

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ОРГАНИЧЕСКОЙ И
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ
ИНСТИТУТ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

АКОПЯН АРАКСЯ ЭДУАРДОВНА

**СИНТЕЗ ПИРАЗОЛКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ И ИЗУЧЕНИЕ
БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ИМИ
ХИТОЗАНОВ**

ДИССЕРТАЦИОННАЯ РАБОТА

на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 02.00.03 – “Органическая химия”

Научный руководитель:
доктор химических наук
проф. Г. В. Асратян

ЕРЕВАН – 2016

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. Синтез, свойства и химические превращения пиразол- карбоновых кислот (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)	7
1.1. Синтез пиразолкарбоновых кислот по аза-реакции Михаэля	7
1.2. Синтез пиразолкарбоновых кислот из формилпиразолов и их химические превращение	13
1.3. Другие методы синтеза пиразолкарбоновых кислот	28
1.4. Получение и свойства модифицированных хитозанов	34
ГЛАВА 2. Синтез пиразолкарбоновых кислот и изучение биологических свойств модифицированных ими хитозанов (ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ)	44
2.1. Алкилирование пиразолов (1-3) этиловым эфиром хлоруксусной кислоты и хлорацетонитрилом в условиях межфазного катализа и гидролиз полученных эфиров	44
2.2. Синтез пиразолкарбоновых кислот по аза реакции Михаэля	49
2.2.1. Щелочной гидролиз сложных эфиров 1-(2'-аминоэтил)пиразолов. Антимикробная активность хитозановых пленок, модифицированных пиразолкарбоновыми кислотами.....	49
2.3. Синтез пиразолкарбоновых кислот на базе формилпиразолов	53
2.3.1. Окисление N-алкил-3-метил- и N-алкил-5-метил-4-формил- пиразолов в условиях межфазного катализа	53

2.3.2. Формилирование 1Н-пиразолов по Вильсмейеру-Хааку и окисление полученных формилпиразолов в условиях межфазного катализа	55
2.3.3. Синтез пиразолкарбоновых кислот на базе 1-винил-4-формил- пиразолов	57
2.4. Синтез функциональнoзамещенных 4-пиразолкарбоновых кислот	58
2.4.1. Синтез 1-(2'-гидроксиэтил)-4-пиразолкарбоновых кислот	58
2.5. Альтернативные методы синтеза пиразолкарбоновых кислот	62
2.5.1. Синтез 1-винил-3- и 1-винилпиразолкарбоновых кислот и про- тивоожоговая активность их солей с хитозаном	62
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	69
Алкилирование пиразолов этиловым эфиром хлоруксусной кислоты и гидролиз полученных эфиров	69
Синтез пиразолкарбоновых кислот по аза-реакции Михаэля	
Щелочной гидролиз сложных эфиров 1-(2'-аминоэтил)пиразолов	73
Синтез пиразолкарбоновых кислот на базе формилпиразолов	
Окисление N-алкил-3-метил- и N-алкил-5-метил-4-формилпиразолов в условиях межфазного катализа	76
Формилирование 1Н-пиразолов по Вильсмейеру-Хааку и окисле- ние полученных формилпиразолов в условиях межфазного катализа	78
Синтез пиразолкарбоновых кислот на базе 1-винил-4-формил- пиразолов.....	81

Синтез функционально замещенных 4-пиразолкарбоновых кислот	
Синтез 1-(2'-гидроксиэтил)-4-пиразолкарбоновых кислот. Формилирование 1-(2'-гидроксиэтил)пиразолов	
.....	
82	
Альтернативные методы синтеза пиразолкарбоновых кислот	
.....	
89	
Синтез пиразолкарбоновых кислот и получение их солей с хитозаном.....	89
ВЫВОДЫ	93
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	94
ПРИЛОЖЕНИЕ	109

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. На протяжении последних десятилетий фармацевтическая индустрия проводит активные исследования в сфере поиска новых препаратов, содержащих в своей структуре гетероциклический фрагмент. Исследования в этой области привели к созданию эффективных лекарственных средств нового поколения.

В связи с этим, можно прогнозировать коммерческую ценность синтетически доступных производных пиразолов в качестве биологически активных фрагментов в фармацевтической продукции, а расширение исследовательских работ в этой области, несомненно, представляет теоретический интерес.

Целенаправленный синтез новых пиразолкарбоновых кислот, которые являются одним из предметов исследования в данной работе требует, с нашей точки зрения, подробного изучения модификации природного полимера – хитозана с целью установления биологических свойств полученных солей хитозана.

Кроме того, исследование свойств полученных хитозановых солей дает возможность расширения областей их практической реализации.

Цель работы. Синтез новых функционально замещенных пиразолкарбоновых кислот, получение хитозановых солей на базе пиразолкарбоновых кислот и исследование антимикробной и противоожоговой активностей этих солей.

Научная новизна. Показано, что при формилировании N-замещенных пиразолов по Вильсмейеру-Хааку, реакция протекает через промежуточное образование соли аммониевого катиона, когда выделившаяся соляная кислота не препятствует реакции формилирования. А если соляная кислота выделяется в результате побочных реакций (в случае гидроксиметилпиразолов), то она препятствует реакции формилирования за счет кватернизации пиридинового атома азота, приводящая к уменьшению нуклеофильности пиразольного кольца.

С целью изучения реакции формилирования 1-гидроксиметилпиразолов предложен метод введения защитной группы, каковой является ацетильная группа. 1-Ацетил-

оксиэтилпиразолы легко подвергаются формилированию, последующий гидролиз которых приводит к 1-гидроксиэтил-4-формилпиразолам.

При получении 1-гидроксиэтилпиразолкарбоновых кислот использована ацетильная защитная группа, при хемоселективном окислении 1-гидроксиэтил-4-формилпиразолов.

Установлено, что NH-пиразолы не формилируются по Вильсмейеру-Хааку. Предложена схема получения 4-формилпиразолов, включающая формилирование метиловых эфиров пиразол-1-ил-пропионовых кислот с последующим гидролизом в 3-(4-формилпиразол-1-ил)пропионовые кислоты и β -отщеплением карбоксиэтильной группы.

Предложен новый путь прямого синтеза 4-пиразолкарбоновых кислот на основе 1-винил-4-формилпиразолов с использованием ртутного метода для снятия винильной защиты.

Получены модифицированные хитозановые соли с разными пиразолкарбоновыми кислотами и исследованы противовоспалительная и антимикробная активности этих солей.

Практическая ценность. Предложен ряд доступных методов синтеза новых классов пиразолкарбоновых кислот. На основе хитозана и пиразолкарбоновых кислот предложены новые биосовместимые, биodeградирующие пленки, пригодные для термически поражённых дермальных тканей, обладающие антибактериальной активностью широкого спектра.

Публикации. Основное содержание диссертационной работы изложено в 10-и статьях.

Структура работы. Диссертационная работа изложена на 108 страницах компьютерного набора, состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, 1-ой таблицы, выводов, списка литературы (142 библиографических ссылок) и приложения.

ГЛАВА 1

ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1. СИНТЕЗ, СВОЙСТВА И ХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ ПИРАЗОЛКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

1.1. Синтез пиразолкарбонновых кислот по аза-реакции Михаэля

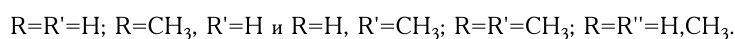
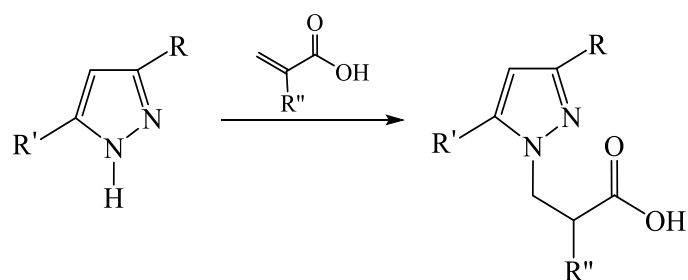
Химия азолов является одним из важнейших разделов органической химии. Азотсодержащие гетероциклические соединения широко применяются в органическом синтезе, входят в состав многих природных соединений, лекарственных веществ, пестицидов и т. д. [1].

До наших исследований были разработаны ценные методы получения замещенных азолов и, благодаря этому, были синтезированы ранее недоступные азолы [2-5].

Реакциям присоединения и конденсации с непредельными карбонилсодержащими соединениями посвящено много работ [6-8]. Интерес исследователей привлекают доступные и недорогие пути синтеза соединений, многие из которых были реализованы в промышленных масштабах [9].

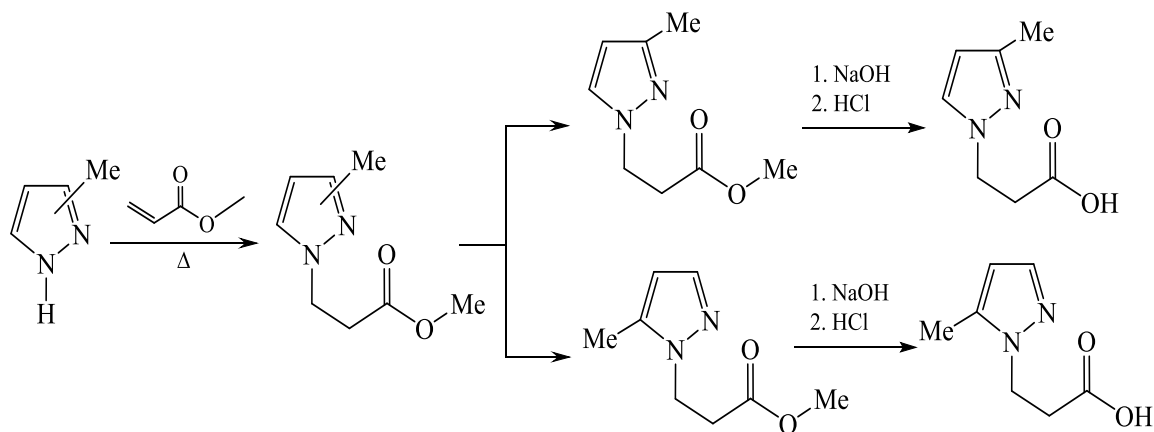
Способность пиразолов легко присоединяться к соединениям с активной двойной связью представляет значительный интерес с позиций расширения ассортимента новых производных пиразолов. Эта реакция известна как аза-реакция Михаэля. Она имеет большое значение в органической химии, особенно, в синтезе гетероциклических соединений, содержащих β -аминогруппу, которые являются важными интермедиатами в синтезе различных биоактивных веществ: β -аминоспиртов, других азотсодержащих соединений и лекарственных препаратов на их основе [10].

Было показано, что пиразолы со свободной NH-группой легко присоединяются как к акриловой [11], так и к метакриловой кислоте [12]. При нагревании пиразола, 3(5)-метил- и 3,5-диметилпиразолов с акриловой кислотой при температуре 80-100 °C с высокими выходами образуются соответствующие 1-карбоксиэтилпиразолы [11].



Исследования показали, что реакция присоединения 3(5)-метилпиразола к акриловой кислоте приводит к образованию трудноразделимых изомеров 1-(2'-карбоксиэтил)-3-метил- и 1-(2'-карбоксиэтил)-5-метилпиразолов в соотношении 1:1. Получение двух изомеров 1-карбоксиэтилпиразола не является неожиданным, поскольку исходный 3-метилпиразол находится в таутомерном равновесии с 5-метилпиразолом [13].

Обобщенный синтез отдельных изомеров 1-(2'-карбоксиэтил)-3-метил- и 1-(2'-карбоксиэтил)-5-метилпиразолов был предложен Аттарианом и сотрудниками по следующей схеме превращений [14], включающей разделение отдельных изомеров из смеси промежуточных эфиров. Смесь изомеров была разделена ректификацией.

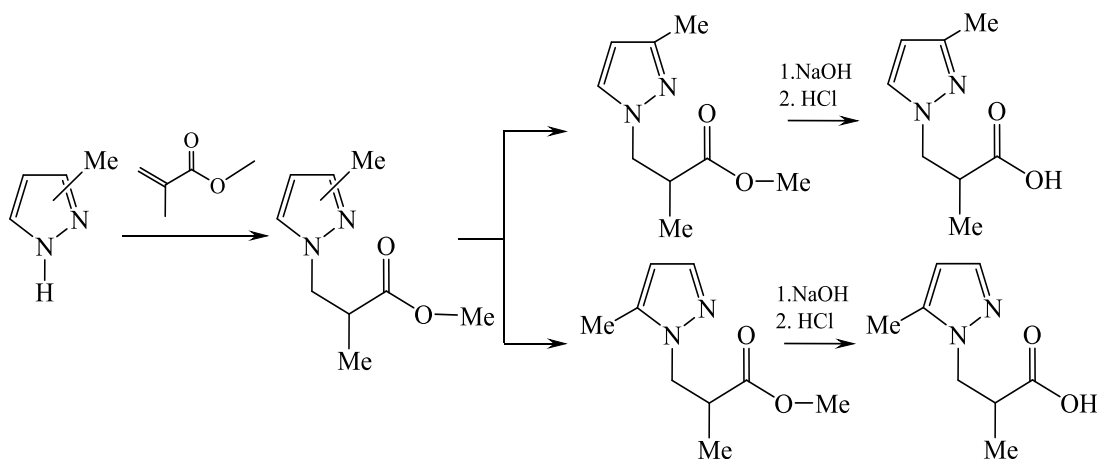


Установлено, что 3(5)-метилпиразол вступает в реакцию с метилакрилатом при температуре 80-90 °С. Продукт присоединения получен с выходом 90 %. Гидролиз полученных метиловых эфиров проведен водным раствором NaOH при комнатной температуре.

Изомеры 1-карбоксиэтилпиразолов имеют разные температуры плавления. Физико-химические константы соединений с высокой температурой плавления (т. пл. 101 °С) совпадали с константами 1,3-изомеров, а соединений с низкой температурой плавления (т. пл. 75 °С) – с 1,5-изомеров.

Далее было показано, что аналогичным образом протекает реакция 3(5)-метилпиразола с метакриловой кислотой с образованием трудноразделимой смеси изомеров 2-метил-3[3(5)метил-1Н-пиразол-1-ил]пропионовой кислоты [12].

С целью синтеза отдельных изомеров была предложена следующая схема превращений, включающая разделение промежуточных эфиров.

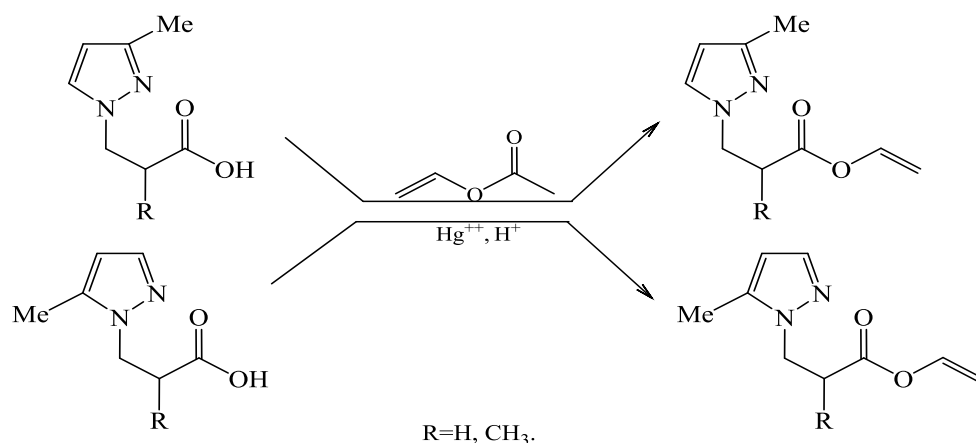


Опыты показали, что 3(5)-метилпиразол реагирует с метилметакрилатом намного труднее [15-16], чем с метилакрилатом [14]. Продукт присоединения был получен только после 20-и часового нагревания компонентов при температуре 160-170 °С и с выходом 80 %.

Гидролизом сложных эфиров в присутствии едкого натра были получены натриевые соли пиразолилкарбоновых кислот, при подкислении которых были получены соответствующие кислоты.

Полученные 1-карбоксиэтилпиразолы были использованы в качестве новых отвердителей в композициях горячего отверждения на основе эпоксидной смолы (ЭД-20) [11].

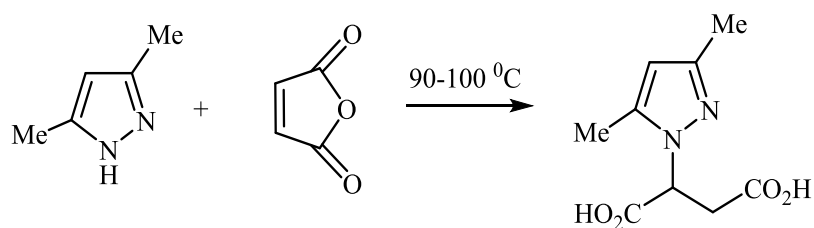
Аттарьяном и сотрудниками было изучено винилирование 1-карбоксиэтилпиразолов с винилацетатом в присутствии ацетата ртути и различных кислот [17].



Бесперспективным оказалось лишь применение ацетата ртути, так как выходы целевых продуктов были очень низкими [18]. Введение серной кислоты в варианте Hg(OAc)₂-H₂SO₄ позволило достичь 25 %-ного выхода [19]. Малоэффективным оказалось также использование каталитической системы ацетат ртути – эфират трёхфтористого бора [20]. Лишь каталитическая система ацетат ртути – трифторуксусная кислота позволила получить виниловые производные 1-карбоксиэтилпиразолов с выходами 45 – 50 % [21].

Двойная связь в изомерах 3-CH₃ менее поляризована, чем в изомерах 5-CH₃ [17, 22]. Это различие не влияет на процесс радикальной гомо(со)полимеризации. Изомерные виниловые эфиры, в отличие от изомерных N-винилпиразолов [23], проявляют практически одинаковую реакционную способность.

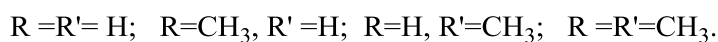
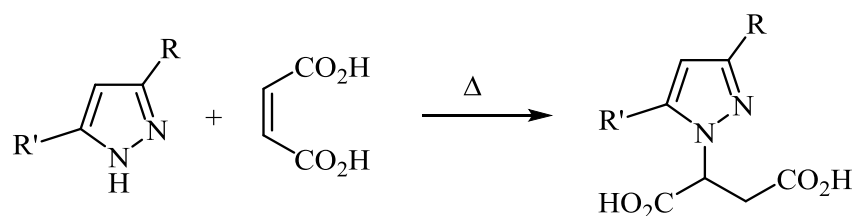
Для синтеза пиразолдикарбоновых кислот в работе [15] авторы изучили присоединение 3,5-диметилпиразола к малеиновому ангидриду. Оказалось, что 3,5-диметилпиразол при температуре 90-100 °С в диоксане экзотермически присоединяет одну молекулу малеинового ангидрида и с количественным выходом, приводит к образованию дикислоты.



3-Метил-5-фенил- и 3,5-дифенилпиразолы реагируют с малеиновым ангидридом аналогично 3,5-диметилпиразолу, но в более жестких условиях (30 мин, 170-180 °С). Соединение, полученное взаимодействием 3,5-диметилпиразола с малеиновым ангидридом, при обработке водой проявляет свойства двуосновной кислоты.

Изучено также аза-присоединение пиразолов к малеиновой кислоте, в которой двойная связь находится под несогласованным воздействием двух электроноакцепторных групп [9], и вследствие чего поляризация двойной связи полностью отсутствует.

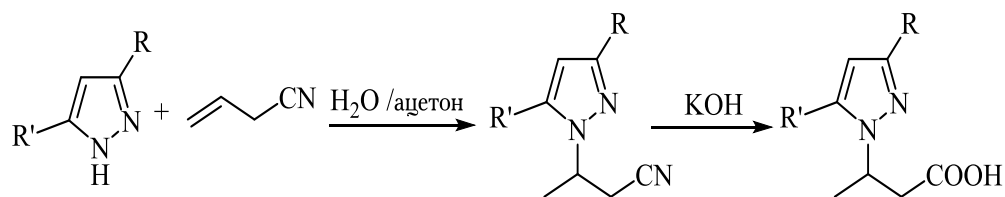
Исследования показали, что пиразолы реагируют с малеиновой кислотой аналогично реакциям с акриловой кислотой [11] и метилвинилкетон [24] - аза-реакцией Михаэля, простым нагреванием в отсутствие катализатора и растворителя, образуя соответствующие пиразол-1-ил янтарные кислоты.



Найдено, что выходы аддуктов зависят от основности азолов [25]. При взаимодействии малеиновой кислоты с 3,5-диметилпиразолом выход продукта присоединения составляет 96 %, в то время как с менее основным пиразолом реакция протекает с выходом 65 %. В случае 3(5)-метилпиразола продукты получаются в виде двух изомеров, суммарный выход которых составляет 80 %.

Поведение пиразолов в реакциях присоединения к бут-3-еннитрилу представляет интерес тем, что двойная связь у бут-3-еннитрила непосредственно не связана с электроноакцепторной нитрильной группой. Известно, что основным условием применения этиленовых соединений в реакциях нуклеофильного присоединения является присутствие у двойной связи электроноакцепторных групп, активирующих ее [6,7,14]. Пиразолы не реагируют с бут-3-еннитрилом даже при длительном нагревании. Было показано, что бут-3-еннитрил реагирует с пиразолом как в жестких условиях (повышенное давление, 200-220 °С, выход 60-80 %) [26], так и в системе растворителей вода - ацетон, в

присутствии катализатора KOH [27]. После щелочного гидролиза с водным раствором едкого кали, получают соответствующие кислоты.



Аза-присоединение к двойной связи является двухстадийным процессом: изомеризация реагента и дальнейшее присоединение нуклеофила к сопряженной системе. Было показано, что при температуре 200-220 °С происходит изомеризация бут-3-енитрила в бут-2-еннитрил, что и облегчает дальнейшее присоединение нуклеофильного реагента к β-углеродному атому образовавшейся сопряженной двойной связи. В результате проведенных исследований [27] показано, что основность пиразола недостаточна для обеспечения изомеризации несопряженной двойной связи, поэтому реакцию необходимо проводить при высокой температуре или в присутствии едкого кали в качестве катализатора [28-29].

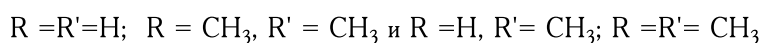
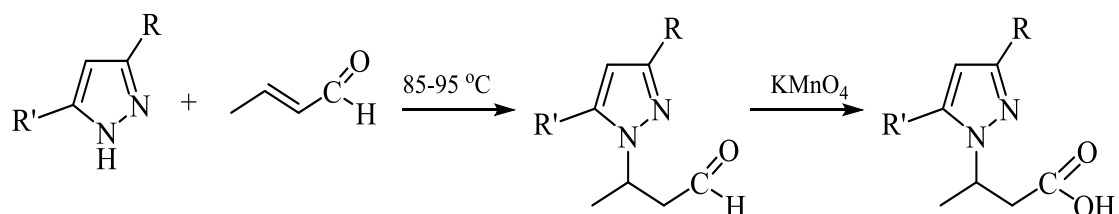
Необходимо отметить, что пиразолы в каталитических условиях, по сравнению с некаталитическим термическим процессом (200-220 °С), очень легко реагируют с бут-3-еннитрилом (20-25 °С, τ = 24 ч).

В отличие от термического присоединения пиразолов к бут-3-еннитрилу [26], при каталитическом процессе [27], при переходе от пиразола к 3,5-диметилпиразолу выходы аддуктов уменьшаются. Это говорит о том, что основание не только играет важную роль в изомеризации бут-3-еннитрила, но и генерирует пиразольный анион. Введение электронодонорных метильных заместителей в пиразольное кольцо затрудняет депротонирование [24, 30] и замедляет реакцию присоединения.

Пиразолкарбоновые кислоты можно получить окислением аддуктов аза-присоединения пиразолов к бут-2-еналю (кротоновый альдегид). Опыты показали, что пиразолы в некаталитических условиях в отсутствие растворителя присоединяются к бут-2-

еналю с высокими выходами [31]. Интересно отметить, что указанное при-соединение протекает медленнее, чем аналогичное присоединение пиразолов к проп-2-еналю (акролеину) [32]. Вероятно, что наличие электронодонорного метильного заместителя (в случае бут-2-енала) понижает электрофильность двойной связи, затрудняя реакцию присоединения и приводит к более продолжительному протеканию реакции (90-95 °C, $\tau=8-16$ ч).

Наличие электронодонорных метильных заместителей в пиразольном кольце затрудняет депротонирование, тем самым, в свою очередь, замедляя реакцию присоединения. Аттарианом и сотрудниками было показано, что если провести процесс присоединения пиразолов к бут-2-еналю со строгим соблюдением температурного режима (85-90 °C) и при соотношении реагентов пиразол : альдегид – 1 : 2, то можно получить аддукты с высокими выходами (85-90 %). После окисления полученных аддуктов перманганатом калия получают соответствующие кислоты.

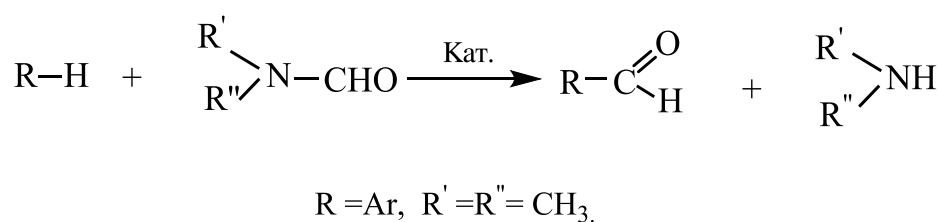


1.2. Синтез пиразолкарбоновых кислот из формилпиразолов и их химические превращения

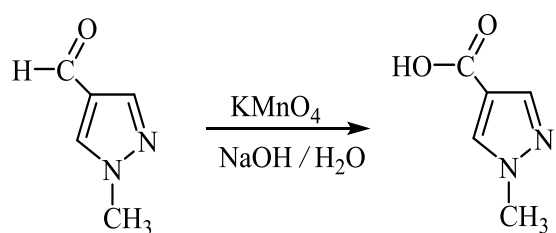
Выбор методов синтеза 4-формилпиразолов ограничен. По-прежнему, основным остается формамидный метод введения альдегидной группы в гетероциклическое ядро. Электрофильная атака по атомам углерода кольца пиразола, как правило, легче всего идет в положении 4-, где π -электронная плотность максимальна [33]. Аннулярные атомы азота, безусловно, понижают электронную плотность на C-3 и C-5, особенно в кислой

среде, в которой образуется катион пиразола [33]. По реакционной способности в положении 4- пиразольное кольцо стоит между фенолом и бензолом, но катион пиразола еще менее активен, чем бензол и, поэтому не реагирует с такими слабыми электрофилами, как интермедиаты реакции Фриделя - Крафтса, Вильсмейера - Хаака, и не вступает в реакции диазосочетания. Попытки формилирования пиразола и N-безоилпиразола оказались неудачными [34], однако Финар и Лорд [35] установили, что 1-метилпиразол формилируется диметилформамидом в положении 4. Позже было описано, что формилирование 1,3- и 1,5-диметилпиразолов по Вильсмейеру - Хааку, в присутствии фосфорилхлорида и хлорида алюминия, протекает с удовлетворительным выходом [36].

Реакция формилирования органических соединений замещенными формамидами можно представить следующей общей схемой:



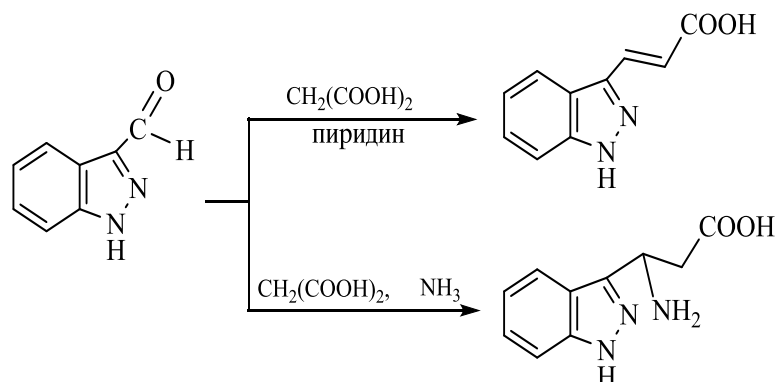
Как показано в работе Финара и Лорда, 4-формил-1-метилпиразолы окисляются перманганатом калия в щелочной среде, приводя к соответствующим 1-метилпиразол-карбоновым кислотам [35].



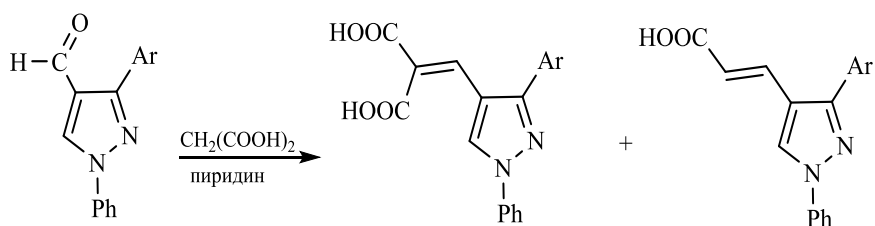
Авторам работы [37] удалось осуществить синтез β-(индазолил-3)-акриловой и β-(индазолил-3)-β-аминопропионовой кислот. Было установлено, что незамещенный индазол-3-альдегид довольно легко вступает в конденсацию с малоновой кислотой в при-

сутствии пиридина и каталитических количеств пиридина (видоизмененная реакция Кневенагеля).

При проведении конденсации индазол-3-альдегида с малоновой кислотой в присутствии спиртового раствора аммиака (реакция Родионова), 25 %-ным выходом была выделена β -(индазолил-3)- β -аминопропионовая кислота. С чуть более большие выходы (33 %) β -аминокислот получают по модификации Джонсона.

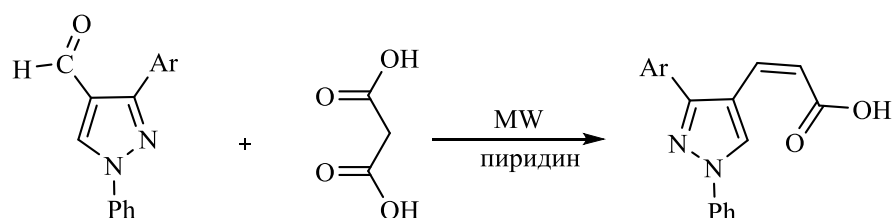


В работе [38] сообщается о синтезе пиразолилакриловых и пиразолилметилена-малоновых кислот конденсацией Кневенагеля 1,3-диарилпиразол-4-карбальдегидов с малоновой кислотой или ее эфирами. Некоторые из этих соединений обладают противовоспалительным действием.



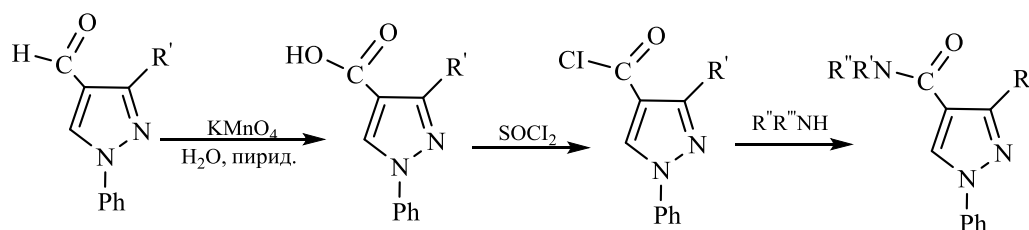
Ar = Ph, 4- BrC_6H_4 , 4- FC_6H_4 , 4- ClC_6H_4 , 4- MeC_6H_4 , 4- MeOC_6H_4 , бифенил.

3-Арил-1-фенилпиразол-4-карбальдегиды при микроволновой активации селективно реагируют с малоновой кислотой в присутствии небольшого количества пиридина с образованием 3-(4-пиразолил)акриловых кислот с высокими выходами [39].



Ar = Ph, 4-BrC₆H₄, 4-FC₆H₄, 4-ClC₆H₄, 4-MeC₆H₄, 4-MeOC₆H₄, 2-тиенил, 3-пиридил, 4-PhC₆H₄, 3-NO₂-4-MeOC₆H₄, 3-NO₂C₆H₄, 2-бензофурил, 6-бенздиоксанил.

В работе [40] получение 1,3-дизамещенных пиразол-4-карбоновых кислот с окислением перманганатом калия было изучено на примере 3-арил(гетерил)-1-фенил-4-формилпиразолов. Найдено, что эти альдегиды при обработке перманганатом калия в 50 %-ном водном пиридине при 18-20 °С с высокими выходами (71-94 %) превращаются в пиразол-4-карбоновые кислоты, которые представляют собой высокоплавкие бесцветные или светложелтые вещества.



R = Ph, 4-FC₆H₄, 4-BrC₆H₄, 4-ClC₆H₄, 4-EtC₆H₄, 4-PhC₆H₄, пиридил; R' = H R'' = 3-Et₂NSO₂C₆H₄;
R' R'' = 1-CH₂-2-C₂H₄C₆H₄; R' = H R'' = 3,5-Cl₂C₆H₃; R' = R'' = 2,2'-C₆H₄CH₂CH₂C₆H₄.

Многие производные пиразол-4-карбоновых кислот, обладающие потенциальной биологической активностью под действие хлористого тионил, с почти количественными выходами были превращены в хлорангидриды. В работе [40] было установлено, что хлорангидриды пиразол-4-карбоновых кислот являются менее реакционноспособными по сравнению с типичными ароилхлоридами и ацилируют первичные и вторичные алифатические и ароматические амины при 3-часовом нагревании в толуоле с образованием амидов.

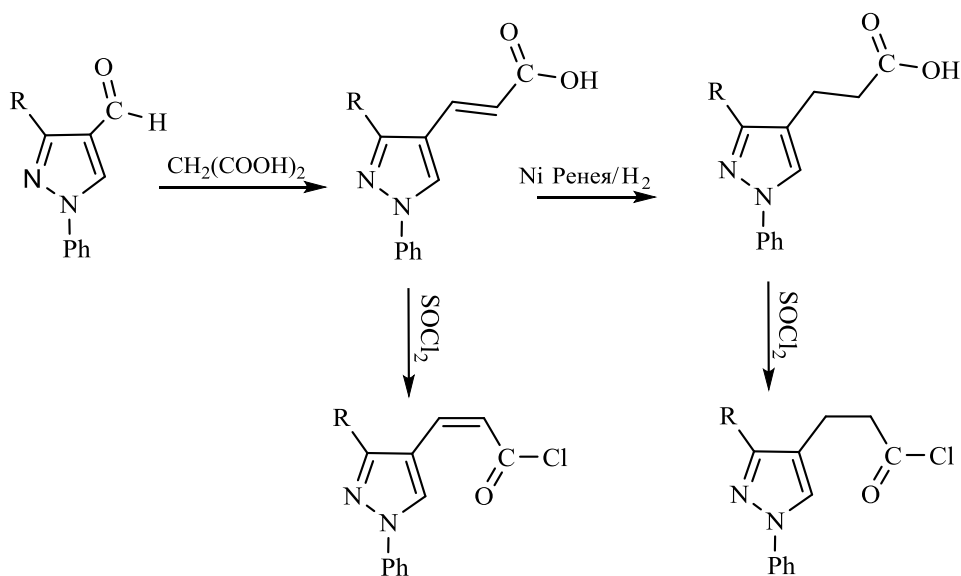
Ранее авторами работы [40] было показано, что 3-арил(гетерил)-1-фенил-4-формилпиразолы, использованные для получения соответствующих (пиразол-4-ил)карбоновых кислот, оказались удобными субстратами в синтезе 3-(пиразол-4-ил)пропеновых кислот. Внимание авторов работы [41] к соединениям такого типа обусловлено возрас-

тающей ролью производных 3-гетерилпропеновых кислот, среди которых найдены вещества с выраженным фармакологическим действием.

Найдено, что 3-арил(гетерил)-4-формилпиразолы при взаимодействии с малоновой кислотой в условиях реакции Кневенагеля с высокими выходами превращаются в 3-(пиразол-4-ил)пропеновые кислоты [41].

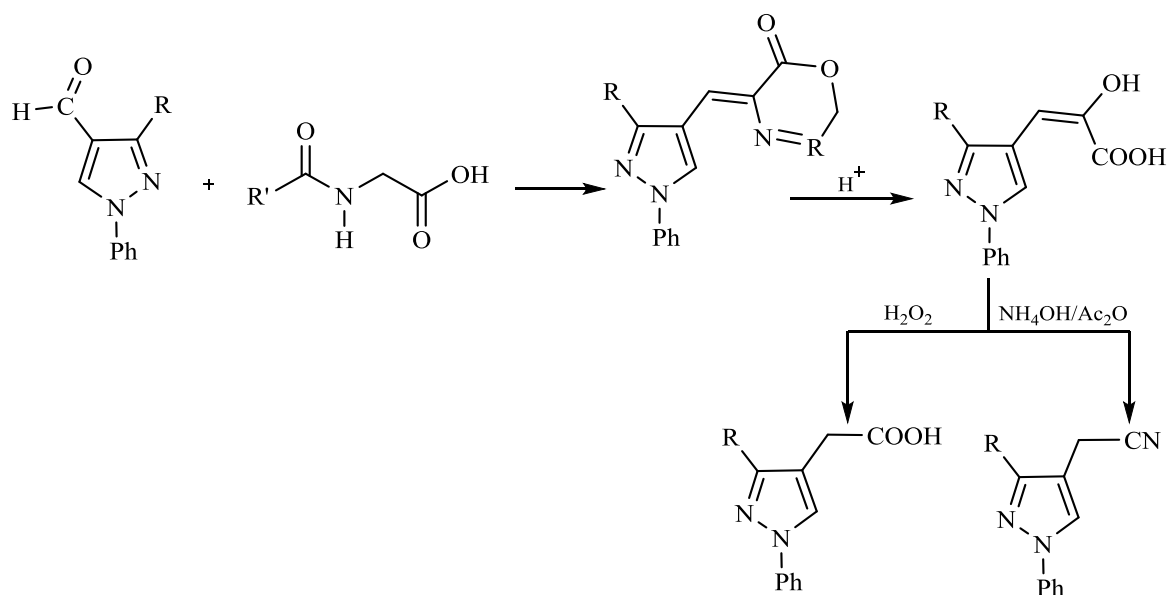
С учетом того, что 3-гетерилпропановые кислоты и их производные также являются потенциально биоактивными соединениями, была изучена возможность превращения некоторых непредельных кислот в их гидрированные аналоги [41]. Было установлено, что пиразолпропеновые кислоты, содержащие в положении 3 гетероцикла ароматические заместители, а также гетероциклические 3-пиридинильный и кумарильный заместители, при действии гидразин-гидрата в присутствии каталитических количеств никеля Ренея с высокими выходами восстанавливаются в 3-[3-арил-(гетерил)пиразол-4-ил]пропановые кислоты.

Аналогичными реакциями в работе [41] при действии хлористого тионила на пиразолкарбоновые кислоты описано получение соответствующих хлорангидридов с высокими выходами. В результате реакций со спиртами, фенолами и аминами были получены эфиры и амиды 3-(пиразол-4-ил)пропеновых и 3-(пиразол-4-ил)пропановых кислот.



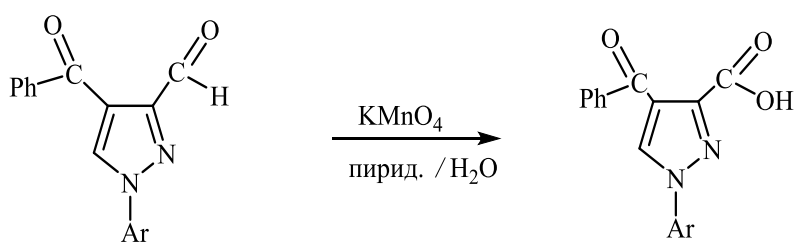
R= Ph, 4-FC₆H₄, 4-BuC₆H₄, 4-ClC₆H₄, 4-MeC₆H₄, 4-MeOC₆H₄, тиенил, 3-пиридил.

Для синтеза 3-арил-1-фенил-4-пиразолилпировиноградной кислоты авторами работ [42] конденсацией 3-арил-1-фенилпиразол-4-карбальдегидов с ацилглицином и дальнейшим гидролизом были получены пиразолилметиленоксазолон. Последние были переведены в пиразол-4-уксусную кислоту и пиразол-4-ацетонитрилы окислительным карбоксилированием с использованием H_2O_2 и реакцией со смесью уксусного ангидрида и гидроксилamina соответственно.



