изучение внутриклеточного распределения стирилизоксазолов **5b**, **5c**, **5d**, **6a**, **6b****

##### **Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия**

Образцы анализировали на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе Leica TCS SPE 5 с программным обеспечением LAS AF (Leica Microsystems GmbH, Germany). Клетки НСТ116 помещали в конфокальные чашки диаметром 35 мм (по  $10^5$  на чашку; SPL Life

<sup>17</sup> Тестирование биологической активности выполнялось на кафедре МХиТОС к.х.н. Грачёвой Ю. А.

<sup>18</sup> МТТ тест был выполнен в Институте цитологии РАН к.б.н. В.И. Чубинским-Надеждиным.

Sciences, Korea) и инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение 48 часов. Затем добавляли тестируемые соединения из 10 мМ растворов ДМСО для достижения конечной концентрации 2,5 мкМ, и клетки инкубировали еще в течение 3 или 24 ч. После завершения инкубации клетки промывали 1-кратным раствором PBS. Флуоресценцию тестируемых соединений возбуждали при  $\lambda_{ex} = 405$  нм и регистрировали в диапазоне длин волн 420-750 нм.

В эксперименте с колокализацией после завершения 24-часовой инкубации клеток размером 2,5 мкМ клетки **5c** и **6b** промывали 1-кратным PBS, окрашивали 1 мкМ LysoTracker™ Deep Red в течение 30 мин, промывали свежим PBS и анализировали с помощью конфокальной микроскопии, возбуждали при  $\lambda_{ex} = 633$  нм и регистрировали в диапазоне длин волн излучения: LysoTracker™ ( $\lambda_{em} = 650-720$  нм).

### ***Внутриклеточное накопление***

Образцы НСТ-116 ( $0,4 \times 10^6$  клеток) были помещены в кюветы диаметром 60 мм. На следующий день соединения **5b**, **5c**, **5d**, **6a**, **6b** (2,5 мкМ) добавляли в среду для культивирования на 3, 6 и 24 ч. После завершения воздействия лекарственного средства образцы анализировали методом проточной цитометрии на BD FACSCanto II. Связанную с клетками флуоресценцию тестируемых соединений измеряли как значения MFC (среднего значения канала флуоресценции) в канале AmCyan (лазер возбуждения 405, фильтр 530/30) для **5b**, **5c**, **5d** и канале FITC (лазер возбуждения 488, фильтр 530/30) для **6a**, **6b**.

Дополнительно в клеточные зонды добавляют 0.1М раствор MgCl<sub>2</sub> (непосредственно перед анализом или с дополнительной 15-минутной инкубацией при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> во влажной атмосфере) или избыток альгината кальция (приготовленного по технологии, описанной ранее [207], добавляют за 2 ч до окончания воздействия препарата или для проточной цитометрии непосредственно перед анализом) были использованы для изучения влияния катионов металлов на внутриклеточную флуоресценцию **5c**.

## 5. Заключение

Таким образом, в диссертационной работе продемонстрированы возможности использования 4-нитро-5-метилизоксазолов в синтезе флуорофоров с ценными свойствами, а также в разработке новых методов функционализации изоксазольного цикла и направленном синтезе соединений с противораковой активностью.

Перспективы развития темы работы включают: в области медицинской химии – дальнейшую разработку флуорофоров на основе стирилизоксазолов для изучения процессов протекающих в клетках; продолжение работ по синтезу новых аналогов 4-ацил-5-метиламиноизоксазолов, проявляющих противораковую активность, и изучению их цитотоксичности, по созданию новых изоксазолсодержащих аналогов ингибиторов транспортного белка GLUT5; в области органической химии – дальнейшее изучение реакции ароматического нуклеофильного замещения в ряду 4-нитро-5-цианоизоксазолов, изучение химии продуктов нуклеофильного замещения, синтез на основе найденных превращений библиотек новых соединений, разработка новых подходов направленной функционализации изоксазольного цикла.

В рамках данной работы были сделаны следующие выводы:

1. Осуществлен дизайн и синтез флуоресцентных сенсоров на основе 4-нитро-5-стирилизоксазолов содержащих макроциклический фрагмент в положении 3 гетероцикла и в стирильной группе. Показано, что введение макроцикла в стирильный фрагмент приводит к получению соединений, проявляющих сенсорные свойства на катионы металлов ( $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ) в среде ацетонитрила.
2. Показано, что содержащие макроцикл стирилизоксазолы в водной среде не проявляют сенсорные свойства по отношению к катионам металлов, при этом находятся в агрегированной форме. Добавление к водному раствору красителя БСА приводит к деагрегации и образованию стабильного комплекса стирилизоксазола и макромолекулы. Для большинства красителей при АИЕ наблюдается гипсохромный сдвиг, однако в случае бифенильных производных АИЕ сопровождается сильным батохромным сдвигом. Установлено, что стирилизоксазолы детектируются в клетках в длинноволновой области («АИЕ» сигнал агрегированной формы красителя) и в «зеленой» области спектра благодаря флуоресценции комплексов белок-стирилизоксазол.
3. В ходе изучения реакции нитрозирования енаминов на основе 4-нитроизоксазолов под действием *t*-BuONO было найдено, что при добавлении эфирата трехфтористого бора или трифторуксусного ангидрида протекает хемоселективное образование ранее неизвестных 4-нитро-5-цианоизоксазолов. Предложена механистическая схема реакции. На основе этой реакции был разработан эффективный метод синтеза 4-нитро-5-цианоизоксазолов различного строения, позволяющий получать продукты с высокими выходами в граммовых количествах.

4. Показано, что 4-нитро-5-цианоизоксазолы демонстрируют дихотомию реакционной способности по отношению к *N*- и *S*-нуклеофилам. Найдено, что 4-нитро-5-цианоизоксазолы в реакции с аминами дают продукт замещения 5-цианогруппы, в то время как при взаимодействии с тиофенолами образуются исключительно продукты замещения 4-нитрогруппы. Региохимия продуктов *S<sub>N</sub>Ar* однозначно доказана спектральными методами и рентгеноструктурным анализом, а также обоснована квантово-химическими расчетами. Найдены условия восстановления нитрогруппы 4-нитро-5-цианоизоксазолов.
5. Продемонстрирована возможность применения разработанных методов для синтеза соединений с ожидаемой цитотоксической активностью. Проведен дизайн и получены 2 серии соединений производных изоксазола, которые являются аналогами ранее полученных лигандов колхицинового сайта связывания тубулина – 4-(ациламино)-5-метил-3-(триметоксифенил)изоксазолов. Показано, что замена ациламидного фрагмента на сульфониламидный в положении 4 изоксазольного цикла, а также замена метильной группы на цианогруппу в положении 5 гетероцикла приводит к существенному снижению цитотоксической активности.
6. Осуществлен дизайн и синтез новых производных изоксазола, аналогов диариламина MSNBA, который является известным ингибитором транспортного белка GLUT5. В ходе изучения влияния производных изоксазола на пролиферацию клеток K562 в разных средах было показано, что они не являются селективными к глюкозной или фруктозной среде. Предположительно, такое действие обусловлено как одновременным ингибированием разных белков семейства GLUT, так и цитотоксическим эффектом, опосредованным специфическими молекулярными мишенями.

## 6. Список сокращений и условных обозначений

БСА – бычий сывороточный альбумин

ДБПО – дибензоилпероксид

ДБУ - диазабициклоундецен

ДИПЭА - диизопропилэтиламин

ДМАД – диметиловый эфир ацетиленкарбоновой кислоты

ДМА-ДМФА - диметилацеталь диметилформаида

ДМСО - диметилсульфоксид

ДМФА – диметил формаид

ДМЭ – диметиловый эфир

ДХМ - дихлорметан

МТБЭ – метил-трет-бутиловый эфир

МХПБХ - мета-хлорпербензойная кислота

НМП – N-метилпирролидон

ПЭ- петролейный эфир

ТБН – трет-бутилнитрит

ТГФ - тетрагидрофуран

ТЕМПО – 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-ил)оксил

ТФА – трифторуксусный ангидрид

ЧСА – сывороточный альбумин человека

ЭА – этил ацетат

AIE (Aggregation-Induced Emission) - эффект индуцированной агрегацией эмиссии

DABCO (1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane) – 1,4-диазабициклооктан

DFT (**Density Functional Theory**) – Теория функционала плотности

ICT (Intramolecular Charge Transfer)- внутримолекулярный перенос заряда

NBS (N-Bromosuccinimide) - N-бромсукцинимид

NCS (N-Chlorosuccinimide) – N-хлорсукцинимид

PBS (Phosphate Buffered Saline) - натрий-фосфатный буфер

SAR (Structure-Activity Relationship) - взаимосвязь «структура-активность»

TICT (Twisted Intramolecular Charge Transfer) - “скрученный” внутримолекулярный перенос заряда