$\text{R} = \text{Ph}, 4\text{-ClC}_6\text{H}_4, 4\text{-MeC}_6\text{H}_4, 4\text{-MeOC}_6\text{H}_4, 2\text{-тиенил}; \text{R}' = \text{Me}.$

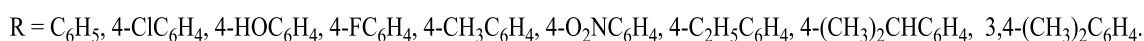
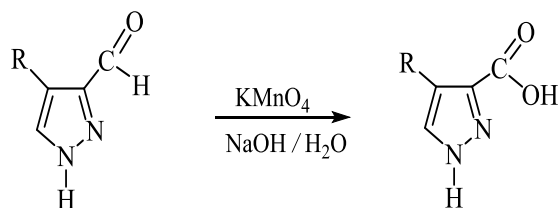
Для получения карбоновых кислот из соответствующих пиразолкарбальдегидов было изучено их окисление перманганатом калия [43].



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

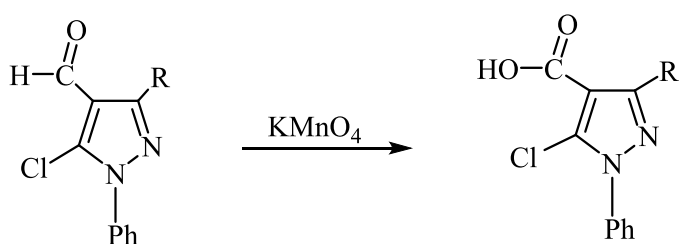
Установлено, что при проведении этой реакции в водно-пиридиновой среде альдегиды превращаются в кислоты с удовлетворительными выходами (34-54 %). В случае альдегида $\text{Ar} = 4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ выделить индивидуальный продукт реакции не удалось, поскольку наряду с окислением альдегидной группы происходит также частичное окисление метильной группы толуола.

Было установлено также, что доступные семикарбазоны метиларилкетонов легко формилируются под действием POCl_3 в ДМФА с образованием соответствующих 3-арилпиразол-4-карбальдегидов [44]. Последние легко растворяются в водных растворах щелочей, что позволило авторам для их превращения в соответствующие 3-арилпиразол-4-карбоновые кислоты в качестве окислителя выбрать марганцевокислый калий. Реакция протекает с высокими выходами (86-95 %). Это делает возможным окисление альдегидов без их предварительной очистки после формилирования соответствующих семикарбазолов.



Выбранный метод окисления менее эффективен для пиразоальдегидов, содержащих метильную группу в бензольном кольце, которое в условиях реакции подвергается частичному окислению, превращаясь в карбоксильную группу. Образующиеся при этом дикислоты (в количестве 10 %) не удаётся выделить обычными методами очистки.

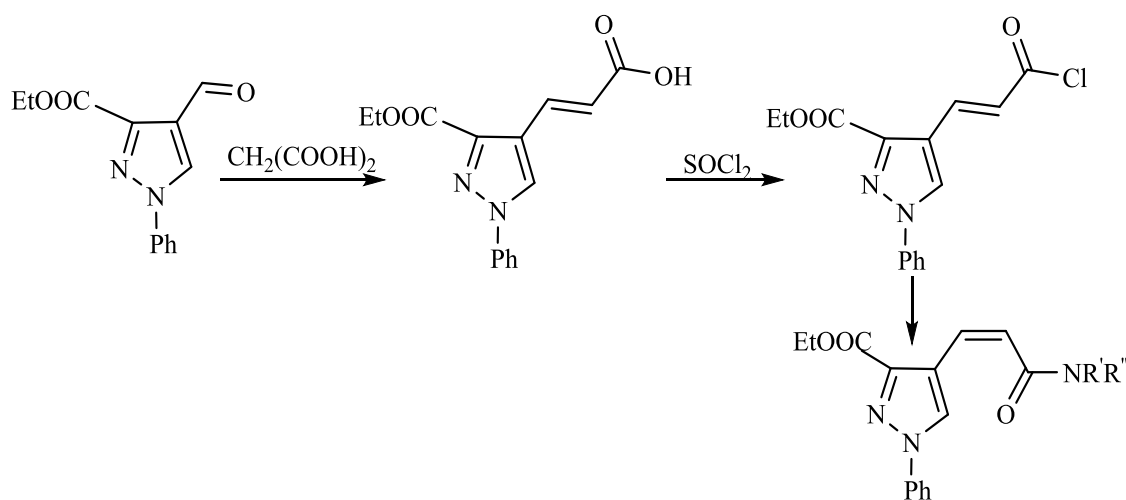
В работе [45] авторами описано окисление 5-хлор-1-фенил-3-(пиридин-4-ил)пиразол-4-карбальдегида до соответствующей кислоты.



Описаны методы синтеза новых производных 1-арил-1-Н-пиразол-3-карбоновой кислоты, представляющий интерес в связи с их биологической активностью [46]. В качестве исходного соединения был использован этил-4-формил-1-фенил-1Н-пиразол-3-карбоксилат. Взаимодействие этого альдегида с малоновой кислотой привело к 2(E)- 3-

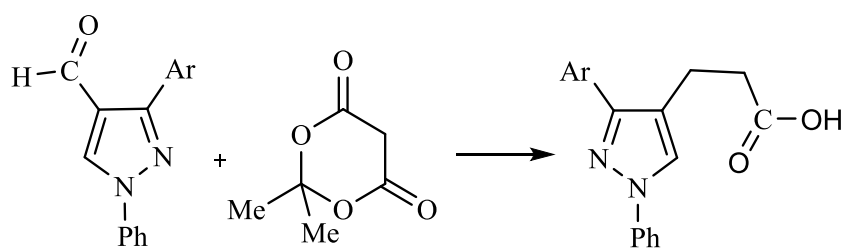
(3-этоксикарбонил-1-фенил-1Н-пиразол-4-ил)пропеновой кислоте, которая далее переведена в хлорангидрид.

Ацилирование аминопроизводных хлорангидридом открывает широкие возможности для комбинаторной химии, что показано на схеме.



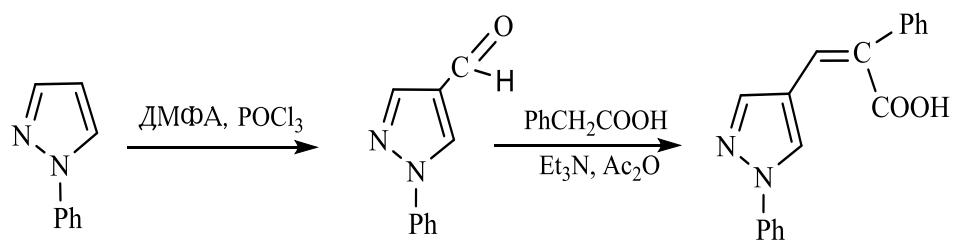
$R' = H$, $R'' = \text{изо-Pr}$, Ph , $4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$, 2-тетрагидрофурилметил, $R' = R'' = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$.

В работе [47] было сообщено о простом и быстром синтезе 3-(1,3-диарилпиразол-4-ил)пропановой кислоты из соответствующих альдегидов с использованием кислоты Мельдрума.

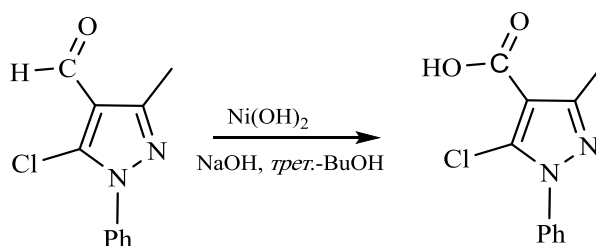


$\text{Ar} = \text{Ph}$, $4\text{-PhC}_6\text{H}_4$, $4\text{-MeOC}_6\text{H}_4$, 3-пиридил, $3\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$.

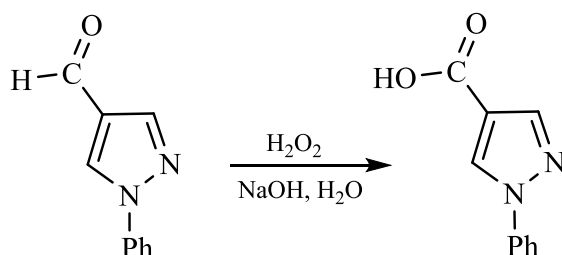
Авторами работы [48] с 65 %-ным выходом был синтезирован 1-фенилпиразол-4-карбальдегид, который далее реакцией с фенилуксусной кислотой был превращен в соответствующую кислоту.



Другим методом окисления пиразолкарбальдегида является электрохимическое окисление последнего на аноде гидроксида калия. Реакцию проводят в растворе *трет*-бутанола в присутствии гидроксида натрия [49]. Окисление протекает с вы-ходом 84 %.

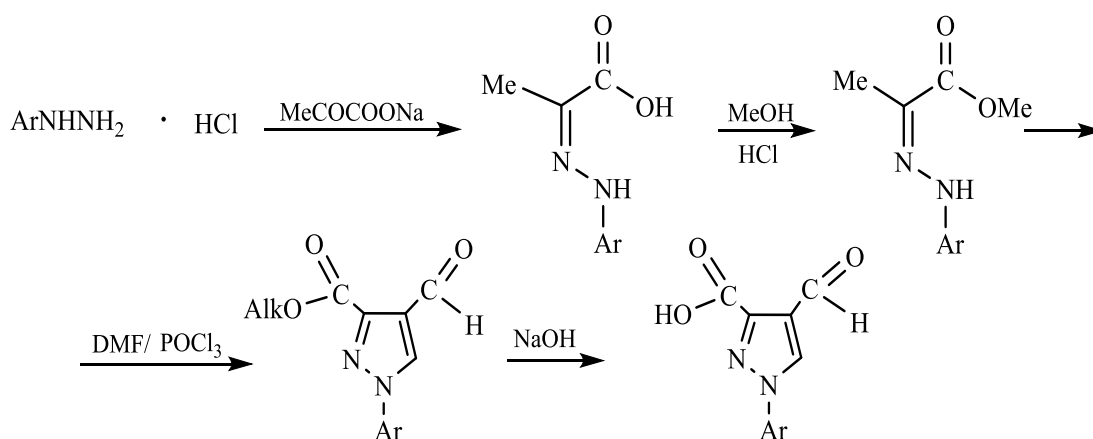


Для получения 1-фенилпиразол-4-карбоновой кислоты, исследователями ком-пании L'Oreal была запатентован способ окисления соответствующего альдегида перекисью водорода в щелочной среде [50].



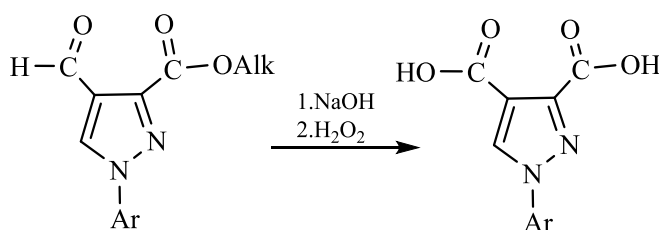
При проведении реакции в водной среде, при температуре 45-55 °С выход сос-тавляет 96 %.

В работе [51] был представлен метод получения 1-арил-4-формилпиразол-3-кар-боновой кислоты. Последняя была синтезирована из эфира пировиноградной кислоты N-арилгидразонов, который в условиях реакции Вильсмейера-Хаака подвергается цик-лизации, образуя 1-арил-4-формилпиразол-3-карбоксилат, гидролиз которого приводит к образованию 1-арил-4-формил пиразол-3-карбоновой кислоты.



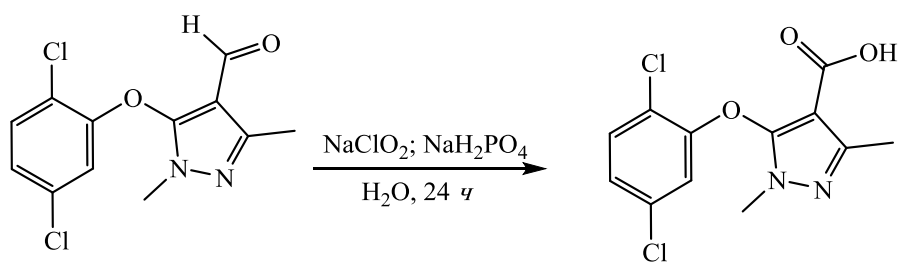
Ar = Ph, *p*-BrC₆H₄, *o*-MeC₆H₄, *p*-MeC₆H₄, 2-C₁₀H₇, *p*-MeOCC₆H₄, *p*-HOCC₆H₄.

Был предложен удобный препаративный метод синтеза 1-арил-1*H*-пиразол-3,4-дикарбоксикислот [52], который основан на гидролизе и окислении перекисью водорода 1-арил-4-формил-1*H*-пиразол-3-карбоксиэфиров в присутствии NaOH. Гидролиз проводят с NaOH при 40-50 °С, а окисление - 30 %-ной перекисью водорода при комнатной температуре. Выходы кислот достаточно высокие (67-82 %).

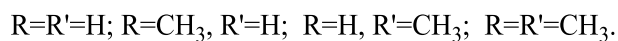
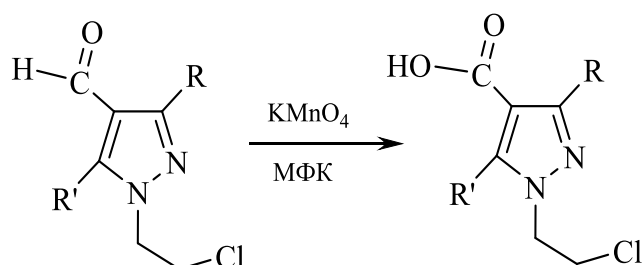


Alk=Me, Et; Ar = Ph, 4-BrC₆H₄, 2-MeC₆H₄, 4-MeC₆H₄, 2-N-нафтил, Ph.

Окисление соответствующих пиразол-4-карбальдегидов проведены также с применением других окисляющих реагентов. Так, 1,3-диметил-5-(2,5-дихлорофенил-окси)-пиразол-4-карбальдегид был окислен использованием NaClO₂ до соответствующей кислоты с 85 %-ным выходом в водной среде, при перемешивании при комнатной температуре в течение 24 ч [53].

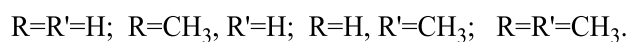
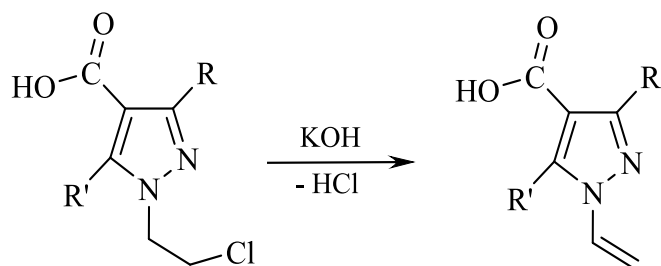


Аттарьяном и сотрудниками был предложен [54] удобный метод окисления 1-(2'-хлорэтил)-4-формилпиразолов перманганатом калия в системе жидкость – жидкость (вода - бензол - ТЭБАХ – субстрат) при комнатной температуре в течение 12 ч. Выходы синтезированных кислот достигают 70 – 75 % .



В отсутствие катализатора или бензола реакция окисления указанных соединений не протекает.

Переход к винилпиразолам осуществлён дегидрохлорированием 1-(2'-хлорэтил)- 4-пиразолкарбоновых кислот в водном растворе едкого калия при температуре ~ 100 °С.



В этих условиях процесс дегидрохлорирования протекает без побочных реакций.

Винилпиразолы, наряду с другими виниловыми мономерами [55-56], полимеризуются в присутствии свободнорадикального инициатора. Инициаторы неактивны для винилпиразолов, что обусловлено наличием атома азота пиридинового типа. Заметно, также, сильное ингибирующее действие кислорода воздуха.

Изучение зависимости скорости полимеризации от продолжительности реакции показывает, что пиразол с метильной группой в положении 5 проявляет большую активность в процессе радикальной полимеризации по сравнению с его 3-метильным аналогом (табл. 1).

Таблица 1

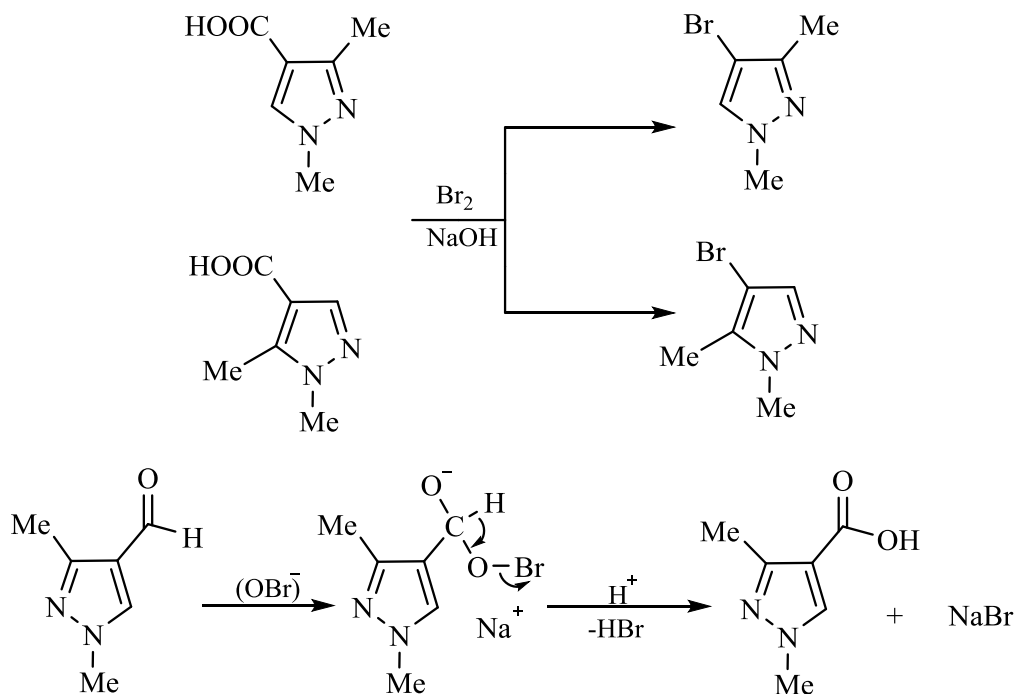
Полимеризация 1-винил-3-метил- и 1-винил-5-метил-4-пиразолкарбоновых кислот в ДМФА при 70 °С, М=1 моль/л, [I]=0,01 моль/л.

Мономер	Продолжительность полим., мин.	Выход полимера, %	$[\eta]$ в ДМФА при 20 °С, дЛ/г
1-винил-3-метил-4-пиразолкарбоновая кислота	20	25.0	0.33
	30	35.0	
	40	55.0	
	50	68.0	
1-винил-5-метил-4-пиразолкарбоновая кислота	20	35.0	0.37
	30	45.0	
	40	60.0	
	50	80.0	

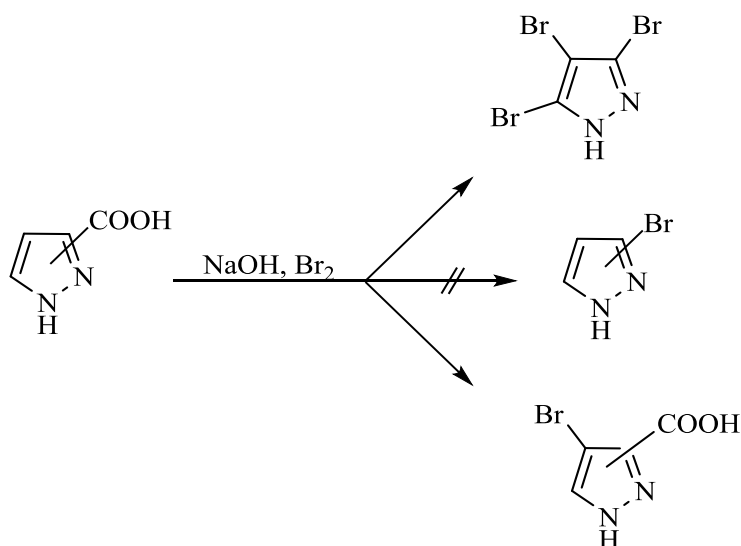
Согласно литературным данным, бромирование 1-метил-3(5)-пиразолкарбоновых кислот однозначно протекает в положении 4-пиразольного кольца без затрагивания карбоксильной группы [57-58].

Для получения 3- или 5-бромзамещенных пиразолов Аттатьяном и сотрудниками [59] был предложен нетривиальный подход с вовлечением в реакцию 4-замещенных пиразолов с легко уходящей группой в данном положении. Бромирование 1,3-диметил- и 1,5-диметил-4-пиразолкарбоновых кислот протекает с высокой селективностью замещением карбоксильной группы атомом брома [59], а при бромировании 4-формил- или

гидроксиметилпиразолов в начале протекает реакция окисления альдегидной или гидроксиметильной группы под действием гипобромита натрия (NaOBr) с образованием 4-пиразолкарбоновой кислоты по следующей схеме:



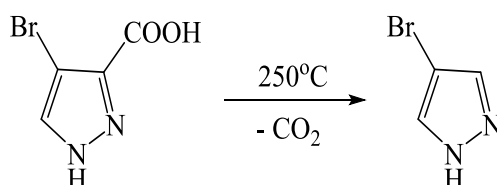
Интересные результаты были получены при бромировании в аналогичных условиях 3(5)-пиразолкарбоновой кислоты [59, 60].



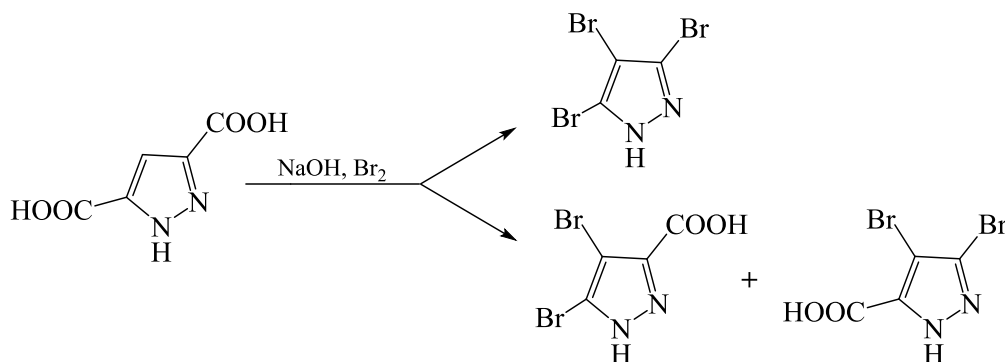
Однако, при бромировании 3(5)-пиразолкарбоновых кислот, вместо ожидаемых продуктов, с выходом 90 %, был получен 3,4,5-трибромпиразол. При мольном соот-

ношении пиразол : NaOH : Br₂ = 1 : 1 : 1, выход 3,4,5-трибромпиразола резко снижается (8.8 %) и основным продуктом реакции становится 4-бром-3(5)-пиразол-карбоновая кислота с выходом 90 %.

4-Бромпиразол, полученный декарбоксилированием соединения, идентичен продукту, полученному прямым бромированием пиразола [61].

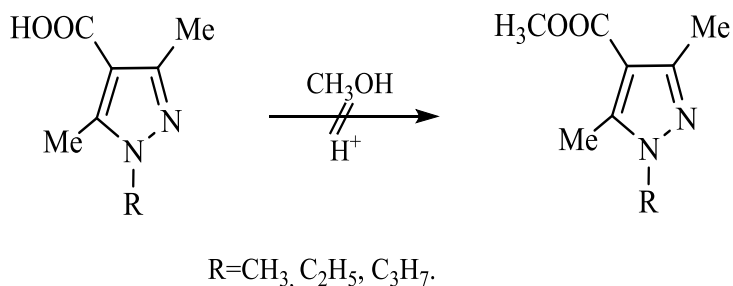


Бромирование пиразол-3,5-дикарбоновой кислоты протекает аналогично 3(5)-пиразолкарбоновой кислоте с той разницей, что соединения получаются в равных соотношениях:

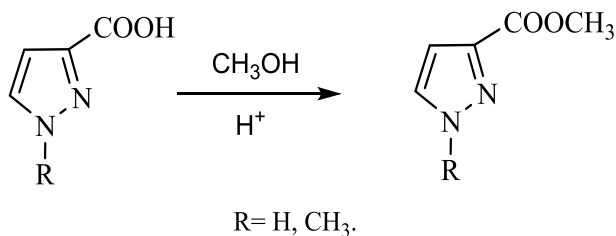


Одной из важнейших реакций химических превращений пиразолкарбоновых кислот является реакция этерификации. Известно, что *орто*-дизамещенные бензойные кислоты этерифицируются в присутствии соляной кислоты медленно, или вовсе не этерифицируются [62]. Сложные эфиры этих кислот легко образуются из их серебряных солей под действием галоидных алкилов.

В работе [63] проведено интересное исследование этерификации *о*-дизамещенных 4-пиразолкарбоновых кислот со спиртами. Была изучена также этерификация 1-алкил-3,5-диметил-4-пиразолкарбоновой кислоты. Опыты показали, что эти соединения не этерифицируются метанолом в присутствии соляной кислоты, т. е. они ведут себя аналогично *о*-дизамещенным бензойным кислотам.



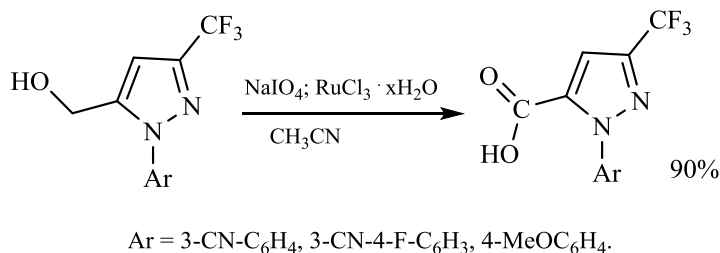
С целью выявления электронного или пространственного характера воздействия заместителя на процесс этерификации 1-метил-, 1,3-диметил-, 1,5-диметилпиразолкарбоновых кислот, показано, что реакция этерификации не идет, т. е. пространственный эффект алкильных заместителей не является определяющим. Основная причина заключается в электронном воздействии карбоксильной группы на гетероатом пиразольного кольца. Для выявления такого взаимодействия 4-пиразолкарбоновых кислот в работе [63] была изучена этерификация 3-пиразолкарбоновых кислот. Опыты показали, что реакция протекает легко и с высокими выходами. В процессе этерификации были использованы различные кислотные катализаторы (H_2SO_4 , HCl , POCl_3). При этом выходы эфиров 3-пиразолкарбоновых кислот достигают 73-80 %.



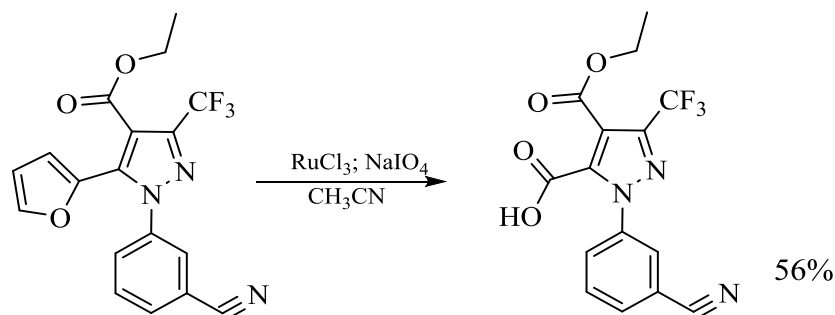
В 3-пиразолкарбоновых кислотах основность пиридинового азота снижается за счет электроноакцепторного эффекта карбоксильной группы, а в 4-пиразолкарбоновых кислотах это воздействие отсутствует. Следовательно, они легче образуют ка-тион пиразола, что препятствует реакции этерификации.

1.3. Другие методы синтеза пиразолкарбоновых кислот

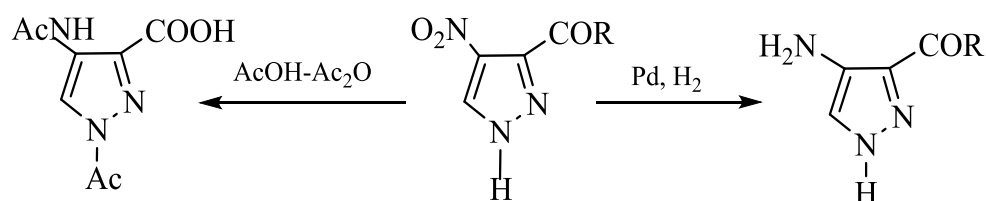
Пиразолкарбоновые кислоты получают окислением соответствующих трифторметильных производных пиразолов трихлоридом рутения в присутствии перйодата натрия в ацетонитриле. При комнатной температуре были получены соответствующие 3-трифторметил-1-арилпиразол-5-карбоновые кислоты [64].



С некоторыми вариациями условий реакции (температура, растворитель) метод был запатентован некоторыми компаниями, такими как “Bristol-Myers”, “Pharma” [65], “Du-Pont pharmaceuticals” [66]. В таких же условиях окисления, при комнатной температуре, из 1-замещенных-3-трифторметил-4-этоксикарбонил-5-фурилпиразола синтезировано производное пиразол-5-карбоновой кислоты с выходом 56 %.



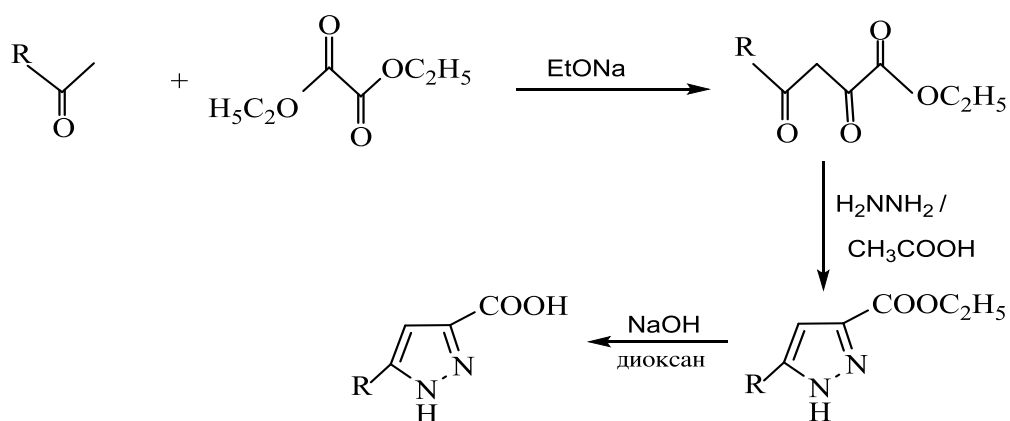
В работе [67] было описано гидрирование нитропиразолов. При сравнении с аминами наблюдается заметное снижение стабильности продуктов. Если 4-аминопиразолы с акцепторным заместителем удастся выделить в чистом виде, то в случае гидрирования 4-нитропиразол-3-карбоновой кислоты не удастся получить продукты удовлетворительной чистоты. При проведении гидрирования в растворе уксусной кислоты в присутствии уксусного ангидрида были получены соответствующие диацетильные производные, которые оказались вполне стабильными.



R= OMe, NHPh, COOH.

Никотиновая кислота (ниацин) уже давно используется для лечения липидных нарушений и для профилактики сердечно-сосудистых болезней. Показано, что ниацин может оказать свое действие активацией G –протеин связанными рецепторами (GPCR) [68-69]. Использование ниацина ограничено числом ассоциированных побочных эффектов (кожная реакция, крапивница, головокружение и т.д.). Синтезированы замещенные пиразол-3-карбоновые кислоты, которые, как оказалось, имеют сходство с этими рецепторами [68].

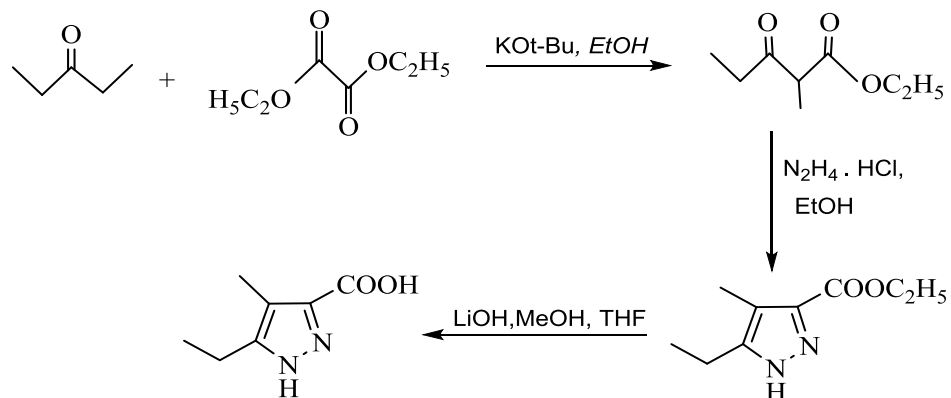
Получение 5-замещенных-1Н-пиразол-3-карбоновых кислот протекает в 3 стадии. В первой стадии алкилметилкетоны реагируют с диэтилоксалатами под действием этоксида натрия в абсолютном этаноле (конденсация Клайзена). Получаются соответствующие α,γ- дикетоэфиры, которые на второй стадии, под действием гидразингидрата в уксусной кислоте, циклизируются, с образованием этиловых эфиров пиразол-3-карбоновых кислот. Гидролизом последних 0.25 М NaOH / H₂O в диоксане образуются 5-замещенные пиразол карбоновые кислоты.



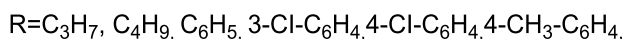
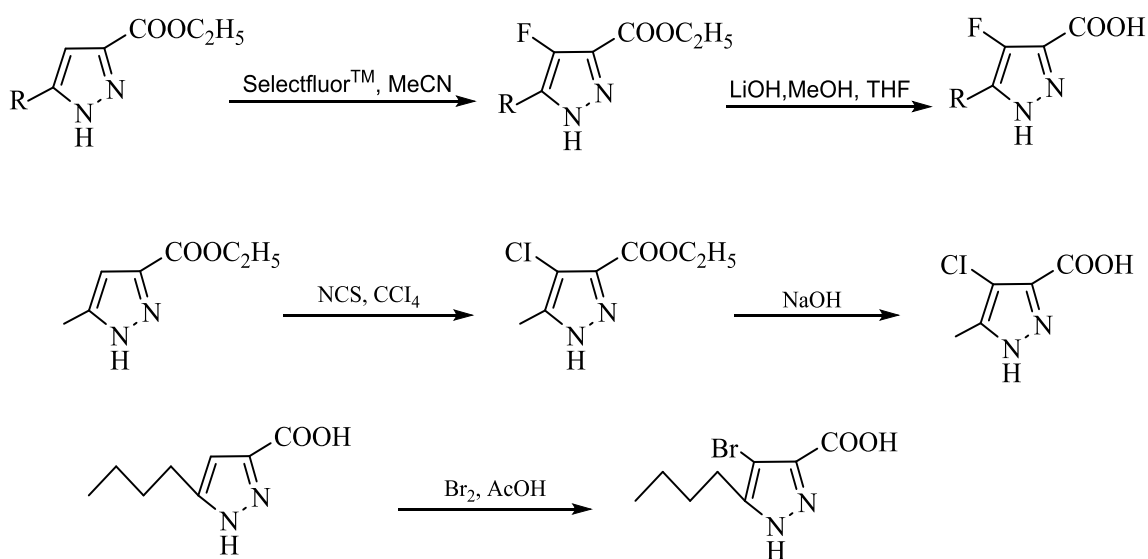
R=C₃H₇, C₄H₉, C₆H₅, 3-Cl-C₆H₄, 4-Cl-C₆H₄, 4-CH₃-C₆H₄,

Описаны также исследование и разработка новых агонистов ниациновых рецепторов, которые оказывают благоприятное воздействие на лечение атеросклероза без по-

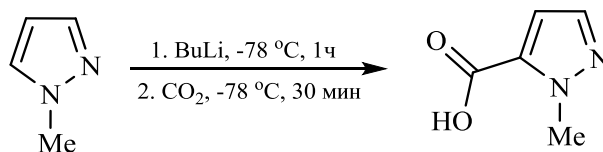
бочных эффектов [70]. 5-Этил-4-метилпиразол-3-карбоновые кислоты получают аналогичным образом, описанным в работе [69] из 3-пентанона.



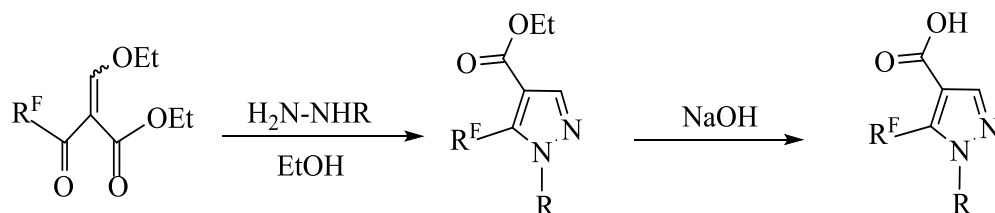
5-Алкил-4-фторпиразол-3-карбоновые кислоты получают с помощью SelectfluorTM фторированием этиловых эфиров пиразол-3-карбоновых кислот в ацетонитриле и последующим гидролизом. Аналогичным методом из этиловых эфиров 5-метилпиразол-3-карбоновых кислот с помощью хлорирования N-хлорсукцинимидом в CCl_4 получают этиловые эфиры 4-хлор-5-метилпиразол-3-карбоновых кислот, которые гидролизуются едким натром с образованием 4-хлор-5-метилпиразол-3-карбоновых кислот. 4-Бром-5-бутилпиразол-3-карбоновые кислоты получают бромированием 4-бутилпиразол-3-карбоновых кислот. Получение 5-алкил-4-Нal-пиразол-3-карбоновых кислот описывается в следующих реакциях [70].



1-Метилпиразол-5-карбоновая кислота была получена при $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ из 1-метилпиразола в присутствии бутиллития [71]. Выход продуктов составляет всего 41 %.



Целью авторов работы [72] был синтез функционализированных фторалкилсодержащих тиазолилпиразолов. Классическим методом построения пиразольного цикла является циклоконденсация 1,3-дикарбонильных соединений и их производных с гидразином и его замещенными аналогами. Изучено взаимодействие этил-3-оксо-3-фторалкил-2-этоксиметилиденпропионатов с серией тиазолилгидразинов. Эфиры легко реагируют с гидразинами в кипящем этаноле с образованием этоксикарбонилзамещенных пиразолов. В результате щелочного гидролиза эфиров были получены соответствующие пиразол-4-карбоновые кислоты.

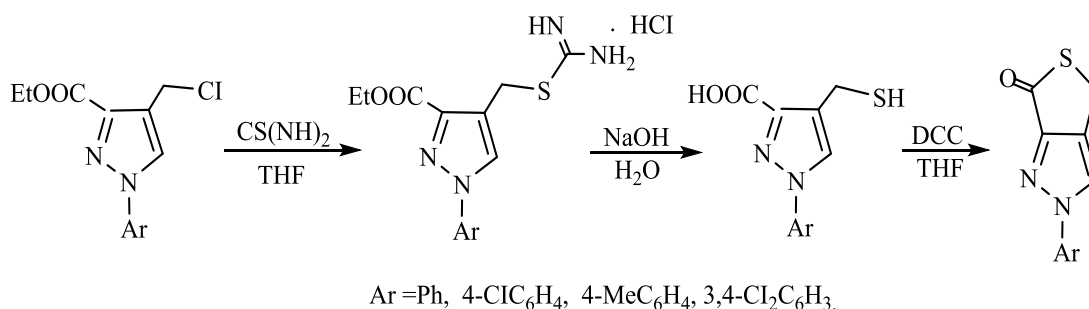


$R^F = \text{CF}_3$, $\text{H}(\text{CF}_2)_2$, $R = \text{бензотиазол-2-ил}$, $4\text{-фенилтиазол-2-ил}$, $4\text{-метоксикарбонилтиазол-2-ил}$, $4\text{-этоксикарбонилтиазол-2-ил}$, $4\text{-карбокситиазол-2-ил}$, $4\text{-(4-бромфенил)тиазол-2-ил}$

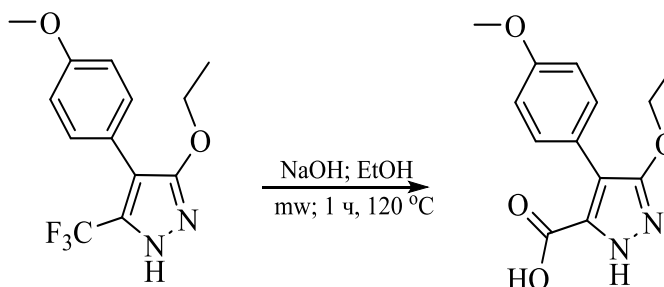
Производные гетероциклической системы тиено[3,4-с]пиразола находят применение в медицинской химии благодаря выраженной противовоспалительной, анальгетической и антитромбической активностям. Они являются перспективными веществами для лечения сердечно-сосудистых и гипогликемических заболеваний. Братенко и сотр. в работе предложили новый вариант получения 4-сульфанил-метилпиразол-3-карбоновых кислот [73].

4-Хлорметилпроизводные пиразола при взаимодействии с тиомочевинной почти с количественными выходами превращаются в тиюраниевые соли, щелочной гидролиз которых приводит к образованию 4-сульфанилметилпиразол-3-карбоновых кислот. Эти кислоты представляют собой модель бифункциональной электрофильно-нуклеофиль-

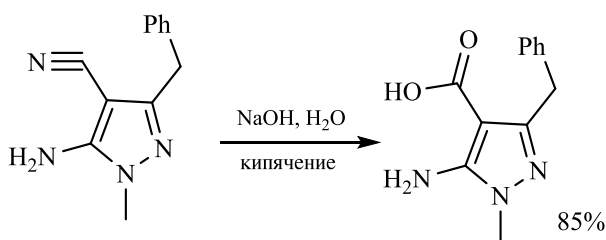
ной системы, которая под действием конденсирующего реагента дициклогексилкарбодиимида (ДЦГК) в ТГФ подвергается внутримолекулярной циклизации с образованием 2,4-дигидротиено[3,4-с]-пиразол-6-онов с выходом 63-77 %.



Авторы работы [74] получили пиразол-5(3)-карбоновые кислоты в условиях щелочного гидролиза в этаноле из соответствующего 5(3)-трифторметилпиразола. Реакцию осуществляли в запаянной ампуле при микроволновом облучении в течении 1 ч. Выход продукта - 88 %.

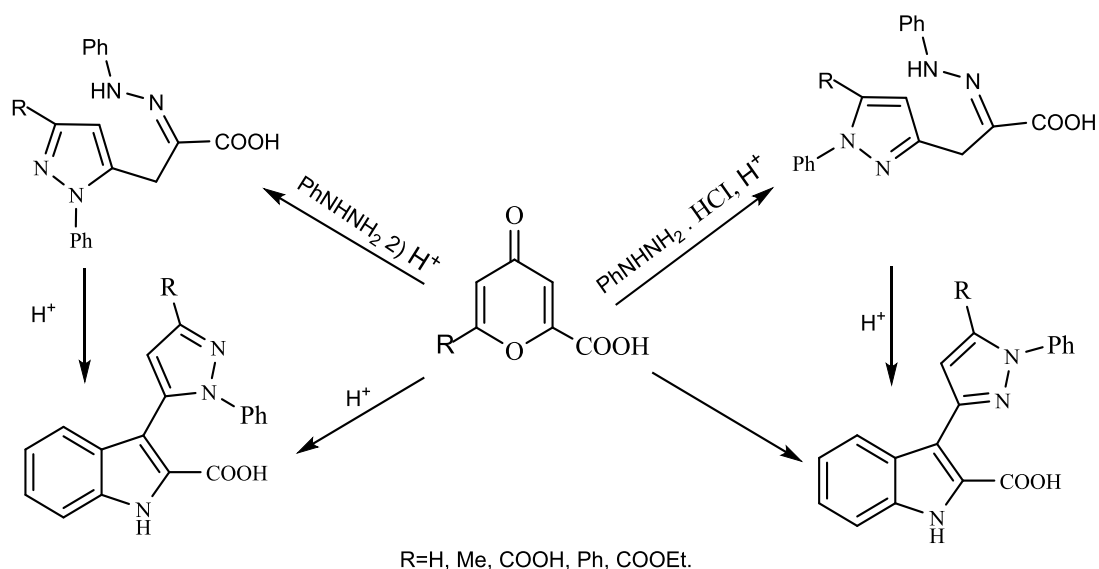


5-Амино-1-метил-3-бензилпиразол-4-карбоновую кислоту получают гидролизом соответствующего нитрила в водной среде в присутствии основания кипячением [75, 76].

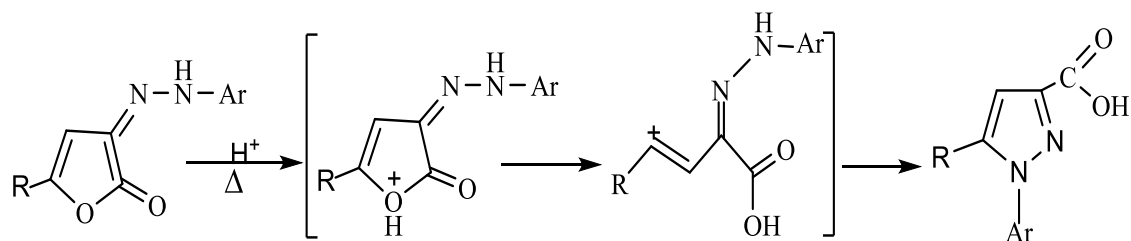


Учитывая высокую биологическую активность некоторых 3-(пиразолил)индолов, изучено взаимодействие фенилгидразина с широким рядом замещенных γ-пиронов в различных условиях [77]. Показано, что эти реакции, в зависимости от природы растворителя и pH среды, протекают с образованием региоизомерных пиразолов, которые в кислых условиях способны трансформироваться в индолы по Фишеру. При проведении реакции с гидрохлоридом фенилгидразина в протонных растворителях в присутствии

кислоты преимущественно образуются фенилгидразоны 3-(N-фенилпиразол-5-ил)пировиноградной кислоты, а с самим фенилгидразином в апротонных растворителях образуются фенилгидразоны 3-(N-фенилпиразол-3-ил)пировиноградной кислоты.



Для синтеза многих известных и широко применяемых лекарственных средств используется перегруппировка Фишера гидразинилидензамещенных соединений в условиях кислотного катализа. В работе [78] описано, что при нагревании 5-арил-3-фенилгидразинилиден-3Н-фуран-2-онов в муравьиной кислоте образуется 1-фенил-5-R-1Н-пиразол-3-карбоновая кислота. Под действием муравьиной кислоты протекает внутримолекулярная рециклизация. Протонирование 3-(фенилгидразинилиден)-3Н-фуран-2-она по атому кислорода фуранового цикла приводит к раскрытию фуранового кольца с последующей внутримолекулярной C,N-гетероциклизацией и формированием пиразольного цикла.

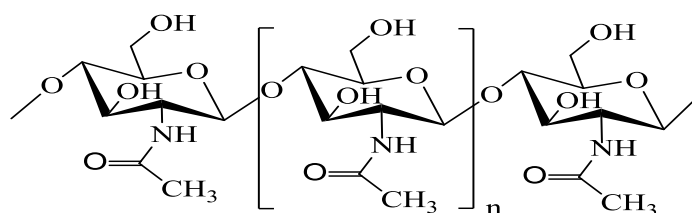


R=Ph, 4-MeC₆H₄, Ar=Ph, 4-MeC₆H₄, 1-H-1,2,4-oxadiazol-5-yl, 1-H-1,2,4-thiadiazol-5-yl.

1.4. Получение и свойства модифицированных хитозанов

Одним из важных в практическом отношении компонентов морских растений и животных являются полисахариды – высокомолекулярные соединения, построенные из элементарных звеньев моносахаридов, соединенных между собой гликозидными (ацетальными) связями [79]. Особое внимание заслуживают огромные количества отходов, образующихся при переработке океанических ракообразных (крабы, креветки, антарктический крыль и т.д.). Одним из важнейших для практического использования компонентов в отходах является хитин. В основном содержание хитина в панцирях ракообразных колеблется в пределах 15-40 %, а остальную часть составляют белки (20-40 %) и карбонат кальция (20-50 %) [80].

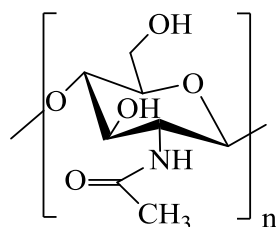
Хитин – второй, после целлюлозы по распространенности в природе полисахарид [81], строение которого создает предпосылки для успешного применения его производных в самых разнообразных областях. Хитин или *N*-ацетил- β -*D*-глюкозамин представляет собой линейный полисахарид, неразветвленные цепи которого состоят из элементарных звеньев 2-ацетамидо-2-дезоксид-*D*-глюкозы, соединенных β -1,4-гликозидной связью.



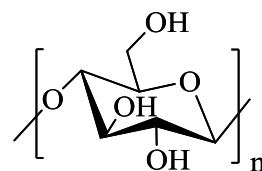
Существует три типа хитинов: α -, β -, γ -хитины, отличающиеся пространственным расположением цепей молекул.

В последнее время к хитину проявляется большой интерес. Он обладает ценными свойствами, такими, как биосовместимость, противомикробная активность, хелатирующая способность, малая токсичность и т.д.

Имеется аналогия между строением хитина и целлюлозы. В отличие от целлюлозы, в качестве заместителя у второго углеродного атома элементарного звена имеется не гидроксильная, а ацетамидная группа.

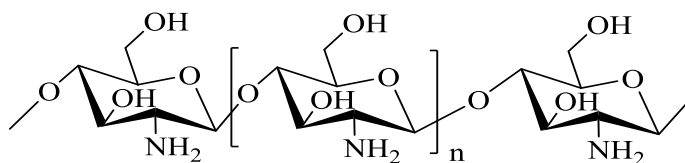


хитин



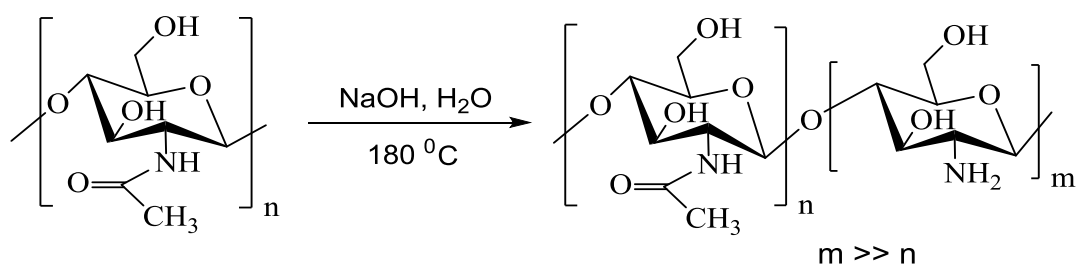
целлюлоза

Одним из важнейших свойств полимеров является их растворимость. Хитин нерастворим в воде. Из-за сравнительно высокой жесткости полимерной цепи, значительной интенсивности межмолекулярного взаимодействия, хитин растворяется в сравнительно ограниченном количестве растворителей – в концентрированных минеральных кислотах (соляная, серная, азотная, фосфорная), в безводной муравьиной кислоте, гексафторизопропанол и гексафторацетоне, в растворах хлорида лития в диметилацетамиде. В большинстве этих растворителей происходит деструкция полимера. Плохая растворимость хитина ограничивает область его применения. В этом плане перспективным производным хитина является его деацетилированное производное – хитозан, представляющий собой β -1,4-связанные молекулы 2-амино-2-дезоксис-D-глюкозы [79].



хитозан

Из хитина, подвергшегося деацетализации, получается частично деацетилированный хитозан, т.е. молекулярные звенья полученного хитозана, кроме деацетилированных остатков, на самом деле содержат также молекулы исходного хитина. Если степень деацетализации хитина больше 50 % и он растворяется в слабокислых водных растворах, то соединение считается хитозаном. Если же степень деацетализации менее 50 % и растворимость в кислых растворах незначительна, то принято его считать хитином.



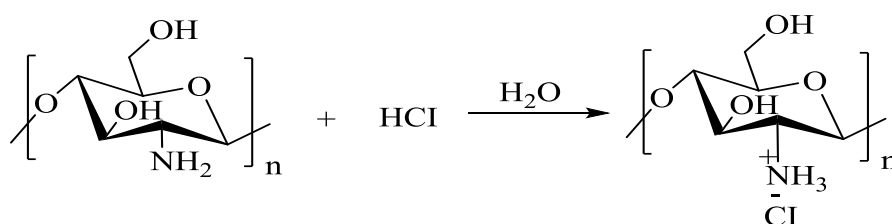
N-Деацетилирование хитина протекает в концентрированных (40% - 50%) водных или алкогольных растворах щелочей (NaOH, KOH) при температуре 100-150 °C в течение 1-5 ч в гетерогенных условиях [82]. Этим путем получается 70 %-ный деацетилированный хитозан. Высокая устойчивость хитина к деацетилированию объясняется наличием водородной связи между карбонильной группой и атомом азота амидной группы.

Щелочной гидролиз хитина и хитозана является одним из основных методов деацетилирования этих природных полисахаридов с целью получения их водорастворимых производных [83]. При деацетилировании хитина было показано, что в щелочных условиях происходит расщепление не только амидных, но и гликозидных связей, что приводит к снижению молекулярной массы хитозана и вязкости его растворов.

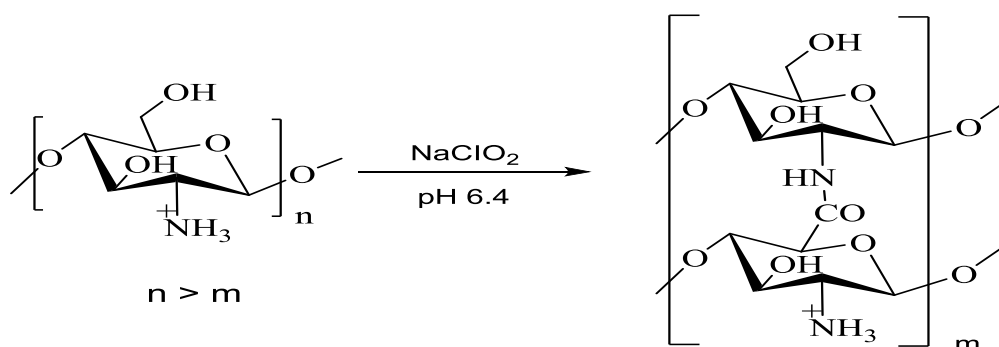
В отличие от хитина, получаемый при его деацетилировании, хитозан растворяется даже в разбавленных органических кислотах, например, в водном растворе уксусной кислоты. Столь уникальные свойства хитозана обусловлены наличием амино-группы, поликатионный характер которой расширяет возможности ее модифицирования, в частности, для получения N-производных хитозана. Растворимость хитозана только в кислых средах, а также связывание огромного количества воды резко уменьшают область его применения, поэтому, в основном, хитозан применяется в модифицированном виде. Полученные при модификации хитозана соединения успешно применяются в различных областях [84].

Следует отметить, что растворимость модифицированных производных в воде, а также сохранение биологической активности, характерной для исходных соединений, расширяют возможности их применения. Модификация хитозана приводит к улучшению исходных свойств.

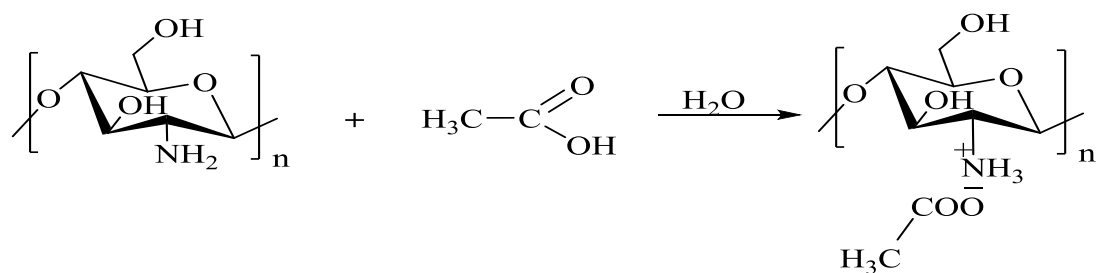
Водорастворимой модификацией хитозана являются его соли с разными кислотами. С целью придания хитозану водорастворимых свойств получают его соли в 1 N соляной кислоте. Эти соли после сушки хорошо растворимы в воде. Полученный раствор соли фильтруют и сушат различными способами. В зависимости от метода сушки, полученные соли могут быть в виде пленок, порошка и хлопьев [85].



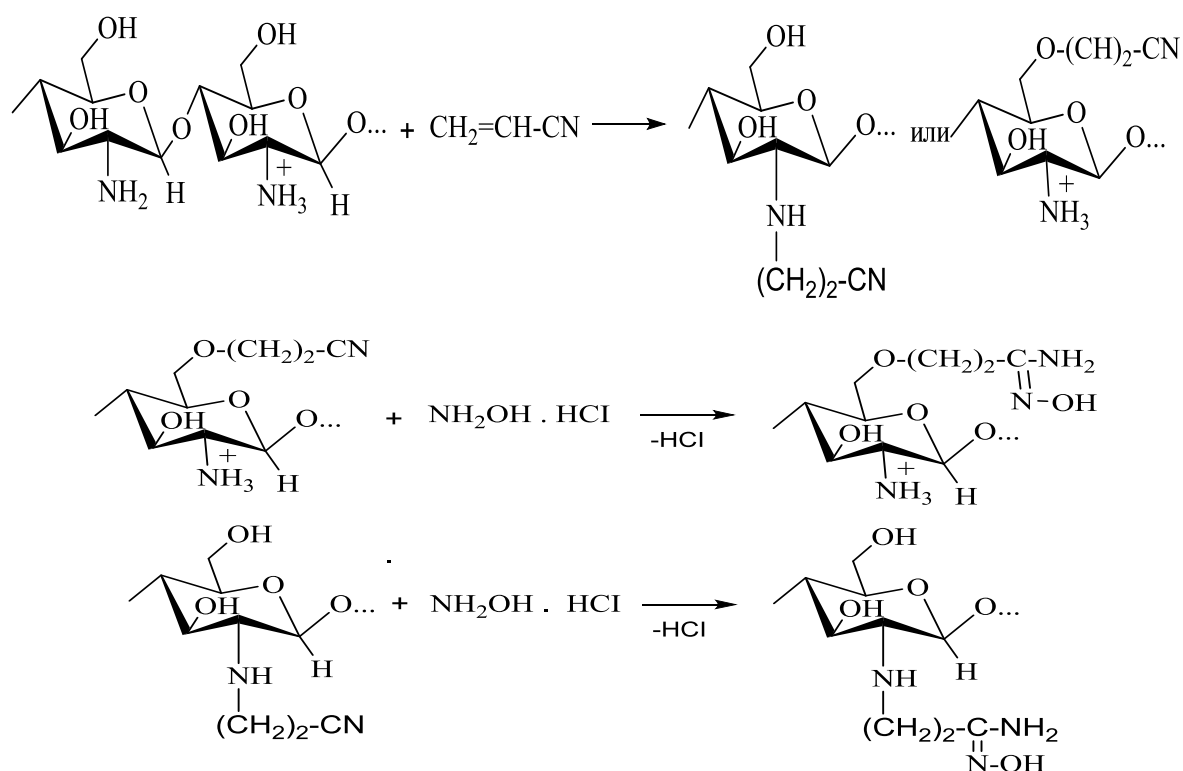
Авторами работы [86] было показано, что при взаимодействии хитозана с хлоритом натрия в гомогенной среде при pH 4.5 одновременно протекают окислительная деструкция хитозана и окисление первичной спиртовой группы при C⁶ атоме углерода до карбоксильной группы. При взаимодействии хитозана с хлоритом натрия в гетерогенной среде при pH 6.4 происходит окисление хитозана с образованием ковалентной связи между атомом азота амино-группы и углеродом карбоксильной группы. Методом потенциометрического титрования окисленного хитозана определено количество карбоксильных групп, которое составляет 30 %.



Ацетат хитозана получается путем электростатического связывания хитозана и уксусной кислоты в виде стабильной соли, сохранив при этом первоначальную структуру и антибактериальную активность. Порошковый ацетат хитозана был получен из концентрированного раствора с помощью распылительной сушки. Исследованы также антибактериальные свойства полученных пленок [87].



Двухстадийным методом были получены и охарактеризованы амидоксимы хитозана с различной молекулярной массой по реакции нуклеофильного присоединения хитозана к акрилонитрилу с последующим взаимодействием цианэтилового производного с гидроксиламином солянокислым (реакция Михаэля) [88]. Показано, что при проведении реакции в слабокислых растворах (pH~5.5) нуклеофильными свойствами могут обладать гидроксильные группы хитозана, а также оставшиеся непротонированными аминогруппы. Следовательно, цианэтилирование и дальнейшее оксимирование могут идти по разным направлениям, а конечный продукт – амидоксим хитозана, содержит мономерные звенья с O- и N- заместителями.



Микробиологическую активность хитозана связывают с наличием в его составе аминогрупп. Авторы работы [88] исследовали амидоксим хитозана с молекулярной массой 1×10^4 в качестве бактерицидного вещества, изучая его биоактивность к наиболее распространенным видам бактерий: *Escherichia coli* (кишечная палочка), *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка), *Streptococcus salivarius* (стрептококки), *Staphylococcus aureus* (стафилококки). Было показано, что модифицированные хитозаны обладают ярко выраженной бактерицидной активностью.

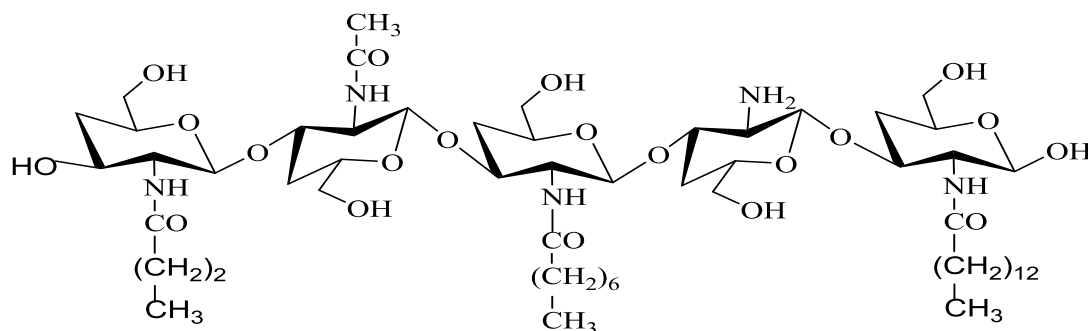
Реакционную способность оксимных групп доказывали, проводя реакцию восстановления золота из раствора золотохлористоводородной кислоты раствором амидоксима хитозана. При этом получили устойчивую дисперсию коллоидного золота.

Химическая модификация хитозана по предлагаемому методу открывает возможности практического использования его в качестве восстанавливающего агента, а также антибактериального средства нового поколения, созданного на основе природного полисахарида, имеющего низкую аллергическую способность.

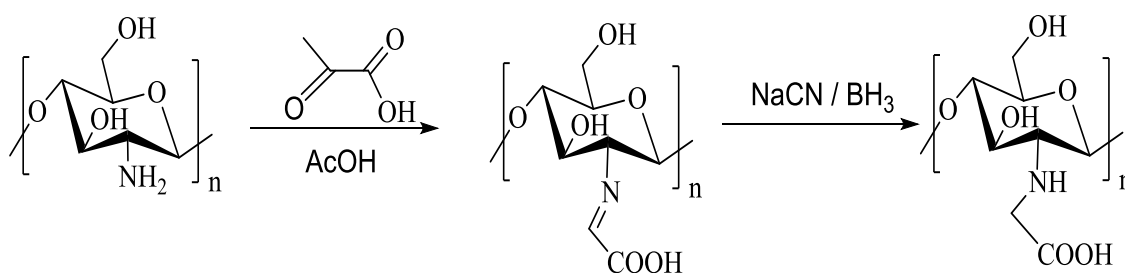
Хитозан является перспективным и для получения новых биологически активных форм либо в качестве единого компонента, либо в комплексе с другими биополимерами или низкомолекулярными веществами. Авторами работы [89] изучена биологическая активность олигомеров хитозана с различной молекулярной массой на модели тест-штамов *E. coli*, *S. aureus* и грибков *Candida albicans*. Было показано, что все изученные образцы ингибируют рост этих микроорганизмов. Установлена зависимость бактерицидной активности олигомеров хитозана от их концентрации, времени воздействия и молекулярной массы.

Целью работы [90] являлось получение производных хитозана с улучшенными антибактериальными свойствами. Для достижения цели были получены низкомолекулярный узкодисперсный хитозан, ацильные производные низкомолекулярного хитозана и исследована антибактериальная активность хитозана и его производных. Было показано, что *E. coli* и *S. aureus* обладают одинаковой чувствительностью к исходному низкомолекулярному хитозану. Введение C-2 ацильного (ацетильного) остатка практически не привело к изменениям антибактериального эффекта. Введение более длинных

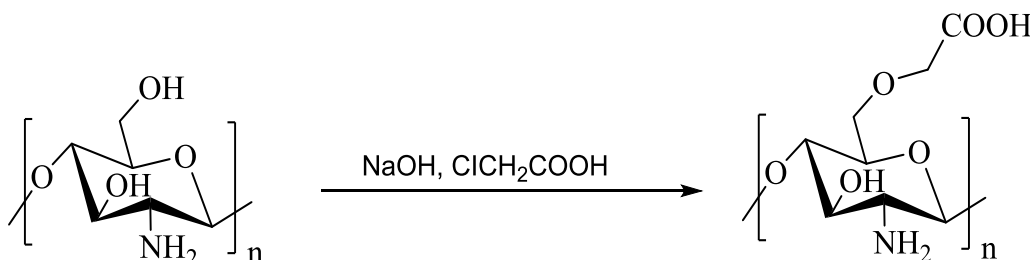
ацилов (C-4, C-6, C-14) повышает антибактериального свойства хитозанового полимера, особенно, в отношении грам-отрицательной кишечной палочки.



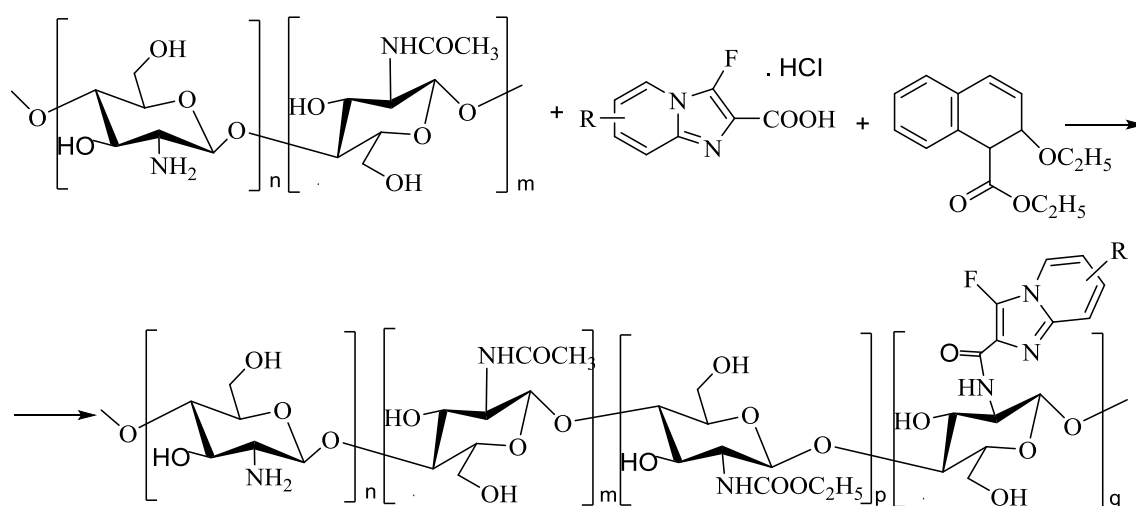
Другой модификацией хитозана являются карбоксиметилхитозаны, служащие полупроницаемыми пленками и мембранами. Описано N-карбоксиалкилирование хитозана с монохлоруксусной кислотой [91]. Кислотная группа вводится в аминогруппу полимерной цепи прямым способом, а при обработке раствора хитозана глиоксимовой кислотой получается соответствующее основание Шиффа, дальнейшим восстановлением которого получается N-карбоксиметилхитозан.



В работе [91] описан O-карбоксиметилирование, обработкой хитина 50 %-ным раствором NaOH в течении 12 ч с последующей реакцией конденсации полученного хитозана с монохлоруксусной кислотой в изопропиловом спирте.



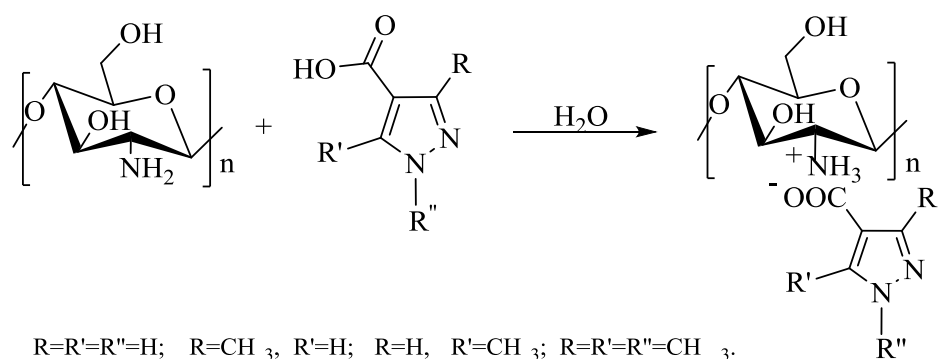
Полисахаридная природа хитозана обуславливает его родство с живыми организмами, а наличие реакционноспособных функциональных групп обеспечивает возможность разнообразных химических модификаций, в том числе модификацию лекарственноподобными кластерами. Показана возможность модификации биополимера хитозана биологически активными фторсодержащими фрагментами путем его ацилирования 3-фторимидазо[1,2-а]пиридин-2-карбоновыми кислотами [92]. В качестве лекарственноподобных кластеров были выбраны замещенные 3-фторимидазо[1,2-а]пиридин-2-карбоновые кислоты, аналоги которых проявляют кардиотоническую, аритмическую, нейротропную активность, оказывают цитопротекторное и противоопухолевое действие. В качестве исходного объекта модификации был выбран низкомолекулярный хитозан с M_w 7.8 кДа и степенью деацетилирования (СД) 98 %. 3-Фтор-имидазо[1,2-а]пиридиновые фрагменты вводили в глюкозаминное звено хитозана взаимодействием гидрохлоридов 3-фтор-имидазо[1,2-а]пиридин-2-карбоновых кислот и хитозана в присутствии этил-2-этокси-1,2-дигидрохиолин-1-карбоксилата в водно-метанольной среде при pH 5.5 и температуре 20 °C.



R=H, 8-Me, 7-Me, 6-Br, 6-Cl; n=42, 43, 45, 70, 98; m=2; p=12, 16, 21, 22, 23; q=16, 31, 33, 35, 40.

Для модификации хитозана, наряду с соляной, уксусной, молочной и другими кислотами используются также пирозолкарбоновые кислоты. Соли хитозана с пира-

золкарбоновыми кислотами были получены по общему методу синтеза солей хитозана, описанному в работах [87, 93]. Реакции пиразолкарбоновых кислот с хитозаном легко протекают при кипячении в воде в течение 1-3 мин. После отфильтровывания и удаления нерастворимых остатков, полученный раствор был высушен методом полива с образованием тонких пленок, эластичность которых возрастает с увеличением количества хитозана.



Благодаря биосовместимости с тканями человека, низкой токсичности, способности усиливать регенеративные процессы при заживлении ран и биodeградируемости, эти материалы представляют особый интерес для регенеративной медицины. Учитывая, что одним из перспективных природных полимеров, используемых для создания таких биотрансплантатов, является хитозан и его модифицированные производные [94], получение новых модификаций хитозана и изучение их биологических активностей представляется весьма актуальной задачей.

Хитин, хитозан и их производные являются биodeградируемыми носителями для фармацевтических препаратов (антибиотики, антиаллергенных и противоопухолевых) [79]. Образование комплексов полимерными лигандами с различными металлами находит все более широкое применение в аналитической химии, хроматографии, биотехнологических процессах. Полимерные комплексообразователи – хитин, хитозан и их производные могут быть применены для очистки сточных вод промышленных предприятий от соединений металлов, используемых для нанесения защитных покрытий (Ni, Cr, Zn и т.д.). Производные хитина и хитозана весьма перспективны для использования в хроматографии (разделение и очистка биологических активных соединений).

Как уже указывалось, хитин и хитозан по своему строению близки к целлюлозе – одному из основных волокнообразующих природных полимеров. Эти полимеры обладают волокно- и пленкообразующими свойствами. В слабокислых средах хитозан растворяется с образованием гелеобразных растворов, высыхание которых приводит к образованию пленок. Пленкообразующие свойства хитозана дают широкую возможность для его использования в фотографических процессах, связанных с быстрым проявлением изображения. Весьма перспективно использование хитозана в бумажной промышленности – при формировании бумаги заметно возрастает прочность бумажного листа.

Благодаря этим и многим другим уникальным свойствам хитозан нашел широкое применение в медицине в качестве шовных материалов, рано- и ожогозаживляющих повязок, в составе различных лечебных мазей, в косметике и парфюмерии, в сельском хозяйстве – в защитных целях, в пищевой промышленности – в роли консерванта и эмульгатора, в атомной промышленности как сорбент радиоактивных отходов и т. д. [95-97].

ГЛАВА 2

СИНТЕЗ ПИРАЗОЛКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ И ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ИМИ ХИТОЗАНОВ

(ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ)

Одной из актуальных задач современной химии является получение разнообразно функционально замещенных биологически активных синтетических соединений для использования в медицине, биологии, сельском хозяйстве и других областях. В этом направлении нами исследованы новые синтетические возможности функционализации замещенных пиразолкарбоновых кислот и их модификации с хитозаном. Нужно отметить, бесспорно, значительную роль межфазного катализа, нашедшего широкое применение практически сразу же после своего появления в органическом синтезе и химии гетероциклических соединений [98].

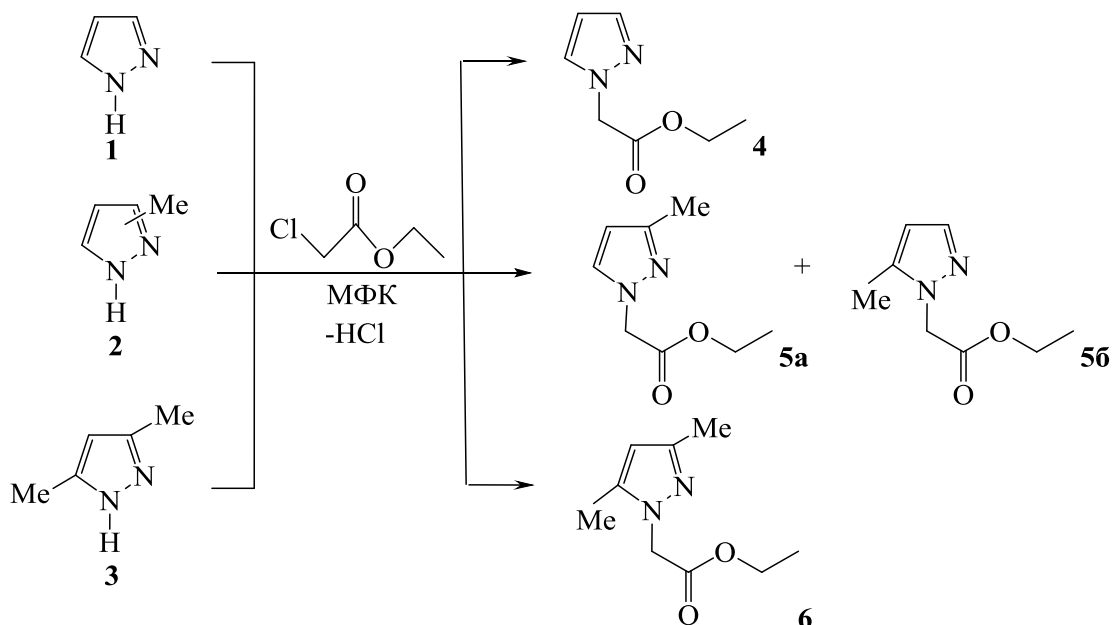
2.1. Алкилирование пиразолов (1-3) этиловым эфиром хлоруксусной кислоты и хлорацетонитрилом в условиях межфазного катализа и гидролиз полученных эфиров

Взаимодействие эфиров галогенуксусных кислот с пиразолами в условиях межфазного катализа не было изучено, хотя алкилирование пиразолов эфирами бромуксусной кислоты принципиально возможно [99]. Известен способ получения (3,5-ди-метил-1Н-пиразол-1-ил)уксусной кислоты конденсацией гидрохлорида этилового эфира гидразинуксусной кислоты с ацетилацетоном и последующим гидролизом. Однако, гидрохлорид этилового эфира гидразинуксусной кислоты неустойчив, а метод синтеза пиразолуксусной кислоты не очень прост (выход 65%) [100].

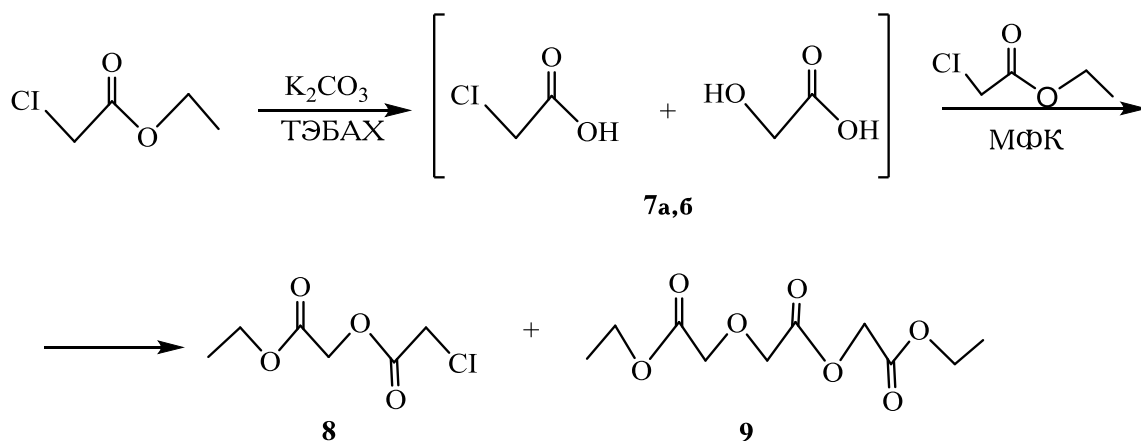
Авторы работы [101] провели алкилирование 3,5-диметилпиразола хлоруксусной кислотой в воде с последующей нейтрализацией образовавшейся соляной кислоты формиатом натрия, что делает возможным легкое выделение (84 %) амфотерного соединения - 3,5-диметил-1Н-пиразол-1-ил-уксусной кислоты. Многочисленные попытки получения 1Н-пиразол-1-ил-уксусной кислоты взаимодействием пиразола с хлоруксусной кислотой оказались безуспешными по причине существенной разницы в основности пиразола (pK_a 2.53) и основности 3,5-диметилпиразола (pK_a 4.3). Для синтеза отдель-

ных изомеров 3-метил- и 5-метил-1Н-пиразол-1-ил-уксусной кислот вышеуказанный метод тоже оказался непригодным.

В продолжение работ по синтезу 1-замещенных азолов [5, 102] в диссертационной работе нами исследовано взаимодействие пиразолов **1-3** с этиловым эфиром хлоруксусной кислоты в условиях межфазного катализа (МФК) [103].