## 7. Список литературы

1. Grundmann C., Frommeld H.-D. Nitrile Oxides. VIII. Cyanogen *N*-Oxide // The Journal of Organic Chemistry. 1966. V. 31. No. 12. P. 4235-4237.
2. Sheremetev A.B., Konkina S.M. Novel reaction of [bis(acyloxy)iodo]arenes // Mendeleev Communications. 2003. V. 13. No. 6. P. 277-278.
3. Zhang X.-W., He X.-L., Yan N., Zheng H.-X., Hu X.-G. Oxidize Amines to Nitrile Oxides: One Type of Amine Oxidation and Its Application to Directly Construct Isoxazoles and Isoxazolines // The Journal of Organic Chemistry. 2020. V. 85. No. 23. P. 15726-15735.
4. Wade P.A., Hinney H.R. Benzenesulfonylnitrile oxide a 1,3-dipole exhibiting modified reactivity in cycloaddition reactions // Tetrahedron Letters. 1979. V. 20. No. 2. P. 139-142.
5. Lee J.S., Cho Y.S., Chang M.H., Koh H.Y., Chung B.Y., Pae A. N. Synthesis and in vitro activity of novel isoxazolyl tetrahydropyridinyl oxazolidinone antibacterial agents // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2003. V. 13. No. 22. P. 4117-4120.
6. Röver S., Cesura A.M., Huguenin P., Kettler R., Szente A. Synthesis and Biochemical Evaluation of *N*-(4-Phenylthiazol-2-yl)benzenesulfonamides as High-Affinity Inhibitors of Kynurenine 3-Hydroxylase // Journal of Medicinal Chemistry. 1997. V. 40. No. 26. P. 4378-4385.
7. Gewald K., Bellmann P., Jänsch H. 4-Aminoisoxazole durch Thorpe-Cyclisierung // Liebigs Annalen der Chemie. 1980. V. 1980. No. 10. P. 1623-1629.
8. Nishiwaki N., Nogami T., Kawamura T., Asaka N., Tohda Y., Ariga M. One-Pot Synthesis of Polyfunctionalized Isoxazol(in)es // The Journal of Organic Chemistry. 1999. V. 64. No. 17. P. 6476-6478.
9. Iwai K., Asahara H., Nishiwaki N. Synthesis of Functionalized 3-Cyanoisoxazoles Using a Dianionic Reagent // The Journal of Organic Chemistry. 2017. V. 82. No. 10. P. 5409-5415.
10. Govindappa V.K., Prabhashankar J., Khatoon B.B.A., Ningappa M.B., Kariyappa A.K. Synthesis of 3,5-diaryl-isoxazole-4-carbonitriles and their efficacy as antimicrobial agents // Der Pharma Chemica. 2012. V. 4. No. 6. P. 2283-2287.
11. Easton C.J., Heath G.A., Hughes C.M.M., Lee C.K.Y., Savage G. P., Simpson G.W., Tiekink E.R.T., Vuckovic G.J., Webster R.D. Electrochemical and yeast-catalysed ring-opening of isoxazoles in the synthesis of analogues of the herbicide Grasp ® // Journal of the Chemical Society, Perkin Trans. 1. 2001. V. 2001. No. 10. P. 1168-1174.
12. Mlcetich R.G. Studies in isoxazole chemistry. I V. Isoxazoles via isoxazolines // Canadian Journal of Chemistry. 1970. V. 48. No. 23. P. 3753-3755., 14. Alberola A., González A.M., González B., Laguna M.A., Pulido F.J. Synthesis of *Z*- $\beta$ -siloxyacrylonitriles and study of their dienophilic properties // Tetrahedron Letters. 1986. V. 27. No. 18. P. 2027-2030.

13. Khutorianskyi A., Chalyk B., Borysko P., Kondratiuk A., Mykhailiuk P.K. Difluoromethyl Nitrile Oxide (CF<sub>2</sub>HCNO): A Neglected Chemical Reagent // *European Journal of Organic Chemistry*. 2017. V. 2017. No. 27. P. 3935-3940.
14. Sasaki T., Yoshioka T. Studies on Heteroaromaticity. XIX. Direct 1,3-Dipolar Cycloaddition of Hydroxamoyl Chlorides with Enamines // *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 1968. V. 41. No. 9. P. 2212-2215.
15. Corsaro A., Chiacchio U., Perrini G., Caramella P., Purrello G. The site-selectivity of cycloadditions of nitrile oxides to  $\beta$ -aminocinnamonitriles. A remarkable solvent dependence // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 1985. V. 22. No. 3. P. 797-799.
16. Chalyk B.A., Kandaurova I.Y., Hrebenuk K. V., Manoilenko O. V., Kulik I.B., Iminov R.T., Kubyshkin V., Tverdokhlebov A. V., Ablialimov O.K., Mykhailiuk P.K. A base promoted multigram synthesis of aminoisoxazoles: valuable building blocks for drug discovery and peptidomimetics // *RSC Advances*. 2016. V. 6. No. 31. P. 25713-25723.
17. Bratusek U., Meden A., Svete J., Stanovnik B. Transformations of (*Z*)-2-benzoylamino-4-dimethylamino-2-oxo-3-butene and (*E*)-3-benzoylamino-4-cyano-2-oxo-3-butene into pyrimidine, pyrazole and isoxazole derivatives // *Arkivoc*. 2003. V. 2003. No. 5. P. 77-86.
18. Pizzioli L., Ornik B., Svete J., Stanovnik B. Synthesis and transformations of methyl (*E*)-2-(acetylamino)-3-cyanoprop-2-enoate und methyl (*E*)-2-(benzoylamino)-3-cyanoprop-2-enoate, versatile reagents for the preparation of polyfunctional heterocyclic systems // *Helvetica Chimica Acta*. 1998. V. 81. No. 2. P. 231-235.
19. Grošelj U., Drobnič A., Rečnik S., Svete J., Stanovnik B., Golobič A., Lah N., Leban I., Meden A., Golič-Grdadolnik S. 1,3-Dipolar Cycloadditions to (*5Z*)-1-Acyl-5-(cyanomethylidene)-imidazolidine-2,4-diones: Synthesis and Transformations of Spirohydantoin Derivatives // *Helvetica Chimica Acta*. 2001. V. 84. No. 11. P. 3403-3417.
20. Abdelhamid A.O., Negm A.M., Abdeen T.M.S. Reactions with hydroxamoyl halides: Synthesis of several isoxazole, imidazo[1,2-*a*]pyridine, imidazo[1,2-*a*]pyrimidine and benz-1,2,4-triazine derivatives // *Archiv der Pharmazie*. 1988. V. 321. No. 12. P. 913-915.
21. Abdelhamid A.O., Abdou S.E., Mahgoub S.A. Synthesis of several new isoxazole, imidazo[1,2-*a*]pyridine, imidazo[1,2-*a*]pyrimidine, benzoxadiazine and benzothiazine derivatives from hydroximoyl halides // *Archives of Pharmacal Research*. 1992. V. 15. No. 4. P. 317-321.
22. Zohdi H.F., Osman T.A., Abdelhamid A.O. Heterocycles from Pyrazoloylhydroximoyl Chloride: Synthesis of Certain Quinoxaline, Benzothiadiazine, Benzoxadiazine, Quinazolinone, Imidazo[1,2-*a*]pyridine, Imidazo[1,2-*a*]pyrimidine, Isoxazole, Pyrazolo[3,4-*d*]pyridazine and Pyrrolidino[3,4-*d*]isoxazolin-4,6-dione Derivatives // *Journal of the Chinese Chemical Society*. 1997. V. 44. No. 6. P. 617-623.

23. Coffman K.C., Duong V., Bagdasarian A.L., Fettinger J.C., Haddadin M.J., Kurth M.J. Heterocycle-to-Heterocycle Route to Quinoline-4-amines: Reductive Heterocyclization of 3-(2-Nitrophenyl)isoxazoles // *European Journal of Organic Chemistry*. 2014. V. 2014. No. 34. P. 7651-7657.
24. Porter T.C., Smalley R.K., Teguche M., Purwono B. Tetrazolo[1,5-*a*]quinolines and 1,2,3-Triazolo[1,5-*a*]quinazolines by the Action of Cyanocarbanions on 2-azidoarylcarbonyl Compounds // *Synthesis*. 1997. V. 1997. No. 7. P. 773-777.
25. Takikawa H., Hikita K., Suzuki K. Synthesis of Highly Functionalized Isoxazoles via Base-Promoted Cyclocondensation of Stable Nitrile Oxides with Active Methylene Compounds // *Synlett*. 2007. V. 2007. No. 14. P. 2252-2256.
26. Shin M., Yeh M. The Reaction of 3-Arylsydnone-4-Carbohydroxamic Acid Chlorides with Active Methylene Compounds (II) // *Journal of the Chinese Chemical Society*. 1992. V. 39. No. 2. P. 163-168.
27. Beccalli E.M., Manfredi A., Marchesini A. Alkynes from 5-aminoisoxazoles // *The Journal of Organic Chemistry*. 1985. V. 50. No. 13. P. 2372-2375.
28. Lin S.-Y., Chang Hsu Y., Peng Y.-H., Ke Y.-Y., Lin W.-H., Sun H.-Y., Shiao H.-Y., Kuo F.-M., Chen P.-Y., Lien T.-W., Chen C.-H., Chu C.-Y., Wang S.-Y., Yeh K.-C., Chen C.-P., Hsu T.-A., Wu S.-Y., Yeh T.-K., Chen C.-T., Hsieh H.-P. Discovery of a Furanopyrimidine-Based Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitor (DBPR112) as a Clinical Candidate for the Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2019. V. 62. No. 22. P. 10108-10123.
29. Abdelall E.K.A. Synthesis and biological evaluations of novel isoxazoles and furoxan derivative as anti-inflammatory agents // *Bioorganic Chemistry*. 2020. V. 94. P. 103441.
30. Gaikwad N.B., Bansod S., Mara A., Garise R., Srinivas N., Godugu C., Yaddanapudi V.M. Design, synthesis, and biological evaluation of *N*-(4-substituted)-3-phenylisoxazolo[5,4-*d*]pyrimidin-4-amine derivatives as apoptosis-inducing cytotoxic agents // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2021. V. 49. P. 128294.
31. Ji Z., Ahmed A.A., Albert D.H., Bouska J.J., Bousquet P.F., Cunha G.A., Glaser K.B., Guo J., Li J., Marcotte P.A., Moskey M.D., Pease L.J., Stewart K.D., Yates M., Davidsen S.K., Michaelides M.R. Isothiazolopyrimidines and isoxazolopyrimidines as novel multi-targeted inhibitors of receptor tyrosine kinases // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2006. V. 16. No. 16. P. 4326-4330.
32. Sangepu B., Gandu B., Anupoju G., Jetti V. Synthesis of Isoxazole, 1, 2, 4-Oxadiazole and (1*H*-Pyrazol-4-yl)-methanone Oxime Derivatives from *N*-Hydroxy-1*H*-pyrazole-4-carbimidoyl Chloride and their Biological Activity // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 2016. V. 53. No. 3. P. 754-761.