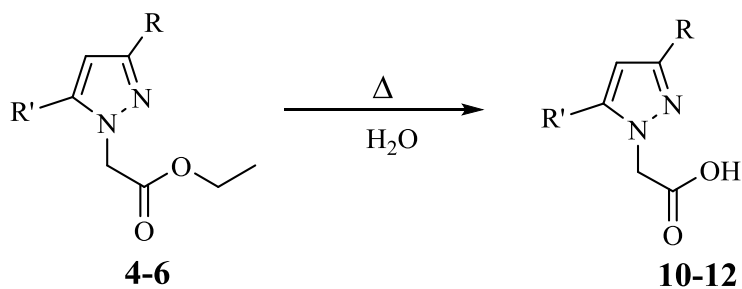


Алкилирование проводили в системе жидкость-твердая фаза с применением ацетона в качестве органического растворителя и катализатора – триэтилбензил-аммоний хлорида (ТЭБАХ), в качестве основания использовали K_2CO_3 . Максимальные выходы (45-63%) соединений **4-6** достигнуты при соотношениях пиразол-этиловый эфир хлоруксусной кислоты- K_2CO_3 - 1 : 2 : 2.5. Несмотря на то, что синтез прост в исполнении, выходы целевых продуктов низкие. Как показали наши исследования, это было связано с протеканием ряда побочных реакций. Во-первых, при алкилировании пиразолов **1-3** в присутствии избытка этилового эфира хлор-уксусной кислоты из реакционной смеси выделены и охарактеризованы продукты алкилирования **8,9**, образование которых, вероятнее всего, связано с частичным гидролизом этилового эфира хлоруксусной кислоты до образования промежуточных соединений **7a,6** и последующим алкилированием реагентов.



Во-вторых, по-видимому, при действии поташа или следов влаги, частично протекает гидролиз соединений **4,6**. Продукты гидролиза в виде калиевых солей пиразолуксусных кислот остаются в реакционной смеси.

И действительно, при нагревании соединений **4,6** с водой (в отсутствие K_2CO_3) происходит гидролиз.



4, 10 $\text{R}=\text{R}'=\text{H}$; **5a, 11a** $\text{R}=\text{CH}_3$, $\text{R}'=\text{H}$ и **5b, 11b** $\text{R}=\text{H}$, $\text{R}'=\text{CH}_3$; **6, 12** $\text{R}=\text{R}'=\text{CH}_3$.

Такое поведение эфиров **4-6**, по-видимому, связано с отрицательным индуктивным эффектом пиразольного кольца.

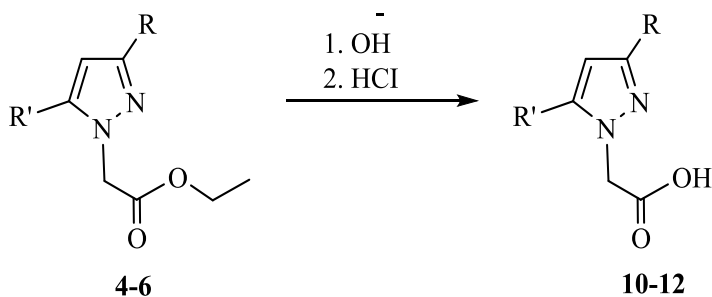
В пользу этого свидетельствует тот факт, что при переходе от пиразола **1** к пиразолу **3** продолжительность реакции гидролиза увеличивается в 2.5 раза. Другим важным фактом, который надо учитывать при рассмотрении взаимного влияния непосредственно связанных друг с другом атомов, является близость пиразольного кольца к карбонильному углероду. С увеличением этого расстояния, как в случае метилового эфира 3(5)-метилпиразол-1-ил-пропионовой кислоты, уменьшается электрофильность карбонильного углерода, следовательно, вследствие чего повышается устойчивость эфиров к воздействию воды [14].

Обнаружено, что при алкилировании пиразола **1** выход целевого продукта **4** уменьшается от 45 до 30 % даже при увеличении продолжительности реакции от 5 до 10 ч.

Как и ожидалось, при алкилировании 3,5-диметилпиразола (**3**) процесс заканчивается за 10 ч, тогда как реакция с пиразолом **1** завершается за 5 ч. 3(5)-Метилпиразол (**2**) занимает промежуточное положение. Таким образом, введение электродонорных метильных заместителей в пиразольное кольцо затрудняет реакцию алкилирования [104].

При алкилировании 3(5)-метилпиразола (**2**) образуется смесь **5a** и **5b** изомерных пиразолов с общим выходом 60 % и в соотношении 3:2 (по данным спектров ^1H ЯМР) [103]. Попытка их разделения фракционированием при 150 °C / 1 мм рт.ст. не увенчалась успехом из-за частичного гидролиза, по-видимому, под воздействием влаги воздуха и образования кислот **11 a,б**.

Гидролиз полученных эфиров **4-6** проводили действием водного раствора NaOH при комнатной температуре. Выходы кислот **10-12** составили 78-80 % соответственно.



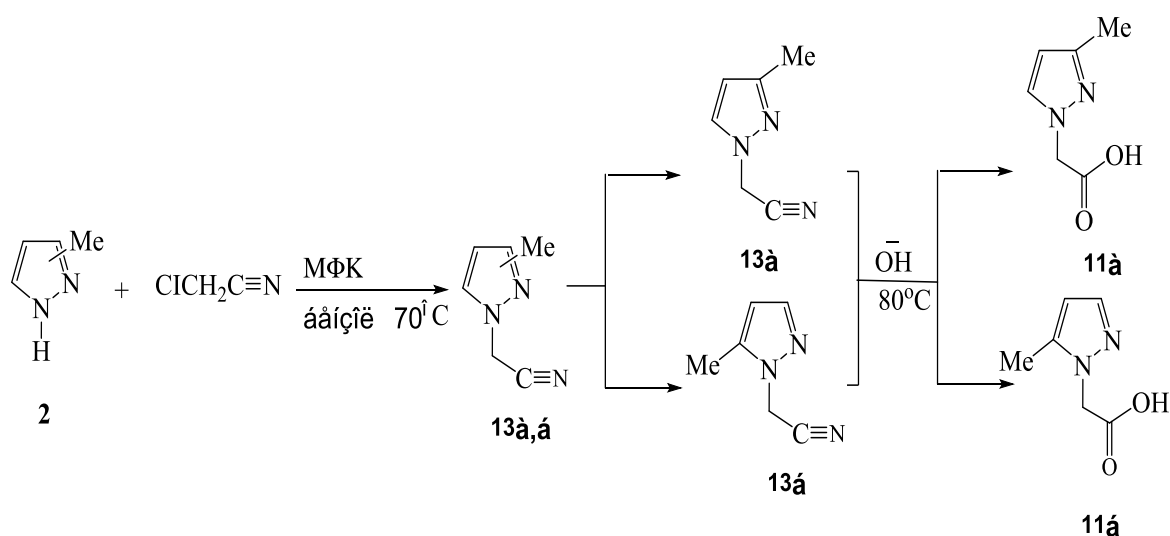
4, 10 R=R'=H; **5, 11** R=CH₃, R'=H и R=H, R'=CH₃; **6, 12** R=R'=CH₃

Благодаря таутомерному равновесию между 3-метил- и 5-метилпиразолами все реакции, протекающие по азоту, неизбежно приводят к образованию смеси 1,3- и 1,5-изомерных пиразолов [13].

Если полученные соединения представляют собой жидкости, их удастся разделить [5]. Задача затрудняется, когда продукты реакции являются кристаллическими веществами и их разделение практически невозможно [11].

При разделении эфиров пиразолуксусной кислоты **5a,6** они гидролизуются, а попытка разделения их соответствующих кислот **11a,6** дробной кристаллизацией не увенчалась успехом.

С целью синтеза отдельных изомеров 3-метил- (**11a**) и 5-метил- (**11b**) пиразолуксусной кислот нами предложена схема превращений, включающая разделение на отдельные изомеры смеси промежуточных нитрилов **13a,6**. Для разделения изомеров был использован метод ректификации [105]. Гидролизом нитрилов **13a** и **13b** в присутствии едкого натра были получены индивидуальные изомеры 3-метил-1H-пиразол-1-ил- (**11a**) и 5-метил-1H-пиразол-1-ил- (**11b**) уксусной кислот.



Установлено, что алкилирование 3(5)-метилпиразола (**2**) можно осуществить, используя систему жидкость-твердая фаза (бензол, K_2CO_3 , ТЭБАХ). Максимальные выходы соединений **13a,6** (65-70 %) достигнуты при соотношении реагентов пиразол - хлорацетонитрил - K_2CO_3 – 1:2:3.

2.2. Синтез пиразолкарбоновых кислот по аза-реакции Михаэля

2.2.1. Щелочной гидролиз сложных эфиров 1-(2'-аминоэтил)пиразолов

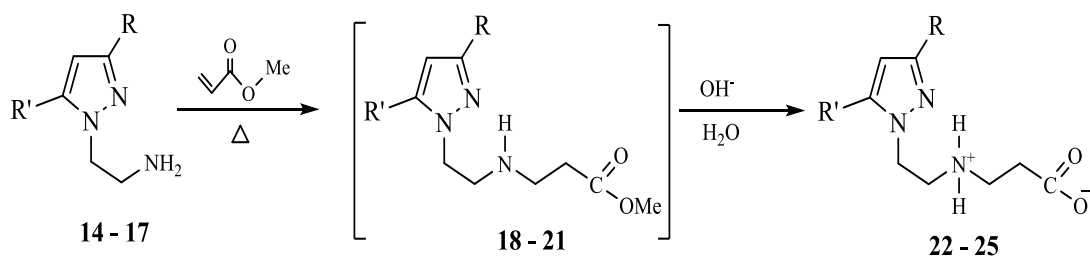
Антимикробная активность хитозановых пленок, модифицированных пиразолкарбоновыми кислотами

Поиск новых методов получения производных пиразолов представляет интерес в связи с перспективами их использования в качестве синтонов для создания новых биологически активных соединений [106-108].

Одной из целей диссертационной работы являлась разработка методов синтеза пиразолкарбоновых кислот, получение на их основании новых аммониевых солей хитозана и изучение их биологических активностей. В этом разделе нами рассмотрен синтез новых классов пиразолкарбоновых кислот.

Ранее Аттатьяном и сотр. Водным гидролизом метиловых эфиров 3-[2-(3-метилпиразол-1-ил)этиламино]- (**19**) и 3-[2-(5-метилпиразол-1-ил)этиламино]пропионовой (**20**) кислот были получены соответствующие кислоты **23,24** [109]. Реакция гидролиза протекает в отсутствие оснований при температуре 200 °С, под давлением.

В настоящей работе показано, что легкодоступные эфиры N-карбоксиэтил производные аминоэтилпиразолов [104, 110], как и следовало ожидать, легко гидролизуются уже при комнатной температуре в присутствии эквимольного количества водного раствора едкого натра[111].

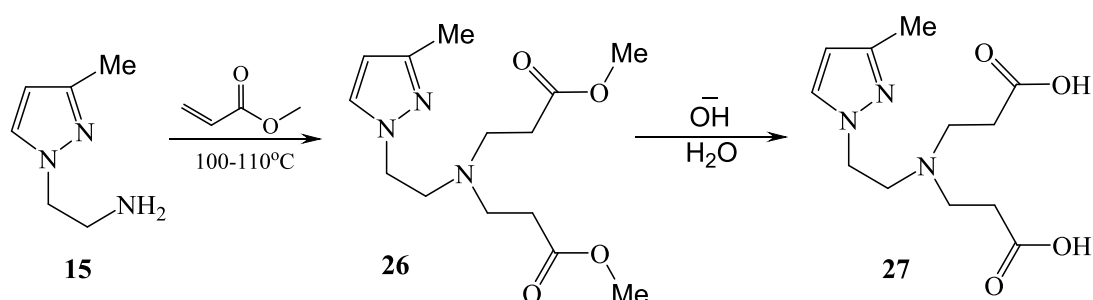


14, 18, 22 R=R'=H; 15, 19, 23 R=CH₃, R'=H; 16, 20, 24 R=H, R'=CH₃; 17, 21, 25 R=R'=CH₃.

Следует отметить, что гидролиз интермедиатов **18-21** проводили без их предварительной перегонки. В результате проведенной реакции получены пиразолэтиламинопропионовые кислоты **22-25** с выходами 65-72 %. Установлено, что соединения **22-25** существуют исключительно в β-ионовых формах.

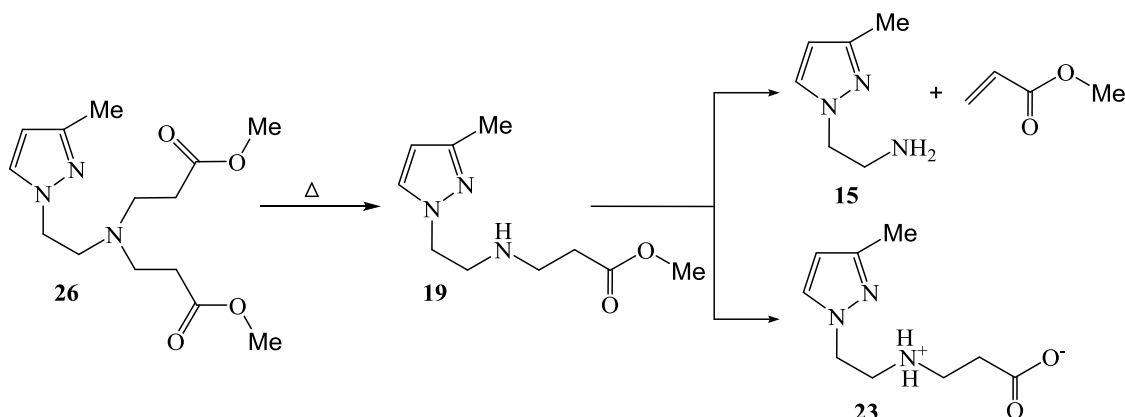
В работе [110] с помощью рентгеноструктурного анализа было установлено, что соединение **23** находится в форме соли. Сопоставляя ^1H ЯМР спектры соединения **23** со спектрами соединений **22**, **24**, **25** можно заключить, что последние также находятся в солевой форме.

С целью синтеза двухосновной кислоты **27** этого класса осуществлена реакция двойного нуклеофильного присоединения 1-(2'-аминоэтил)-3-метилпиразола (**15**) к метилакрилату, протекающая при температуре 100-110 °С с количественным выходом, а гидролиз в присутствии раствора едкого натра привел к целевому продукту **27**.



До перегонки строение и состав метилового эфира 3-[(2-метоксикарбонилэтил)-(2-пиразол-3'-метил-1'-ил-этил)амино]пропионовой кислоты (**26**) подтверждены данными спектров ЯМР ^1H и элементным анализом.

При перегонке соединения **26** наблюдается β -отщепление метилового эфира пропионовой кислоты с образованием соединения **19**, которое частично подвергается дальнейшему β -отщеплению и гидролизу с образованием соединений **15**, **23**.



Образование и строение соединения **23**, как было показано ранее [110], связано с гидролизом соединения **19** при перегонке под действием влаги воздуха. Так как соеди-

нение **26** при перегонке легко ращепляется, рекомендуется в органических синтезах использовать его без дополнительной перегонки, тем более, что чистота по ЯМР ^1H >97%.

Как уже было отмечено в литературном обзоре хитозан и его производные, благодаря уникальной поликатионной природе, обладают широким спектром антимикробной активности, поэтому они применяются в медицине, в пищевой и фармацевтической промышленности, сельском хозяйстве [112].

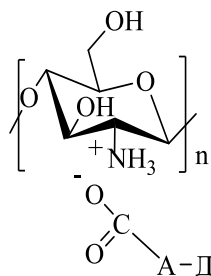
В последнее время были предложены различные теории о механизме антимикробного действия хитозанов [113]. Одной из таких теорий является гипотеза "внутриклеточной утки", [112-113]. Положительно заряженные хитозаны связываются с отрицательно заряженной поверхностью бактериальной клетки, что приводит к изменению проницаемости мембран, что приводит к гибели клеток [113-114]. Различные модификации хитозанов, такие как N-алкилированный хитозан с производными моносахаридов, а также хитозан-O-поли(этиленгликоль) были получены для улучшения водорастворимости и усиления биологической активности хитозанов [115-116]. Традиционный метод модификации хитозанов основывается на ковалентном связывании химических групп, что обычно трудно выполнимо, а иногда и меняет некоторые свойства хитозанов [87].

Как было отмечено выше, одной из целей диссертационной работы являлось получение новых аммониевых солей хитозана с пиразолкарбоновыми кислотами и изучение их антимикробной активности.

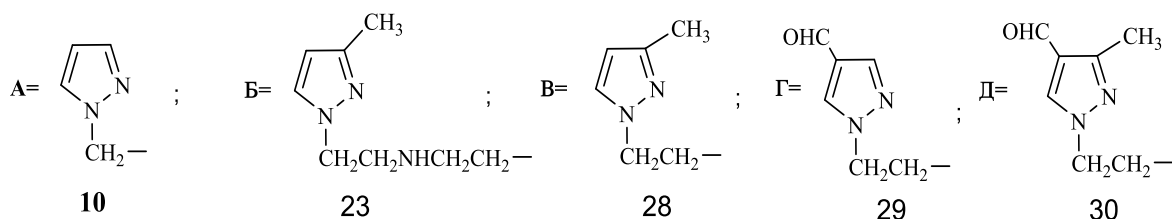
Для получения новых модификаций хитозанов в качестве модификаторов были применены следующие пиразол карбоновые кислоты: 1-карбоксиметилпиразол (**10**), 3-[2-(3-метилпиразол-1-ил)этиламино]пропионовая кислота (**23**), 1-карбоксиэтил-3-метилпиразол (**28**), 3-(4'-формилпиразол-1'-ил)пропионовая кислота (**29**) и 3-(4'-формил-3'-метилпиразол-1'-ил)пропионовая кислота (**30**) [116].

Для исследований использовали хитозан (Sigma Aldrich) с низкой [$M_r = 300$ кДа (a)] и средней [$M_r = 600$ кДа (б)] молекулярной массой. Для получения модификации хитозанов были взяты водные растворы пиразол карбоновой кислоты (**10**, **23**, **28-30**) и хитозан в молярных соотношениях 1:1.3. Пиразол карбоновые кислоты растворяли в воде, при нагревании до 60 °C и при перемешивании порциями добавляли хитозан [87].

Полученные хитозановые пленки сушили при комнатной температуре. На схеме изображены структуры полученных модификаций хитозана (**31a,6 - 35a,6**).



31A (a,6), 32Б (a,6), 33B (a,6), 34Г (a,6), 35Д (a,6)



Как свидетельствуют результаты биологических испытаний, приведенные в табл. 1 приложения, все модифицированные хитозаны обладают антибактериальной активностью, за исключением пленок модифицированного хитозана **33B(6)**. Модифицированный же хитозан **32Б(6)** только незначительно ингибировал рост эндоспорообразующих бактерий. Диски модифицированных хитозанов **31A(a)** и **32Б(a)** подавляли рост только грамположительных бактерий. Особый интерес представляли пробы **34Г(a,6)** и **35Д(a,6)**, которые подавляли рост как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, следовательно, они обладают широким спектром действий. Модифицированные хитозановые пленки низкой молекулярной массы (a) проявляли большую антибактериальную активность по сравнению с модифицированными хитозановыми пленками средней молекулярной массы (б).

Большинство модифицированных хитозанов подавляло рост грамположительных, эндоспорообразующих бактерий, однако ни один из хитозанов не подавлял роста мицелиального грибка (*A. Flavus* WT). Исследование антибактериальной активности растворов хитозановых солей выявило аналогичные результаты (см. приложения).

2.3. Синтез пиразолкарбоновых кислот на базе формилпиразолов

2.3.1. Окисление N-алкил-3-метил- и N-алкил-5-метил-4-формилпиразолов в условиях межфазного катализа

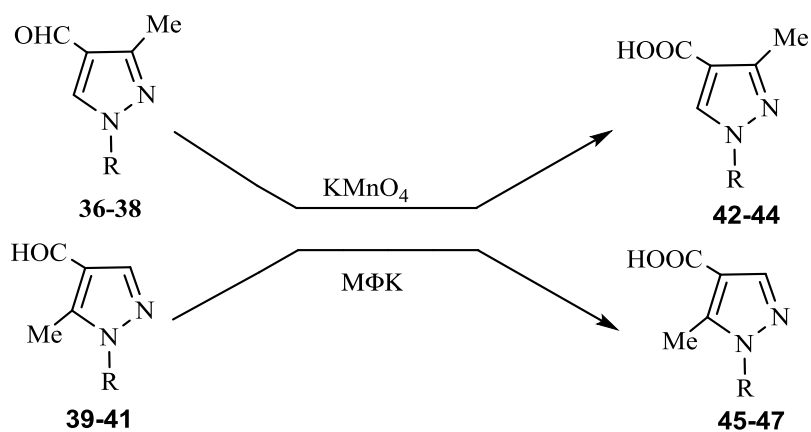
В настоящее время метод окисления пиразол-4-карбальдегидов широко применяется в синтезе пиразолкарбоновых кислот [43-45, 54].

Принципиальная возможность использования межфазного катализатора для окисления водонерастворимых субстратов была показана ещё в 1965 г. [117]. В качестве катализатора была использована четвертичная арсениевая соль – метилфениларсений-хлорид.

В водном растворе перманганата калия происходит обмен бром-аниона катализатора на анион перманганата и его перенос в хлороформный раствор субстрата, где и происходит окисление. Далее была изучена экстрагируемость ионов перманганата из водного раствора в бензол и показано, что при содержании в водном растворе 1 ммоль MnO_4^- и при использовании 3.2 ммоль тетрабутиламмоний бромид (ТБАБ) в бензол переходит 0.97 ммоль MnO_4^- , который может расходоваться в процессе окисления [118]. Аналогичные результаты были получены и с бензилтриэтиламмоний хлоридом (ТЭБАХ) [119]. Далее в процессах окисления широко был использован малиновый раствор перманганата в бензоле [120-121].

Ранее было осуществлено хемоселективное окисление 1-(2-хлорэтил)-3(5)-метил-4-пиразолкарбальдегидов в условиях межфазного катализа [54], приведшее к исключительному образованию продукта окисления за счет формильной группы.

С целью синтеза новых производных пиразол-4-карбоновых кислот нами проведено окисление альдегидов **36-41** в системе (вода-бензол- KMnO_4 -ТЭБАХ) при 20-30°C [122]. Во всех случаях были получены соответствующие пиразол-4-карбоновые кислоты **42-47** с выходами 70-75 %. Продолжительность проведенных реакций 10-12 ч. Образование продуктов окисления за счет метильных групп не наблюдалось. Строение полученных соединений **42-47** подтверждено с помощью ЯМР ^1H и ИК спектров.



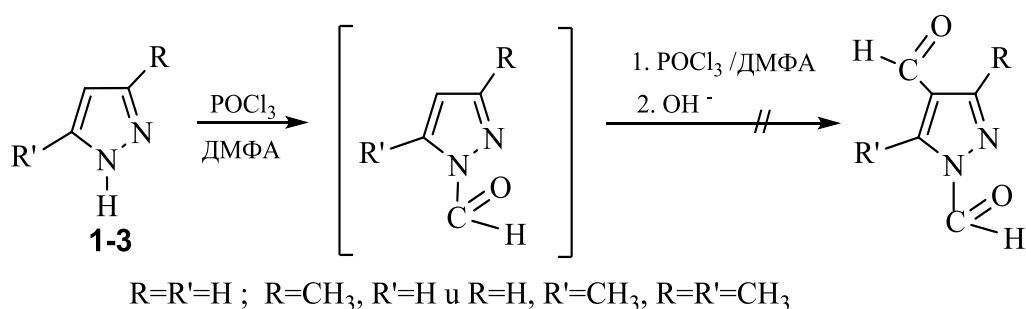
36, 39, 42, 45 R = CH_3 ; **37, 40, 43, 46** R = C_2H_5 ; **38, 41, 44, 47** R = C_3H_7

В частности, в ИК спектрах полученных соединений наблюдаются характерные полосы поглощения COOH группы в области $3000\text{--}3200\text{ см}^{-1}$ и валентные колебания C=O группы в области $1700\text{--}1710\text{ см}^{-1}$. В спектрах ЯМР ^1H протоны метильных групп в положениях 3- и 5-пиразольного кольца отчетливо проявляются в виде синглетов при $2,22\text{--}2,51$ м.д., что свидетельствует о хемоселективном протекании окисления формильной группы пиразолов **36-41** в условиях межфазного катализа.

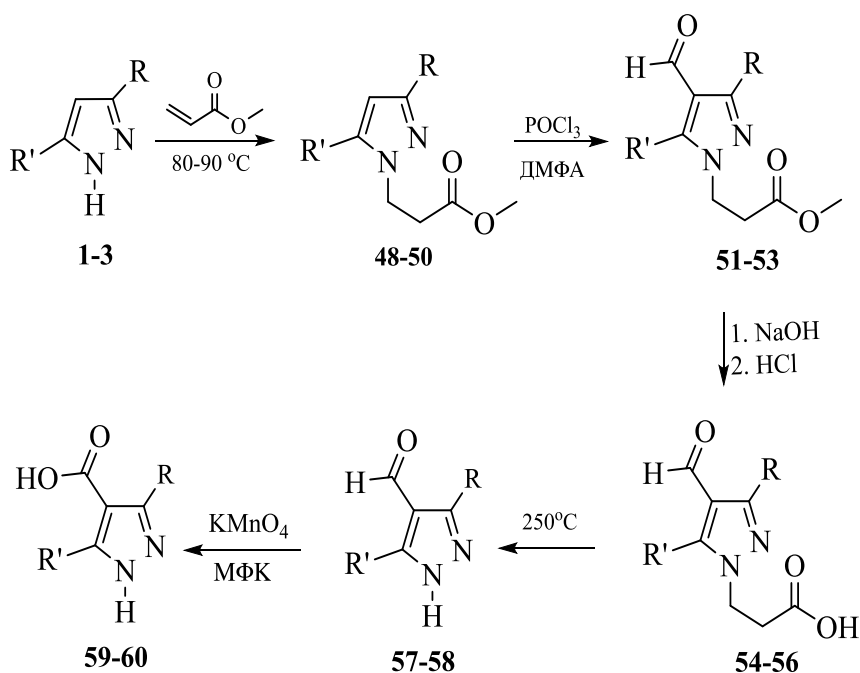
2.3.2. Формилирование 1Н-пиразолов по Вильсмейеру-Хааку и окисление полученных 4-формилпиразолов в условиях межфазного катализа

Как видно из литературного обзора, формилирование 1-алкилпиразолов по Вильсмейеру-Хааку хлорокисью фосфора в ДМФА при $90\text{--}160\text{ }^\circ\text{C}$ приводит к образованию соответствующих продуктов реакции с выходами $33\text{--}62\%$ [34, 36].

Вопреки ожиданиям, формилирование NH-пиразолов **1-3** в указанных условиях не происходит [123], что говорит о том, что электрофильное замещение **1-3** протекает по атому азота и образовавшиеся 1-формилпиразолы далее не формилируются [123,124].



Исходя из этого, синтез 1H-пиразол-4-карбальдегидов **57,58** нам удалось осуществить по схеме, приведенной в [125], включающей первоначальное 1-карбоксиэтилирование пиразолов **1-3** с образованием пиразолов **48,50**. Далее последующими стадиями формилирования, гидролиза и термического β -распада полученных формилкислот **54-56**, и наконец окислением соединений **57,58** перманганатом калия в условиях МФК, удалось получить соединение **59,60**.

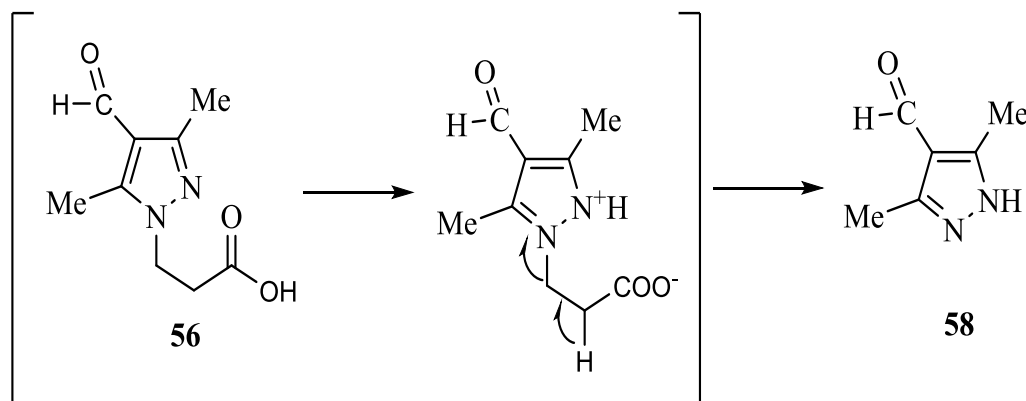


1, 48, 51, 54 $R=R'=H$; **2, 49, 52, 55, 57,59** $R=CH_3$, $R'=H$; $R=H$, $R'=CH_3$; **3, 50, 53, 56, 58,60** $R=R'=CH_3$.

Лабильность карбоксиэтильной группы заметно меняется в зависимости от строения исходного пиразола **54-56**. 3-(4'-Формил-3',5'-диметилпиразол-1'-ил)пропионовая кислота (**56**), проявляющая основные свойства за счет метильных заместителей, легче отщепляет карбоксиэтильную группу, чем соединение **55**. Соединение **54** с незаме-

щенным кольцом в аналогичных условиях не отщепляет карбоксиэтильную группу. При попытке же удаления последней в жестких условиях (300 °С) происходит полное осмоление. В отличие от соединения **54**, смесь 3-(3'-метил-4-формилпиразол-1-ил)- и 3-(5'-метил-4-формилпиразол-1-ил)пропионовых кислот (**55**) превращается в соответствующий NH-формилпиразол **57** с выходом 30 %.

Полученные результаты по-видимому, можно объяснить, тем обстоятельством, что в случае наиболее алкилированных пиразольных колец более основной атом азота протонируется карбоксильным водородом, что в значительной степени способствует β -расщеплению. Выход 4-формил-3,5-диметилпиразола (**58**) составляет 60 % .

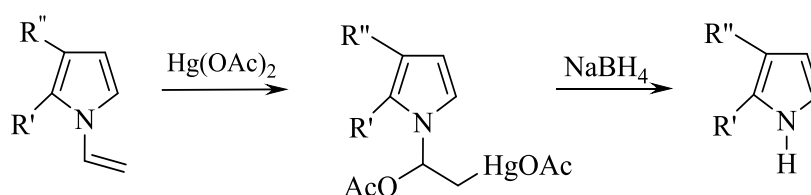


В ИК спектрах соединений **59,60** имеются характерные полосы поглощения карбоксильной группы при 1680 см^{-1} и пиразольного кольца при 1520-1530 см^{-1} . Имеющиеся в спектрах полосы поглощений при 3200-3300 см^{-1} относятся к валентным колебаниям NH-группы. В спектрах ЯМР ^1H соединений **59,60** протон NH-группы проявляется при 12.50 м.д., а формильный протон – 9.15 м.д.

2.3.3. Синтез пиразолкарбоновых кислот на базе 1-винил-4-формилпиразолов

Так как предыдущий метод синтеза пиразолкарбоновых кислот не является универсальным [125], далее нами изучена универсальность ртутного метода для снятия винильной защиты 1-винил-4-формилпиразолов.

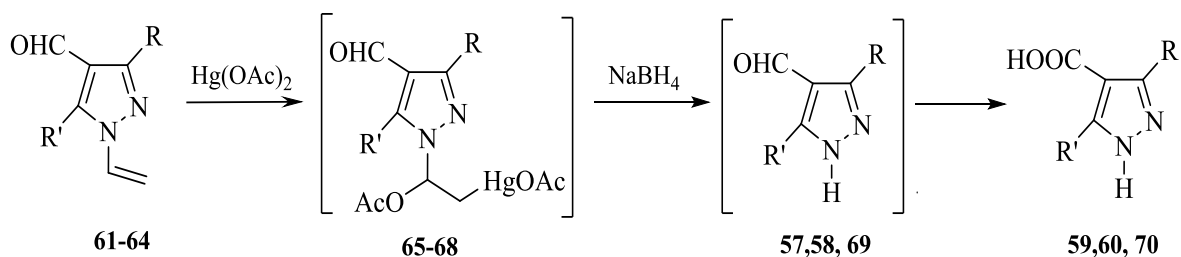
Винильная защита пирролов с сильными электроноакцепторными заместителями была успешно использована при поиске нестероидных противовоспалительных средств в ряду производных пиррола [129]. При этом для удаления винильной группы использовалось меркурирование пирролов ацетатом ртути с последующей обработкой боргидридом натрия в ацетонитриле [126-127].



$R' = \text{Ph}$, $R'' = \text{H}$; $R' = 2\text{-фурил}$, $R'' = \text{H}$; $R' = 4\text{-MeOC}_6\text{H}_4$, $R'' = \text{изо-Pr}$; $R' = 5\text{-метил-2-фурил}$, $R'' = \text{H}$.

Поскольку синтез 1-винилпиразолов с различными заместителями в пиразольном кольце уже можно легко осуществить [19, 54, 55, 105, 128], их можно считать наиболее перспективными пиразолами. В наших исследованиях для снятия винильной защиты 1-винил-4-формилпиразолов **61-64** нами использован ртутный метод. Последний открывает новые перспективы для синтеза 4-пиразолкарбоновых кислот **59,60,70**.

В качестве объектов исследования были выбраны 1-винил-4-формилпиразол (**61**), 1-винил-3-метил-4-формилпиразол (**62**), 1-винил-5-метил-4-формилпиразол (**63**), 1-винил-3,5-диметил-4-формилпиразол (**64**). Реакцию проводили согласно известному методу [126], при комнатной температуре в течении 30 мин. Ход реакции контролировался методом ГЖХ.



61, 65, 69-70 $\text{R}=\text{R}'=\text{H}$; 62, 66, 57, 59 $\text{R}=\text{CH}_3$, $\text{R}'=\text{H}$; 63, 67, 57, 59 $\text{R}=\text{H}$, $\text{R}'=\text{CH}_3$; 64,68, 58, 60 $\text{R}=\text{R}'=\text{CH}_3$.

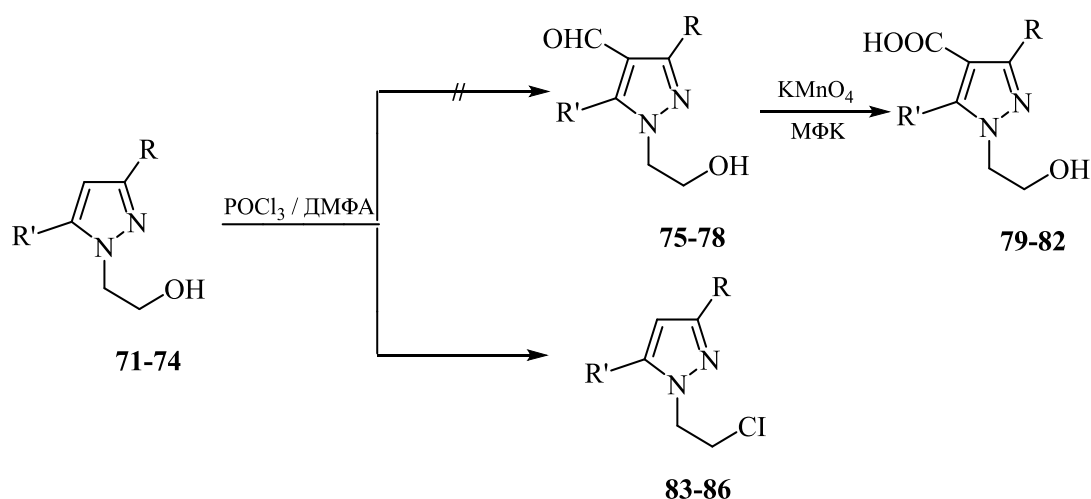
В результате, вместо ожидаемых 4-формилпиразолов **57,58,69** из реакционной смеси были выделены и охарактеризованы 4-пиразолкарбоновые кислоты **59,60,70** с выходами 5-10%. В этом случае можно предположить, что кроме снятия винильной защиты, параллельно протекает реакция окисления формильной группы. Отсюда следует, что реакцию можно провести при более высокой температуре (50°C) и при длительном нагревании исходных реагентов в соотношении – пиразол : $\text{Hg}(\text{OAc})_2$: NaBH_4 – 1:2:1, что мы далее осуществили. Действительно, в указанных условиях нам удалось получить 4-пиразолкарбоновые кислоты **59,60,70** с выходами 45-50 %.

2.4. Синтез функционально замещенных 4-пиразолкарбоновых кислот

2.4.1. Синтез 1-(2'-гидроксиэтил)-4-пиразолкарбоновых кислот

Возможность формилирования 1-(2'-хлорэтил)пиразолов реакцией Вилсмейера - Хаака [54,55, 128,129] сделали 1-(2'-хлорэтил)-4-формилпиразолы легкодоступными соединениями в синтезе новых функционально замещенных 1-винилпиразолов.

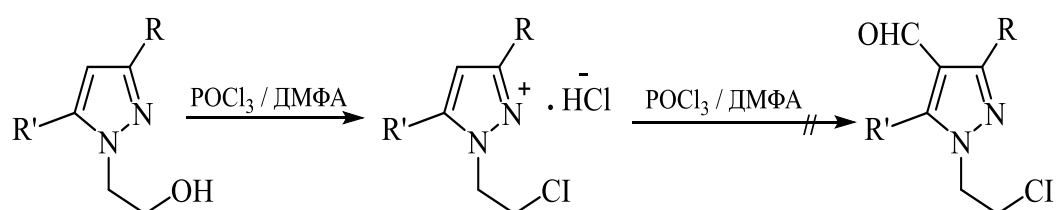
С целью получения новых классов функционально замещенных 4-пиразолкарбоновых кислот **79-82** нами было изучено формилирование 1-(2'-гидроксиэтил)пиразолов **71-74** окисление которых дает возможность к синтезу 1-(2'-гидроксиэтил)-4-пиразолкарбоновых кислот **79-82**.



71, 75, 79, 83 R=R'=H; 72, 76, 80, 84 R=CH₃, R'=H; 73, 77, 81, 85 R=H, R'=CH₃; 74, 78, 82, 86 R=R'=CH₃

Попытки формилирования 1-(2'-гидроксиэтил)пиразолов **71-74** в условиях реакции Вильсмейера – Хаака претерпевали неудачу [130]. Реакция заканчивалась лишь замещением гидроксильной группы атомом хлора в гидроксиэтильном фрагменте молекулы.

Полученные данные, по-видимому, обусловлены уменьшением нуклеофильности пиразольного кольца, вследствие кватернизации пиридинового атома азота за счет выделившегося HCl во время хлорирования гидроксильной группы. В пользу этого свидетельствует тот факт, что при непосредственном формилировании 1-(2'-хлорэтил)-3-метилпиразола (**84**) выход целевого продукта составляет 70 %, а присутствие соляной кислоты в аналогичном опыте полностью тормозит реакцию формилирования [55].

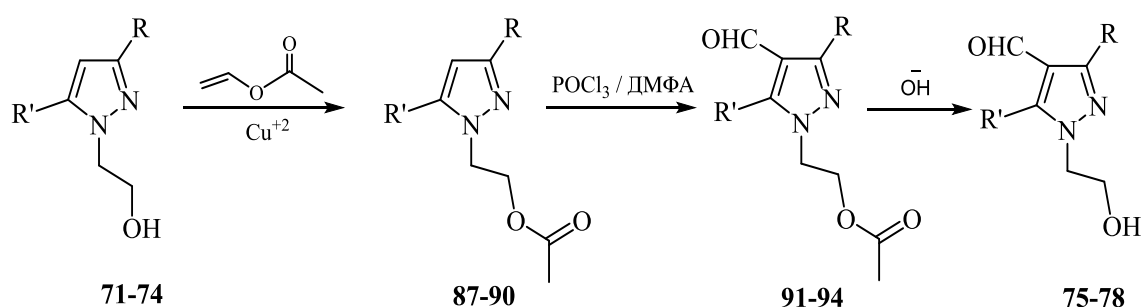


Полученные результаты дают основание предположить, что если HCl выделяется в результате взаимодействия комплекса Вильсмейера – Хаака (в случае 1-хлорэтилпиразолов), то выделяемый HCl не препятствует реакции формилирования [131]. А если соляная кислота выделяется в результате побочных реакций (в случае N-

гидрокси-этилпиразолов), то она припятствует реакции формилирования за счет кватернизации пиридинового азота, приводящего к уменьшению нуклеофильности пиразольного кольца.