33. Tanaka K., Suzuki T., Maeno S., Mitsunashi K. An Unusual Cyclization of Trifluoroacetohydroximoyl and -hydrazonoyl Bromides with Malononitrile // Bulletin of the Chemical Society of Japan. 1987. V. 60. No. 12. P. 4480-4482.
34. Chalyk B.A., Hrebeniuk K. V., Gavrilenko K.S., Shablykin O. V., Yanshyna O.O., Bash D., Mykhailiuk P.K., Liashuk O.S., Grygorenko O.O. Synthesis of Bi- and Polyfunctional Isoxazoles from Amino Acid Derived Halogenoximes and Active Methylene Nitriles // European Journal of Organic Chemistry. 2018. V. 2018. No. 22. P. 2753-2761.
35. Totre G., Shinde D., Shirsath S., Patil P., Kulkarni P. Ferric oxide nanocatalyst: synthesis, characterization, and application in the one-pot three-component synthesis of 3,4,5-trisubstituted isoxazole derivatives // Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly. 2024. V. 155. No. 6. P. 631-641.
36. El-shafei A.K., Sultan A.A., Soliman A.M., Metzger J. Synthesis and reactions of some 1,3-(2-thienyl)-1,3 oxopropane nitrile derivatives // Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements. 1992. V. 72. No. 1-4. P. 121-125.
37. Kano H., Makisumi Y., Ogata K. Studies on Isoxazole Derivatives. XI. Synthesis of 4-Ethoxycarbonyl- and 4-Cyano-5-aminoisoxazoles and Their Ring Cleavage. // Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 1958. V. 6. No. 1. P. 105-107.
38. Taylor E.C., Garcia E.E. The Synthesis of 4-Aminoisoxazolo[5,4-*d*]pyrimidines // The Journal of Organic Chemistry. 1964. V. 29. No. 8. P. 2116-2120.
39. Dumaître B., Dodic N. Synthesis and Cyclic GMP Phosphodiesterase Inhibitory Activity of a Series of 6-Phenylpyrazolo[3,4-*d*]pyrimidones // Journal of Medicinal Chemistry. 1996. V. 39. No. 8. P. 1635-1644.
40. Kokkonda S., El Mazouni F., White K.L., White J., Shackelford D.M., Lafuente-Monasterio M.J., Rowland P., Manjаланagara K., Joseph J.T., Garcia-Pérez A., Fernandez J., Gamo F.J., Waterson D., Burrows J. N., Palmer M.J., Charman S.A., Rathod P.K., Phillips M.A. Isoxazolopyrimidine-Based Inhibitors of *Plasmodium falciparum* Dihydroorotate Dehydrogenase with Antimalarial Activity // ACS Omega. 2018. V. 3. No. 8. P. 9227-9240.
41. Al-Azmi A., Shalaby M.A. Experimental and Theoretical Approach to Novel Polyfunctionalized Isoxazole // Current Organic Chemistry. 2021. V. 25. No. 7. P. 849-856.
42. Sobenina L. N., Drichkov V. N., Mikhaleva A.I., Petrova O. V., Ushakov I.A., Trofimov B.A. Synthesis of 3- and 5-amino-5-(3)-(pyrrol-2-yl)isoxazoles // Tetrahedron. 2005. V. 61. No. 20. P. 4841-4849.
43. Rudolf W.-D. A Convenient Synthesis of Heterocyclic *N*-Substituted Sulfoximides // Synthesis. 1983. V. 1983. No. 11. P. 928-929.

44. England D.C., Piccara J.C. Reactions of amines with a dimer of hexafluoropropene and with a perfluorovinyl sulfide prepared with hexafluoropropene // *Journal of Fluorine Chemistry*. 1981. V. 17. No. 3. P. 265-288.
45. Abd-Elaal F.A.-E., Hussein M.M., Elnagdi M.H., Elgemeie G.E.H. Studies on 5-aminoisoxazole derivatives: Synthesis of some new fused isoxazoles // *Monatshefte für Chemie Chemical Monthly*. 1984. V. 115. No. 5. P. 573-579.
46. Schmitt E., Rugeri B., Panossian A., Vors J.- P., Pazenok S., Leroux F.R. In Situ Generated Fluorinated Iminium Salts for Difluoromethylation and Difluoroacetylation // *Organic Letters*. 2015. V. 17. No. 18. P. 4510-4513.
47. Schmitt E., Bouvet S., Pégot B., Panossian A., Vors J.- P., Pazenok S., Magnier E., Leroux F.R. Fluoroalkyl Amino Reagents for the Introduction of the Fluoro(trifluoromethoxy)methyl Group onto Arenes and Heterocycles // *Organic Letters*. 2017. V. 19. No. 18. P. 4960-4963.
48. Ali K.A., Elsayed M.A., Abdalghfar H.S. Synthesis and reactions of 2,6-bis[3-oxo-3-propanenitrile-2-(*N,N*-dimethylamino)methylene]pyridine // *Arkivoc*. 2011. V. 2011. No. 2. P. 103-114.
49. Ali K.A. Synthesis of Pyridine-2,6-bis-((*E*)-2-benzylidene-3-oxopropanenitrile) and Its Behavior towards Nitrogen Binucleophiles // *Heterocycles*. 2012. V. 85. No. 8. P. 1975-1986.
50. Alberola A., González A.M., Guerra D., Pulido F.J. Ring cleavage reactions of 3- and 5-non-substituted isoxazoles // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 1982. V. 19. No. 5. P. 1073-1076.
51. Alberola A., Antolin L.F., Gonzalez A.M., Laguna M.A., Pulido F.J. Base-induced ring cleavage of 4-functionalized-3-unsubstituted isoxazoles. Synthesis of 5-aminoazoles and 4-cyanoazoles // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 1986. V. 23. No. 4. P. 1035-1038.
52. Doleschall G., Seres P. Isoxazole–oxazole conversion by Beckmann rearrangement // *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. 1988. V. 1988. No. 7. P. 1875-1879.
53. Okamoto Y., Takagi K., Ueda T. Ring transformation of 4-amino-1*H*-1,5-benzodiazepine-3-carbonitrile. The use of hydroxylamines as nucleophile. // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1980. V. 28. No. 2. P. 567-570.
54. Okamoto Y., Takagi K. Ring transformation of 4-amino and 4-*N*-(substituted)amino-1*H*-1,5-benzodiazepine-3-carbonitriles with hydroxylamine. A new synthesis of benzimidazolidine and isoxazole derivatives // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 1989. V. 26. No. 2. P. 277-279.
55. Jakubiec D., Przypis Ł., Suwiński J.W., Walczak K.Z. Synthesis of 5-hetaryluracil derivatives via 1,3-dipolar cycloaddition reaction // *Arkivoc*. 2017. V. 2017. No. 2. P. 149-161.
56. Woliński P., Kačka-Zych A., Demchuk O.M., Łapczuk-Krygier A., Mirosław B., Jasiński R. Clean and molecularly programmable protocol for preparation of bis-heterobiaryllic systems via a domino

pseudocyclic reaction as a valuable alternative for TM-catalyzed cross-couplings // *Journal of Cleaner Production*. 2020. V. 275. P. 122086.

57. He Y., Duckett D., Chen W., Ling Y.Y., Cameron M.D., Lin L., Ruiz C.H., LoGrasso P. V., Kamenecka T.M., Koenig M. Synthesis and SAR of novel isoxazoles as potent c-jun N-terminal kinase (JNK) inhibitors // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2014. V. 24. No. 1. P. 161-164.

58. Duffy K.J., Tennant G. The Scope and Mechanism of a Novel Synthesis of 3,4-Fused Isoxazoles // *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*. 1995. No. 23. P. 2457-2459.

59. Wróbel Z. Facile Synthesis of 3-Substituted 2,1-Benzisoxazoles (Anthranils) // *Synthesis*. 1997. V. 1997. No. 7. P. 753-755.

60. Potkin V.I., Petkevich S.K., Kurman P. V. Synthesis of 5-substituted 3-[5-(2,5-dimethylphenyl)-1,2-oxazol-3-yl]-1,2,4-oxadiazoles // *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2009. V. 45. No. 4. P. 551-554.

61. Potkin V.I., Petkevich S.K., Kurman P. V. Synthesis of 3-substituted 5-(2-thienyl)isoxazoles // *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2011. V. 47. No. 6. P. 928-932.

62. Kulchitsky V.A., Potkin V.I., Zubenko Y.S., Chernov A. N., Talabaev M. V., Demidchik Y.E., Petkevich S.K., Kazbanov V. V., Gurinovich T.A., Roeva M.O., Grigoriev D.G., Kletskov A. V., Kalunov V. N. Cytotoxic Effects of Chemotherapeutic Drugs and Heterocyclic Compounds at Application on the Cells of Primary Culture of Neuroepithelium Tumors // *Medicinal Chemistry*. 2012. V. 8. No. 1. P. 22-32.

63. Potkin V.I., Gadzhily R.A., Dikumar E.A., Petkevich S.K., Zhukovskaya N.A., Aliev A.G., Nagieva Sh.F. Synthesis of hydroxybenzaldehyde derivatives containing an isoxazole heteroring // *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2012. V. 48. No. 1. P. 127-136.

64. Potkin V., Bumagin N., Petkevich S., Lyakhov A., Rudakov D., Livantsov M., Golantsov N. 5-(p-Tolyl)isoxazol-3-amine-Palladium(II) Complex: Preparation, Structure, and Catalytic Application in the Suzuki-Miyaura Reaction in Water // *Synthesis*. 2012. V. 44. No. 01. P. 151-157.

65. Bumagin N.A., Petkevich S.K., Kletskov A. V., Livantsov M. V., Golantsov N.E., Potkin V.I. Isoxazol-3-yl(Isothiazol-3-yl)-1,2,4-Triazoles, Tetrazoles, and -1,3,4-Oxadiazoles: Synthesis, Palladium Complexes, and Catalytic Applications // *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2014. V. 49. No. 10. P. 1515-1529.

66. Khanna I.K., Yu Y., Huff R.M., Weier R.M., Xu X., Koszyk F.J., Collins P.W., Cogburn J. N., Isakson P.C., Koboldt C.M., Masferrer J.L., Perkins W.E., Seibert K., Veenhuizen A.W., Yuan J., Yang D.-C., Zhang Y.Y. Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors: Heteroaryl Modified 1,2-Diarylimidazoles Are Potent, Orally Active Antiinflammatory Agents // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2000. V. 43. No. 16. P. 3168-3185.