С целью проведения формилирования 1-(2'-гидроксиэтил)пиразолов **71-74** по Вильсмейеру-Хааку нами предлагалось введение защитных групп в органическую молекулу с таким расчетом, чтобы исключить возможность их взаимодействия с другими реакционными центрами молекулы [132]. А при выборе защитных групп особое внимание было уделено трем основным факторам - легкости введения в молекулу, устойчивости в различных реакциях и легкости удаления.

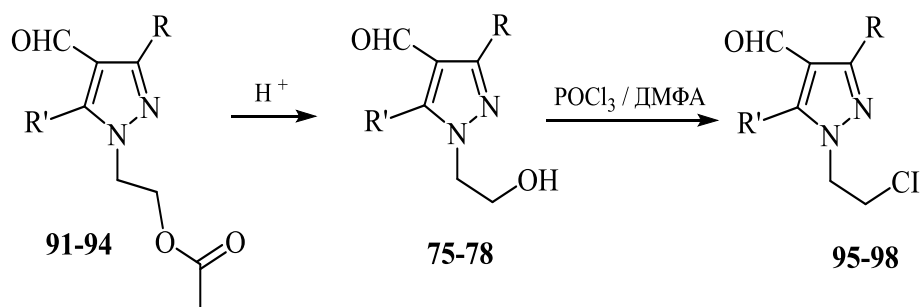
Первые же опыты показали, что в исследуемых реакциях ацетильная группа удовлетворяет вышеприведенным требованиям [133]. Так, предварительное ацетилирование гидроксильной группы позволило формилировать пиразольное кольцо в положении 4.



71, 75, 87, 91 R=R'=H; 72, 76, 88, 92 R=CH₃, R'=H; 73, 77, 89, 93 R=H, R'=CH₃; 74, 78, 90, 94 R=R'=CH₃.

Ацетилированием соединений **71-74** винилацетатом в присутствии каталитического количества ацетата меди были получены 2-(1H-пиразол-1-ил)этилацетаты **87-90**, которые, в свою очередь, легко подвергались формилированию в условиях Вильсмейера-Хаака с образованием 2-(4-формил-1H-пиразол-1-ил)этилацетатов **91-94**. Гидролиз последних приводит к образованию соответствующих альдегидов **75-78**.

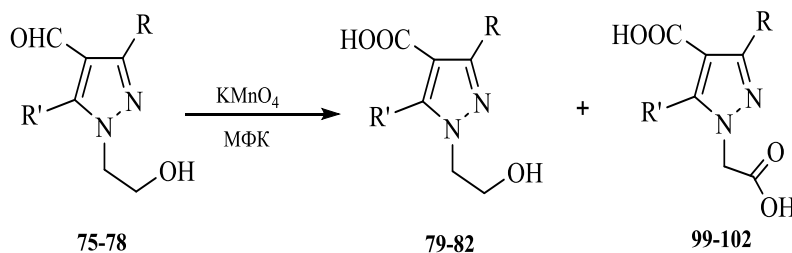
Из реакционной смеси были выделены также 1-(2'-хлорэтил)пиразол-4-карбальдегиды **95-98** с выходом 7-10 %, образующиеся в результате замещения гидроксильной группы на атом хлор в молекулах 1-(2'-гидроксиэтил)пиразол-4-карбальдегидов **75-78** по схеме:



75, 91, 95 R=R'=H; 76, 92, 96 R=CH₃, R'=H; 77, 93, 97 R=H, R'=CH₃; 78, 94, 98 R=R'=CH₃.

Хемоселективное окисление формильной группы в пиразолах происходит в тех случаях, когда заместитель при атоме азота пиразола не содержит гидроксильной группы [54, 122].

Окисление 1-(2'-гидроксиэтил)пиразол-4-карбальдегидов **75-78** в условиях МФК (вода-бензол-KMnO₄-ТЭБАХ) в температурном интервале 0-30 °С привело к смеси двух типов кислот **79-82** и **99-102**.



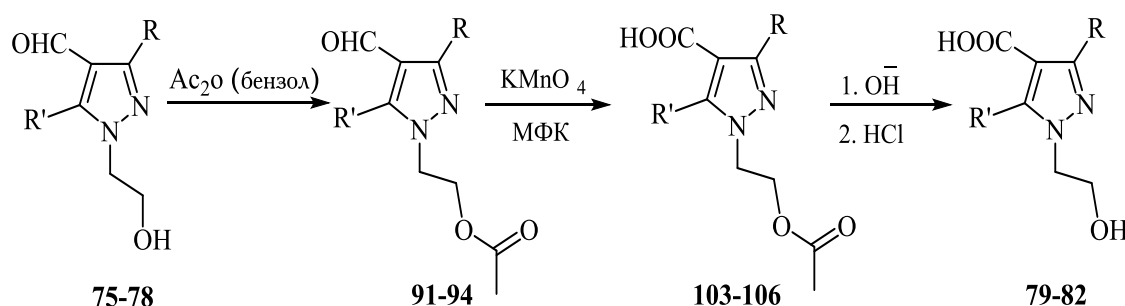
75, 79, 99 R=R'=H; 76, 80, 100 R=CH₃, R'=H; 77, 81, 101 R=H, R'=CH₃; 78, 82, 102 R=R'=CH₃.

По данным ЯМР ¹H спектров соотношение соединений (**79-82**) : (**99-102**) составляет 4:1.

При более высокой температуре (60°C) и многократном избытке KMnO₄, гидроксиметильная группа в соединениях **79-82** полностью окисляется с образованием 1-карбоксиметил-4-пиразолкарбоновых кислот с выходом 35-40%.

Для хемоселективного окисления формильной группы без затрагивания гидроксиметильной группы в молекуле 1-(2'-гидроксиэтил)-4-формилпиразолов **75-78**, как и в случае формилирования гидроксиэтилпиразолов [133], был предложен метод введения защитных групп (ацетильная группа)[134]. После этого соединения **91-94** окисляют перманганатом калия в условиях межфазного катализа, что приводит к образованию 1-

(2'-ацетоксиэтил)-4-пиразолкарбоновых кислот **103-106**. Последние далее подвергаются гидролизу водным раствором NaOH с образованием целевых 1-(2'-гидроксиэтил)-4-пиразолкарбоновых кислот **79-82**.



75, 79, 91, 103 R=R'=H; 76, 80, 92, 104 R=CH₃, R'=H; 77, 81, 93, 105 R=H, R'=CH₃; 78, 82, 94, 106 R=R'=CH₃.

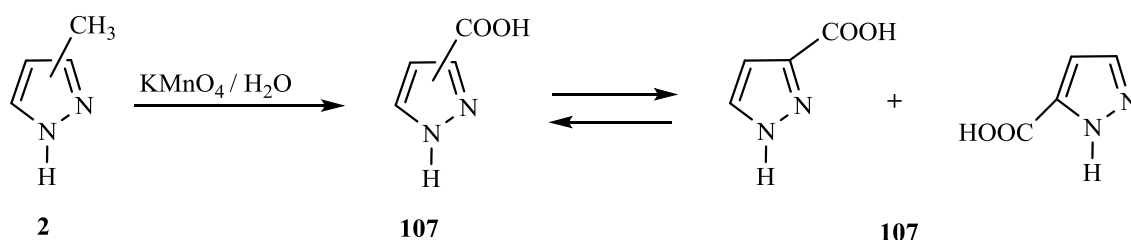
Строение и состав соединений **79-82** подтверждены данными ЯМР ¹H и ИК спектров, а также элементным анализом.

2.5. Альтернативные методы синтеза пиразолкарбоновых кислот

2.5.1. Синтез 1-винил-3- и 1-винил-5-пиразолкарбоновых кислот и противоожоговая активность их солей с хитозаном

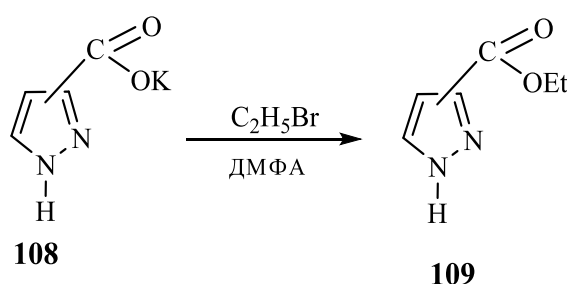
Как свидетельствуют данные, приведенные в предыдущих главах диссертационной работы, синтез 4-пиразолкарбоновых кислот в основном осуществлялся окислением формильных групп. Для синтеза новых классов пиразолкарбоновых кислот нами исследовалось также окисление метильных групп в пиразольном кольце.

Известно, что окисление технически доступного 3(5)-метилпиразола (**2**) [13] перманганатом калия в водной среде приводит к образованию 3(5)-пиразолкарбоновой кислоты (**107**). Это реакция открывает широкие возможности для получения новых производных пиразола [135].

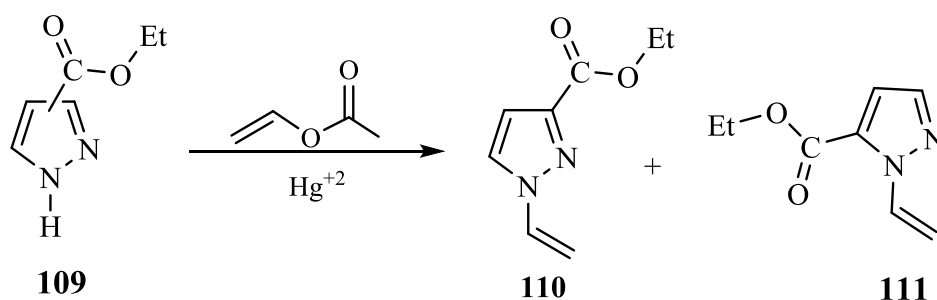


Для хемоселективного винилирования по атому азота без затрагивания карбоксильной группы в молекуле 3(5)-метилпиразолкарбоновой кислоты (**107**), предложен метод введения защитных групп, которые устойчивы в различных реакциях и легко удаляются [132].

Первые же опыты показали, что алкильная группа удовлетворяет вышеуказанным требованиям. Алкилированием калиевой соли 3(5)-пиразолкарбоновой кислоты (**108**) этилбромидом в ДМФА синтезирован сложный эфир **109** с выходом 60 %. Продукты N-алкилирования в этих условиях не образуются [136,137].



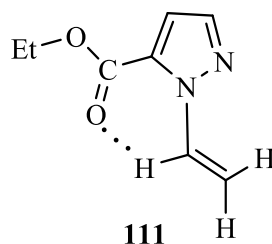
Винилированием эфиров 3(5)-пиразолкарбоновой кислоты (**109**) винилацетатом в присутствии каталитического количества сульфата ртути, образуется смесь изомерных эфиров 1-винил-3- (**110**) и 1-винил-5-пиразолкарбоновых (**111**) кислот с общим выходом 80 % и соотношением изомеров 3:2, соответственно [138]. Последние были разделены обычной перегонкой.



В большинстве случаев замещенные пиразолы, которые образуются при протекании реакции по атому азота приводит к трудноразделяемым смесям [5].

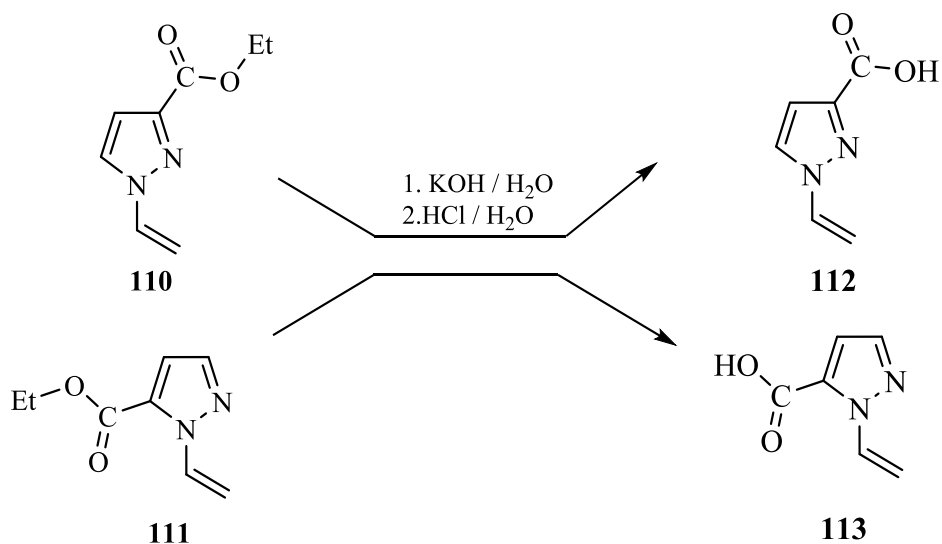
Легкость разделения изомеров **110**, **111** в случае эфиров 1-винилпиразолкарбоновой кислоты объясняется тем, что в эфире 1-винил-5-пиразолкарбоновой кислоты

(111) существует внутримолекулярная водородная связь между α -атомом водорода винильной группы и р-электронами атома кислорода карбонильной группы ($\text{CH}\cdots\text{O}=\text{C}$), отсутствующая в изомере **110**.

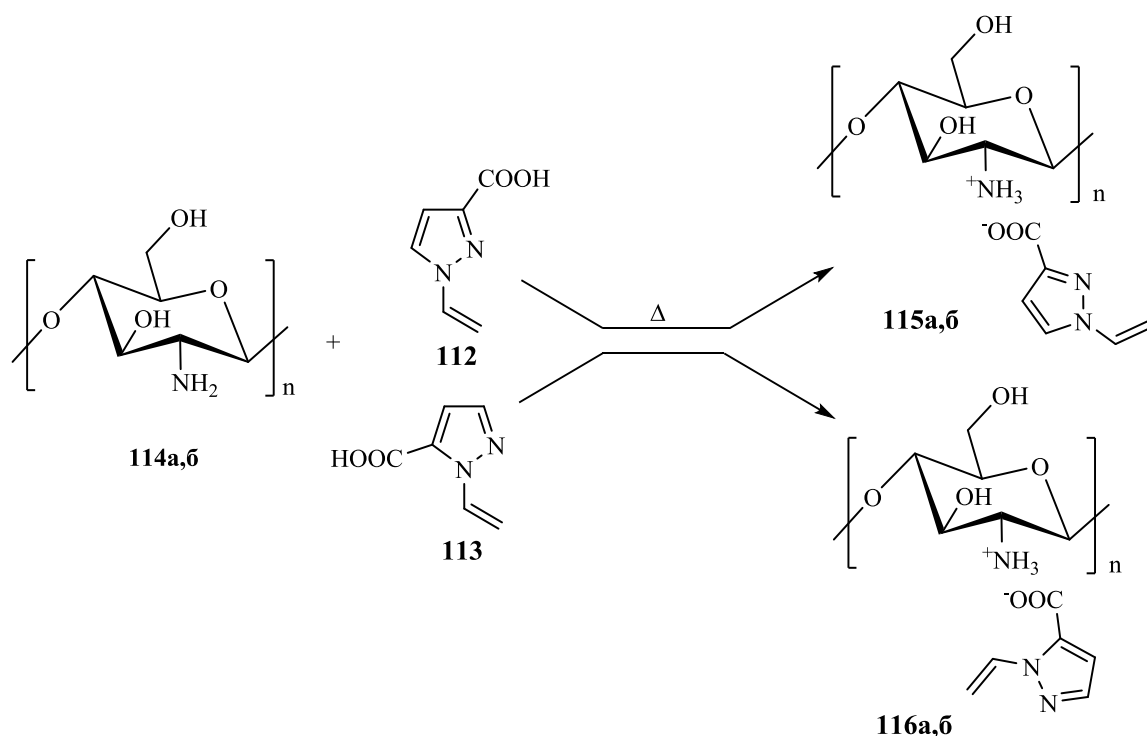


Это проявляется в том, что в ЯМР ^1H спектре сигнал α -протона смещен в слабое поле и резонирует в области 8.03 м.д. [139,140]. В соединении **110** α -протон винильной группы не дезэкранирован и резонирует в более сильном поле (7.01 м. д.).

Гидролизом сложных эфиров 1-винил-3- (**110**) и 1-винил-5-пиразолкарбоновых (**111**) кислот водным раствором едкого кали были получены соответствующие соли, которые при подкислении приводят к образованию 1-винил-3- (**112**) и 1-винил-5-пиразолкарбоновых (**113**) кислот.



Соли **a,6** 1-винил-3- (**115**) и 1-винил-5-пиразолкарбоновых (**116**) кислот с хитозаном (**114a,6**) получены по общему методу, описанному в работе [94].



Реакция легко протекает при кипячении хитозана **114a,b** и соответствующих пиразолкарбоновых кислот **112**, **113** в воде, в течение 1-3 мин. После фильтрования и удаления нерастворимых остатков, полученный раствор был высушен методом полива для образования тонких пленок, эластичность которых возрастает с увеличением количества хитозана.

В ИК спектрах солей хитозанов **115a,b** и **116a,b** с 1-винил-3- (**112**) и 1-винил-5-пиразолкарбоновыми (**113**) кислотами наблюдается поглощение пиразольного кольца при 1510 см⁻¹, винильной (C=C) группы при 1640 см⁻¹, а также валентные колебания C-H группы хитозана при 2878 см⁻¹ и OH-групп при 3450-3050 см⁻¹. В отличие от ИК спектров исходных 1-винил-3- (**112**) и 1-винил-5-пиразолкарбоновых (**113**) кислот интенсивность полосы поглощения винильной группы в солях хитозана (**115 a,b** и **116 a,b**) несколько раз меньше. Такая же картина наблюдается для полосы поглощения пиразольного кольца, но не для колебаний ⁺NH₃, OH, CH- групп хитозана. Интересно отметить, что деформационные колебания первичного амина почти не проявляются, что свидетельствует об образовании солей хитозана **115a,b** и **116 a,b** с 1-винилпиразолкарбоновыми кислотами **112**, **113**. В спектрах ЯМР ¹H соединения **115 a,b** и **116 a,b** проявляются сигналы протонов винильной группы при 4.94, 5.71 м. д. и 4.90, 5.79 м.д. (=CH₂) и

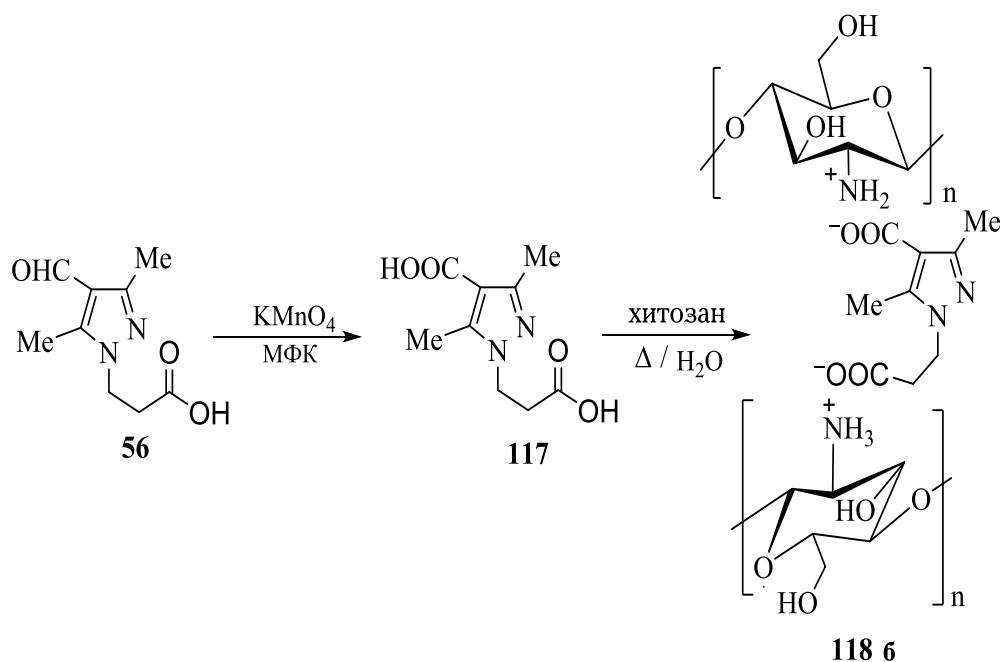
7.2, 8.05 м.д. (=CH), а также сигналы протонов пиразольного кольца 6.73, 6.85 м.д. и 7.52, 7.94 м.д. В более сильном поле, при 3.5-4.0 м.д., наблюдается резонанс протонов CH групп (H^1-H^6 и H^6) хитозана.

Замечено, что практически все функциональные свойства хитозана зависят от его молекулярных параметров, в большей степени от массы (степени полимеризации) [82, 141]. Мы не случайно ввели в молекулу хитозана 1-винилпиразолкарбоновую кислоту, так как при полимеризации винильных групп можно изменить массовую долю хитозана, тем самым контролируя его функциональные свойства. Полимеризацию солей **115a,6** и **116a,6** в выбранных условиях (H_2O , 20-50°C, $Na_2S_2O_7$) осуществить не удалось.

Исследована противоожоговая активность 1-винил-3-пиразолкарбоновой кислоты (**112**), низкомолекулярного (**114a**) и высокомолекулярного хитозанов, а также солей хитозана 1-винил-3-пиразолкарбоновой кислоты (**115a,6**).

Макрофотографические и гистологические исследования показали, что 1-винил-3-пиразолкарбоновая кислота (**112**), по сравнению как с хитозаном (**114a,6**) так и с контрольной группой не проявляет противоожоговой активности. Однако соль высокомолекулярного хитозана **115b,6**, по сравнению как с контрольной группой, так и с 1-винил-3-пиразолкарбоновой кислотой (**112**) и высокомолекулярным хитозаном **114b,6** проявляет заметную противоожоговую активность в условиях экспериментальных термических ожогов II степени (см. приложение).

Так как нам не удалось изменить молекулярную массу хитозановых солей **115a,6** и **116a,6**, при помощи полимеризации, и тем самым урегулировать его функциональные свойства, нами был выбран другой путь увеличения молекулярной массы, а именно - увеличение доли хитозана в хитозановых солях (**118b,6**) при помощи кватернизации хитозана **114b,6** 1-(2-карбоксиэтил)-3,5-диметил-1H-пиразол-4-карбоновой кислотой (**117**).



1-(2-Карбоксиэтил)-3,5-диметил-1Н-пиразол-4-карбоновая кислота (**117**) была получена окислением 3-(3,5-диметил-4-формилпиразол-1-ил)пропионовой кислоты (**56**) в условиях межфазного катализа. Соли хитозана **1186** получили нагреванием хитозана **1146** с пиразолдикарбоновой кислотой (**117**) в воде в соотношении 2:1 соответственно. После фильтрования и удаления нерастворимого остатка полученный раствор сушили методом полива для образования тонких пленок [142].

В ИК спектре соли **1186** наблюдаются поглощения пиразольного кольца при 1540 см⁻¹ и карбоксильной группы при 1690 см⁻¹, а также валентные колебания группы СН хитозана при 2874 см⁻¹ и ОН-группы при 3368 см⁻¹. В спектрах ЯМР ¹Н соединения **1186** сохраняются сигналы протонов карбоксиэтильных групп при 2.69 и 4.18 м.д., а также сигналы протонов метильных заместителей пиразольного кольца при 2.33 и 2.53 м.д. В более слабом поле (3.5-4.0 м.д) наблюдается резонанс протонов СН групп (Н¹-Н⁶, Н^{6'}) хитозана.

Интересные результаты получены при исследовании противоожоговой активности высокомолекулярного хитозана, 1-(2-карбоксиэтил)-3,5-диметил-1Н-пиразол-4-карбоновой кислоты (**117**) и ее солей. Данные макрофотографических и гистологических исследований показали (см. приложения, АКТ № 3), что высокомолекулярный хитозан моди-

фицированный 1-(2-карбоксоэтил)-3,5-диметил-1Н-пиразол-4-карбоновой кислотой **(1186)** по сравнению с высокомолекулярным хитозаном **(1146)** проявляет заметную противовоспалительную активность в условиях экспериментальных термических ожогов II степени. Увеличение массы модифицированного хитозана приводит к сокращению времени регенерации поврежденных тканей.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ИК спектры получены на приборе “Specord” в тонком слое и в таблетках KBr.

Спектры ЯМР ^1H записаны на приборе “Varian Mercury-300” с резонансной частотой 300,076 МГц в $\text{DMSO}-d_6$, $\text{DMSO}-d_6/\text{CCl}_4$, 1:4, внутренний стандарт - ГМДС.

ГЖХ анализ проведен на приборе “ЛХМ-8МД”, колонка длиной 1м, заполненная инертном AW-HMDS, пропитанным 10 % Carbox - 20M, скорость газа-носителя (гелий) – 40 мл/мин, температура детектора 220 °С, испарителя – 200 °С.

Испытания противоожоговой активности проводились в соответствии с правилами содержания и обращения с животными, изложенными в Директивах Европейского Сообщества (86/609/EC).

Алкилирование пиразолов этиловым эфиром хлоруксусной кислоты и гидролиз полученных эфиров

Этиловый эфир пиразол-1-ил-уксусной кислоты (4). Смесь 6.8 г (0.1 моля) пиразола (1), 24.5 г (0.3 моля) этилового эфира хлоруксусной кислоты, 1.0 г ТЭБАХ, 27.6 г (0.2 моля) K_2CO_3 и 150 мл ацетона перемешивали в течении 4 ч при температуре 50-55 °С. Затем смесь охладили и отфильтровали. После отгонки ацетона остаток разогнали в вакууме. Полученный конденсат (смесь этилового эфира пиразол-уксусной кислоты (4) и эфиров хлоруксусной кислоты **8-9** промыли соляной кислотой и экстрагировали эфиром, водный слой подщелачивали и экстрагировали хлороформом (3x50 мл), экстракт сушили над сульфатом магния. После отгонки растворителя остаток перегоняли в вакууме.

Плучили 6.9 г (45.0 %) этилового эфира пиразол-1-ил-уксусной кислоты (4), т. кип. 95-98 °С / 1 мм рт. ст., n_D^{20} 1.4690. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1510 (кольцо), 1700 (C=O). Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMSO}-d_6/\text{CCl}_4$ -1:4), (δ , м. д., Гц): 1.29 т (3H, CH_2CH_3 , J 7.1), 4.79 к (2H, CH_2CH_3 , J 7.1), 4.94 с (2H, NCH_2), 6.21 дд (1H, 4-CH, J_1 1.8, J_2 2.4), 7.37 дд (1H, 3-CH,

J_1 1.8, J_2 0.7), 7.58 дд (1H, 5-CH, J 2.4, J 0.7). Найдено, %: C 54.29; H 6.85; N 18.37; $C_7H_{10}N_2O_2$. Вычислено, %: C 54.54; H 6.49; N 18.18.

Этиловый эфир пиразол-1-ил-3(5)-метилуксусной кислоты (5). Аналогично предыдущему из 8.2 г (0.1 моля) 3(5)-метилпиразола (2) в течении 6 ч получили 9.2 г (55 %) соединения (5 а,б), т. кип. 104 °C /3 мм рт. ст.. Соотношение изомеров по данным ЯМР 1H составляет 3:2, отнесение сигналов не проводили. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1520 (кольцо), 1700 (C=O). Найдено, %: C 57.45; H 7.35; N 16.38; $C_8H_{12}N_2O_2$. Вычислено, %: C 57.14; H 7.14; N 16.66.

Этиловый эфир 3,5-диметилпиразол-1-ил-уксусной кислоты (6). Аналогично предыдущему из 9.6 г (0.1 моля) 3,5-диметилпиразола (3) в течении 10 ч получили 11.4 г (63 %) этилового эфира 3,5-диметилпиразол-1-ил-уксусной кислоты (6), т. кип. 110-115 °C /3 мм рт. ст., n_D^{20} 1.4700. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1550 (кольцо), 1750 (C=O). Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6 / CCl_4 -1:4), δ , м. д., J (Гц): 1.30 т (3H, $\underline{CH_3}CH_2O$ / 7.1), 2.12 с (3H, 3- CH_3 , / 7.1), 2.18 с (3H, 5- CH_3), 4.19 к (2H, OCH_2-CH_3 , / 7.1), 4.72 с (2H, NCH_2), 5.73 уш. с (1H, 4-CH). Найдено, %: C 59.68; H 7.32; N 15.71; $C_9H_{14}N_2O_2$. Вычислено, %: C 59.34; H 7.69; N 15.38.

2-Этоксид-2-оксоэтилхлорацетат (8). Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6 / CCl_4 -1:4), (δ , м. д., Гц): 1.3 т (3H, $CH_2-\underline{CH_3}$, / 7.1), 4.14 с (2H, O- CH_2), 4.23 к (2H, $\underline{CH_2}CH_3$, / 7.1), 4.65 с (2H, CH_2Cl).

Диэтил-2,2'-оксидиацетат (9). Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6 / CCl_4 -1:4, 300 МГц) (δ , м. д., Гц): 1.29 т (6H, 2 CH_3 , / 7.1), 4.18 с (4H, 2O- CH_2), 4.20 к (4H, 2 $\underline{CH_2}-CH_3$, / 7.1).

Соединения 8 и 9 разделены от соединений 4-6 химическим путем, а друг от друга- хроматографическим путем. Для ТСХ использовали пластинки "Silufol UV-254", элюент-бензол-ацетон, 4:1, проявитель - пары йода.

Пиразол-1-ил-уксусная кислота (10). В круглодонную колбу с обратным холодильником поместили 5 г соединения 4 и добавили 25 мл воды. Реакционную смесь нагревали до температуры кипения воды в течении 10 ч. После охлаждения нейтрализовали водным раствором Na_2CO_3 до щелочной реакции, экстрагировали 50 мл эфи-

ром. Водный раствор упаривали до 1/2 объема и нейтрализовали соляной кислотой, отфильтровывали образовавшиеся белые кристаллы. Получили 2.5 г (70 %) пиразол-1-ил-уксусной кислоты, т. пл. 175-178 °С (вода). ИК спектр, ν , см^{-1} : 1530 (кольцо), 1700 (C=O), 3100-3400 (COOH). Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц): 4.84 с (2H, CH_2), 6.19 дд (1H, 4-H, J_1 2.3 и J_2 1.8), 7.34 д (1H, 5-H, J 1.8), 7.57 д (1H, 3-H, J 2.3), 12.63 уш. с (1H, OH). Найдено, %: C 47.85; H 4.38; N 22.51; $\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_2$. Вычислено, %: C 47.61; H 4.76; N 22.22.

Пиразол-1-ил-уксусная кислота (10). К раствору 6 г (0.15 моля) гидроксида натрия в 50 мл воды при перемешивании добавляли по каплям 15.4 г (0.1 моля) соединения **4** таким образом, чтобы температура смеси не превышала 20-30 °С. Реакционную смесь перемешивали еще 3 ч. Затем смесь экстрагировали хлороформом (1x50 мл), для избавления от органических остатков. После отгонки 2/3 воды раствор калиевой соли пиразол карбоновой кислоты нейтрализовали соляной кислотой, образовавшиеся белые кристаллы отфильтровывали и высушили. Получили 10.0 г (80 %) пиразол-1-ил-уксусной кислоты (10), т. пл. 175-178 °С.

3(5)-Метилпиразол-1-ил-уксусная кислота (11a,б). Аналогично предыдущему, водным гидролизом из 5 г эфира (**5 a,б**), в течении 15 ч. получили 2.8 г (68 %) 3(5)-метилпиразол-1-ил-уксусной кислоты (11a,б). Соотношение 3-метил- и 5-метил- изомеров 3:1 соответственно, т. пл. 160-163 °С (вода). ИК спектр, ν , см^{-1} : 1530 (кольцо), 1680 (C=O), 3100-3400 (COOH). Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц): 2.19 с (3H, 3- CH_3), 2.22 с (3H, 5- CH_3), 4.70 и 4.73 с (2H, N- CH_2), 5.98 д (1H, 4-H, J 2.2), 7.2 д (1H, 3-H, J 1.8), 7.4 д (1H, 5-H J 2.2), 12.60 уш. с (1H, OH). Найдено, %: C 51.12; H 5.64; N 20.35; $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2$. Вычислено, %: C 51.42; H 5.71; N 20.00.

3(5)-Метилпиразол-1-ил-уксусная кислота (11a,б). Аналогично предыдущему, щелочным гидролизом 16.8 г (0.1 моля) этилового эфира 3(5)-метилпиразол-1-ил-уксусной кислоты (**5**), получили 11.5 г (82 %) соединения **11(a,б)**, т. пл. 166-168 °С.

3,5-Диметилпиразол-1-ил-уксусная кислота (12). Аналогично предыдущему, водным гидролизом 5.0 г (0.027 моля) эфира (**6**), в течение 25 ч получили 2.7 г (65 %) 3,5-диметилпиразол-1-ил-уксусной кислоты (12), т. пл. 188-190 °С (вода). ИК спектр, ν , см^{-1} :

1540 (кольцо), 1700 (C=O), 3300-3400 (COOH). Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц): 2.11 с (3H, 3-CH₃), 2.18 с (3H, 5-CH₃), 4.63 с (2H, N-CH₂), 5.71 с (1H, 4-H), 12.57 уш. с (1H, OH). Найдено, %: C 54.85; H 6.73; N 18.32; C₇H₁₀N₂O₂. Вычислено, %: C 54.54; H 6.49; N 18.18.

3,5-Диметилпиразол-1-ил-уксусная кислота (12). Аналогично предыдущему, щелочным гидролизом 18.2 г (0.1 моля) этилового эфира 3,5-диметилпиразол-1-ил-уксусной кислоты (**6**) получили 12.3 г (80 %) 3,5-диметилпиразол-1-ил-уксусной кислоты (**12**), т. пл. 188-190 °С.

2-[3(5)-Метил-1Н-пиразол-1-ил]ацетонитрил (13а,б). Смесь 8.2 г (0.1 моля) 3(5)-метилпиразола (**2**), 22.6 г (0.3 моля) хлорацетонитрила, 1 г ТЭБАХ, 27.6 г (0.2 моля) K₂CO₃ и 150 мл бензола интенсивно перемешивали при 70-75 °С 48 ч. После охлаждения реакционной смеси отфильтровали. Затем отогнали бензол и остаток перегоняли в вакууме. Получили 8.4 г (70 %) 2-[3(5)-метил-1Н-пиразол-1-ил]ацетонитрила (**13 а,б**), т. кип. 98-100 °С / 1 мм рт. ст., n_D^{20} 1.5052. Соотношение 3-метил- и 5-метил изомеров по данным ЯМР ^1H составляет 3:2.

2-(3-Метил-1Н-пиразол-1-ил)ацетонитрил (13а) и 2-(5-метил-1Н-пиразол-1-ил)ацетонитрил (13б). Для разделения смеси изомеров **13а,б** использована ректификационная колонка: длина колонки 30 см, диаметр колонки 4 см, заполненная металлической насадкой, температура верха колонны 105-110 °С, температура куба 150-155 °С, R=5 (флегмовое число). В куб загрузили 120,0 г смеси изомеров **13а,б**. После разделения получили:

а) 45,0 г соединения **13а**, с т. кип. 95-96 °С / 1 мм рт. ст., n_D^{20} 1.5010 (чистота по ЯМР ^1H 97.8%). Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6 /CCl₄-1:4) (δ , м. д., Гц): 2.20 с (3H, 3-CH₃), 4.72 с (2H, N-CH₂), 6.0 д (1H, 4-H, J 2.2), 7.2 д (1H, 5-H, J 2.2).

б) 30.0 г соединения **13б**, с т. кип. 100-102 °С / 1 мм рт. ст., n_D^{20} 1.510 (чистота по ЯМР ^1H 96.5 %). Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6 /CCl₄-1:4) (δ , м. д., Гц): 2.25 с (3H, 5-CH₃), 4.75 с (2H, N-CH₂), 6.0 д (1H, 4-H, J 1.8), 7.5 д (1H, 5-H, J 1.8).

(3-Метил-1Н-пиразол-1-ил)уксусная кислота (11a). Смесь 6.02 г (0.05 моля) 2-(3-метил-1Н-пиразол-1-ил)ацетонитрила (**13a**) и 5.6 г (0.1 моля) едкого кали в 20 мл воде нагревали с обратным холодильником в течение 24 ч до прекращения выделения аммиака. После охлаждения раствор экстрагировали хлороформом, водный слой нейтрализовали соляной кислотой и экстрагировали хлороформом. После отгонки хлороформа образовавшиеся кристаллы перекристаллизовывали из воды. Получили 4.5 г (65 %) соединения **11a**, т. пл. 169-170 °С. Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆ / CCl₄-1:4) (δ , м. д., Гц): 2.19 с (3H, 3-CH₃), 4.70 с (2H, N-CH₂), 5.38 д (1H, 4-H, *J* 2.2), 7.2 д (1H, 5-H, *J* 2.2), 12.60 уш. с (1H, COOH).

(5-Метил-1Н-пиразол-1-ил)уксусная кислота (11b). Аналогично предыдущему из 6.0 г (0.05 моля) нитрила (**13b**) получили 4.02 г (60 %) соединения **11b**, т. пл. 150-151 °С. Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆ / CCl₄-1:4) (δ , м. д., Гц): 2.22 с (3H, 5-CH₃), 4.73 с (2H, N-CH₂), 5.98 д (1H, 4-H, *J* 2.2), 7.4 д (1H, 3-H, *J* 1.8), 12.60 уш. с (1H, COOH).

Синтез пиразолкарбоновых кислот по аза-реакции Михаэля Щелочной гидролиз сложных эфиров 1-(2'-аминоэтил)пиразолов

3-[(2-Пиразол-1-ил)этиламино]пропионовая кислота (22). К 11.1 г (0.1 моля) 1-(2-аминоэтил)пиразола (**14**) при температуре 5-10 °С добавляли по каплям 9.6 г (0.12 моля) метилакрилата и оставили при комнатной температуре на 2 суток. После отгонки избытка метилакрилата остаток (20.2 г) гидролизовали 20 мл водного раствора гидроксида натрия в течение 1 ч. При охлаждении постепенно прибавляли раствор 0.15 моля NaOH в 20 мл воды таким образом, чтобы температура смеси не превышала 20-30 °С. Перемешивание продолжили при комнатной температуре в течение 2 ч, затем экстрагировали эфиром. Образовавшийся раствор натриевой соли 3-[(2-пиразол-1-ил)этиламино]пропионовой кислоты обработали соляной кислотой до слабокислой реакции и оставили при комнатной температуре в "чашке Петри" для испарения воды. Твердый остаток растворили в этиловом спирте, отфильтровали от кристаллов NaCl и после удале-

ния спирта образовавшуюся массу перекристаллизовали из изопропилового спирта. Получили 12.4 г (68 %) 3-[(2-пиразол-1-ил)этиламино]-пропионовой кислоты (**22**), т.пл. 160-163 °С. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1530 (кольцо), 1670 (C=O). Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц): 2.36 т (2H, CH_2CO , J 6.6), 2.81 т (2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$, J 6.6), 3.03 т (2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$, J 6.2), 3.59 ш(2H, NH_2), 4.23 т (2H, CH_2Ar , J 6.2), 6.14 д.д (1H, 4-H, J 2.3 и 1.9), 7.33 д (1H, 3-H, J 1.9), 7.56 д (1H, 5-H, J 2.3). Найдено, %: С 52.85; Н 6.71; N 22.48. $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2$. Вычислено, %: С 52.45; Н 7.10; N 22.95.

3-[2-(3-Метилпиразол-1-ил)этиламино]пропионовая кислота (23). Аналогично предыдущему, из 12.5 г (0.1 моля) 1-(2'-аминоэтил)-3-метилпиразола (**15**) и 9.6 г (0.13 моля) метилакрилата получили 20.5 г метилового эфира 3-[2-(3-метилпиразол-1-ил)-этиламино]-пропионовой кислоты (**19**), гидролизом которого получили 13.7 г (70 %) 3-[2-(3-метил-пиразол-1-ил)этиламино]пропионовой кислоты (**23**), т. пл. 170-173 °С (из изопропилового спирта). ИК спектр, ν , см^{-1} : 1540 (кольцо), 1670 (C=O). Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц): 2.14 с (3H, 3- CH_3); 2.29 т (2H, CH_2CO J 6.6), 2.74 т (2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2.91 т (2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$, J 6.3), 4.08 т (2H, CH_2Ar , J 6.3); 4.36 ш (2H, NH и COOH), 5.97 д (1H, 4-H, J 2.2); 7.55 д (1H, 5-H, J 2.2). Найдено, %: С 54.31; Н 7.12; N 21.83. $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$. Вычислено, %: С 54.82; Н 7.61; N 21.32.