67. Angus Jr. R.O., Bryce M.R., Keshavarz-K. M., Wudl F. Efficient Synthesis of 4-Acylisoxazole Derivatives from Triformylmethane // *Synthesis*. 1988. V. 1988. No. 9. P. 746-748.
68. L'abbé G., Dyllal L., Meersman K., Dehaen W. Rates and products from thermolysis of 5-azidoisoxazoles in solution // *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*. 1996. V. 1996. No. 10. P. 2111-2118.
69. Mathews A., Sasikala K.A., George S.C., Krishnaraj K.U., Sreedevi N.K., Prasanth M., Anabha E.R., Devaky K.S., Asokan C. V. The reaction of 2-aryl-3,3-bis(alkylsulfanyl)acrylaldehydes and hydroxylamine hydrochloride: Facile synthesis of differently substituted isoxazoles // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 2008. V. 45. No. 6. P. 1583-1587.
70. Giannella M., Gualtieri F., Fedeli W., Cerrini S., Gavuzzo E. Identification of the nitrosation reaction products of alkyl esters of 1,2-benzisoxazole-3-acetic acid by chemical and crystallographic methods // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 1983. V. 20. No. 2. P. 385-391.
71. Bang-Andersen B., Lenz S.M., Niels Skjærbæk, Søby K.K., Hansen H.O., Ebert B., Bøgesø K. P., Krogsgaard-Larsen P. Heteroaryl Analogues of AMPA. Synthesis and Quantitative Structure–Activity Relationships // *Journal of Medicinal Chemistry*. 1997. V. 40. No. 18. P. 2831-2842.
72. Vogensen S.B., Clausen R. P., Greenwood J.R., Johansen T. N., Pickering D.S., Nielsen B., Ebert B., Krogsgaard-Larsen P. Convergent Synthesis and Pharmacology of Substituted Tetrazolyl-2-amino-3-(3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolyl)propionic acid Analogues // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2005. V. 48. No. 9. P. 3438-3442.
73. Nordqvist A., O'Mahony G., Fridén-Saxin M., Fredenwall M., Hogner A., Granberg K.L., Aagaard A., Bäckström S., Gunnarsson A., Kaminski T., Xue Y., Dellsén A., Hansson E., Hansson P., Ivarsson I., Karlsson U., Bamberg K., Hermansson M., Georgsson J., Lindmark B., Edman K. Structure-Based Drug Design of Mineralocorticoid Receptor Antagonists to Explore Oxosteroid Receptor Selectivity // *ChemMedChem*. 2017. V. 12. No. 1. P. 50-65.
74. Bakavoli M., Pordel M., Rahimizadeh M., Jahandari P., Seresht R.E. Sulfuric Acid Mediated Heterocyclization of ortho-Cyanomethylnitroarenes to Benzo[c]isoxazoles and Fused Benzo[c]isoxazoles // *Heterocycles*. 2008. V. 75. No. 1. P. 165-171.
75. Kotoku M., Maeba T., Fujioka S., Yokota M., Seki N., Ito K., Suwa Y., Ikenogami T., Hirata K., Hase Y., Katsuda Y., Miyagawa N., Arita K., Asahina K., Noguchi M., Nomura A., Doi S., Adachi T., Crowe P., Tao H., Thacher S., Hashimoto H., Suzuki T., Shiozaki M. Discovery of Second Generation ROR $\gamma$  Inhibitors Composed of an Azole Scaffold // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2019. V. 62. No. 5. P. 2837-2842.
76. Oballa R.M., Belair L., Black W.C., Bleasby K., Chan C.C., Desroches C., Du X., Gordon R., Guay J., Guiral S., Hafey M.J., Hamelin E., Huang Z., Kennedy B., Lachance N., Landry F., Li C.S., Mancini J., Normandin D., Poci A., Powell D.A., Ramtohul Y.K., Skorey K., Sørensen D.,

- Sturkenboom W., Styhler A., Waddleton D.M., Wang H., Wong S., Xu L., Zhang L. Development of a Liver-Targeted Stearoyl-CoA Desaturase (SCD) Inhibitor (MK-8245) to Establish a Therapeutic Window for the Treatment of Diabetes and Dyslipidemia // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2011. V. 54. No. 14. P. 5082-5096.
77. Girardin M., Dolman S.J., Lauzon S., Ouellet S.G., Hughes G., Fernandez P., Zhou G., O'Shea P.D. Development of a Practical Synthesis of Stearoyl-CoA Desaturase (SCD1) Inhibitor MK-8245 // *Organic Process Research & Development*. 2011. V. 15. No. 5. P. 1073-1080.
78. Lachance N., Guiral S., Huang Z., Leclerc J.-P., Li C.S., Oballa R.M., Ramtohol Y.K., Wang H., Wu J., Zhang L. Discovery of potent and liver-selective stearyl-CoA desaturase (SCD) inhibitors in an acyclic linker series // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2012. V. 22. No. 1. P. 623-627.
79. Stawski P., Sumser M., Trauner D. A Photochromic Agonist of AMPA Receptors // *Angewandte Chemie International Edition*. 2012. V. 51. No. 23. P. 5748-5751.
80. Lenz S.M., Meier E., Pedersen H., Frederiksen K., Bøgesø K. P., Krogsgaard-Larsen P. Muscarinic agonists. Syntheses and structure—activity relationships of bicyclic isoxazole ester bioisosteres of norarecoline // *European Journal of Medicinal Chemistry*. 1995. V. 30. No. 4. P. 263-270.
81. Nicolaou K.C., Mathison C.J. N. Synthesis of Imides, *N*-Acyl Vinylogous Carbamates and Ureas, and Nitriles by Oxidation of Amides and Amines with Dess–Martin Periodinane // *Angewandte Chemie International Edition*. 2005. V. 44. No. 37. P. 5992-5997.
82. Jagadeesh R. V., Junge H., Beller M. «Nanorust»-catalyzed Benign Oxidation of Amines for Selective Synthesis of Nitriles // *ChemSusChem*. 2015. V. 8. No. 1. P. 92-96.
83. Natte K., Jagadeesh R. V., Sharif M., Neumann H., Beller M. Synthesis of nitriles from amines using nanoscale Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-based catalysts via sustainable aerobic oxidation // *Organic & Biomolecular Chemistry*. 2016. V. 14. No. 13. P. 3356-3359.
84. Dighe S.U., Chowdhury D., Batra S. Iron Nitrate/TEMPO: a Superior Homogeneous Catalyst for Oxidation of Primary Alcohols to Nitriles in Air // *Advanced Synthesis & Catalysis*. 2014. V. 356. No. 18. P. 3892-3896.
85. Dighe S.U., Mukhopadhyay S., Kolle S., Kanojiya S., Batra S. Synthesis of 3,4,5-Trisubstituted Isoxazoles from Morita–Baylis–Hillman Acetates by an NaNO<sub>2</sub>/I<sub>2</sub>-Mediated Domino Reaction // *Angewandte Chemie International Edition*. 2015. V. 54. No. 37. P. 10926-10930.
86. Vasilenko D.A., Dronov S.E., Parfiryev D.U., Sadovnikov K.S., Sedenkova K.N., Grishin Y.K., Rybakov V.B., Kuznetsova T.S. and Averina E.B. 5-Nitroisoxazoles in S<sub>N</sub>Ar reactions: access to polysubstituted isoxazole derivatives // *Organic and Biomolecular Chemistry*. 2021. V. 19. P. 6447-6454.
87. Fernandes A. A. G., Silva A.F., Okada C.Y., Suzukawa V., Cormanich R. A., Jurberg I.D. General Platform for the Conversion of Isoxazol-5-ones to 3,5-Disubstituted Isoxazoles via Nucleophilic

Substitutions and Palladium Catalyzed Cross-Coupling Strategies // *European Journal of Organic Chemistry*. 2019. V. 2019, No 19. P. 3022-3034.

88. Camparini A., Ponticelli F., Tedeschi P. Syntheses and reactivities of 3-methylisoxazolo[4,5-b]pyridines // *Journal of the Chemical Society, Perkin Trans. 1*. 1982. V. 1982. P. 2391-2394.

89. Liu M. and Li S. Nitrile biosynthesis in nature: how and why? // *Natural Product Reports*. 2024. V. 41, P. 649-671.

90. Wang X., Wang Y., Li X., Yu Z., Song C., Du Y. Nitrile-containing pharmaceuticals: target, mechanism of action, and their SAR studies // *RSC Medicinal Chemistry*. 2021. V. 12. No. 10. P. 1650-1671.

91. Fleming F.F., Yao L., Ravikumar P.C., Funk L., Shook B.C. Nitrile-Containing Pharmaceuticals: Efficacious Roles of the Nitrile Pharmacophore // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2010. V. 53. No 22. P. 7902–7917.

92. Bonatto V., Lameiro R.F., Rocho F.R., Lameira J., Leitão A., Montanari C.A. Nitriles: an attractive approach to the development of covalent inhibitors // *RSC Medicinal Chemistry*. 2023. V. 14. Nitriles. No. 2. P. 201-217.

93. Wang Y., Du Y., Huang N. A Survey of the Role of Nitrile Groups in Protein–Ligand Interactions // *Future Medicinal Chemistry*. 2018. V. 10. No. 23. P. 2713-2728.

94. Bumagin N.A., Potkin V. I., Zvereva T. D. and Kolesnik I. A. Pd-Complexes with Azanediylbis(1,2-azoly)- and Bis(1,2-azoly)carboxamide Ligands for Catalysis of Cross-Coupling Reactions in Aqueous Media // *Russian Journal of General Chemistry*. 2023. V. 93. P. S31–S41.

95. Gaikwad N.B., Bansod S., Mara A., Garise R., Srinivas N., Godugu C., Yaddanapudi V.M. Design, synthesis, and biological evaluation of N-(4-substituted)-3-phenylisoxazolo[5,4-d]pyrimidin-4-amine derivatives as apoptosis-inducing cytotoxic agents // *Bioorg Med Chem Lett*. 2021. V. 49. E 128294.

95. Camparini A. and Ponticelli F. Syntheses and Reactivities of 3-Methylisoxazolo[4,5-b]pyridines // *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. 1982. P. 2391-2394.

96. Tomashenko O., Sokolov V., Tomashevskiy A., Meijere A. One-Pot Synthesis of Primary tert-Alkylamines by the Addition of Organometallic Reagents to Nitriles Mediated by  $\text{Ti}(\text{Oi-Pr})_4$  // *Synlett*. 2007. V. 4. P. 0652-0654.