3-[2-(5-Метилпиразол-1-ил)этиламино]пропионовая кислота (24). Аналогично предыдущему, из 12.5 г (0.1 моля) 1-(2'-аминоэтил)-5-метилпиразола (**16**) и 9.6 г (0.13 моля) метилакрилата получили 20.0 г метилового эфира 3-[2-(5-метилпиразол-1-ил)этиламино]пропионовой кислоты (**20**), гидролизом которого получили 12.8 г (65 %) 3-[2-(5-метил-пиразол-1-ил)этиламино]пропионовой кислоты (**24**), т. пл. 178-180 °С (из изопропилового спирта). ИК спектр, ν , см^{-1} : 1550 (кольцо), 1670 (C=O). Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц): 2.25 с (3H, 5- CH_3), 2.30 т (2H, CH_2CO , J 6.6); 2.76 т (2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$, J 6.6), 2.93 т (2H, NH $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$, J 6.4), 4.08 т (2H, CH_2Ar , J 6.4), 4.64 ш (2H, NH и COOH), 5.99 д (1H, 4-H, J 1.9), 7.29 д (1H, 3-H, J 1.9). Найдено, %: С 54.26; Н 7.09; N 21.88. $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$. Вычислено, %: С 54.82; Н 7.61; N 21.32.

3-[2-(3,5-Диметилпиразол-1-ил)этиламино]пропионовая кислота (25). Аналогично предыдущему, из 13.9 г (0.1 моля) 1-(2'-аминоэтил)-3,5-диметилпиразола (**17**) и

9.6 г (0.13 моля) метилакрилата получили 22.0 г метилового эфира 3-[2-(3,5-диметил-пиразол-1-ил)этиламино]пропионовой кислоты (**21**), гидролизом которого получили 15.2 г (72 %), 3-[2-(3,5-диметилпиразол-1-ил)этиламино]пропионовой кислоты (**25**), т. пл. 180-181 °С (из C₂H₅ОН : *изо*-PrОН, 1:1). ИК спектр, ν , см⁻¹: 1540 (кольцо), 1670 (C=O). Спектр ЯМР ¹Н (ДМСО-*d*₆) (δ , м. д., Гц): 2.10 с (3Н, 3-CH₃), 2.22 д (3Н, 5-CH₃, *J* 0.7), 2.32 т (2Н, CH₂O, *J* 6.6), 2.78 т (2Н, CH₂CH₂O, *J* 6.6), 2.92 т (2Н, NHCH₂CH₂Ar, *J* 6.3), 3.52 ш (2Н, NH₂), 3.97 т (2Н, CH₂-Ar, *J* 6.3), 5.65 уш. с (1Н, 4-Н). Найдено, %: С 56.43; Н 8.36; N 19.44. С₁₀H₁₇N₃O₂. Вычислено, %: С 56.87; Н 8.05; N 19.90.

Метилловый эфир 3-[2-(3-метоксикарбонил-этил)-(2'-пиразол-3'-метил-1-ил-этил)-амино]пропионовой кислоты (26). К 12.5 г (0.1 моля) 1-(2'-аминоэтил)-3-метил-пиразола (**15**) при температуре 5-10 °С прикапывали 43.0 г (0.5 моля) метилакрилата (МА) и оставляли при комнатной температуре 24 ч. На следующий день смесь нагревали с обратным холодильником 6 ч. Затем под вакуумом отогнали избыток МА и получили 29.1 г (98 %) кислоты **25**, n_D^{20} 1.4850. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1510 (кольцо), 1750 (C=O). Спектр ЯМР ¹Н (ДМСО-*d*₆) (δ , м. д., Гц): 2.17 с (3Н, 3-CH₃), 2.31 т (4Н, 2COCH₂, *J* 6.9), 2.72 т (4Н, 2NCH₂CH₂CO, *J* 6.9), 2.79 т (2Н, N_{пир}CH₂CH₂N, *J* 6.9), 3.60 с (6Н, 2OCH₃), 4.0 т (2Н, N_{пир}CH₂CH₂N, *J* 6.9), 5.82 д (1Н, 4-Н_{пир}, *J* 2.2), 7.29 д (1Н, 5-Н_{пир}, *J* 2.2). Найдено, %: С 56.38; Н 7.93; N 14.41. С₁₄H₂₃N₃O₄. Вычислено, %: С 56.57; Н 7.74; N 14.14.

Соединение **26** перегоняли при 160-190 °С /1 мм рт. ст. При перегонке 21.9 г соединения **26** получали 18 г продукта. После стоянии в течение недели образовавшиеся кристаллы (**23**) отфильтровали. Получили 2.0 г соединения (**23**), т. пл. 173 °С. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1540 (кольцо), 1670 (C=O). Спектр ЯМР ¹Н (ДМСО-*d*₆) (δ , м. д., Гц): 1.65 ш (1Н, NH), 2.19 с (3Н, 3-CH₃), 2.36 т (2Н, CH₂CO, *J* 6.6), 2.80 т (2Н, NCH₂CH₂O, *J* 6.2), 2.91 т (2Н, N-CH₂, *J* 6.2), 3.60 с (3Н, OCH₃), 4.00 т (2Н, CH₂Ar, *J* 6.2), 5.82 д (1Н, 4-Н, *J* 2.2), 7.38 д (1Н, 5-Н, *J* 2.2). Найдено, %: С 54.56; Н 7.83; N 21.59. С₉H₁₅N₃O₂. Вычислено, %: С 54.82; Н 7.61; N 21.32.

При повторной перегонке фильтрата получили:

а) 3.7 г 1-(2'-аминоэтил)-3-метилпиразола (**15**) т. кип. 60 °С / 1 мм рт. ст., n_D^{20} 1.5030. Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц): 1.40 ш (2H, NH_2), 2.18 с (3H, 3- CH_3), 2.95 т (2H, CH_2NH_2 , J 5.9), 3.98 т (2H, NCH_2 , J 5.9), 5.88 д (1H, 4-H, J 2.2), 7.34 д (1H, 5-H, J 2.2).

б) 8.0 г продукта с т. кип. 140-149 °С / 1 мм рт. ст., который по данным ЯМР ^1H спектров представляет собой смесь соединений **19** и **26** в соотношении 3:2 соответственно.

3-[2-(3-Метоксикарбонил-этил)-(2'-пиразол-3'-метил-1-ил-этил)амино]пропионовая кислота (27**)**. К 4.3 г (0.034 моля) 1-аминоэтил-3-метилпиразола добавили 14.7 г (0.172 моля) метакрилата (охлаждая ледяной водой) и оставили при комнатной температуре на 27 ч. Затем нагревали с обратным холодильником в течение 6 ч. Избыток метакрилата отгоняли в вакууме, остаток при перемешивании гидролизовали водным раствором NaOH. Продолжали перемешивание в течении 3-х ч при комнатной температуре. Реакционную смесь экстрагировали эфиром, хлороформом, затем подкисляли соляной кислотой до слабокислой реакции. Сушили при комнатной температуре в чашке Петри. Твердую массу перекристаллизовывали из изопропилового спирта. Получили 6.6 г (72 %) кислоты **27**, т. пл. 150-152 °С. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1520 (кольцо), 1760 ($\text{C}=\text{O}$), 3200-3300 (COOH). Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц): 2.18 с (3H, 3- CH_3), 2.65 м (4H, 2 CH_2O), 3.00 м (4H, 2 NCH_2CH_2), 3.20 т (2H, NCH_2CH_2 , J 6.2), 4.38 т (2H, NCH_2CH_2 , J 6.2), 5.91 д (1H, 4-H, J 2.2), 7.45 д (1H, 5-H, J 2.2), 1,25 уш. с (1H, COOH). Найдено, %: С 53.91; Н 7.43; N 15.31 $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4$. Вычислено, %: С 53.53; Н 7.06; N 15.61.

Синтез пиразолкарбоновых кислот на базе формилпиразолов **Окисление N-алкил-3-метил- и N-алкил-5-метил-4-формилпиразолов** **в условиях межфазного катализа**

Общая методика окисления 4-формилпиразолов 36-41. К смеси 0,01 моля соответствующего 4-формилпиразола, 6,0 г воды, 5 мл бензола и 0,3 г ТЭБАХ при перемешивании порциями добавляли 1,6 г (0,01 моля) перманганата калия таким образом, чтобы температура реакционной среды не превышала 20 °С. Реакционную смесь переме-

шивали в течение 12 ч при 30 °С, затем фильтрацией реакционную смесь отделили от MnO_2 и промыли водой. Водный слой обработали эфиром для избавления от органических остатков, раствор калиевой соли 4-пиразолкарбоновой кислоты нейтрализовывали соляной кислотой, выпавшие белые кристаллы отфильтровали и сушили. Получили:

0.98 г (70 %) **1,3-диметил-4-пиразолкарбоновой кислоты (42)**, т. пл. 182 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1520 (кольцо); 1730 ($C=O$); 3200-3400 (ОН). Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц): 2.22 с (3H, 3- CH_3), 3.82 с (3H, N- CH_3), 7.92 с (1H, 5-H), 12.2 м (1H, ОН). Найдено, %: С 51.67; Н 5.48; N 18.72. $C_6H_8N_2O_2$. Вычислено, %: С 51.42; Н 5.75; N 19.99;

1.01 г (72 %) **1,5-диметил-4-пиразолкарбоновой кислоты (45)**, т. пл. 186 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1520 (кольцо); 1730 ($C=O$); 3200-3400 (ОН). Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц): 2.43 с (3H, 5- CH_3), 3.80 с (3H, N- CH_3), 7.65 с (1H, 3-H), 12 ш (ОН). Найдено, %: С 51.67; Н 5.98; N 18.84. $C_6H_8N_2O_2$. Вычислено, %: С 51.42; Н 5.75; N 19.99;

1.16 г (75 %) **1-этил-3-метил-4-пиразолкарбоновой кислоты (43)**, т. пл. 164 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1530 (кольцо); 1730 ($C=O$); 3200-3400 (ОН). Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц): 1.42 т (3H, CH_2CH_3 , J 7.2), 2.32 с (3H, 3- CH_3), 4.12 к (2H, NCH_2 , J 7.2), 7.95 с (1H, 5-H), 11.6 ш (ОН). Найдено, %: С 53.84; Н 6.27; N 18.52. $C_7H_{10}N_2O_2$. Вычислено, %: С 54.54; Н 6.49; N 18.18;

1.11 г (72 %) **1-этил-5-метил-4-пиразолкарбоновой кислоты (46)**, т. пл. 149-150 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1530 (кольцо), 1730 ($C=O$); 3200-3400 (ОН). Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6 / CCl_4 -1:3) (δ , м. д., Гц): 1.39 т (3H, CH_2CH_3 , J 7.2), 2.51 с (3H, 5- CH_3), 4.10 к (2H, NCH_2 , J 7.2), 7.70 с (1H, 3-H), 11.0 ш (1H, ОН). Найдено, %: С 53.72; Н 6.42; N 18.39. $C_7H_{10}N_2O_2$. Вычислено, %: С 54.54; Н 6.49; N 18.18;

1.26 г (75 %) **1-пропил-3-метил-4-пиразолкарбоновой кислоты (44)**, т. пл. 128 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1540 (кольцо); 1730 ($C=O$); 3100-3300 (ОН). Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6 / CCl_4 -1:3) (δ , м. д., Гц): 0.99 т (3H, CH_2CH_3 , J 7.0), 1.95 к (2H, CH_2CH_3 , J 7.0 и 7.2), 2.39 с (3H, 3- CH_3), 3.99 т (2H, NCH_2 , J 7.2), 7.93 с (1H, 5-H), 11.55 ш (1H, ОН).

Найдено, %: С 56.89; Н 6.79; N 16.41. $C_8H_{12}N_2O_2$. Вычислено, %: С 57.14; Н 7.14; N 16.67;

1.18 г (70%) **1-пропил-5-метил-4-пиразолкарбоновая кислота (47)**, т. пл. 91 °С. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1540 (кольцо); 1730 (C=O); 3200-3400 (ОН). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-d₆ / CCl₄- 1:3) (δ , м. д., Гц): 0.95 т (3H, CH₂-CH₃, J 7.0), 1.93 к (2H, CH₂-CH₃, J 7.0 и 7.2), 2.51 с (3H, 5-CH₃), 3.99 т (2H, NCH₂, J 7.2), 7.62 с (1H, 3-H), 11.8 ш (ОН). Найдено, %: С 56.74; Н 7.38; N 16.88. C₈H₁₂N₂O₂. Вычислено, %: С 57.14; Н 7.14; N 16.67.

Формилирование 1H-пиразолов по Вильсмейру-Хааку и окисление полученных 4-формилпиразолов в условиях межфазного катализа

Метилловый эфир 3-(пиразол-1'-ил)пропионовой кислоты (48). Смесь 6.8 г (0,1 моля) пиразола (1), 9,5 г (0,11 моля) метилового эфира акриловой кислоты и 0,1 г гидрохинона нагревали с обратным холодильником в течении 8 ч при температуре 90 °С. После удаления избытка метилового эфира акриловой кислоты остаток перегоняли в вакууме. Получили 12.3 г (80 %) метилового эфира 3-(пиразол-1'-ил)пропионовой кислоты (**48**), т. кип. 81 °С /1 мм рт. ст., n_D^{20} 1.4751. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1510 (кольцо), 1730 (C=O). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-d₆) (δ , м. д., Гц): 2.84 т (2H, CH₂CH₂, J 6,2), 3,65 с (3H, O-CH₃), 4.25 т (2H, NCH₂, J 6.2), 6.13 д.д (1H, 4-H, J 2,3 и 1,9), 7.32 д (1H, 3-H, J 1.9), 7.53 д (1H, 5-H, J 2,3), Найдено, %: С 54.60; Н 6.50; N 18.24. C₇H₁₀N₂O₂. Вычислено, %: С 54.55; Н 6.54; N 18.17.

Метилловый эфир 3-[3'(5')-метилпиразол-1'-ил]пропионовой кислоты (49). Аналогично предыдущему получили 16.2 г (96 %) метилового эфира 3-[3'(5')-метилпиразол-1'-ил]пропионовый кислоты (**49**), т. кип. 94-97 °С /1 мм рт. ст., n_D^{20} 1.4792. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1520 (кольцо), 1730 (C=O). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-d₆) (δ , м. д., Гц): 2.19 с (3H, 3-CH₃), 2.30 с (3H, 5-CH₃), 2.85 м (2H, CH₂CH₂), 3.6 с (3H, O-CH₃), 4.25 м (2H, NCH₂), 5.9 д (1H, 4-H, J 2.3), 7.35д (1H, 5-H J 2.3), 7.20д (1H, 3-H J 2.3). Найдено, %: С 57.34; Н 7.29; N 16.38. C₈H₁₂N₂O₂. Вычислено, %: С 57.14; Н 7.14; N 16.67.

Метилловый эфир 3-(4'-формилпиразол-1'-ил)пропионовой кислоты (51). Смесь 14.4 г (0,1 моля) метилового эфира 3-(пиразол-1'-ил)пропионовой кислоты (**48**) и 95 г (0,6 моля), диметилформамида при перемешивании нагрели до 90 °С, затем при пере-

мешивании к содержимому колбы осторожно в течении 1 ч прибавили 30,0 г (0,2 моля) хлорокси фосфора таким образом, чтобы температура экзотермической реакции не превышала 120 °С. Реакционную смесь охладили ледяной водой и нейтрализовали водным раствором Na₂CO₃. Экстрагировали хлороформом и сушили сернокислым магнием. После отгонки растворителя остаток перегоняли в вакууме. Получили 12,4 г (68 %) кислоты **51**, т. кип. 162 °С /3 мм рт. ст., n_D^{20} 1.5112. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1510 (кольцо), 1700 (CHO). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆) (δ, м. д., Гц): 2.82 т (2H, CH₂CH₂, J 6.0), 3.60 с (3H, OCH₃), 4.25 т (2H, NCH₂, J 6.0), 7.30 с (1H, 3-H), 7.50 с (1H, 5-H), 9.80 с (1H, CHO). Найдено, %: С 52.70; Н 5.57; N 15.43. C₈H₁₀N₂O₃. Вычислено, %: С 52.74; Н 5.53; N 15.38.

Метилловый эфир 3-(4'-формил-3'(5')-метилпиразол-1'-ил)пропионовой кислоты (52). Аналогично предыдущему получили 14 г (72 %) метилового эфира 3-(4'-формил-3'(5')-метилпиразол-1'-ил)пропионовой кислоты (**52**), т. кип. 138-141 °С /1 мм рт. ст., n_D^{20} 1.5125. ИК спектр ν , см⁻¹: 1530 (кольцо), 1650 (CHO). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆) (δ, м. д., Гц): 2.19 с (3H, 3-CH₃), 2.30 с (3H, 5-CH₃), 2.85 м (2H, NCH₂), 3.65 с (3H, OCH₃), 4.25 м (2H, CH₂CH₂), 7.20 -7.35с (1H, 3(5)-H), 9.80с (1H, CHO,). Найдено, %: С 55.28; Н 6.21; N 14.31. C₉H₁₀N₂O₃. Вычислено, %: С 55.09; Н 6.16; N 14.28.

3-(4'-Формилпиразол-1'-ил)пропионовая кислота (54). Смесь 16.8 г (0,1 моля) метилового эфира 3-(4'-формилпиразол-1'-ил)пропионовой кислоты (**52**), 8,0 г (0.2 моля) едкого натра и 50 мл воды перемешивали при комнатной температуре 3 ч. Продукт реакции экстрагировали эфиром, водный экстракт нейтрализовали соляной кислотой и отфильтровали образовавшиеся кристаллы. Получили 10,4 г (65%) 3-(4'-формилпиразол-1'-ил)пропионовой кислоты (**54**), т. пл. 98 °С (из воды). ИК спектр, ν , см⁻¹: 1510 (кольцо), 1680 (CHO), 1720 (C=O), 3200-3330(OH) . Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆) (δ, м. д., Гц): 2.82 т (2H, CH₂CH₂, J 6.1), 4.25 т (2H, NCH₂, J 6.1), 7.31 с (1H, 3-H), 7.52 с (1H, 5-H), 9.80 с (1H, CHO), 12,0 с (1H, OH). Найдено, %: С 49.90; Н 4.83; N 16.69. C₇H₈N₂O₃. Вычислено, %: С 50.00; Н 4.80; N 16.66.

3-(4'-Формил-3'(5')-метилпиразол-1'-ил)пропионовая кислота (55). Аналогично предыдущему получили 12,0 г (65%) кислоты **55**, т. пл. 120-125 °С (из воды). ИК спектр ν , см⁻¹: 1530 (кольцо), 1680 (CHO), 1700 (C=O), 3200-3330(OH). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆), (δ, м. д., Гц): 2.38 с (3H, 3-CH₃), 2.45 с (3H, 5-CH₃), 2.82 м (2H, NCH₂), 4.32 м (2H, NCH₂CH₂), 7.82 -7.88с (1H, 3(5)-H), 9.81с (1H, CHO), 12.0с (1H, OH) . Найдено, %: C 52.85; H 5.58; N 15.42. C₈H₁₀N₂O₃. Вычислено, %: C 52.74; H 5.53; N 15.38.

3(5)-Метил-4-формилпиразол (57). Смесь 5.5 г (0,05 моля) 3-(4'-формил-3'(5')-метилпиразол-1'-ил)пропионовой кислоты (**55**) перегоняли при 250 °С /3 мм рт. ст.. Конденсат нейтрализовали поташом, обработали хлороформом и сушили серноокислым магнием. После отгонки растворителя остаток закристаллизовался. Получили 3.3 г (30%) 3(5)-метил-4-формилпиразола (**57**), т. пл. 108-110 °С. ИК спектр ν , см⁻¹: 1520 (кольцо), 1680 (CHO). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆) (δ, м. д., Гц): 2.42 с (3H, 3(5)-CH₃), 7.82 с (1H, 3(5)-H), 9.81 с (1H, CH₂O), 14 ш (1H, NH). Найдено, %: C 53.69; H 5.47; N 25.48. C₅H₆N₂O. Вычислено, %: C 54.54; H 5.49; N 25.44.

3-Метил-1H-пиразол-4-карбоновая кислота (59). В круглодонную колбу с обратным холодильником поместили 3.5 г (0,03 моля) 3-метил-4-формилпиразола (**57**) и 0,2 г ТЭБАХ, добавили 15 мл воды, 10 мл бензола и перемешивали. При перемешивании к раствору порциями добавляли 1,9 г (0,012 моля) перманганата калия таким образом, чтобы температура реакционной среды не превышала 30 °С. Продолжали перемешивание при комнатной температуре 12 ч. Затем отфильтровали MnO₂ и промыли водой. Водный слой нейтрализовали соляной кислотой. Выпавшие белые кристаллы отфильтровывали и сушили. Выход 3.02 г (80 %) соединения (**59**), т. пл. 243-246 °С. ИК спектр ν , см⁻¹: 1520 (кольцо), 1720 (CO), 3200-3300(COOH). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆) (δ, м. д., Гц): 2.25 с (3H, 3-CH₃), 7.68 с (1H, 5-H), 11.5 ш с (1H, COOH). Найдено, %: C 47.22; H 4.91; N 22.62 C₅H₆N₂O₂. Вычислено, %: C 47.62; H 4.76; N 22.22.

3,5-Диметил-1H-пиразол-4-карбоновая кислота (60). Аналогично предыдущему из 3.5 г (0,028 моля) 3,5-диметил-4-формилпиразола (**58**). Получили 3.4 г (85 %) кислоты **60**, т. пл. 270-271 °С. ИК спектр ν , см⁻¹: 1520 (кольцо), 1720 (CO), 3200-3300(COOH).

Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMCO}-d_6$) (δ , м. д., Гц): 2.15 с (6H, 3,5- CH_3), 12.5 ш с (1H, COOH). Найдено, %: C 51.63; H 5.39; N 20.95 $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2$. Вычислено, %: C 51.43; H 5.71; N 20.00.

Синтез пиразолкарбоновых кислот на основе 1-винил-4-формилпиразолов

4-Пиразолкарбоновая кислота (70). К 25 мл 10%-ного водного раствора ацетонитрила и 6.2 г (0,02 моля) ацетата ртути при перемешивании добавили 1,0 г (0,0095 моля) 1-винил-4-формилпиразола (**61**) в 25 мл ацетонитриле. Реакционную смесь перемешивали при температуре 50 °С в течение 5 ч, затем порциями осторожно добавили 0.57 г (0,015 моля) NaBH_4 . После прекращения выделения газа, смесь отфильтровали, разбавили водой и экстрагировали эфиром. Водный раствор натриевой соли 4-пиразолкарбоновой кислоты при охлаждении нейтрализовали раствором соляной кислоты. Под вакуумом удаляли воду, образовавшиеся белые кристаллы растворили в этаноле, нерастворимую часть (NaCl) отфильтровали. После удаления этанола образовавшиеся кристаллы отфильтровали. Получили 0.4 г (45 %) 4-пиразолкарбоновой кислоты (**70**), т. пл. 281-283 °С. ИК спектр ν , cm^{-1} : 1680 (CO), 3100-3400(COOH). Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMCO}-d_6$) (δ , м. д., Гц): 6.20 дд (1H, 4-H, J 2.3 и 1.8), 7.35 д (1H, 5-H, J 1.8), 7.59 д (1H, 3-H, J 2.83), 12.5 ш с (1H, COOH, NH). Найдено, %: C 42.97; H 3.38; N 24.85 $\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2$. Вычислено, %: C 42.85; H 3.57; N 25.00.

3(5)-Метил-1H-пиразол-4-карбоновая кислота (59). Аналогично предыдущему из 1,0 г (0,0074 моля) 1-винил-3-метил-4-формилпиразола (**62**) получили 0.47 г (50 %) 3(5)-метил-1H-пиразол-4-карбоновой кислоты (**59**), т. пл. 243-246 °С [125].

3,5-Диметил-1H-пиразол-4-карбоновая кислота (60). Аналогично предыдущему из 1,0 г (0,0066 моля) 1-винил-3,5-диметил-4-формилпиразола (**64**) получили 0.44 г (48 %) 3,5-диметил-1H-пиразол-4-карбоновой кислоты (**60**), т. пл. 270-271 °С [125].

Синтез функциональнозамещенных 4-пиразолкарбоновых кислот

Синтез 1-(2'-гидроксиэтил)-4-пиразолкарбоновых кислот

Формилирование 1-(2'-гидроксиэтил)пиразолов

1-(2'-Хлорэтил)пиразол (83). К смеси 11.2 г (0.1 моля) 2-(1Н-пиразол-1-ил)этанола (71) и 95.0 г (0.6 моля) диметилформамида при перемешивании и нагревании до 90 °С в течение 1 ч осторожно прибавили 30.0 г (0.2 моля) хлорокиси фосфора таким образом, чтобы температура экзотермической реакции не превышала 120 °С. Реакционную смесь перемешивали 1 ч при 100 °С. После охлаждения нейтрализовали водным раствором Na_2CO_3 . Продукт реакции экстрагировали хлороформом и сушили сульфатом магния. После удаления растворителя остаток перегоняли в вакууме. Получили 9.7 г (75 %), 1-(2'-хлорэтил)-пиразола (**83**), т. кип. 47-48 °С / 1 мм. рт. ст., n_D^{20} 1.5020, d_4^{20} 1.1190. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1520 (кольцо). Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMSO}-d_6$) (δ , м. д., Гц): 3.81 т (2Н, NCH_2 , J 6.0), 4.42 т (2Н, $-\text{CH}_2\text{Cl}$, J 6.0), 6.26 д д. (1Н, 4-Н, J 2.0 и J 2.4), 7.50 д (1Н, 3-Н, J 2.4), 7.58 д (1Н, 5-Н, J 2.0). Найдено, %: С 45.44; Н 5.79; N 21.68; Cl 27.45. $\text{C}_5\text{H}_7\text{N}_2\text{Cl}$. Вычислено, %: С 45.98; Н 5.36; N 21.46; Cl 27.20.

1-(2'-Хлорэтил)-3-метилпиразол (84). Аналогично предыдущему, из 12.6 г 2-(3-метил-1Н-пиразол-1-ил)этанола (72) получили 11.6 г (80 %) пиразола **84**, т. кип. 55-60 °С / 1 мм. рт. ст., n_D^{20} 1.5030. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1530 (кольцо). Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMSO}-d_6$) (δ , м. д., Гц): 2.16 с (3Н, 3- CH_3), 3.70 т (2Н, CH_2Cl , J 6.0), 4.38 т (2Н, NCH_2 , J 6.0), 5.85 д (1Н, 4-Н, J 2.0), 7.42 д (1Н, 5-Н, J 2.0). Найдено, %: С 49.49; Н 6.55; N 19.11; Cl 24.21. $\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_2\text{Cl}$. Вычислено, %: С 49.83; Н 6.23; N 19.38; Cl 24.57.

1-(2'-Хлорэтил)-5-метилпиразол (85). Аналогично предыдущему, из 12.6 г 2-(5-метил-1Н-пиразол-1-ил)этанола (73) получили 10.3 г (71.5 %), пиразола **85** т. кип. 63-65 °С / 1 мм. рт. ст., n_D^{20} 1.5050. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1540 (кольцо). Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMSO}-d_6$) (δ , м. д., Гц): 2.18 с (3Н, 5- CH_3), 3.72 т (2Н, CH_2Cl , J 6.0), 4.40 т (2Н, NCH_2 , J 6.0), 5.85 д (1Н, 4-Н, J 2.0), 7.22 д (1Н, 3-Н, J 2.0). Найдено, %: С 52.87; Н 7.03; N 17.24; Cl 22.48. $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{N}_2\text{Cl}$. Вычислено, %: С 53.00; Н 6.94; N 17.67; Cl 22.40.

1-(2-Гидроксиэтил)-1Н-пиразол-4-карбальдегид (75). К смеси 15.4 г (0.1 моля) 2-(1Н-пиразол-1-ил)этилацетата (**87**) и 95.0 г (0.6 моля) диметилформамида при перемешивании и нагревании до 90 °С осторожно прибавляли 30.0 г (0.2 моля) хлорокиси фосфора таким образом, чтобы температура реакции не превышала 120 °С. Затем реакционную смесь перемешали при 100 °С 1 ч, охладили и нейтрализовали водным раствором Na₂CO₃. Продукты реакции экстрагировали хлороформом и сушили сульфатом магния. После удаления растворителя остаток перегоняли в вакууме и собирали фракцию с т. кип. 150-155 °С / 1 мм. рт. ст., которая по данным ЯМР ¹H представляет смесь 2-(4-формил-1Н-пиразол-1-ил)этилацетата (**91**) и 1-(2-хлорэтил)-1Н-пиразол-4-карбальдегида (**95**). Полученную смесь гидролизовали раствором 8.0 г (0.2 моля) NaOH в 50 мл воды при перемешивании в течение 3 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь экстрагировали эфиром, затем хлороформом. После удаления хлороформа остаток перегоняли в вакууме. Получили 9.7 г (69 %) карбальдегида **75**, т. кип. 160-170 °С / 1 мм. рт. ст., n_D^{20} 1.5370. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1520 (кольцо), 1680 (CHO), 3200-3400 (OH). Спектр ЯМР ¹H (DMCO-*d*₆) (δ, м. д., Гц): 3.82 к (2H, CH₂OH, *J* 5.13), 4.22 т (2H, NCH₂, *J* 5.3), 4.56 т (1H, OH, *J* 5.5), 7.32 с (1H, 3-H), 7.53 с (1H, 5-H), 9.80 с (CHO). Найдено, %: C 51.87; H 5.83; N 20.95. C₆H₈N₂O₂. Вычислено, %: C 51.42; H 5.72; N 20.00.

Из эфирного экстракта получили 1.3 г (8 %) **1-(2-хлорэтил)-1Н-пиразол-4-карбальдегида (95)**, т. кип. 151 °С / 1 мм. тр. ст., n_D^{20} 1.5395. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1520 (кольцо), 1680 (CHO). Спектр ЯМР ¹H (DMCO-*d*₆) (δ, м. д., Гц): 2.46 т (2H, CH₂Cl, *J* 6.1), 3.93 т (2H, NCH₂, *J* 6.1), 7.73 с (1H, 3-H), 8.14 с (1H, 5-H), 9.80 с (1H, CHO). Найдено, %: C 45.73; H 4.68; N 18.05; Cl 22.73. C₆H₇N₂Cl. Вычислено, %: C 45.43; H 4.42; N 17.67; Cl 22.74.

1-(2-Гидроксиэтил)-3-метил-1Н-пиразол-4-карбальдегид (76). Аналогично предыдущему, из 16.8 г (0.1 моля) 2-(3-метил-1Н-пиразол-1-ил)этилацетата (**88**) получили 8.9 г (63 %) карбальдегида **76**, т. кип. 168-175 °С / 1 мм. рт. ст., т. пл. 82 °С (гексан). ИК спектр, ν , см⁻¹: 1530 (кольцо), 1680 (CHO), 3200-3400 (OH). Спектр ЯМР ¹H (DMCO-*d*₆) (δ, м. д., Гц): 2.41 с (3H, 3-CH₃), 3.72 к (2H, CH₂OH, *J* 5.6), 4.51 т (2H, NH₂, *J* 5.6),

4.62 т (1H, OH, J 5.6), 8.35 с (1H, 5-H), 9.8 с (1H, CHO). Найдено, %: С 52.69; Н 5.83; N 17.95. $C_7H_{10}N_2O_2$. Вычислено, %: С 54.54; Н 6.49; N 18.19.

1-(2-Хлорэтил)-3-метил-1Н-пиразол-4-карбальдегид (96). Аналогично предыдущему получили 1.7 г (10 %), т. кип. 130-140 °С / 1 мм. рт. ст., т. пл. 37-38 °С (CCl_4), n_D^{20} 1.5370. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1530 (кольцо), 1670 (CHO). Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц): 2.40 с (3H, 3- CH_3), 3.93 т (2H, NCH_2 , J 5.8), 4.41 т (2H, CH_2Cl , J 5.9), 8.24 с (1H, 5-H), 9.82 с (1H, CHO). Найдено, %: С 48.69; Н 5.72; N 16.73; Cl 20.81. $C_7H_9N_2ClO$. Вычислено, %: С 48.86; Н 5.21; N 16.23; Cl 20.57.

1-(2-Гидроксиэтил)-5-метил-1Н-пиразол-4-карбальдегид (77). Аналогично предыдущему из 16.8 г (0.1 моля) 2-(5-метил-1Н-пиразол-1-ил)этилацетата (**89**) получили 8.0 г (56.6 %) карбальдегида **77**, т. кип. 177 °С / 1 мм. рт. ст., n_D^{20} 1.5325. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1550 (кольцо), 1670 (CHO), 3200-3400 (OH). Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц): 2.26 с (3H, 5- CH_3), 3.70 к (2H, $\underline{CH_2OH}$, J 5.6), 4.62 т (1H, OH, J 5.6), 8.12 с (1H, 3-H), 9.8 с (1H, CHO).

1-(2-Хлорэтил)-5-метил-1Н-пиразол-4-карбальдегид (97). Аналогично предыдущему получили 1.5 г (8.5 %) карбальдегида **97**, т. кип. 130-135 °С / 1 мм. рт. ст., n_D^{20} 1.5425. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1530 (кольцо), 1690 (CHO). Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц): 2.45 с (3H, 5- CH_3), 3.95 т (2H, NCH_2 , J 5.9), 4.42 т (2H, CH_2Cl , J 5.9), 7.95 с (1H, 3-H), 9.9 с (1H, CHO). Найдено, %: С 45.84; Н 4.58; N 18.23; Cl 22.68. $C_6H_7N_2Cl$. Вычислено, %: С 45.43; Н 4.42; N 17.67; Cl 22.40.

1-(2-Гидроксиэтил)-3,5-диметил-1Н-пиразол-4-карбальдегид (78). Аналогично предыдущему из 17.0 г (0.1 моля) 2-(3,5-диметил-1Н-пиразол-1-ил)этилацетата (**90**) получили 12.0 г (75 %) карбальдегида **78**, т. кип. 160-170 °С / 1 мм. рт. ст., т. пл. 64-66 °С (CCl_4). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1510 (кольцо), 1680 (CHO). Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц): 2.34 с (3H, 3- CH_3), 2.52 с (3H, 5- CH_3), 2.73 к (2H, OCH_2 , J 5.4), 4.02 т (2H, NCH_2 , J 5.4), 4.68 т (1H, OH, J 5.4), 9.81 с (1H, CHO).

1-(2-Хлорэтил)-3,5-диметил-1Н-пиразол-4-карбальдегид (98). Аналогично предыдущему получили 1.9 г (~10 %) карбальдегида **98** т. кип. 140-145 °С / 1 мм. рт. ст., т. пл. 50 °С (CCl_4). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1535 (кольцо), 1670 (CHO). Спектр ЯМР 1H (ДМСО-

d_6) (δ , м. д., Гц): 2.36 с (3H, 3-CH₃), 2.54 с (3H, 5-CH₃), 3.93 т (2H, NCH₂, J 5.9), 4.31 т (2H, CH₂Cl, J 5.9), 9.84 с (1H, CHO). Найдено, %: С 51.63; Н 6.12; N 15.42; Cl 12.27. C₆H₇N₂Cl. Вычислено, %: С 51.47; Н 5.90; N 15.01; Cl 19.09.

2-(4-Формил-1Н-пиразол-1-ил)этилацетат (91). Смесь 14.0 г (0.1 моля) 1-(2'-гидроксиметил)-4-формилпиразола (**75**), 25.1 г (0.25 моля) уксусного ангидрида в 100 мл бензоле с обратным холодильником нагрели 1 ч, затем отогнали весь бензол при температуре 75-78 °С. После охлаждения реакционную смесь нейтрализовали водным раствором Na₂CO₃ и экстрагировали хлороформом. После удаления хлороформа остаток перегоняли в вакууме. Получили 15.4 г (84 %) 2-(4-формил-1Н-пиразол-1-ил)этилацетата (**91**), т. кип. 140 °С / 1 мм. рт. ст., n_D^{20} 1.5215. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1510 (кольцо), 1690 (C=O). Найдено, %: С 52.98; Н 5.18; N 15.65. C₈H₁₀N₂O₃. Вычислено, %: С 52.74; Н 5.49; N 15.38.

2-(3-Метил-4-формилпиразол-1-ил)этилацетат (92). Аналогично предыдущему из 15.4 г (0.1 моля) 1-(2'-гидроксиметил)-4-формил-3-метилпиразола (**76**) получили 16.0 г (81.6 %) соединения **92**, т. кип. 145 °С / 1 мм. рт. ст., n_D^{20} 1.5270. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1520 (кольцо), 1700 (C=O). Найдено, %: С 55.44; Н 6.34; N 14.55. C₉H₁₂N₂O₃. Вычислено, %: С 55.10; Н 6.12; N 14.28.

2-(5-Метил-4-формилпиразол-1-ил)этилацетат (93). Аналогично предыдущему из 15.4 г (0.1 моля) 1-(2'-гидроксиметил)-4-формил-5-метилпиразола (**77**) получили 16.5 г (84.1 %) соединения **93**, т. кип. 149 °С / 1 мм. рт. ст., n_D^{20} 1.5300. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1520 (кольцо), 1700 (C=O). Найдено, %: С 55.51; Н 6.34; N 14.48. C₉H₁₂N₂O₃. Вычислено, %: С 55.10; Н 6.12; N 14.28.

2-(3,5-Диметил-4-формилпиразол-1-ил)этилацетат (94). Аналогично предыдущему, из 16.8 г (0.1 моля) 1-(2'-гидроксиметил)-4-формил-3,5-диметилпиразола (**78**) получили 15.4 г (73.3 %) соединения **94**, т. кип. 155 °С / 1 мм. рт. ст., n_D^{20} 1.535. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1530 (кольцо), 1700 (C=O). Найдено, %: С 57.48; Н 6.35; N 13.55. C₁₀H₁₄N₂O₃. Вычислено, %: С 57.14; Н 6.66; N 13.33.

1-Карбоксиметилпиразол-4-карбоновая кислота (99). Смесь 14.0 г (0.1 моля) 1-(2'-гидроксиэтил)-1Н-пиразол-4-карбальдегида (**75**), 50 мл воды, 50 мл бензола и 1.0 г

ТЭБАХ перемешивали при 60°C и порциями добавляли 79 г (0,5 моля) перманганата калия таким образом, чтобы температура реакционной среды не превышала 60 °С. По окончании добавления перманганата калия смесь перемешивали в течение 2 ч при 60 °С. После охлаждения фильтровали MnO_2 и промыли водой. Из водного слоя остатки органических соединений экстрагировали эфиром. После отгонки 2/3 объема воды, водный раствор калиевой соли кислоты **99** нейтрализовали соляной кислотой, выпавшие кристаллы отфильтровали и сушили. Получили 5.8 г (34.0 %) кислоты **99**, т. пл. 199-201 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1510 (кольцо), 1730 (CO), 3200-3400 (COOH). Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц): 4.71 с (2H, CH_2), 7.48 с (1H, 3-H), 7.58 с (1H, 5-H), 11.80 уш. с (2H, COOH). Найдено, %: C 42.58; H 3.81; N 16.69. $C_6H_6N_2O_4$. Вычислено, %: C 42.35; H 3.52; N 16.47.

3-Метил-1-карбоксиметилпиразол-4-карбоновая кислота (100). Аналогично предыдущему, из 15.4 г (0.1 моля) 1-(2'-гидроксиэтил)-3-метилпиразол-4-карбальдегида (**76**) получили 6.5 г (35.3 %) кислоты **100**, т. пл. 205-206 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1520 (кольцо), 1730 (CO), 3200-3400 (COOH). Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц): 2.13 с (3H, 3- CH_3), 4.75 с (2H, CH_2), 7.40 с (1H, 5-H), 11.90 уш. с (2H, COOH). Найдено, %: C 45.39; H 4.62; N 15.51. $C_7H_8N_2O_4$. Вычислено, %: C 45.65; H 4.34; N 15.21.

5-Метил-1-карбоксиметилпиразол-4-карбоновая кислота (101). Аналогично предыдущему, из 15.4 г (0.1 моля) 1-(2'-гидроксиэтил)-5-метилпиразол-4-карбальдегида (**77**) получили 7.2 г (39.0 %) кислоты **101**, т. пл. 190-200 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1520 (кольцо), 1730 (CO), 3200-3400 (COOH). Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц): 2.15 с (3H, 5- CH_3), 4.70 с (2H, CH_2), 7.28 с (1H, 3-H), 11.90 уш. с (2H, COOH). Найдено, %: C 45.35; H 4.12; N 14.95. $C_7H_8N_2O_4$. Вычислено, %: C 45.65; H 4.34; N 15.21.