97. Tomashenko O.A., Sokolov V.V., Tomashevskiy A.A., Potekhin A.A., Meijere A. Rapid  $\text{Ti}(\text{Oi-Pr})_4$  facilitated synthesis of  $\alpha,\alpha,\alpha$ -trisubstituted primary amines by the addition of Grignard reagents to nitriles under microwave heating conditions // *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2007, 43, 1421–1426.

98. Tomashenko O.A., Rudenko A.E., Sokolov V.V., Tomashevskiy A.A., Meijere A. 1-Substituted Cyclopentylamines from Nitriles and Tetramethylenebismagnesium Dibromide in the Presence of  $\text{Ti}(\text{OiPr})_4$  // *European Journal of Organic Chemistry*. 2010. V. 2010. No 8. P. 1574-1578.

99. Popova E.A., Trifonovba R.E., Ostrovskii V.A. Tetrazoles for biomedicine // *Russian Chemical Reviews*. 2019. V. 88. No 6. P. 644–676.
100. V.A.Ostrovskii, G.I.Koldobskii, R.E.Trifonov. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry III*. Vol. 6. (Eds A.R.Katritzky, C.A.Ramsden, E.F.V.Scriven, R.J.K.Taylor, V.V.Zhdankin). (Oxford: Elsevier, 2008). P. 257.
101. Berseneva V.S., Morzherin Y.Y., Dehaen W., Luyten I., Bakulev V.A. Reaction of heterocyclic thioamides with dimethyl acetylenedicarboxylate. Synthesis of novel 2-azoly-5-methoxycarbonylmethylene thiazolin-4-ones // *Tetrahedron*. 2001. V. 57. No. 11, P. 2179-2184.
102. Cherif, O., Allouche, F., Chabchoub, F., Chioua, M., Soriano, E., Yañez, M., Marco-Contelles, J. Isoxazolotacrines as Non-Toxic and Selective Butyrylcholinesterase Inhibitors for Alzheimer's Disease. *Future Medicinal Chemistry*. 2014. V. 6. No 17. P. 1883–1891.
103. Cherif O., Masmoudi F., Allouche F., Chabchoub F. and Trigui M. Synthesis, antibacterial, and antifungal activities of new pyrimidinone derivatives // *Heterocyclic Communications*. 2015. V. 21. No. 4. P. 191-194.
104. 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. V. 52. No. 9. P. 1398-1406.
105. Rout S., Joshi H., Singh V.K. Asymmetric Construction of Remote Vicinal Quaternary and Tertiary Stereocenters via Direct Doubly Vinylogous Michael Addition // *Organic Letters Journal*. 2018. V. 20. No. 8. P. 2199–2203.
106. Sharma V., Kaur J., Chimni S.S. Chiral Squaramide Catalyzed Enantioselective 1,6-Michael Addition of Pyrazolin-5-ones to Styrylisoxazole Derivatives // *European Journal of Organic Chemistry*. V. 2018. No. 26. P. 3489-3495.
107. Xiong-Li L., Qi-Di W., Xiong Z., Sheng-Wen X., Zhen Y., Jun-Xin W., Ying Z. Organocatalytic Michael/Michael Cycloaddition Enabled Asymmetric Construction of Hexahydroxanthenes with Skeletal Diversity // *Advanced Synthesis and Catalysis*. 2019. V. 361, No. 12. P. 2836-2843.
108. Bo Z., Bohua L., Huifang Z., Xinyao X., Zhiyong J., Junbiao C. Phase-Transfer-Catalyzed, Enantioselective Vinylogous Conjugate Addition–Cyclization of Olefinic Azlactones To Access Multifunctionalized Chiral Cyclohexenones // *Organic Letters Journal*. 2019. V. 21, No. 9, P. 3271–3275.
109. Jianing L., Jipan D., Jiaqing X., Wei W., Yongjun W., Yuxia H., Hongchao G. Phosphine-Catalyzed [3 + 2] Annulation of Morita–Baylis–Hillman Carbonates with Isoxazole-Based Alkenes // *Journal of Organic Chemistry*. 2021. V. 86, No. 3, P. 2090–2099.

110. Xiang-Yu C., Qiang L., Chauhan P., Sun L., Peuronen A., Rissanen K., Jafari E., Enders D. N-Heterocyclic Carbene Catalyzed [4+2] Annulation of Enals via a Double Vinylogous Michael Addition: Asymmetric Synthesis of 3,5-Diaryl Cyclohexenones // *Angewandte Chemie*. 2017. V. 129. No. 22. P. 6337-6341.
111. Dere R., Monasterolo C., Moccia M., Adamo M.F.A. Preparation and reactivity of [2-(3-methyl-4-nitro-isoxazol-5-yl)-vinyl]-amines // *Tetrahedron Letters*. 2015. V. 56. No. 52, P. 7168-7171.
112. Dočekal V., Petrželová S., Císařová I., Veselý J. Enantioselective Cyclopropanation of 4-Nitroisoxazole Derivatives // *Advanced Synthesis and Catalysis*. 2020. V. 362. No. 13. P. 2597-2603.
113. Vetelino M.G., Coe J.W. A mild method for the conversion of activated aryl methyl groups to carboxaldehydes via the uncatalyzed periodate cleavage of enamines // *Tetrahedron Letters*. 1994. V. 35. No. 2. P. 219-222.
114. Sadovnikov K.S., Vasilenko D.A., Gracheva Y.A., Grishin Y.K., Roznyatovsky V.A., Tafeenko V.A., Astakhova N.E., Burtsev I.D., Milaeva E.R., Averina E.B. 5-Styrylisoxazoles:  $\pi$ -Conjugated System with Fluorescent Properties and Bioactivity // *ChemistrySelect*. 2023. V. 8, No. 20. e202300830.
115. Haino T., Hirao T. Supramolecular Polymerization and Functions of Isoxazole Ring Monomers Free // *Chemistry Letters*. 2020. V. 49. No. 5. P. 574–584.
116. Mateeva N., Deligeorgiev T., Mitewa M., Simova S. Styryl dyes containing an aza-15-crown-5 macroheterocycle moiety // *Dyes and Pigments*. 1992. V. 20. No. 4. P. 271-278.
117. Güsten H., Schulte-Frohlinde D. Synthese und photochemische cis-trans-Isomerisierung eines quartären cis-Stilbazoliumsalses // *Chemische Berichte*. 1971. V. 104. No. 2. P. 402-406.
118. Sysak A., Obmińska-Mrukowicz B. Isoxazole ring as a useful scaffold in a search for new therapeutic agents // *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017. V. 137. P. 292-309.
119. Zhu J., Mo J., Hong-Z L., Chen Y., Hao-Peng S. The recent progress of isoxazole in medicinal chemistry // *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2018. V. 26. No. 12. P. 3065-3075.
120. Larsen M.T., Kuhlmann M., Hvam M.L., Howard K.A. Albumin-based drug delivery: harnessing nature to cure disease // *Molecular Therapy*. 2016. V. 4, e3.
121. Wasko J., Wolszczak M., Zajaczkowska Z., Dudek M., Kolesinska B. Human serum albumin as a potential drug delivery system for N-methylated hot spot insulin analogs inhibiting hormone aggregation // *Bioorganic Chemistry*. 2024. V. 143. e107104.
122. Lexa K.W., Dolgih E., Jacobson M.P. A Structure-Based Model for Predicting Serum Albumin Binding // *PLoS ONE*. 2014. V. 9. No. 4. e93323.
123. Yang F., Zhang Y., Liang H. Interactive Association of Drugs Binding to Human Serum Albumin // *International Journal of Molecular Sciences*. 2014. V. 15. No. 3. P. 3580-3595.

124. Shaikh S.A.M., Singh B.G., Barik A., Ramani M.V., Balaji N.V., Subbaraju G.V., Naik D.B., Priyadarsini K.I. Diketo modification of curcumin affects its interaction with human serum albumin // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2018. V. 199. P. 394-402.
125. Lippert E., Spektroskopische Bestimmung des Dipolmomentes aromatischer Verbindungen im ersten angeregten Singulettzustand // *Zeitschrift für Elektrochemie, Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie*. 1957. V. 61. No. 8. P. 962-975.
126. Wang S., Zhou K., Lyu X., Li H., Qiu Z., Zhao Z., Tang B.Z. The Bioimaging Story of AIEgens // *Chemical and Biomedical Imaging Journal*. 2023. V. 1. No. 6. P. 509-521.
127. Henwood A.F., Curtin N., Estalayo-Adrián S., Savyasachi A.J., Gudmundsson T.A., Lovitt J.I., Sigurvinsson L.C., Dalton H.L., Hawes C.S., Jacquemin D., O’Shea D.F, Gunnlaugsson T. Time-resolved fluorescence imaging with color-changing, “turn-on/turn-on” AIE nanoparticles // *Chem*. 2024. V. 10, No. 2. P. 578-599.
128. Yu A., Zhang W., Zhang Q., Yang K., Liu X., Liu H., Xie J., Feng Y., Li J., Jia C. A TICT-AIE activated dual-channel fluorescence-on probe to reveal the dynamics mechanosensing of lipid droplets during ferroptosis // *Talanta*. 2024. V. 274. e126028.
129. Shu-Tang Z., Wen S., Ze-Yi Y., Lan F., Gui-Xue T., Yu-Ying F., Shuo-Bin C., Zhi-Shu H., Jia-Heng T., Xiu-Cai C. Construction of a TICT-AIE-Integrated Unimolecular Platform for Imaging Lipid Droplet–Mitochondrion Interactions in Live Cells and In Vivo // *ACS Sensors Journal*. 2023. V. 8. No. 1. P 40–50.
130. Zeng J., Shirihai O.S., Grinstaff M.W. Modulating lysosomal pH: a molecular and nanoscale materials design perspective // *Journal of Life Sciences*. 2020. V. 2. No. 4. P. 25–37.
131. Jou M.J., Peng T.I., Sheu S.S. Histamine induces oscillations of mitochondrial free  $\text{Ca}^{2+}$  concentration in single cultured rat brain astrocytes // *The Journal of Physiology*. 1996. V. 497. No. 2. P. 299-308.
132. Chen X.Y., Zhanga X., Wan J.-P. Recent advances in transition metal-free annulation toward heterocycle diversity based on the C–N bond cleavage of enaminone platform Check for updates // *Organic and Biomolecular Chemistry*. 2022. V. 20. No. 12. P. 2356-2369.
133. Roy P., Mahato K., Shrestha D., Mohandoss S., Lee S.W., Lee Y.R. Recent advances in site-selective transformations of  $\beta$ -enaminones via transition-metal-catalyzed C–H functionalization/annulation // *Organic and Biomolecular Chemistry*. 2025. V. 23. P. 36-58.
134. Wang Z., Zhao B., Liu Y., Wan J-P. Recent Advances in Reactions Using Enaminone in Water or Aqueous Medium // *Advanced Synthesis and Catalysis*. 2022. V. 364. No. 9. P. 1508-1521.
135. Amaye I.J., Haywood R.D., Mandzo E.M., Wirick J.J., Jackson-Ayotunde P.L. Enaminones as building blocks in drug development: Recent advances in their chemistry, synthesis, and biological properties // *Tetrahedron*. 2021. V. 83, e131984.

136. Moccia M., Cortigiani M., Monasterolo C., Torri F., Fiandra C.D., Fuller G., Kelly B., Adamo M.F.A. Development and Scale-up of an Organocatalytic Enantioselective Process to Manufacture (S)-Pregabalin // *Organic Process Research and Development*. 2015. V. 19. No. 9. P. 1274–1281.
137. Wade P. A., Bereznak J. F. Sulfonylisoxazolines: reliable intermediates for the preparation of .beta.-hydroxy nitriles // *Journal of Organic Chemistry*. 1987. V. 52. P. 2973–2977.
138. Wade, P. A., Amin N.V., Yen H. K., Price D.T., Huhn G.F. Acid-catalyzed nitronate cycloaddition reactions. Useful syntheses and simple transformations of 3-acyl- and 3-alkenylisoxazolines // *Journal of Organic Chemistry*. 1984. V. 49. P. 4595–4601.
139. Sukhorukov A.Y. Interrupted Nef and Meyer Reactions: A Growing Point for Diversity-Oriented Synthesis Based on Nitro Compounds // *Molecules*. 2023. V. 28. P. 686.
140. Dahiya A., Sahoo A.K., Alam T., Patel B.K. *tert*-Butyl Nitrite (TBN), a Multitasking Reagent in Organic Synthesis // *Chemistry: An Asian Journal*. 2019. V. 14. P. 4454–4492.
141. Jia X., Li P. *tert*-Butyl Nitrite (TBN) as a Versatile Reagent in Organic Synthesis // *Synthesis*. 2017. V. 50. P. 711–722.
142. Khaligh N.G. Recent Advances and Applications of *tert*-Butyl Nitrite (TBN) in Organic Synthesis // *Mini-Reviews in Organic Chemistry*. 2020. V. 17. P. 3–25.
143. 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 & Biomolecular Chemistry*. 2021. V. 19. No. 29. P. 6447-6454.
144. Monasterolo C., Adamo M. Vinylogous Nitro-Haloform Reaction Enables Aromatic Amination // *Organic Letters*. 2022. V. 24. P. 4729–4733.
145. Bisht S., Kumar L., Kaul G., Akhir A., Saxena D., Chopra S., Karthik R., Goyal N., Batra S. Synthesis and Biological Evaluation of Substituted 3-Isoxazolethioethers as Antileishmanial and Antibacterial Agents // *ChemistrySelect*. 2022. V. 7. No. 25. P. e202201664.
146. Dighe S.U., Mukhopadhyay S., Kolle S., Kanojiya S., Batra S. Synthesis of 3,4,5-Trisubstituted Isoxazoles from Morita–Baylis–Hillman Acetates by an NaNO<sub>2</sub>/I<sub>2</sub>-Mediated Domino Reaction // *Angewandte Chemie International Edition*. 2015. V. 54. No. 37. P. 10926-10930.
147. 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 & Biomolecular Chemistry*. 2021. V. 19. No. 29. P. 6447-6454.
148. Bisht S., Kumar L., Kaul G., Akhir A., Saxena D., Chopra S., Karthik R., Goyal N., Batra S. Synthesis and Biological Evaluation of Substituted 3-Isoxazolethioethers as Antileishmanial and Antibacterial Agents // *ChemistrySelect*. 2022. V. 7. No. 25. P. e202201664.

149. Monasterolo C., Adamo M.F.A. Vinylogous Nitro-Haloform Reaction Enables Aromatic Amination // *Organic Letters*. 2022. V. 24. No. 26. P. 4729-4733.
150. Mukhopadhyay S., Barak D.S., Avasthi I., Batra S. Efficient Transformation of Alkyl 3-nitro-5-(aryl/alkyl)isoxazole-4-carboxylates into 3-amino- and 3-hydrazinyl-5-aryl/alkyl-isoxazole-4-carboxylates in Aqueous Solution // *Advanced Synthesis & Catalysis*. 2017. V. 359. No. 22. P. 4050-4056.
151. Lennox, A. J. J. Meisenheimer Complexes in  $S_NAr$  Reactions: Intermediates or Transition States? *Angewandte Chemie International Edition*. 2018, 57, 14686–14688.
152. Ormazábal-Toledo, R.; Richter, S.; Robles-Navarro, A.; Maulén, B.; Matute, R. A.; Gallardo-Fuentes, S. Meisenheimer complexes as hidden intermediates in the aza- $S_NAr$  mechanism. *Organic and Biomolecular Chemistry*. 2020, 18, 4238–4247.
153. 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 antimetabolic agents: Evaluation of selectivity to LNCaP cancer cells // *Archiv der Pharmazie*. 2022. V. 355. No. 5. e2100425.
154. Averina E.B., Vasilenko D.A., Samoilichenko 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. V. 46. No. 08. P. 1107-1113.
155. Hall D., Rajamalli P., Duda E., Suresh S.M., Rodella F., Bagnich S., Carpenter-Warren C.L., Cordes D.B., Slawin A.M.Z., Strohmriegl P., Beljonne D., Köhler A., Olivier Y., Zysman-Colman E. Substitution Effects on a New Pyridylbenzimidazole Acceptor for Thermally Activated Delayed Fluorescence and Their Use in Organic Light-Emitting Diodes // *Advanced Optical Materials*. 2021. V. 9. No. 20. P. 2100846.
156. Le Douaron G., Ferrié L., Sepulveda-Diaz J.E., Amar M., Harfouche A., Séon-Méniel B., Raisman-Vozari R., Michel P. P., Figadère B. New 6-Aminoquinoxaline Derivatives with Neuroprotective Effect on Dopaminergic Neurons in Cellular and Animal Parkinson Disease Models // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2016. V. 59. No. 13. P. 6169-6186.
157. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, Bray F. Cancer statistics for the year 2020: An overview // *International Journal of Cancer*. 2021. V. 149. No. 4. P. 778-789.
158. Kaur R, Bhardwaj A, Gupta S. Cancer treatment therapies: traditional to modern approaches to combat cancers // *Molecular Biology Reports*. 2023.V. 50. No.11. P. 9663-9676.

159. Stubbs N.M., Roady T.J., El-Deiry W.S. Acquired resistance to molecularly targeted therapies for cancer // *Cancer Drug Resistance*. 2025. V. 8, No. 27.
160. Martisa G.J. and Gaonkar S.L. Advances in isoxazole chemistry and their role in drug discovery // *RSC Advances*. 2025. V. 15. P. 8213-8243.
161. Podolak M., Holota S., Deyak Y., Dziduch K., Dudchak R., Wujec M., Bielawski K., Lesyk R., Bielawska A. Tubulin inhibitors. Selected scaffolds and main trends in the design of novel anticancer and antiparasitic agents // *Bioorganic Chemistry*. 2024. V. 143. P. 107076.
162. Khwaja S., Kumar K., Das R., Negi A.S. Microtubule associated proteins as targets for anticancer drug development // *Bioorganic Chemistry*. 2021. V. 116. P. 105320.
163. Zhao C., Rakesh K. P., Ravidar L., Fang W.-Y., Qin H.-L. Pharmaceutical and medicinal significance of sulfur (SVI)-Containing motifs for drug discovery: A critical review // *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2019. V. 162. P. 679-734.
164. Qiu D., He J., Yue X., Shi J., Li Y. Diamination of Domino Aryne Precursor with Sulfonamides // *Organic Letters*. 2016. V. 18. No 13. P. 3130–3133.
165. Taskinen M.-R., Packard C.J. and Borén, J. Dietary Fructose and the Metabolic Syndrome // *Nutrients*. 2019. V. 11. No 9. P. 1987.
166. Vos M.B., Kimmons J.E., Gillespie C., Welsh J., Blanck H.M. Dietary fructose consumption among US children and adults: the Third National Health and Nutrition Examination Survey // *The Medscape Journal of Medicine*. 2008. V. 10, No. 7. P. 160.
167. Port A.M., Ruth M.R., Istfan N.W. Fructose consumption and cancer: is there a connection? // *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity*. 2012. V. 19. No 5. P. 367-374.
168. Gaby A. Adverse effects of dietary fructose // *Alternative Medicine Review*. 2006. V. 10. No 4. P. 294-306.
169. Manolescu A.R., Witkowska K., Kinnaird A., Cessford T. and Cheeseman C. Facilitated Hexose Transporters: New Perspectives on Form and Function. // *Physiology*. 2007. V. 22. No 4. P. 234-240.
170. Thorens B., Mueckler M. Glucose transporters in the 21st Century // *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*. 2010. V. 298, No. 2. e141-5.
171. Douard V., Ferraris R.P. Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. // *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*. 2008. V. 295. No. 2. e227-37.
172. Zamora-León S.P., Golde D.W., Concha I.I., Rivas C.I., Delgado-López F., Baselga J., Nualart F., Vera J.C. Expression of the fructose transporter GLUT5 in human breast cancer. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1996. V. 93. No 5. P. 1847-52.
173. Liu H., Huang D., McArthur D.L., Boros L.G., Nissen N.; Heaney A.P. Fructose Induces Transketolase Flux to Promote Pancreatic Cancer Growth Free. // *Cancer Research*. 2010. V. 70. No 15, P. 6368–6376.