3,5-Диметил-1-карбоксиметилпиразол-4-карбоновая кислота (102). Аналогично предыдущему, из 16.8 г (0.1 моля) 1-(2'-гидроксиэтил)-3,5-диметилпиразол-4-карбальдегида (**78**) получили 8.0 г (40.5 %) кислоты **102**, т. пл. 210 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1530 (кольцо), 1730 (CO), 3200-3400 (COOH). Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6) (δ , м. д., Гц):

2.30 с (3H, 3-CH₃), 2.42 с (3H, 5-CH₃), 4.72 с (2H, CH₂), 11.82 уш. с (2H, COOH). Найдено, %: С 48.21; Н 5.38; N 14.38. C₈H₁₀N₂O₄. Вычислено, %: С 48.48; Н 5.05; N 14.14.

1-(2-Ацетоксиэтил)-пиразол-4-карбоновая кислота (103). К смеси 18.2 г (0.1 моля) 2-(4-формилпиразол-1-ил)этилацетата (91), 50 мл воды, 50 мл бензола и 1.0 г ТЭБАХ при перемешивании порциями добавили 23.7 г (0.15 моля) перманганата калия так, чтобы температура реакционной смеси не превышала 30 °С. По окончании добавления перманганата калия смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. После охлаждения отфильтровали MnO₂ и промыли водой. Из водного слоя эфиром экстрагировали остатки органических соединений. После отгонки 2/3 объема воды водный раствор калиевой соли 4-пиразолкарбоновой кислоты нейтрализовали соляной кислотой, выпавшие кристаллы отфильтровали и сушили. Получили 12.3 г (62 %) кислоты **103**, т. пл. 185-187 °С. ИК спектр, ν, см⁻¹: 1510 (кольцо), 1730 (C=O), 3200-3400 (COOH). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д., J (Гц): 2.0 с (3H, OCH₃), 4.18-4.20 м (2H, N-CH₂-CH₂), 4.29-4.30 м (2H, N-CH₂-CH₂), 7.35 с (1H, 3-H), 7.58 с (1H, 5-H), 12.72 уш. с (1H, COOH). Найдено, %: С 48.15; Н 5.30; N 14.39; C₈H₁₀N₂O₄. Вычислено, %: С 48.48; Н 5.05; N 14.14.

1-(2-Ацетоксиэтил)-3-метилпиразол-4-карбоновая кислота (104). Аналогично предыдущему, из 19.6 г (0.1 моля) 2-(3-метил-4-формилпиразол-1-ил)этилацетата (92) получили 14.6 г (68.8 %) кислоты **104**, т. пл. 190-191 °С. ИК спектр, ν, см⁻¹: 1520 (кольцо), 1730 (C=O), 3200-3400 (COOH). Спектр ЯМР ¹H (δ, м. д., Гц): 2.10 с (3H, OCH₃), 2.21 с (3H, 3-CH₃), 4.10-4.12 м (2H, N-CH₂-CH₂), 4.28-4.30 м (2H, N-CH₂-CH₂), 7.51 д (1H, 5-H), 12.6 уш. с (1H, COOH). Найдено, %: С 55.35; Н 6.39; N 14.00; C₉H₁₂N₂O₄. Вычислено, %: С 55.10; Н 6.12; N 14.28.

1-(2-Ацетоксиэтил)-5-метилпиразол-4-карбоновая кислота (105). Аналогично предыдущему из 19.6 г (0.1 моля) 2-(5-метил-4-формилпиразол-1-ил)этилацетата (93) получили 13.0 г (61.3 %) кислоты **105**, т. пл. 189-190 °С. ИК спектр, ν, см⁻¹: 1520 (кольцо), 1730 (C=O), 3200-3400 (COOH). Спектр ЯМР ¹H (δ, м. д., Гц): 2.00 с (3H, OCH₃), 2.25 с (3H, 5-CH₃), 4.10-4.12 м (2H, N-CH₂-CH₂), 4.28-4.30 м (2H, N-CH₂-CH₂), 7.22 с (1H, 5-H),

12.6 уш. с (1H, COOH). Найдено, %: С 55.38; Н 6.40; N 14.45; $C_9H_{12}N_2O_4$. Вычислено, %: С 55.10; Н 6.12; N 14.28.

1-(2-Ацетоксиэтил)-3,5-диметилпиразол-4-карбоновая кислота (106). Аналогично предыдущему, из 21.0 г (0.1 моля) 2-(3,5-диметил-4-формилпиразол-1-ил)этил-ацетата (**94**) получили 10.6 г (50.4 %) кислоты **106**, т. пл. 200-201 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1530 (кольцо), 1730 (C=O), 3200-3400 (COOH). Спектр ЯМР 1H (δ , м. д., Гц): 2.00 с (3H, OCH₃), 2.30 с (3H, 3-CH₃), 2.48 с (3H, 5-CH₃), 4.17-4.22 м (2H, N-CH₂-CH₂), 4.29-4.34 м (2H, N-CH₂-CH₂), 12.72 уш. с (1H, COOH). Найдено, %: С 53.41; Н 6.44; N 12.09; $C_{10}H_{14}N_2O_4$. Вычислено, %: С 53.09; Н 6.19; N 12.38.

1-(2-Гидроксиметил)пиразол-4-карбоновая кислота (79). Смесь 19.8 г (0.1 моля) 1-(2-ацетоксиэтил)пиразол-4-карбоновой кислоты (**103**), 8.0 г едкого натра и 50 мл воды перемешивали при комнатной температуре в течении 3 ч. Из реакционной смеси хлороформом удалили остатки органических соединений. После отгонки 2/3 объема воды, оставшийся водный раствор натриевой соли пиразолкарбоновой кислоты нейтрализовали соляной кислотой, выпавшие кристаллы отфильтровали и сушили. Получили 10.9 г (69.8 %) кислоты **79**, т. пл. 175-178 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1520 (кольцо), 3200-3400 (ОН, COOH). Спектр ЯМР 1H (δ , м. д., Гц): 3.80 т (2H, N-CH₂CH₂, / 5.6), 4.10 т (2H, N-CH₂CH₂, / 5.6), 4.68 уш. с (1H, ОН), 7.36 с (1H, 3-Н), 7.56 с (1H, 5-Н), 11.95 уш. с (1H, COOH). Найдено, %: С 46.38; Н 5.31; N 17.65; $C_6H_8N_2O_3$. Вычислено, %: С 46.15; Н 5.12; N 17.94.

1-(2-Гидроксиэтил)-3-метилпиразол-4-карбоновая кислота (80). Аналогично предыдущему, из 21.2 г (0.1 моля) 1-(2-ацетоксиэтил)-3-метилпиразол-4-карбоновой кислоты (**104**) получили 12.0 г (70.5 %) кислоты **80**, т. пл. 179-181 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1530 (кольцо), 3200-3400 (ОН, COOH). Спектр ЯМР 1H (δ , м. д., Гц): 2.21 с (3H, 3-CH₃), 3.82 т (2H, N-CH₂CH₂, / 5.6), 4.25 т (2H, N-CH₂CH₂, / 5.6), 4.65 уш. с (1H, ОН), 7.51 с (1H, 5-Н), 12.00 уш. с (1H, COOH). Найдено, %: С 49.65; Н 5.44; N 16.75; $C_7H_{10}N_2O_3$. Вычислено, %: С 49.41; Н 5.88; N 16.47.

1-(2-Гидроксиэтил)-5-метилпиразол-4-карбоновая кислота (81). Аналогично предыдущему из 21.2 г (0.1 моля) 1-(2-ацетоксиэтил)-5-метилпиразол-4-карбоновой кислоты

(105) получили 10.0 г (58.8 %) кислоты **81**, т. пл. 175-176 °С. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1530 (кольцо), 3200-3400 (ОН, COOH). Спектр ЯМР ¹H, (δ , м. д., Гц): 2.35 с (3H, 5-CH₃), 3.80 т (2H, N-CH₂CH₂, / 5.6), 4.36 т (2H, N-CH₂CH₂, / 5.6), 4.55 уш. с (1H, ОН), 7.31 с (1H, 3-Н), 12.00 уш. с (1H, COOH). Найдено, %: С 49.59; Н 5.48; N 16.71; C₇H₁₀N₂O₃. Вычислено, %: С 49.41; Н 5.88; N 16.47.

1-(2-Гидроксиэтил)-3,5-диметилпиразол-4-карбоновая кислота (82). Аналогично предыдущему из 22.6 г (0.1 моля) 1-(2-ацетоксиэтил)-3,5-диметилпиразол-4-карбоновой кислоты (106) получили 11.9 г (64.7 %) кислоты **82**, т. пл. 185 °С. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1530 (кольцо), 1570 (C=O), 3200-3400 (ОН, COOH). Спектр ЯМР ¹H, (δ , м. д., Гц): 2.21 с (3H, 3-CH₃), 2.53 с (3H, 5-CH₃), 3.72 т (2H, N-CH₂CH₂, / 5.6), 4.05 т (2H, N-CH₂CH₂, / 5.6), 4.68 уш. с (1H, ОН), 11.83 уш. с (1H, COOH). Найдено, %: С 52.48; Н 6.30; N 15.48; C₈H₁₂N₂O₃. Вычислено, %: С 52.17; Н 6.52; N 15.21.

Альтернативные методы синтеза пиразолкарбоновых кислот

Синтез пиразолкарбоновых кислот и получение их солей с хитозаном

Этиловый эфир 3(5)-пиразолкарбоновой кислоты (109). К смеси 11.2 г (0.1 моля) 3(5)-пиразолкарбоновой кислоты (107) и 5.6 г (0.1 моля) едкого кали в 100 мл ДМФА по каплям добавили 16.4 г (0.15 моля) этилбромид при температуре 40 °С. После прибавления всего этилбромида реакционную смесь перемешивали при этой же температуре в течение 12 ч, охладили, фильтровали, отгоняли растворитель при пониженном давлении. К остатку добавили раствор соды и образовавшиеся кристаллы отфильтровали. Получили 8.6 г (60 %) кислоты **109**, т. пл. 162-163 °С. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1530 (кольцо), 1720 (C=O), 3260 (NH). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆) (δ , м. д., Гц): 1.42 т (3H, -CH₂-CH₃ / 7.2), 4.20 к (2H, CH₂-CH₃, / 7.2), 6.78 д (1H, 4-Н, / 1.9), 7.50 д (1H, 3(5)-Н, / 1.9), 12.0 уш. с (1H, NH). Найдено, %: С 51.05; Н 5.94; N 20.14. C₆H₈N₂O₂. Вычислено, %: С 51.43; Н 5.71; N 20.00.

Этиловый эфир 1-винил-3- и 1-винил-5-пиразолкарбоновых кислот (110, 111). К 50 мл винилацетата добавляли 1.0 г (0.14 моля) сульфата ртути и 14 г (0.1 моля) этилового эфира 3(5)-пиразолкарбоновой кислоты (**109**). Смесь нагревали с обратным холодильником 1 ч, охлаждали и фильтровали. Винилацетат отгоняли при пониженном давлении, остаток промывали 2N раствором соды, экстрагировали хлороформом и сушили над сульфатом магния. После удаления хлороформа остаток перегоняли под вакуумом.

Получили: 9.3 г (56 %) **этилового эфира 1-винил-3-пиразолкарбоновой кислоты (110)**, т. кип. 106 °C / 1 мм. рт. ст., n_D^{20} 1.5220, d_4^{20} 1.1427. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1530 (кольцо), 1640 (C=C), 1720 (C=O). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆) (δ , м. д., Гц): 1.40 т (3H, -CH₂-CH₃, *J* 7.2), 4.24 к (2H, -CH₂-CH₃, *J* 7.2), 4.95 дд (1H, CH=CH₂, *J* 15.6 и 1.3), 5.95 дд (1H, CH=CH₂, *J* 8.7 и 1.3), 6.78 д (1H, 4-H, *J* 2.2), 7.50 д (1H, 5-H, *J* 2.2), 7.01 дд (1H, CH=CH₂, *J* 15.6 и 8.7). Найдено, %: C 57.34; H 5.81; N 16.39. C₈H₁₀N₂O₂. Вычислено, %: C 57.82; H 6.07; N 16.86.

3.95 г (23.5%) **этилового эфира 1-винил-5-пиразолкарбоновой кислоты (111)**, т. кип. 75 °C / 1 мм. рт. ст., n_D^{20} 1.5112, d_4^{20} 1.0620. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1540 (кольцо), 1640 (C=C), 1720 (C=O). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆) (δ , м. д., Гц): 1.40 т (3H, -CH₂-CH₃, *J* 7.2), 4.22 к (2H, -CH₂-CH₃, *J* 7.2), 4.95 дд (1H, CH=CH₂, *J* 15.6 и 1.3), 5.85 дд (1H, CH=CH₂, *J* 8.7 и 1.3), 6.80 д (1H, 4-H, *J* 1.9), 7.95 д (1H, 3-H, *J* 1.9), 8.03 дд (1H, CH=CH₂, *J* 15.6 и 8.7). Найдено, %: C 58.08; H 6.49; N 16.30. C₈H₁₀N₂O₂. Вычислено, %: C 57.82; H 6.07; N 16.86.

1-Винил-3-пиразолкарбоновая кислота (112). Смесь 8.3 г (0.05 моля) кислоты (**110**), 4.0 г (0.1 моля) NaOH и 20 мл воды перемешали 2 ч при комнатной температуре, промыли эфиром, водный слой нейтрализовали соляной кислотой. Образовавшиеся кристаллы отфильтровали и сушили. Получили 3.1 г (45 %) кислоты **112**, т. пл. 89 °C (из бензола). ИК спектр, ν , см⁻¹: 1530 (кольцо), 1645 (C=C), 1720 (C=O). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆) (δ , м.д., Гц): 4.94 дд (1H, CH=CH₂, *J* 8.8 и 1.2), 5.71 дд (1H, CH=CH₂, *J* 15.7 и 1.2), 6.73 д (1H, 4-H, *J* 2.4), 7.20 дд (1H, CH=CH₂, *J* 15.7 и 8.9), 7.94 д (1H, 5-H, *J* 2.4), 12.20 уш.с (1H, COOH). Найдено, %: C 52.49; H 4.14; N 20.44. C₆H₆N₂O₂. Вычислено, %: C 52.17; H 4.34; N 20.28.

1-Винил-5-пиразолкарбоновая кислота (113). Аналогично предыдущему из 8.3 г (0.05 моля) этилового эфира 1-винил-5-пиразолкарбоновой кислоты (111) получили 3.3 г (48 %) кислоты **113**, т. пл. 85 °С (бензол). ИК спектр, ν , см⁻¹: 1520 (кольцо), 1645 (C=C), 1720 (C=O). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆) (δ , м.д., Гц): 4.90 дд (1H, CH=CH₂, *J*₁ 8.8 и *J*₂ 1.2), 5.79 дд (1H, CH=CH₂, *J*₁ 15.4 и *J*₂ 1.2), 6.85 д (1H, 4-H, *J* 1.9), 7.52 д (1H, 3-H, *J* 1.9), 8.05 дд (1H, CH=CH₂, *J*₁ 15.4 и *J*₂ 8.8), 12.70 уш.с (1H, COOH). Найдено, %: С 52.39; Н 4.14; N 20.44. C₆H₆N₂O₂. Вычислено, %: С 52.17; Н 4.34; N 20.28.

Соли хитозана с 1-винил-3-пиразолкарбоновой и 1-винил-5-пиразолкарбоновой кислотами (115а,б; 116а,б). 1.38 г (0.01 моля) 1-винил-3- или 1-винил-5-пиразолкарбоновой кислоты (**112**, **113**) и 0.0125 моля хитозана (**114 а,б**) (степень деацетилирования 75-85%) кипятили в 50 мл дистиллированной воде в течение 1-3 мин до полного растворения хитозана. Затем полученный раствор отфильтровали.

Полимерные пленки получили из растворов соответствующих солей (**115 а,б; 116 а, б**) методом полива в полиэтиленовых чашках диаметром 5-10 см и сушили при комнатной температуре. Все препараты были использованы в виде 5%-ных водных растворов объемом 50 мл. Для растворения хитозана (**114 а, б**) и 1-винилпиразолкарбоновых кислот (**112**, **113**) был использован 1%-ные раствор соляной кислоты.

1-(2-Карбоксиэтил)-3,5-диметил-1Н-пиразол-4-карбоновая кислота (117). К смеси 10.0 г (0.05 моля) 3-(3,5-диметил-4-формилпиразол-1-ил)пропановой кислоты (**56**), 50 мл воды, 50 мл бензола и 1.0 г триэтилбензилхлорида при перемешивании порциями добавили 9.6 г (0.06 моля) перманганата калия таким образом, чтобы температура реакционной смеси не превышала 30 °С. По окончании добавления перманганата калия смесь перемешивали при комнатной температуре 12 ч. Далее из реакционной смеси отфильтровали MnO₂. Водный слой экстрагировали эфиром. После отгонки 2/3 объема воды, водный раствор калиевой соли пиразилкарбоновой кислоты нейтрализовали соляной кислотой, выпавшие кристаллы отфильтровали и сушили. Получили 5.1 г (48 %) кислоты, т. пл. 210 °С. ИК спектр, ν , см⁻¹: 1546 (кольцо), 1659 и 1706 (C=O), 3528 (COOH). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆) (δ , м. д., Гц): 2.22 с (3H, 3-CH₃), 2.53 с (3H, 5-CH₃),

2.68 т (2H, NCH₂CH₂, J 6.8), 4.18 т (2H, N-CH₂, J 6.8), 12.0 уш. с (2H, 2 COOH). Найдено, %: C 50.71; H 5.88; N 13.45. C₉H₁₂N₂O₄. Вычислено, %: C 50.9; H 5.66; N 13.20.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что при алкилировании пиразолов этиловым эфиром хлоруксусной кислоты низкие выходы продуктов связаны с протеканием ряда побочных реакций - частичным гидролизом и алкилированием реагента.

2. По данным ЯМР ^1H спектроскопии установлено, что при окислении N-алкил-3(5)-метил-4-формилпиразолов в условиях межфазного катализа протекает хемоселективное окисление формильной группы без затрагивания метильных групп.
3. Выявлено, что во время термического β -распада формилкислоты, в случае наиболее алкилированных пиразольных колец, более основный атом азота протонируется водородом карбоксильной группы, что способствует β -расщеплению. Формилкислоты с незамещенным кольцом в аналогичных условиях не отщепляют карбоксиэтильную группу.
4. С помощью данных ЯМР ^1H спектров доказано, что среди синтезированных 1-винил-3- и 1-винил-5-пиразолкарбоновых кислот внутримолекулярная водородная связь между α -протоном винильной группы и р-электронами кислорода карбонильной группы ($\text{CH}\cdots\text{O}=\text{C}$) существует только в 1-винил-5-пиразол-карбоновой кислоте, чем и обусловлена ее низкая температура кипения.
5. Выявлено, что увеличение массовой доли хитозана в хитозановых солях при его модификации с пиразолдикарбоновыми кислотами, приводит к увеличению противовоспалительной активности и к уменьшению времени регенерации поврежденных тканей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Fusero S., Simo'n-Fuentes A., Sanz-Cervera J. F. // *A review. Recent advances in the synthesis of pyrazoles*. Org. prep. proc. Int., 2009, v. 41, № 4, p. 253-290.

- [2] Chakrasali R.T., Ila H., Janjappa H. // *Cycloaddition of sodium azide to polarized ketene S,S- and S,N- acetals: Synthesis of novel substituted triazole derivatives*. Synthesis, 1988, v. 6, p. 453-455.
- [3] Wettenberger S.J., Donner B.G. // *Dialkin oxide mediated addition of 5-substituted tetrazoles*. J. Org. Chem., 1993, v. 58, № 4, p. 4139-4141.
- [4] Колдобский Г.И., Островский В.А. // *Тетразолы*. Успехи химии, 1994, т. 63, вып. 10, с. 847- 865.
- [5] Асратян Г.В., Аттарян О.С. // *Алкилирование NH-гетероциклов дигалогеналкнами в условиях межфазного катализа*. Хим. ж. Армении, 2007, т. 60, № 4, с. 749-761.
- [6] Bruson H.A. // *Organic reactions*. New York, London, 1949, v. 5, p. 79.
- [7] Терентьев А.П., Кост А.Н. // *Реакции и методы исследования органических соединений*. М., Госхимиздат, 1952, т. 2, с. 47.
- [8] Бергман Э.Д., Гинзберг Д., Панно Р. // *Органические реакции*. ИЛ. М., 1963, т. 10, с. 181.
- [9] Несмеянов А.Н., Рыбинская М.И., Рыбин Л.В. // *Ориентация нуклеофильной атаки по активированной двойной связи*. Успехи химии, 1967, т. 36, вып. 7, с. 1089-1115.
- [10] Bartoli G., Cimarelli C., Marcantoni E., Palinieru G., Petrini. M. // *Chemo- and diastereoselective reduction of β -enamino esters: A convenient synthesis of both cis- and trans- γ -amino alcohols and β - amino esters*. J. Org. Chem., 1994, v. 59, p. 5328-5335.
- [11] Дарбинян Э.Г., Мацоян М.С., Оганесян К.Г., Митарджян Ю.Б., Саакян А.А., Мацоян С.Г. // *Производные пиразол-1-пропионовой кислоты в качестве отвердителей эпоксидных смол*. // А. с. 688499 СССР // Б.И., 1979, 36.

- [12] Балтаян А.О. // Дисс. "*Реакции присоединения пиразолов и их производных к кратким углерод-углеродным (C=C) связям и химические превращения полученных соединений*" кандидата хим. наук. Ереван, ИОХ НАН РА, 2008, 100 с.
- [13] Дарбинян Э.Г., Мацюян С.Г. // *3(5)-Метилпиразол*. Арм. хим. ж., 1984, т. 37, № 3, с. 153-174.
- [14] Аттарян О.С., Балтаян А.О., Мацюян С.Г. // *Синтез 1-карбоксиэтил-3-метил- и 1-карбоксиэтил-5-метилпиразолов*. Хим. ж. Армении, 2005, т. 58, № 4, с. 68-70.
- [15] Грандберг И.И., Кост А.Н. // *Присоединение α,β -непредельных соединений к пиразолам*. ЖОХ, 1959, т. 29, вып.4, с. 1099-1104.
- [16] Аттарян О.С., Балтаян А.О., Мацюян С.Г. // *Синтез α -метил- β -(3-метил-пиразол-1-ил) и α -метил- β -(5-метилпиразол-1-ил)пропионовых кислот и их этерификация винилацетатом*. ЖОХ, 2007, т. 77, вып. 2, с. 325-328.
- [17] Аттарян О.С. // *Синтез сложных виниловых эфиров N-карбоксиэтилпиразолов*. Хим. ж. Армении, 2010, т. 63, № 3, с. 394-397.
- [18] Аттарян О.С., Элиазян Г.А., Асратян Г.В., Дарбинян Э.Г. // *Катализируемая ацетатом ртути реакция винилбутилового эфира с азотсодержащими азолами*. Арм. хим. ж., 1983, т. 36, № 6, с. 415.
- [19] Грандберг И.И., Шарова Г.И. // *Исследование пиразолов. Синтез N-винилпиразолов*. ХГС, 1968, № 6, с. 1097-1098.
- [20] Верещагин Л.И., Бузилова С.Р., Митюкова Т.К., Пройдакова Л.Г., Кижняев В.Н., Ильина В.В., Суханов Г.Т., Гареев Г.А., Багера. // *Синтез функционально замещенных N-винилтетразолов*. ЖОрХ, 1986, т. 22, вып. 9, с. 1979-1985.
- [21] Кижняев В.Н., Покатилов Ф.А., Цыпина Н.А., Ратовский Г.В., Верещагин Л.И., Смирнов А.И. // *Синтез N-винильных производных 1,2,3-триазолов*. ЖОрХ, 2002, т. 38, вып. 7, с. 1099-1102.
- [22] Трофимов Б.А., Сигалов М.В., Бжезовский В.М., Калабин Г.А., Михалева А.И., Васильев А. Н. // *Пирролы из кетоксимов и ацетилена. III. Сопряжение в 2-ал-*

кил- и 2,3-диалкил-1-винилпирролах и спектры ЯМР ^{13}C . ХГС, 1978, № 3, с. 350-354.

- [23] Гзырян А.Г., Егоян Р.В., Аттарян О.С., Даниелян В.А., Дарбинян Э.Г. // *Гомо- и сополимеризация изомерных 1-винил-3-метил- и 1-винил-5-метилпиразолов*. Арм. хим. ж., 1986, т. 39, № 6, с. 369 - 373.
- [24] Айоцян С.С., Хачатрян А.Н., Балтаян А.О., Аттарян О.С., Асратян Г.В. // *Присоединение азолов к метилвинилкетону по аза-реакции Михаэля*. ЖОХ, 2015, т. 85, вып. 4, с. 692-694.
- [25] Хачатрян А.Н., Айоцян С.С., Бадалян К.С., Аттарян О.С., Асратян Г.В. // *Присоединение пиразолов к малеиновой кислоте по аза-реакции Михаэля*. ЖОХ, 2015, т. 85, вып. 8, с. 1395-1396.
- [26] Хачатрян А.Н., Айоцян С.С., Аттарян О.С., Асратян Г.В. // *Термическое присоединение пиразолов к бут-3-еннитрилу*. ЖОХ, 2015, т. 85, вып. 4, с. 695-696.
- [27] Айоцян С.С., Хачатрян А.Н., Аттарян О.С., Асратян Г.В. // *Каталитическое присоединение пиразолов к бут-3-еннитрилу*. ЖОХ, 2015, т. 85, вып. 10, с. 1737-1739.
- [28] Шехирев Ю.П., Лопатинский В.П., Сутягин В.М., Тузовская С.А. // *Нуклеофильное присоединение карбазолов к сложным виниловым эфирам*. ХГС, 1983, № 11, с. 1504-1509.
- [29] Аттарян О.С., Асратян Г.В., Дарбинян Э.Г., Мацоян С.Г. // *Синтез 1-винилпиррола*. ЖОрХ, 1988, т. 24, вып. 6, с. 1339.
- [30] Аттарян О.С., Балтаян А.О., Бадалян К.С., Минасян Г.Г., Мацоян С.Г. // *Цианоэтилирование пиразолов в условиях межфазного катализа и гидрирование продуктов цианэтилирования*. ЖОХ, 2006, т. 76, вып. 7, с. 1180-1184.
- [31] Айоцян С.С., Хачатрян А.Н., Аттарян О.С., Асратян Г.В. // *Термическое присоединение пиразолов к бут-2-еналю*. ЖОХ, 2016, т. 86, вып. 2, с. 335-336.

- [32] Аттарян О.С., Антаносян С.К., Киноян Ф.С., Тамазян Р.А., Паносян Г.А., Мацюян С.Г. // *Строение продуктов реакции пиразолов с акролеином*. ЖОрХ, 2006, т. 42, вып. 12, с. 1875-1877.
- [33] Стоударт Дж.Ф., Кларк Т.Н., Мар Керви М.А. // *Общая органическая химия*. М., Химия, 1985, т. 8, с. 457.
- [34] Finar I. L., Harloc R. J. // *The preparation of some trinitrophenyl pyrazoles*. J. Chem. Soc., 1957, № 7, p. 3024-3027.
- [35] Finar I. L., Lord G. H. // *The formylation of pyrazole nucleus*. J. Chem. Soc., 1957, № 7, p. 3314 - 3315.
- [36] Мальцева С.П., Бородулина З.А., Степанов Б.И. // *Формилирование диметилпиразолов*. ЖОрХ, 1973, т. 9, вып. 4, с. 815-817.
- [37] Дикополова В.В., Суворов Н.Н. // *Реакции конденсации на основе индазол-3-альдегида*. ХГС, 1978, т. 7, с. 957-959.
- [38] Bernard M., Hulley E., Molenda H., Stochla K. // *Beta-(4-pyrazol)acrylic and propionic acids and their anti-inflammatory activity*. Pharmazie, 1986, v. 41, № 8, p. 560-562.
- [39] Chornous V.O., Bratenko M.K., Vovk M.V. // *Microwave assisted synthesis of 3-(4-pyrazolyl) propenoic acids*. Synth. Commun., 2004, v. 34, № 1, p. 79-83.
- [40] Братенко М.К., Черноус В.А., Вовк М.В. // *Функционально замещённые 3-гетерилпиразолы. III. 3-Арил-(гетерил)-пиразол-4-карбоновые кислоты и их производные*. ЖОрХ, 2001, т. 37, вып. 4, с. 587-590.
- [41] Братенко М.К., Черноус В.А., Вовк М.В. // *Функционально замещённые 3-гетерилпиразолы. XI. 3-[3-Арил-(гетерил)-пиразол-4-ил]-пропеновые и пропановые кислоты*. ЖОрХ, 2002, т. 38, вып. 8, с. 1223-1229.
- [42] Вовк М.В., Черноус В.О., Цимбал И.Ф., Братенко М.К. // *Синтез азлактонов из 3-арил-(гетерил)пиразол-4-уксусной кислоты и их нитрилов*. Укр. хим. ж., 2002, т. 68, вып. 11, с. 59-64.

- [43] Братенко М. К., Черноус В. А., Вовк М. В. // *1-Арил-3-бензоил-4-формил и 4-карбосипиразолы* ХГС, 2001, № 4, с. 515-517.
- [44] Лебедева А. В., Лебедев А. Б., Шелудяков В. Д., Ковалева Е. А., Устинова О. П., Котенсекова И. Б. // *Синтез 3-арилзамещенных пиразол-4-карбоновых кислот*. ЖОХ, 2005, т. 75, вып. 5, с. 829-835.
- [45] Aly E.S.A., Abdo M.A., El-Gharably A.A. // *A convenient synthesis of some pyrazoline and pyrazole derivatives*. J. Chin. Chem. Soc., 2004, v. 51, № 10, p. 983-990.
- [46] Матийчук В.С., Потопник М.А., Обушак Н.Д. // *Синтез и реакций 3-(3-этоксикарбонил-1-фенил-1H-пиразол-4-ил)пропеновой кислоты*. ЖОХ, 2009, т.45, вып. 5, с. 728-733.
- [47] Reddy G.J., Rao K.S., Khalilullah M.D., Thirupathaiah C. // *A simple and rapid synthesis of 4H-4-oxo-1-benzopyran-3-yl and 1,3-diarylpyrazol-4-yl propanoic acids*. Heter. Commun., 2006, v. 12, № 6, p. 423-426
- [48] Vera-DiVaio M.A.F., Freitas A.C.C., Castro H.C., Albuquerque S.D., Cabral L.M., Rodrigues C., Albuquerque M.G., Martins R.C.A., Henriques M.G.M.O., Dias L.R.S. // *Synthesis antichagasic in vitro evaluation, cytotoxicity assays, molecular modeling and SAR / QSAR studies of a 2-phenyl-3-(1-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)acrylic acid benzylidene-carbohydrazide series*. Bioorg. Med. Chem., 2009, v. 17, № 1, p. 295-302.
- [49] Magdi Abdel-Azzem, Magdi Zahran // *Electrosynthesis of 5-Chloro- and 5-Azido-4-pyrazole Carboxylic Acid at the Nickel Hydroxide Electrode*. Bull. Chem. Soc. Japan, 1994, v. 67, № 7, p. 1879-1880.
- [50] Michelet Jean-Francois, Commo S. // *Inhibitors of 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase for stimulating pigmentation of the skin or skin appendages*. US Pat. 20060034786 A1, 2006.
- [51] Bratenko M.K., Barus M.M., Vovk M.V. // *Polyfunctional pyrazoles. 5. Preparative synthesis of 1-aryl-4-formylpyrazole-3-carboxylic acids*. Chem. Heter. Comp., 2009, v. 45, № 12, p. 1464-1468.

- [52] Bratenko M.K., Barus M.M., Vovk M.V. // *Polyfunctional pyrazoles. 6. Convenient method for the synthesis of 1-aryl-1H-pyrazole-3,4-dicarboxylic acids*. Chem. Heter. Comp., 2010, v. 46, № 2, p. 196-199.
- [53] Lewis J.G., Reich N., Chen T., Jacobs J.W., Charmot D., Navre M., Finn P., Carreras C., Spencer A. // *Non-systemic TGR5 Agonists*. WO 2013/96771(A1) 2013.
- [54] Балтаян А.О., Саакян А.А., Аттарян О.С., Асратян Г.В. // *Синтез 1-винил-4-пиразолкарбоновых кислот*. ЖОХ, 2010, т. 80, вып. 5, с. 834-836.
- [55] Аттарян О.С., Гавалян В.Б. Элиазян Г.А., Асратян Г.В., Дарбинян Э.Г. // *Синтез и полимеризация 1-винил-3-метил-4-формил- и 1-винил-5-метил-4-формилпиразолов*. Арм. хим. ж., 1988, т. 41, № 8, с. 496-500.
- [56] Аттарян О. С., Акопян Г. А., Бадалян К.С., Минасян Г.Г., Асратян Г. В. // *Бромирование 1,3-диметил- и 1,5-диметил-4-формилпиразолов*. ЖОХ, 2007, т. 77, вып. 10, с. 1757-1758.
- [57] Манаев А.Ю., Андреева М.А., Перевалов В.П., Степанов Б.И., Дубровская В.А., Серая В.И. // *Нитрование 4-галогенпиразол-3- и -5-карбоновых кислот*. ЖОХ, 1982, т. 52, вып. 11, с. 2592-2598.
- [58] Auwers K.V., Hollman H. // *Über Alkylderivate der 3(5)-Methyl-pyrazols*. Chem. Ber., 1976, Bd. 59, S. 601-607.
- [59] Аттарян О.С., Акопян Г.А., Бадалян К.С., Асратян Г.В. // *Бромирование 1,3-диметил- и 1,5-диметил-4-пиразолкарбоновых кислот*. ЖОХ, 2007, т. 77, вып. 2, с. 335-336.
- [60] Акопян Г. А. // *Бромирование 3(5)-пиразолкарбоновой кислоты*. ЖОХ, 2007, т. 77, вып. 9, с. 1581-1582.
- [61] Huntell R., Wagher H., Jochum P. // *Die bromierung der pyrazole*. Liebigs Ann. Chem., 1955, Bd 593, S. 179-200.
- [62] Meyer V. // *Ueber ein seltsames Gesetz bei der Esterbildung aromatischer Säuren*. Chem. Ber., 1894, Bd. 27, №1, S. 510-512.

- [63] Саакян А.А. // *К вопросу этерификации 3- и 4-пиразолкарбоновых кислот*. ЖОХ, 2011, т. 81, вып. 8, с. 1403-1404.
- [64] Pinto D.J. P., Orwat M.J., Wang S.h., Fevig J. M., Quan M. L., Amparo E., Cacciola J., Rossi K. A., Alexander R. S., Smallwood A.M., Luetttgen J.M., Liang Li, Aungst B.J., Wright M.R., Knabb R.M., Wong P.C., Wexler R.R., Lam P.Y.S. // *Discovery of 1-[3-(Aminomethyl)phenyl]-N-[3-fluoro-2'-(methylsulfonyl)-[1,1'-(biphenyl)-4-yl]-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole -5-carboxamide (DPC423), a highly potent, selective, and orally bioavailable inhibitor of blood coagulation factor Xa*. J. Med. Chem., 2001, v. 44, № 4, p. 566-578.
- [65] Donald P., Phillip J., James P., Russell A., Joseph C., Matthew F. J., Qi H., James O.M., Lifan Q.M., Anita R. K. // *Nitrogen containing heteroaromatics as factor Xa inhibitors*. EP 946508 B1 2009.
- [66] Thomas L. // *Device code recognizing circuit*. US Pat. 6338099 B1, 2002.
- [67] Кислый В. П., Толкачева Л. Н., Семенов В. В. // *Гидрирование на грануловых палладий содержащих катализаторах II. Гидрирование нитрогетероциклических соединений*. ЖОХ, 2002, т. 38, вып.2, с. 290-293.
- [68] Herk T. van, Brussee J., Nieuwendijk A.M.C.H. van den, Klein P.A.M. van der, IJzerman A.P., Stannek C., Burmeister A. and Lorenzen A. // *Pyrazole derivatives as partial agonists for the nicotinic acid receptors*. J. Med. Chem., 2003, v.46, p. 3945-3951.
- [69] Мусатов Д.М., Стародубцева Е.В., Ракишев А. К., Турова О.В., Виноградов М.Г. // *Синтез 3-аминометилзамещенных пиразолов и изоксазолов*. ЖОХ, 2011, т. 47, вып. 8, с. 1181-1185.
- [70] Skinner Ph.J., Cherrier M.C., Webb P.J., Shin Y.J., Gharbaoui T., Lindstrom A., Hong V., Tamura S.Y., Huong T.D., Cameron C.P., Chen R., Richman J.G., Connolly D.T. and Semple G. // *Fluorinated pyrazole acids are agonists of the high affinity niacin receptor GPR109a*. Bioorg. and Med. Chem. Lett., 2007, v. 17, p. 5620-5623.

- [71] Dykes G.J., Fletcher S.R., Menet Ch.J.M., Merayo N.M., Schmitt B.A. // *Novel compounds useful for the treatment of degenerative & inflammatory diseases*. US Pat. 2008 0242661 (a1), 2008.
- [72] Прядеина М.В., Денисова А.Б., Бургарт Я.В., Салоутин В.И. // *Регио-селективная циклоконденсация этил-3-оксо-3-полифторалкил-2-этоксиметилиденпропионатов с тиазолилгидразинами*. ЖОрХ, 2008, т. 44, вып. 12, с. 1838-1842.
- [73] Братенко М.К., Барус М.М., Вовк М.В. // *Полифункциональные пиразолы. 7. Этиловые эфиры 1-арил-4-формилпиразол-3-карбоновой кислоты в синтезе 2-арил-2,4-дигидро-6H-тиено[3,4-с]пиразол-6-онов*. ХГС, 2012, № 10, с. 1657-1661.
- [74] Ermolenko M. S., Guilloub S., Janin Y. L. // *Pyrazole-3/5-carboxylic acids from 3/5-trifluoromethyl NH-pyrazoles*. Tetrahedron, 2013, v. 69, № 1, p. 257-263.
- [75] Dounay A.B, McAllister L., Parikh V.D., Rong S., Verhoest P.R. // *KAT II inhibitors*. US Pat. 8598200 B2, 2013.
- [76] Dounay A.B., Anderson M., Bechle B. M., Evrard E., Gan Xinmin, Kim Ji-Young, McAllister L. A., Pandit J., Rong SuoBao, Salafia M. A., Tuttle J. B., Zawadzke L. E., Verhoest Patrick R. // *PF-04859989 as a template for structure-based drug design: Identification of new pyrazole series of irreversible KAT II inhibitors with improved lipophilic efficiency*. Boorg. Med. Chem. Lett., 2013, v. 23, № 7, p. 1961-1966.
- [77] Обыденнов Д.Л., Усачев Б.И., Сосновских В.Я. // *Реакции 2-моно- и 2,6-дизамещенных 4-пиронов с фенилгидразином как общий метод синтеза 3-(N-фенил пиразолил)индолов*. ХГС, 2014, № 10, с. 1510-1527.
- [78] Максимов Е.А., Майорова О.А., Егорова А.Ю. // *Модификация 3-[Арил(гетерил)гидразинилиден-3H-фуран-2-онов в условиях кислотного и основного катализа*. ЖОрХ, 2015, т. 51, вып. 9, с. 1330-1332.
- [79] Гальбрайх Л.С. // *Хитин и хитозан: Строение, свойства; применение*. Соросовский образовательный журнал, 2001, т. 7, № 1, с. 51-56.