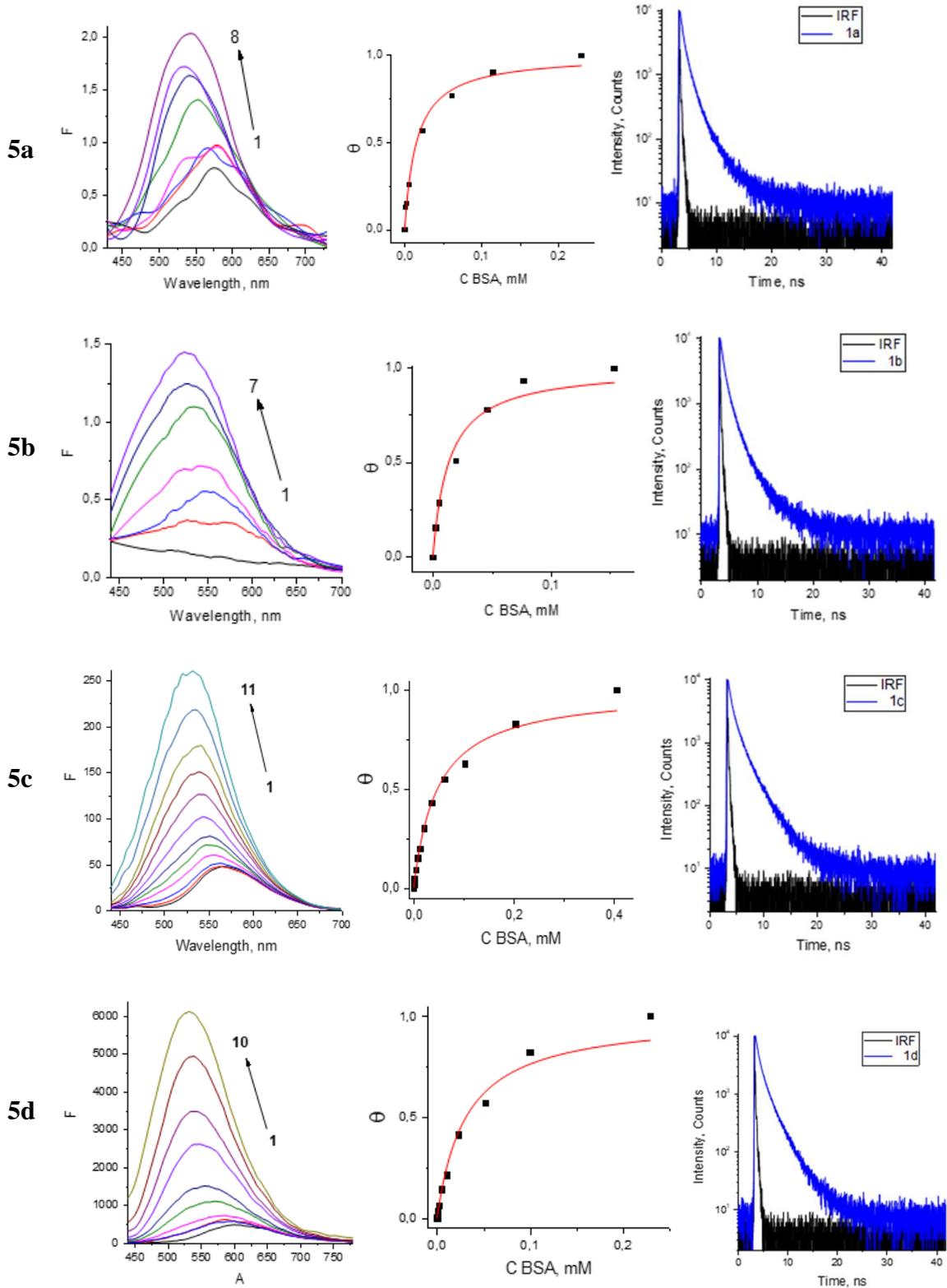
174. Chan K.K., Chan J.Y.W., Chung K.K.W., Fung K-P. Inhibition of cell proliferation in human breast tumor cells by antisense oligonucleotides against facilitative glucose transporter 5. // *Journal of Cellular Biochemistry*. 2004. V. 93. No 6. P. 1134-1142.
175. Włodarczyk J., Włodarczyk M., Zielińska M., Jędrzejczak B., Dziki Ł., Fichna J. Blockade of fructose transporter protein GLUT5 inhibits proliferation of colon cancer cells: proof of concept for a new class of anti-tumor therapeutics. // *Pharmacological Reports*. 2021.V. 73. No 3. P. 939-945.
176. Thompson A.M.G., Ursu O., Babkin P., Iancu C.V., Whang A., Oprea T.I., Choe J-Y. Discovery of a specific inhibitor of human GLUT5 by virtual screening and in vitro transport evaluation // *Scientific Reports*. 2016.V. 6. No. 1. P.24240.
177. ПАТЕНТ US036872. Human GLUT5 specific inhibitors and methods of treatment: опубл. 15.12.2016. / Oprea T.I., Bologna C.G., Ursu O. Choe J-Y., Iancu C.
178. ПАТЕНТ WO2016201214A1. Human glut5 specific inhibitors and methods of treatment: опубл. 15.12.2016. / Oprea T.I., Bologna C.G., Ursu O., Choe J.-Y., Iancu C.
179. Perrin D., Armarego W., Perrin Perrin D. Purification of laboratory chemicals // Oxford et al. Pergamon Press, Int. Ed., 1966, P. 362.
180. Bhosale T.R., Chandam D.R., Anbhule P.V., Deshmukha M.B. Synthesis of Novel 4-((Substituted bis-indolyl)methyl)-benzo-15-crown-5 for the Colorimetric Detection of Hg<sup>2+</sup> Ions in an Aqueous Medium // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 2019. V. 56. No. 2. P. 477-484.
181. Gromov S. P., Fedorova O. A., Vedernikov A. I., Samoshin V. V., Zefirov N. S., Alfimov M. V. Synthesis of formyl derivatives of benzocrown ethers containing N, S, and O heteroatoms in the macrocycle // *Russian Chemical Bulletin*. 1995. V. 44, No. 1. P. 116-123.
182. Kotha S., Kashinath D. Synthesis of functionalized benzo-18-crown-6 compounds via the Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction // *Synthesis*. 2005. V. 6. P 971-976.
183. Jia X., Huang C., Zhang X., Lian Z. Metal-free sulfonylative annulations of alkyl diiodides with sulfur dioxide: synthesis of cyclic aliphatic sulfones // *Organic Chemistry Frontiers*. 2021. V. 8. No. 19. P. 5310-5315.
184. Indrajit P., Mittal N., De S., Bolte M., Schmittel M.//Catch–Release System for Dosing and Recycling Silver(I) Catalyst with Status of Catalytic Activity Reported by Fluorescence // *Journal of the American Chemical Society*. 2019. Vol.141, P.5139–5143.
184. Ueda H., Suzuki M., Kuroda R., Tanaka T., Aoki, S. Design, synthesis, and biological evaluation of boron-containing macrocyclic polyamines and their zinc (II) complexes for boron neutron capture therapy // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2021. V. 64, No. 12. P. 8523-8544.
185. Voutsadaki S., Tsikalas G.K., Klontzas E., Froudakis G.E., Pergantis S.A., Demadis K.D., Katerinopoulos H.E. A cyclam-type “turn on” fluorescent sensor selective for mercury ions in aqueous media // *RSC Advances*. 2012. V. 2. No. 33. P. 12679-12682.

186. Mishra A.K., Draillard K., Faivre-Chauvet A., Gestin J.F., Curtet C., Chatal J.F. A convenient, novel approach for the synthesis of polyaza macrocyclic bifunctional chelating agents // *Tetrahedron Letters* 1996. V. 37. No. 42. P. 7515-7518.
187. Langhals H., Pust S. Fluoreszenzfarbstoffe mit großen Stokes-Shifts-eine einfache Synthese von [2, 2-Bipyridin]-3, 3-diol // *Chemische Berichte*. 1985. V. 12. P. 4674-4681.
188. Le P. Q., Nguyen T. S., May J. A. A general method for the enantioselective synthesis of  $\alpha$ -chiral heterocycles // *Organic Letters*. 2012, Vol. 14, №23, P. 6104–6107.
189. D Huang, M Huang, W Liu, A Liu, X Liu, X Chen, H Pei, J Sun, D Yin, X Wang. Design, synthesis and biological evaluation of 1H-pyrazole-5-carboxamide derivatives as potential fungicidal and insecticidal agents // *Chemical Papers*. 2017. V. 71, No 11. P. 2053–2061.
190. F Lepage, F Tombret, G Cuvier, A Marivain, J.M. Gillardin New N-aryl isoxazolecarboxamides and N-isoxazolylbenzamides as anticonvulsant agents // *Eur. J. Med. Chem.* 1992. T. 221. C. 581–593.; Lepage F. et al. New N-aryl isoxazolecarboxamides and N-isoxazolylbenzamides as anticonvulsant agents // *European Journal of Organic Chemistry*. 1992. V. 221. P. 581–593.
191. Trukhacheva L.A., Levina V.I., Grigor'ev N.B., Arzamastsev A.P., Dalinger I.L., Vatsadze I.A., Granik V.G. Kinetics of hydrolysis of five-membered C-nitroheterocycles: pyrazole, imidazole, 1, 2, 4-triazole, and isoxazole derivatives // *Russian Chemical Bulletin*. 2005. V. 54. No. 12. P. 2813-2819.
192. Astakhova N.E., Sadovnikov K.S., Vasilenko D.A., Markova A.A., Nguyen M.T., Burtsev I.D., Yakushev A.A., Grishin Y.K., Gracheva Y.A., Volodina Y.L., Lukmanova A.R., Spiridonov V.V., Yaroslavov A.A., Averin A.D., Kuzmin V.A., Milaeva E.R., Averina E.B. Isoxazole-based styryl dyes with macrocyclic receptors: synthesis, ion sensing properties and applications in bioimaging // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. – 2025. – Vol. 468. – P. 116497.
193. K. Yang, F. Zhang, T. Fang, G. Zhang, Q. Song. Stereospecific 1, 4-Metallate Shift Enables Stereoconvergent Synthesis of Ketoximes // *Angewandte Chemie International Edition*. 2019. V. 58. P. 13421-13426.
194. Zhang Y., Ji M. Iodine promoted one-pot synthesis of 2-aryl benzoxazoles from amidoximes via oxidative cyclization and ring contraction // *European Journal of Organic Chemistry*. 2019. V. 45. P. 7506-7510.
195. L.F. Tietze, N. Böhnke, S. Dietz. Synthesis of the Deoxyaminosugar (+)-d-Forosamine via a Novel Domino–Knoevenagel–Hetero-Diels–Alder Reaction // *Organic Letters*. 2009, V. 11. No 13. P. 2948-2950.
196. Le P.Q., Nguyen T.S., May, J.A. A general method for the enantioselective synthesis of  $\alpha$ -chiral heterocycles // *Organic Letters*. 2012, Vol. 14, №23, P. 6104–6107.