- [80] Richards A.G. // *The integument of Arthropods*. University of Minnesota, USA, 1951, p. 9-59.
- [81] Steinsuchel A., Rhee S.K., Willey // *Polysaccharides and polyamides in the food industry*. 2005, v.1, p. 783.
- [82] “Хитин и хитозан: Получение, свойства и применение”. // Под. ред. Скрыбина К.Г., Вихоревой Г.А., Варламова В.П. М., Наука, 2002, 368 с.
- [83] Чеботок Е.Н., Новиков В.Ю., Коновалова И.Н. // *Влияние природы растворителей на кинетику деполимеризации хитина и хитозана*. Вестник МГТУ, 2006, т. 9, №4, с. 717-719.
- [84] Toshio Hayashi. // *Biodegradable polymers for biomedical uses*. Prog. Polym. Sci., 1994, v. 19, p. 663-702.
- [85] Pillai C.K.S., Willy P., Sharma C.P. // *Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation*. Prog. Polym. Sci., 2009, v. 34, p. 641-678.
- [86] Муринов К.Ю., Курамшина А.Р., Хисамутдинов Р.А., Муринов Ю.И., Кабальнова Н.Н. // *Изучение окисления хитозана хлоритом натрия методом ИК спектроскопии*. ЖОХ, 2010, т. 80, вып. 1, с. 27-30.
- [87] Yan Li, Xi G.Ch., Nan Liu, Cheng Sh.L., Chen G.L., Xiang H.M., Le Jun Yu, Kenendy J. F. // *Physicochemical characterization and antibacterial property of chitosan acetates*. Carbohydr. Polym., 2007, № 67, p. 227-232.
- [88] Федосеева Е.Н., Смирнова Л.А., Смирнова О.Н. // *Синтез амидоксима хитозана*. Вестник Ниж. Универ. им. Н.И. Лобачевского, 2007, № 4, с. 62-66.
- [89] Шиповская А.Б., Фомина В.И., Киреев М.Н., Казакова Е.С., Касьян И.А. // *Биологическая активность олигомеров хитозана*. Изв. Саратовского гос. университета, 2008, т. 8, вып. 2, с. 45-49.
- [90] Куликов С.Н., Тюрин Ю.А., Ильина А.В., Левов А.Н., Лопатин С.А., Варламов В.П. // *Антибактериальная активность хитозана и его производных*. Труды Белорусского гос. университета, Научный ж., 2009, т. 4, часть 1, с. 95-100.

- [91] Mourya V.K., Inamdar N.N., Tiwari A. // *Carboxymethyl chitosan and its applications*. Adv. Mat. Lett., 2010, v. 1, № 1, p. 11-33.
- [92] Левов А. Н., Соколов В.Б., Аксиненко А.Ю., Ильина А.В., Варламов В.П. // *Модификация хитозана этоксикарбонильными и [1,2-а]пиридин-2-карбонильными фрагментами*. ЖОХ, 2011, т. 81, вып. 6, с. 1005-1009.
- [93] Sahakyan A.A., Buloyan S.O. // *Obtaining and study of biological activities of chitosan layers with 1-vinylpyrazole-4-carboxylic acids*. II International Conference of Young Scientists "Chemistry Today-2012", Tbilisi, Georgia, 2012, p. 60-61.
- [94] Majeti N.V. Ravi Kumar. // *A review of chitin and chitosan applications*. React. Funct. Polym., 2000, v. 46, p. 1-27.
- [95] Wei L.X., Jun W., Chun L.F. // *Synthesis of chitosan quaternary ammonium salts*. Chin. Chem. Lett., 2001, v. 12, № 12, p. 1081-1084.
- [96] Jayakumar R., Prabakaran M., Sudheesh Kumar P.T., Nair S.V., Tamura H. // *Bio-materials based on chitin and chitosan in wound dressing applications*. Biotech. Adv., 2011, v. 29, p. 322-337.
- [97] Tianhong Dai, Masamitsu Tanaka, Ying-Ying Huang, Michael R Hamblin // *Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects*. Expert Rev. Anti-Infect. Ther., 2012, v. 9, № 7, p. 857-879.
- [98] Гольдберг Ю.Ш. // *Избранные главы межфазного катализа*. Рига, Зинатне, 1989, 553 с.
- [99] Giles D., Parnell E.W., Renwick J.D. // *Some iodinated pyrazole derivatives*. J. Chem. Soc., 1966, v. 13, p. 1179-1184.
- [100] Carmi A., Pollak G., Yellin H. // *α -Hydrazino-acids. I. α -Hydrazinoaliphatic acids*. J. Org. Chem., 1960, v. 25, p. 44-46.
- [101] Нам Н.Л., Грандберг И.И., Сорокин В.И. // *Простой способ синтеза 3,5-диметил пиразолил-1-уксусной кислоты*. ХГС, 1998, № 3, с. 416.

- [102] Балтаян А.О., Рстакян В.И., Антаносян С.К., Киноян Ф.С., Аттарян О.С., Асратян Г.В. // *Алкилирование пиразолов этиленхлоргидрином в условиях межфазного катализа*. ЖОХ, 2009, т. 79, вып. 11, с. 1895-1897.
- [103] Рстакян В.И., Акопян А.Э., Закарян Г.Б., Айоцян С.С., Аттарян О.С., Асратян Г.В. // *Алкилирование пиразолов этиловым эфиром хлоруксусной кислоты в условиях межфазного катализа и гидролиз полученных эфиров*. ЖОХ, 2014, т. 84, вып. 8, с. 1397- 1399
- [104] Аттарян О.С., Балтаян А.О., Сагателян Р.Е., Такмазян К.Ц. // *Синтез 1-(2-аминоэтил) пиразолов в условиях межфазного катализа*. ЖОХ, 2008, т. 78, вып. 1, с. 144-146.
- [105] Аттарян О.С., Элиазян Г.А., Асратян Г.В., Паносян Г.А., Дарбинян Э.Г., Мацюян С.Г. // *Синтез и полимеризация 4-галогензамещённых 1-винил-3-метил- и 1-винил-5-метилпиразолов*. Арм. хим. ж., 1986, т. 39, № 8, с. 511 - 516.
- [106] Cleave R.J., Walter D.S., Beswick P.J., Fonfria E., Michel A.D., Roman Sh.A., Tang S.Ph. // *Synthesis and biological activity of a series of tetrasubstituted-imidazoles as P2X(7) antagonists*. Bioorg. and Med. Chem. Lett., 2010. v. 20, № 16. p. 4951-4954.
- [107] Pastor I.M., Yus M. // *Bioactive N-phenylimidazole derivatives*. Curr. Chem. Biol., 2009, v. 3, № 1, p. 65-88.
- [108] Elguero J. Katrizky A.R. and Rees C.W., Eds. // *Pyrazoles and their benzoderivatives*. Comprehensive Heterocyclic Chemistry. Oxford, Pergamon, 1984, v. 5, p. 163.
- [109] Аттарян О.С., Балтаян А.О., Асратян Г.В. // *Водный гидролиз сложных эфиров 1-(2'-аминоэтил)-3-метил- и 1-(2-аминоэтил)-5-метилпиразолов*. ЖОХ, 2008, т. 78, вып. 7, с. 1192-1193.
- [110] Аттарян О.С., Балтаян А.О., Тамазян Р.А., Айвазян А.Г., Паносян Г.В., Асратян Г.В. // *Синтез и кристаллическая структура 3-((2-карбоксиэтил)-[2-(3-метилпиразол-1-ил)этил]амино)- и 3-((2-карбоксиэтил)-[2-(5-метилпиразол-1-ил)-этил]амино)пропановых кислот*. ЖОХ, 2009, № 79, вып. 4, с. 697-698.

- [111] Акопян А.Э. // Щелочной гидролиз сложных эфиров 1-(2'-аминоэтил)пиразолов. Хим. ж. Армении, 2013, т. 66, № 3, с. 512-514.
- [112] Devlieghere F., Vermeulen A., Debevere J. // *Chitosan: Antimicrobial activity, interaction with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables*. Food Microbiol., 2004, v. 21, p. 703-714.
- [113] Jeon S.J., Oh M., Yeo W.S., Galvao K.N., Jeong K.C. // *Underlying mechanism of antimicrobial activity of chitosan microparticles and implications for the treatment of infectious diseases*. Plos One, 2014, v. 9, № 3, e92723, p. 1-10.
- [114] Rabea E.I., Badawy M.E.T., Stevens C.V., Smagghe G., Steurbaut W. // *Chitosan as antimicrobial agent: application and mode of action*. Biomacromol., 2003, v. 4, p. 1457-1465.
- [115] Chung Y.-Ch., Yeh J.-Y., Tsai Ch.-F. // *Antibacterial characteristics and activity of water-soluble chitosan derivatives prepared by the millard reaction*. Molecules, 2011, v. 16, p. 8504-8514.
- [116] Акопян А.Э., Маргарян А.А., Атнарян О.С., Асратян Г.В., Базукян И.Л., Паносян О.А., Трчунян А.А. // *Антимикробная активность хитозановых пленок, модифицированных пиразол карбоновыми кислотами*. Биол. ж. Армении, 2015, т. 67, № 1, с. 45-49.
- [117] Gibson N.A., Hosking J.W. // *Permanganate oxidations in nonaqueous solvents*. Aust. J. Chem., 1965, v. 18, № 1, p. 123-152.
- [118] Яновская Л.А., Юфит С.С. // *Органический синтез в двухфазных системах*. М., Химия, 1982, 184 с.
- [119] Herriott A. W., Picker D. // *Purple benzene: permanganate oxidations using quaternary ammonium ions*. Tetrahedron Lett., 1974, v. 51, № 16, p. 1511-1514.
- [120] Jam D.J., Simmons H.E. // *Crown polyether chemistry. Potassium permanganate oxidations in benzene*. J. Am. Chem. Soc., 1972, v. 94, № 11, p. 4024-4028.

- [121] Manger E.M., Phee J.U., Rhee J.U., Rhee H.K. // *Applications of surfactants to synthetic organic chemistry*. J. Org. Chem., 1975, v. 40, № 25, p. 3803-3805.
- [122] Бадалян К.С., Акопян А.Э., Саакян Л.А., Аттарян О.С., Асратян Г.В. // *Окисление N-алкил-3(5)метил-4-формилпиразолов в условиях межфазного катализа*. Хим. ж. Армении, 2012, т. 65, № 3, с. 394-397.
- [123] Антаносян С.К. // Дисс. “*Формилирование пиразолов по методу Вильсмейера - Хаака и изучение химических превращений полученных соединений*” кандидата хим. наук. Ереван, ИОХ НАН РА, 2008, 105 с.
- [124] Аттарян О.С., Антаносян С.К., Паносян Г.А., Асратян Г.В., Мацюян С.Г. // *Формилирование 3,5-диметилпиразола по Вильсмейеру-Хааку*. ЖОХ, 2006, т. 76, № 11, с. 1901-1903.
- [125] Бадалян К.С., Акопян А.Э., Аттарян О.С., Асратян Г.В. // *Формилирование 1Н-пиразолов по Вильсмейеру-Хааку*. ЖОХ, 2014, т. 84, вып. 4, с. 697-699.
- [126] Трофимов Б.А., Коростова С.Е., Шевченко С.Г., Михалева А.И., Матель Н.А. // *N-винилпирролы как защищенные пирролы*. ЖОрХ, 1996, т. 32, вып. 6, с. 897-899.
- [127] Gonzales C., Greenhouse R., Tallabs R., Muchowski J.M. // *Protecting groups for the pyrrole nitrogen atom. The 2-chloroethyl, 2-phenylsulfonyl ethyl and related moieties*. Canad. J. Chem., 1983, v. 61, p. 1697-1702.
- [128] Аттарян О.С., Саакян А.А., Асратян Г.В. // *Синтез 1-винил-3,5-диметил-4-гидроксиметилпиразола*. ЖОХ, 2012, т. 82, вып. 9, с. 1578-1580.
- [129] Мартиросян С.С. // Дисс. “*Синтез и изучение свойств N-винил- и N-бутадиенилпиразолов*” кандидата хим. наук. Ереван, ИОХ НАН РА, 2004, 120 с.
- [130] Аттарян О.С., Антаносян С.К., Григорян Р.Т., Мартиросян С.С., Мацюян С.Г. // *К вопросу формилирования 1-(β-оксиэтил)-3,5-диметилпиразола по методу Вильсмейера-Хаака*. Хим. Ж. Армении, 2005, т. 58. № 1,2, с. 131-133.

- [131] Минкин В.И., Дорофенко Г.Н. // *Формилирование и ацилирование органических соединений замещенными амидами карбоновых кислот*. Успехи химии, 1960, т. 29, с. 1301-1335.
- [132] Mc. Omie J. F. W. // *Protective groups in organic chemistry*. Plenum. Press. London and New-York, 1973, 391 p.
- [133] Рстакян В.И., Акопян А.Э., Балтаян А.О., Атнарян О.С., Асратян Г.В. // *Формилирование 2-(1H-пиразол-1-ил)этанола и его метилпроизводных по Вильсмейеру-Хааку*. ЖОХ, 2015, т. 85, вып. 5, с. 862-864.
- [134] Рстакян В.И., Акопян А.Э., Закарян Г.Б., Атнарян О.С., Асратян Г.В. // *Окисление 1-(2'-гидроксиэтил)-3,5-диметилпиразол-4-карбальдегида в условиях межфазного катализа*. ЖОХ, 2014, т. 84, вып. 4, с. 700-702.
- [135] Knorr L., Macdonald J. // *Ueber das 3-methylpyrazole*. Lieb. Ann., 1894, B. 279. S. 217-232.
- [136] Рстакян В.И., Акопян А.Э., Саакян А.А., Атнарян О.С., Асратян Г.В. // *1-Винил-3- и 1-винил-5-пиразолкарбоновые кислоты. Синтез и противоожоговая активность их солей с хитозаном*. ЖОХ, 2014, т. 84, вып. 10, с. 1667-1671.
- [137] Атнарян О.С., Рстакян В.И., Бадалян К.С., Саакян А.А., Акопян А.Э., Асратян Г.В. // *Синтез, свойства и практическое применение 3- и 4-пиразолкарбоновых кислот*. В сб. „Некоторые успехи органической и фармацевтической химии”, Ереван, НАН РА, 2015, вып. 2, с. 224-233.
- [138] Cativiela C., Garcia-Laureizo J.Y., Elguero J., Elguero E. // *Electronic absorption spectra of pyrazoles. III Semiempirical calculation and the problem of tautomerism of 3(5)-phenyl pirazole*. Gazz. Chem. Ital. 1991, v. 121, № 10, p. 477-482.
- [139] Афонин А.В., Воронов В.К., Андриянков М.А. // *Внутримолекулярная водородная связь $C\equiv N$ в 2-винилокси- и 2-винилтиопиридинах и хинолинах*. ЖОХ, 1986. т. 56. вып. 12, с. 2806-2807.

- [140] Балтаян А.О., Саакян А.А., Аттарян О.С., Асратян Г.В. // *Внутримолекулярное специфическое взаимодействие $CN\cdots O$ в 1-винил-5-пиразолкарбоновой кислоте по данным спектроскопии ЯМР 1H* . ЖОХ, 2010, т. 8, вып. 6, с. 1036-1037.
- [141] Шиповская А.Б., Фомина В.И., Казмичева О.Ф. // Влияние молекулярной массы на оптическую активность хитозана. ВМС. 2007, т. 49 Б, № 12. с. 2195-2199.
- [142] Рстамян В.И., Акопян А.Э., Аттарян О.С., Асратян Г.В. // *Получение соли 1-(2-карбоксиэтил)-3,5-диметил-1H-пиразол-4-карбоновой кислоты с хитозаном и ее противоопухолевая активность*. ЖОХ, 2015, т. 85, вып. 11, с. 1930-1931.

П Р И Л О Ж Е Н И Е

об исследовании антимикробной активности хитозановых пленок, модифицированных пиразолкарбоновыми кислотами

Исследована антимикробная активность новых модификаций хитозанов со следующими пиразолкарбоновыми кислотами: 1-карбоксиметилпиразол(10), 1-карбоксиэтил-3-метилпиразол (28), 3-[2-(3-метилпиразол-1-ил)этиламино]пропионовая кислота (23), (3-(4'-формилпиразол-1'-ил)пропионовая кислота (29) и 3-(4'-формил-3'-метилпиразол-1'-ил) пропионовая кислота (30), которые были синтезированы в лаборатории № 5 Института органической химии научно-технологического центра органической и фармацевтической химии НАН РА. В исследованиях использовали хитозан с низкой (а - $M_r = 300$ кДа) и средней (б - $M_r = 600$ кДа) молекулярной массой. Применяя пиразолкарбоновые кислоты были получены модифицированные хитозановые пленки с низкой и средней молекулярной массой хитозана (31А(а,б), 32Б(а,б), 33В(а,б), 34Г(а,б), 35Д(а,б)).

Для определения антимикробных свойств модифицированных хитозанов в качестве тест-организмов использовали *Escherichia coli* VKPM-M17, *Staphylococcus aureus* WDCM 5233, *Bacillus subtilis* WT-A1 и *Aspergillus flavus* WT. Предварительно тест-культуры бактерий выращивали в питательном бульоне в течении 12-16 часов при оптимальной температуре. В случае изучения антигрибковой активности на среду добавляли *A. flavus* в расчете 10^4 спор на чашку Петри. Для предварительного скрининга наиболее активных модификаций хитозанов была изучена антибактериальная активность хитозановых пленок, вырезанных в виде дисков диаметром 5 мм. Пленки были предварительно стерилизованы ультрафиолетом на расстоянии 20 см в течении 30 мин. Стерильные диски выкладывали на поверхность засеянной тест-культурой среды.

Определение антибактериальных свойств водных растворов модифицированных хитозанов (1, 10, 20 мг/мл) проводили методом диффузии в агар с использованием лунок (8 мм). В лунки вносили по 0.1 мл изучаемых растворов. Чашки Петри

предварительно выдерживали в холодильнике в течении двух часов для диффундирования исследуемого вещества. О наличии антибактериальной активности судили по результатам 3-х независимых экспериментов, по образованию зон отсутствия роста тест-организмов после 24 часового инкубирования. Зону подавления роста, величиной по меньшей мере диаметром 2 мм, регистрировали как положительный результат.

Исследование антимикробной активности дисков полученных хитозановых пленок выявило ярко выраженную антибактериальную активность. Результаты обобщены в таблице 1.

Таблица 1.

Антимикробная активность дисков хитозановых пленок

Модифицированный хитозан	Диаметр отсутствия роста тест-культур (Ø см)			
	<i>B. subtilis</i> WT-A1	<i>S. aureus</i> WDCM 5233	<i>E. coli</i> VKPM-M17	<i>A. flavus</i> WT
31A(a)	0.3	0.6	0	0
31A(б)	0.2	0	0	0
32Б(a)	0.2	0.2	0	0
32Б(б)	0.1	0	0	0
33В(a)	0.3	0.6	0.3	0
33В(б)	0	0	0	0
34Г(a)	2.5	2.8	2.5	0
34Г(б)	2.0	2.0	2.0	0
35Д(a)	1.5	2.0	2.5	0
35Д(б)	2.0	2.5	2.0	0

*стандартное отклонение составляло ± 0.1 см.

Из данных, приведенных в таблице 1 видно, что все модифицированные хитозаны обладали антибактериальной активностью, за исключением пленок модифицированного хитозана **33В(б)**. Модифицированные хитозановые пленки низкой молекулярной массы(a) проявляли большую антибактериальную активность по сравнению с модифицированными хитозановыми пленками средней молекулярной массы(б). Ни один из модифицированных хитозанов не подавлял роста гриба *A. flavus* WT. Исследование антибактериальной активности растворов указанных образцов выявило аналогичные результаты (таб. 2).

Таблица 2.

Антибактериальная активность растворов хитозановых пленок

Модифицированный Хитозан	Диаметр отсутствия роста тест-культур (Ø см)								
	<i>B. subtilis</i> WT-A1			<i>S. aureus</i> WDCM-5233			<i>E. coli</i> VKPM-M17		
	Концентрация модифицированного хитозана мг/мл								
	1	10	20	1	10	20	1	10	20
31А(а)	0	0	2.0	0	0	0.6	0	0	0
31А(б)	0	0	0.2	0	0	0	0	0	0
32Б(а)	0	0	2.5	0	0	3.0	0	0	2.5
32Б(б)	0	0	2.0	0	0	1.5	0	0	0
33В(а)	0	0	1.0	0	0	1.0	0	0	0.6
33В(б)	0	0	1.0	0	0	1.0	0	0	0
34Г(а)	0	3.0	3.0	0	1.5	3.0	0	0	3.0
34Г(б)	0	1.0	2.0	0	0	2.0	0	0	2.8
35Д(а)	0	1.5	2.0	0	0	2.0	0	0	3.0
35Д(б)	0	2.0	2.5	0	0	2.5	0	0	2.0

*стандартное отклонение составляло ± 0.1 см

Растворы хитозановых пленок проявляют антибактериальную активность по отношению к *B. subtilis* WT-A1 при концентрации 20 мг/мл (рис. 1). Образцы не демонстрировали антибактериальную активность при низкой концентрации (1 мг/мл). При исследовании растворов хитозановых пленок в некоторых случаях наблюдается увеличение зоны подавления роста тест-организма. Несмотря на то, что образцы подавляли рост эндоспорообразующих бактерий, антигрибковая активность не проявлялась даже при высокой концентрации.

Растворы модифицированных хитозановых пленок низкой молекулярной массы(а) более активны по сравнению с модифицированными хитозановыми пленками средней молекулярной массы(б), что наблюдалось и при изучении антимикробной активности сухих модифицированных хитозановых пленок.

С точки зрения химического строения очевидно, что при наличии формильной группы в четвертом положении пиразолового кольца антибактериальная активность хитозанов увеличивается по сравнению с другими модификациями (образцы 34Г(а) и 34Г(б) по сравнению с образцами 31А(а) и 31А(б).

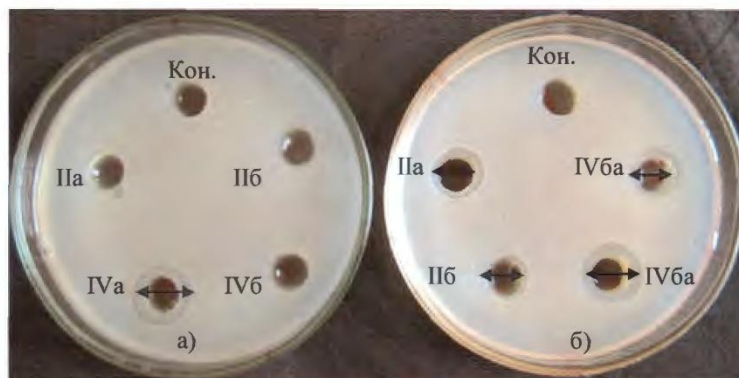


Рис. 1. Антибактериальная активность растворов хитозановых пленок по отношению к *B. subtilis* в концентрациях 10 (а) и 20 мг/мл (б).

Из результатов исследований пиразоловых пленок следует, что образцы проявляют высокую антибактериальную активность широкого спектра.

Мы, ниже подписавшиеся, подтверждаем достоверность полученных данных.

Руководитель группы
Зав. Кафедрой Микробиологии и биотехнологии
растений и микроорганизмов ЕГУ,
член-корр. НАН РА, д.б.н., проф.


А.А. Трчунян

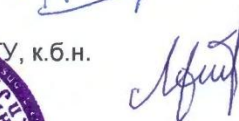
Исполнители работы
Доцент кафедры Микробиологии и биотехнологии
растений и микроорганизмов ЕГУ, к.б.н.


О.А. Паносян

Доцент кафедры Микробиологии и биотехнологии
растений и микроорганизмов ЕГУ, к.б.н.


И.Л. Базукян

Научный сотрудник научно исследовательского
института Биологии Биологического факультета ЕГУ, к.б.н.


А.А. Маргарян

Подписи утверждаю
ученый секретарь ЕГУ,
к.и.н., доцент




М.А. Согомонян

16.05.2016

Директор Научно-технологического центра
органической и фармацевтической химии,
член-корр. НАН РА, д.х.н., проф.
В.О. Топузян

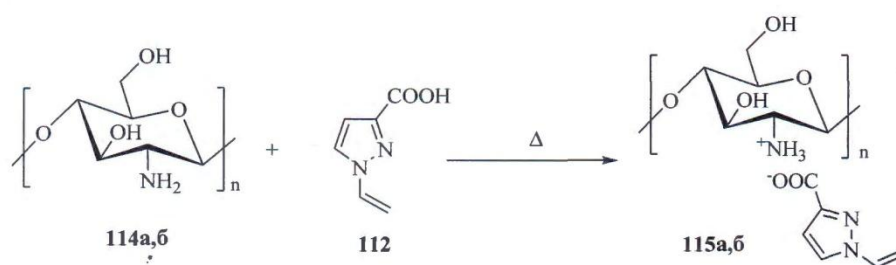


АКТ № 2

об исследовании противоожоговой активности 1-винил-3-пиразолкарбоновой кислоты (112), низкомолекулярного (114a) и высокомолекулярного (114б) хитозанов, солей низкомолекулярного и высокомолекулярного хитозанов 1-винил-3-пиразолкарбоновой кислоты (115 a, 115б)

Исследована противоожоговая активность 1-винил-3-пиразолкарбоновой кислоты (112), низкомолекулярного (114a) и высокомолекулярного (114б) хитозанов, а также солей низкомолекулярного (115a) и высокомолекулярного (115б) хитозанов 1-винил-3-пиразолкарбоновой кислоты, синтезированных в лаборатории № 5 Института органической химии Научно-технологического центра органической и фармацевтической химии НАН РА.

Соединения (112, 114a, 114б) были растворены в 1%-ном водном растворе соляной кислоты. В качестве средств для нанесения на раны были использованы водные растворы (112, 114, 115), имеющие консистенцию мазей.



114a, 115a M_r = 300 кДа; 114 б, 115 б = 600 кДа

В соответствии с поставленными задачами эксперимента животные были разделены на следующие группы по 8 животных (белые крысы) в каждой:

1. Контрольная группа (нелеченные животные);
2. Подопытные группы (животные, у которых пораженные участки обрабатывали апробируемыми веществами).

Динамику регенеративных свойств указанных соединений исследовали на 3, 7, 15, 21 дни эксперимента, при наличии экспериментально спровоцированных ожогов 2-ой степени тазо-бедренной части белых крыс.

Эксперименты проводились в лаборатории фармакологии и патогистологии (лаб. № 10) Научно-технологического центра органической и фармацевтической химии НАН РА в соответствии с правилами содержания и обращения с животными, изложенными в Директивах Европейского Сообщества (86/609/ЕС) .

Динамику регенеративного процесса оценивали на основе объективных данных: макрофотографического, а также морфологического анализа гистологических срезов кожи как у контрольных, так и у подопытных животных (рис. 1).

Исследования показали, что 1-винил-4-пиразолкарбоновая кислота (**112**), по сравнению как с хитозаном (**114a**, **114b**), так и с контрольной группой, не проявляют противоожоговой активности.

Макрофотографические исследования показывают, что высокомолекулярная соль хитозана с 1-винил-4-пиразолкарбоновой кислоты (**115b**) обладает более выраженной противоожоговой активностью. Полученные данные подтверждаются также гистопатологическими исследованиями.

Из морфологических исследований выясняется, что под действием соединения **115b**, по сравнению с **115a**, **114a, b**, и особенно с контрольной группой (рис. 1), уже на 15-й день после ожога, наблюдается динамика восстановления эпидермальной ткани белых крыс. За указанное время эксперимента, наряду с незначительными нарушениями в эпидермальной ткани животных, под действием соединения **115 b** отмечаются процессы восстановления клеточных элементов и формирование волосных фолликулов, свойственных здоровой кожной ткани. Наблюдается также уменьшение площади

деструктивных очагов с активацией процессов регенерации кожной ткани. В остальных группах (112, 114а, 115а) доминируют деструктивные и дистрофические изменения. (рис. 1).

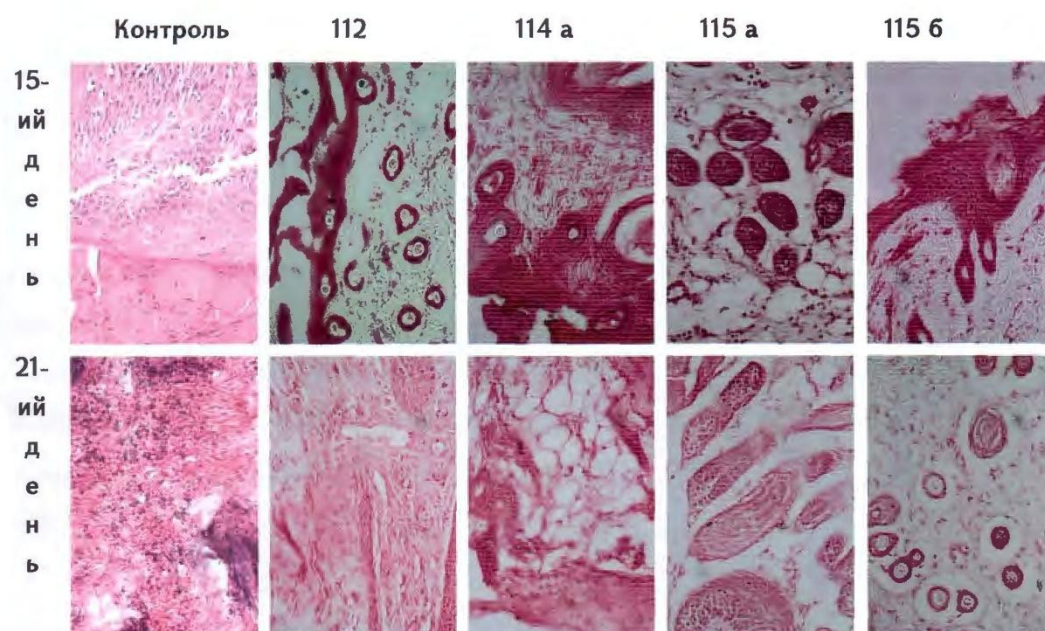


Рис. 1. Гистоструктуры эпидермальных тканей белых крыс.

Окраска: гематоксилин – эозин. Окуляр 10х, объектив 25х.

На 21-й день эксперимента регенеративные процессы завершаются при обработке эпидермальной ткани белых крыс высокомолекулярной солью хитозана 1-винил-4-пиразолкарбоновой кислоты (1156). Гистологически четко выявляется формирование гистоструктуры сетчатого слоя эпидермальной ткани, где деструктивные и дистрофические процессы достигают до минимума. Макроскопически, в основном, отмечается формирование волосяного покрова в травмированных участках.

Таким образом, макрофотографические и гистологические исследования показали, что соединение высокомолекулярной соли хитозана 1-винил-4-пиразолкарбоновой кислоты (1156), по сравнению с соединениями 112, 114а и 115а, проявляет

заметную противоожоговую активность в условиях экспериментальных термических ожогов II степени.

Руководитель лаб. фармакологии и патогистологии,

НТЦ ОФХ НАН РА, ст. научн. сотр., к.б.н.



Г.В. Гаспарян

Исполнитель работы,

Мл. научн. сотр.



С.А. Буляян

Подписи к.б.н., ст. научн. сотр. Г.В. Гаспаряна и мл. научн. сотр. С.А. Буляна
заверяю:

Ученый секретарь Научно-технологического центра
органической и фармацевтической химии, НАН РА
д.х.н.



А.Х. Гюльназарян

Директор Научно-технологического
Органической и фармацевтической

член-корр. НАН РА, д.х.н.,

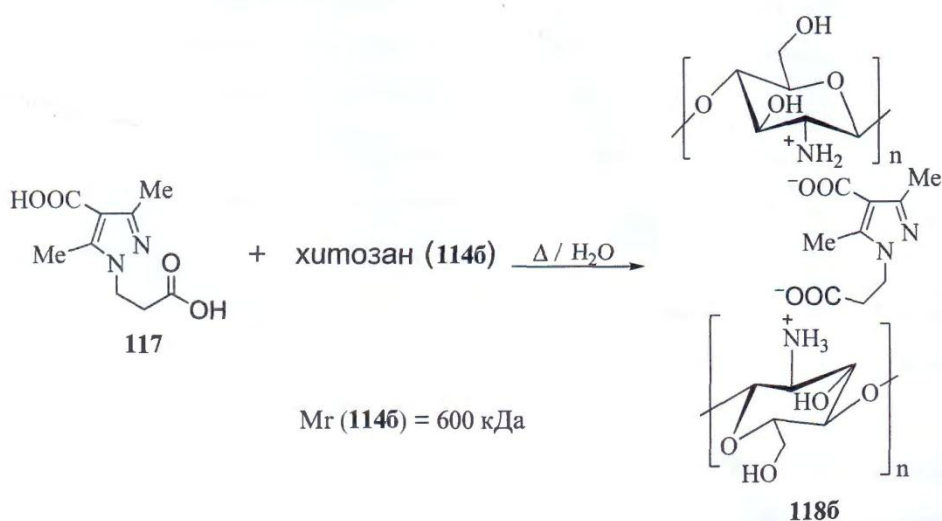
В.О. То



АКТ № 3

об исследовании противоожоговой активности 1-(2-карбоксиэтил)-3,5-диметил-
пиразол-4-карбоновой кислоты (**117**), высокомолекулярного хитозана (**1146**), со-
высокомолекулярного хитозана 1-(2-карбоксиэтил)-3,5-диметил-1Н-пиразол-4-
карбоновой кислоты (**1186**)

Исследована противоожоговая активность 1-(2-карбоксиэтил)-3,5-диметил
пиразол-4-карбоновой кислоты (**117**), высокомолекулярного хитозана (**1146**), а та
соли высокомолекулярного хитозана 1-(2-карбоксиэтил)-3,5-диметил-4-пиразолкар-
новой кислоты (**1186**), синтезированных в лаборатории № 5 Института органичес-
химии Научно-технологического центра органической и фармацевтической хим
НАН РА.



Исследования противоожоговой активности проводились в лаборатории фкологии и патогистологии (лаб. № 10) Научно-технологического центра органич и фармацевтической химии НАН РА в соответствии с правилами содержан обращения с животными, изложенными в Директивах Европейского Сообщ (86/609/ЕС) .

1-(2-карбоксиэтил)-3,5-диметил-1Н-пиразол-4-карбоновая кислота (117) и высокомолекулярного хитозана 1-(2-карбоксиэтил)-3,5-диметил-1Н-пиразол-4-карб вой кислоты (1186) были использованы в виде 1%-ного водного раствора, а хитс (1146) был растворен в 1%-ом водном растворе соляной кислоты. В качестве сред для нанесения на раны были использованы все растворы соединений (1146, 1 1186), имеющие консистенцию мазей.

В соответствии с поставленными задачами эксперимента, животные бы разделены на следующие группы по 8 животных (белые крысы) в каждой:

1. Контрольная группа (нелеченные животные);
2. Подопытные группы (животные, у которых пораженные участки обрабатыва апробируемыми веществами).

Динамика регенеративных свойств указанных соединений исследовалась на 3, 15, 21 дни эксперимента, при наличии экспериментально спровоцированных ожого 2-ой степени тазо-бедренной части белых крыс. Динамику регенерационного про цесса оценивали на основе объективных данных: макрофотографического, а также морфологического анализа гистологических срезов кожи как у контрольных, так и у подопытных животных.

Исследования показали, что 1-(2-карбоксиэтил)-3,5-диметил-1Н-пиразол-4-карбо- новая кислота (117) по сравнению как с хитозаном (1146), так и с контрольной группой, не проявляет противоожоговой активности.

Под действием соли высокомолекулярного хитозана 1-(2-карбоксиэтил)-3,5-диме- тил-1Н-пиразол-4-карбоновой кислоты (1186) регенеративные процессы эпидер- мальной ткани начинаются на 7 сутки, что по своим характеристикам визуально

намного опережает как у контрольных, так и у животных, обработанных высокомолекулярным хитозаном (1146) .

Гистологические исследования показывают, что регенеративные процессы эпидермальной ткани под действием хитозана (1146) активируются на 15 сутки после нанесения ожога, а под действием соединения 1186 по сравнению с контрольной группой, уже на 15-й день после ожога наблюдается динамика восстановления эпидермальной ткани белых крыс. За указанное время эксперимента, наряду с незначительными нарушениями в эпидермальной ткани животных, под действием соединения 1186 отмечаются активные процессы восстановления клеточных элементов и формирование волосяных фолликулов, свойственных здоровой кожной ткани (рис. 1).

Наблюдается также уменьшение площади деструктивных очагов с активацией процессов регенерации кожной ткани. В этом сроке аналогичная морфологическая картина наблюдается у тех животных, раны которых обрабатывались высокомолекулярным хитозаном (1146), но по количеству деструктивных и дистрофических изменений намного опережает группу, раны которых обрабатывались 1186. На 21-й день эксперимента регенеративные процессы завершаются под действием модифицированного хитозана (118 6) (рис. 1). Гистологически отмечается восстановление эпидермальной ткани белых крыс. Макроскопически наблюдается формирование волосяного покрова в кожной ткани.

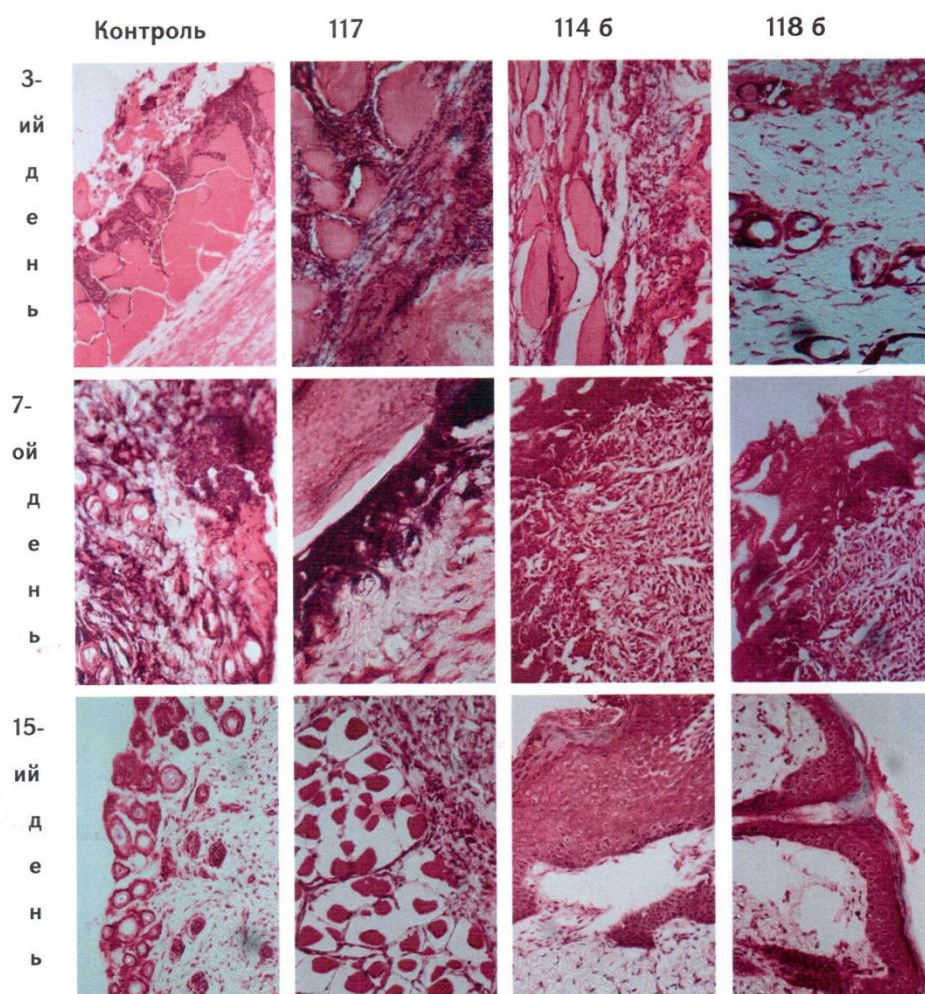


Рис. 1. Гистоструктуры эпидермальных тканей белых крыс. Окраска: гематоксилин – эозин. Окуляр 10х, объектив 25х.

Таким образом, по данным макрофотографических и гистологических исследований можно заключить, что модифицированный высокомолекулярный хитозан 1-(2-карбоксоэтил)-3,5-диметил-1Н-пиразол-4-карбоновой кислотой (**1186**) по сравнению с 1-(2-карбоксиэтил)-3,5-диметил-1Н-пиразол-4-карбоновой кислотой (**117**) и с

высокомолекулярным хитозаном (1146) проявляет противоожоговую активность в условиях экспериментальных термических ожогов II степени.

Руководитель лаб.фармакологии и патогистологии,
НТЦ ОФХ НАН РА, ст. научн. сотр., к.б.н.



Г.В. Гаспарян

Исполнитель работы,
мл. научн. сотр.



С.А. Буляян

Подписи к.б.н., ст. научн. сотр. Г.В. Гаспаряна и мл. научн. сотр. С.А. Буляян
заверяю:

Ученый секретарь Научно-технологического центра
органической и фармацевтической химии НАН РА, д.х.н. А.Х. Гюльназарян