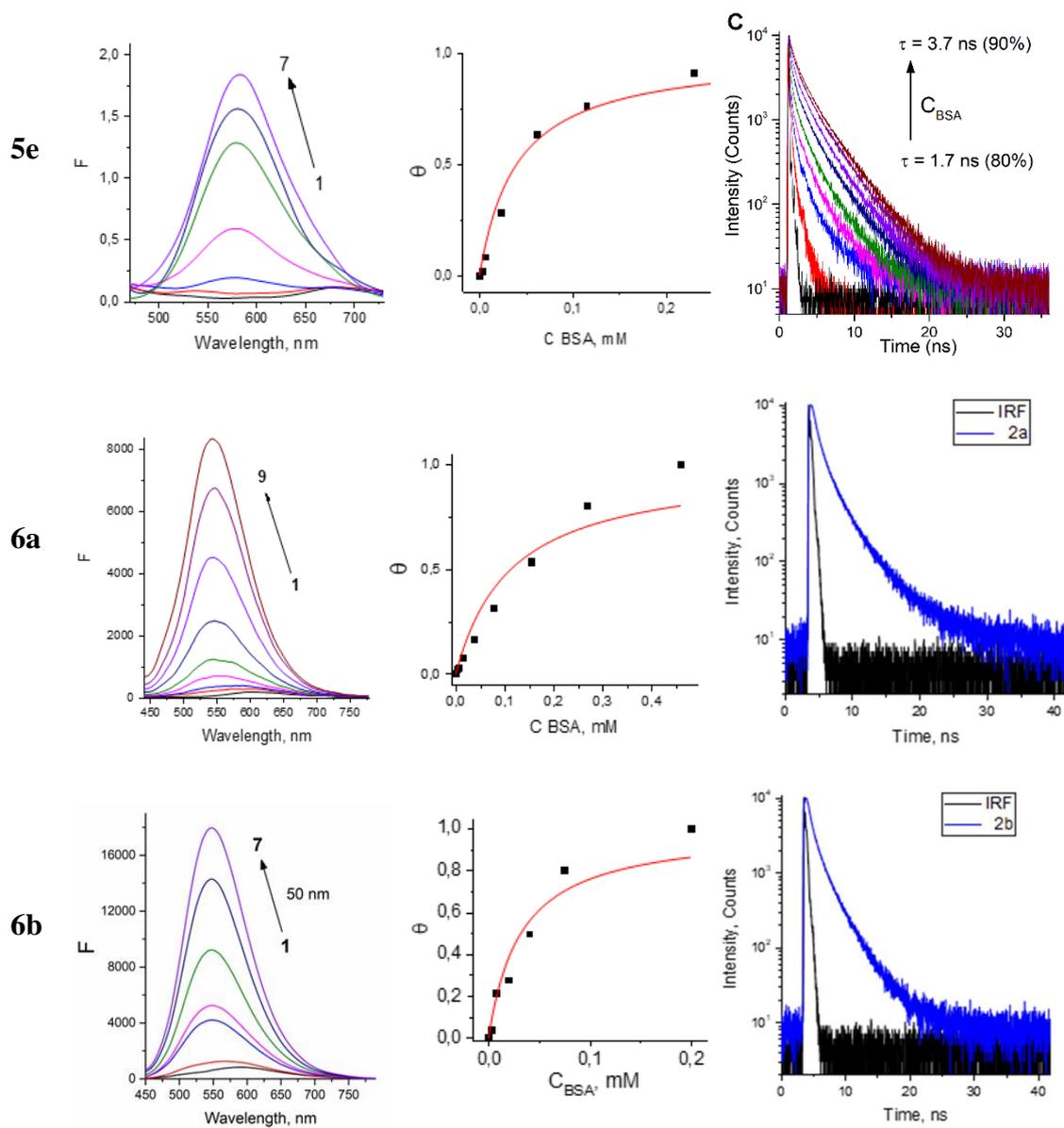
197. Moccia M., Cortigiani M., Monasterolo C., Torri F., Del Fiandra C., Fuller G., Adamo M.F. Development and scale-up of an organocatalytic enantioselective process to manufacture (S)-pregabalin // *Organic Process Research and Development*. 2015. V. 19. No. 9. P. 1274-1281.
198. Dočekal V., Petrželová S., Čísařová I., Veselý J. Enantioselective Cyclopropanation of 4-Nitroisoxazole Derivatives // *Advanced Synthesis and Catalysis*. 2020. V. 362, No. 13. P. 2597-2603.
199. Astakhova N.E., Vasilenko D.A., Kuzmina M.S., Pupeza A.K., Grishin Yu.K., Tafenko V.A., Averina E.B. *tert*-BuONO-Promoted Nitrosation of 4-Nitroisoxazole-Based Enamines: Synthesis of 5-Cyanoisoxazoles and Their Application // *Journal of Organic Chemistry*. – 2025. – Vol. 90, No. 34. – P. 12138-12152.
200. Кузьмина М.С., Астахова Н.Е., Василенко Д.А., Седенкова К.Н., Гришин Ю.К., Грачева Ю.А., Милаева Е.Р., Аверина Е.Б. Синтез и изучение антипролиферативной активности новых аналогов комбретастина А4 ряда изоксазола // *Известия Академии наук. Серия химическая*. – 2025. – Т. 74, № 7. – С. 2184-2189.  
[перевод: Kuzmina M.S., Astakhova N.E., Vasilenko D.A., Sedenkova K.N., Grishin Yu.K., Gracheva Yu.A., Milaeva E.R., Averina E.B. Synthesis and investigation of antiproliferative activity of novel analogs of combretastatin A4 of isoxazole series // *Russian Chemical Bulletin*. – 2025. – Vol. 74, No. 7. – P. 2184-2189.]
201. Astakhova N.E., Kuzmina M.S., Vasilenko D.A., Shashurin D.A., Vasileva V.Y., Sudarikova A.V., Zefirov N.A., Averina E.B., Chubinskiy-Nadezhdin V.I., Milaeva E.R., Medvedev O.S., Zefirova O.N. Substituted 3-aryl-4-nitroisoxazoles as potential blockers of the transport protein GLUT5: molecular design, synthesis and primary biotesting // *Mendeleev Communications*. – 2026. – Vol. 36, No. 1. – P. 12-14.
202. Бурцев И.Д., Василенко Д.А., Астахова Н.Е., Аверина Е.Б., Трофимов А.В., Кузьмин В.А. Комплексообразование стирлизоксазолового красителя с альбумином // *Химия высоких энергий*. – 2024. – Т. 58, № 3. – С. 233-236.  
[перевод: Burtsev I.D., Vasilenko D.A., Astakhova N.E., Averina E.B., Trofimov A.V., Kuzmin V.A. Complexation of Styrylisoxazole Dye with Albumin // *High Energy Chemistry*. – 2024. – Vol. 58, No. 3. – P. 343-345.]
203. N. Barbero, E. Barni, C. Barolo, P. Quagliotto, G. Viscardi, L. Napione, S. Pavan, F. Bussolino, A study of the interaction between fluorescein sodium salt and bovine serum albumin by steady-state fluorescence // *Dyes and Pigments*. 2009. V. 80. P. 307-313.
204. T. McIlvaine, A buffer solution for colorimetric comparison // *Journal of Biological Chemistry*. 1921. V. 49. P. 183-186.
205. Nikš M., Otto M. Towards an optimized MTT assay // *Journal of Immunological Methods*. 1990, V. 130, P. 149-151.

206. O. V. Ryzhikova, A. S. Churkina, K. N. Sedenkova, D. V. Savchenkova, A. S. Shakhov, S. V. Lavrushkina, Y. K. Grishin, N. A. Zefirov, O. N. Zefirova, Y. A. Gracheva, E. R. Milaeva, I. B. Alieva, E. B. Averina. Mono-and bis (steroids) containing a cyclooctane core: Synthesis, antiproliferative activity, and action on cell cytoskeleton microtubules // *Archiv der Pharmazie*. 2024, V. 357, No 11, e2400483.
207. V.V. Spiridonov, K.S. Sadovnikov, D.A. Vasilenko, K.N. Sedenkova, A.R. Lukmanova, A.A. Markova, A.V. Shibaeva, A.V. Bolshakova, S.S. Karlov, E.B. Averina, A.A. Yaroslavov, Synthesis and evaluation of the anticancer activity of the water-dispersible complexes of 4-acylaminoisoxazole derivative with biocompatible nanocontainers based on  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\text{Mg}^{2+}$ ) cross-linked alginate // *Mendeleev Communications*. 2022. V. 32. P. 591-593.

## Приложение А: кинетика взаимодействия стирлизоксазолов с БСА



**Рисунок А1.** Слева направо: изменение спектров флуоресценции красителей ( $C = 1 \times 10^{-5}$  М) с добавлением БСА ( $0 - 2 \times 10^{-4}$  М), аппроксимация кривой титрования красителя БСА, кинетика затухания флуоресценции красителей в  $2 \times 10^{-4}$  М БСА ( $\lambda_{\text{ex}} = 400$  нм,  $\lambda_{\text{reg}} = 600$  нм). Соединения **5a-d**.



**Рисунок А2.** Слева направо: изменение спектров флуоресценции красителей ( $C = 1 \times 10^{-5}$  М) с добавлением БСА ( $0 - 2 \times 10^{-4}$  М), аппроксимация кривой титрования красителя БСА, кинетика затухания флуоресценции красителей в  $2 \times 10^{-4}$  М БСА ( $\lambda_{ex} = 400$  нм,  $\lambda_{reg} = 600$  нм). Соединения **5e**, **6a-b**.