

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
ՕՐԳԱՆԱԿԱՆ ԵՎ ԴԵՂԱԳՈՐԾԱԿԱՆ ՔԻՄԻԱՅԻ ԳԻՏԱՏԵԽՆՈԼՈԳԻԱԿԱՆ
ԿԵՆՏՐՈՆ

ՀԱԿՈՐՅԱՆ ԱՐԱՔՍՅԱ ԷԴՈՒԱՐԴԻ

**ՊԻՐԱԶՈԼԿԱՐԲՈՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ՍԻՆԹԵԶԸ և ԴՐԱՆՑՈՎ
ՄՈԴԻՖԻԿԱՑՎԱԾ ԽԻՏՈՂԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ
ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒՄԸ**

Բ.00.03-«Օրգանական քիմիա» մասնագիտությամբ քիմիական
գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂԱԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ- 2016

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

АКОПЯН АРАКСЯ ЭДУАРДОВНА

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

АВТОРЕФЕРАТ

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

ЕРЕВАН -2016

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ Օրգանական և դեղագործական քիմիայի գիտատեխնոլոգիական կենտրոնում

Գիտական ղեկավար՝

քիմ. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր

Գ.Վ. Հասրաթյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝

քիմ. գիտ. դոկտոր

Մ.Ս. Սարգսյան

քիմ. գիտ. թեկնածու

Ա.Լ. Գյուլբուդադյան

Առաջատար կազմակերպություն՝

Հայաստանի ազգային ագրարային համալսարան

Ատենախոսության պաշտպանությունը կայանալու է 2016 թ. հուլիսի 12-ին, ժամը 15⁰⁰-ին ՀՀ ԳԱԱ Օրգանական և դեղագործական քիմիայի գիտատեխնոլոգիական կենտրոնում գործող ՀՀ ԲՈՒՀ-ի Օրգանական քիմիայի ՕԻՕ մասնագիտական խորհրդի նիստում (0014, ք. Երևան, Ազատության պող., 26):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ ՕԴՔ ԳՏԿ-ի գրադարանում:

Սեղմագիրն առաքված է 2016 թ. հունիսի 10-ին:

Մասնագիտական խորհրդի գիտնական
քարտուղար, ք.գ.թ.

Մ.Մակարյան

Тема диссертации утверждена в Научно-технологическом центре органической и фармацевтической химии НАН РА

Научный руководитель:

доктор хим. наук, профессор

Г.В.Асратян

Официальные оппоненты:

доктор хим. наук

М.С.Саргсян

канд. хим. наук

А.Л. Гюльбудагян

Ведущая организация:

Национальный аграрный университет Армении

Защита диссертации состоится 12-го июля 2016 г. в 15⁰⁰ часов на заседании Специализированного совета ВАК ՕԻՕ по органической химии, действующего в Научно-технологическом центре органической и фармацевтической химии НАН РА (0014, г. Ереван, пр. Азатуян 26).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НТЦ ОФХ НАН РА.

Автореферат разослан 10-го июня 2016 г.

Ученый секретарь специализированного совета,
к.х.н

Г.М.Макарян

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 противовоспалительной активности этих солей.

Научная новизна. Показано, что при формилировании N-замещенных пиразолов по Вильсмейеру-Хааку, реакция протекает через промежуточное образование соли аммониевого катиона, когда выделяющаяся 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-Ацетилоксиэтилпиразолы 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 противоожоговая 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.

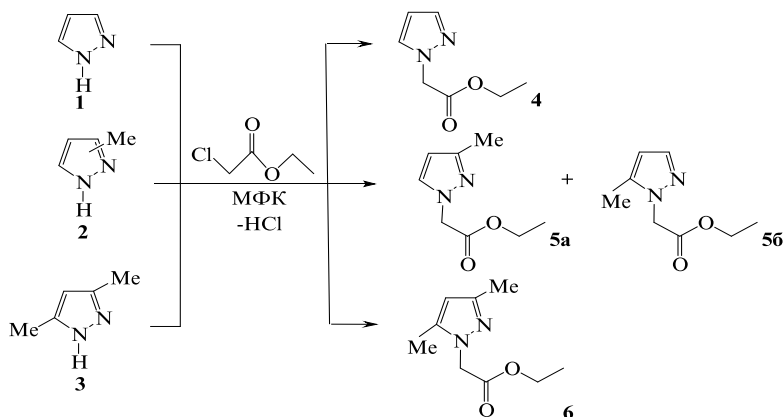
ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

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

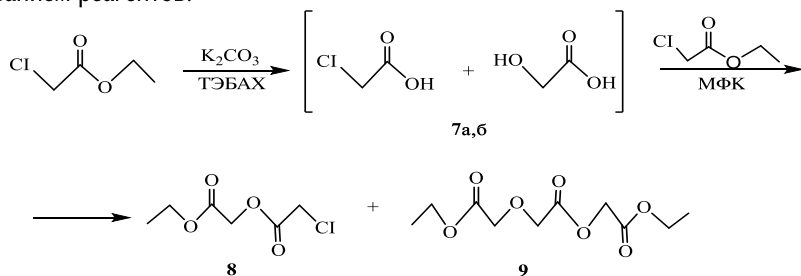
Одной из актуальных задач современной химии является получение разнообразно функционально замещенных биологически активных синтетических соединений для использования в медицине, биологии, сельском хозяйстве и других областях. В этом направлении нами исследованы новые синтетические возможности функционализации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

С целью синтеза 1-замещенных азолов нами исследовано взаимодействие пиразолов **1-3** с этиловым эфиром хлоруксусной кислоты в условиях межфазного катализа (МФК).

Алкилирование проводили в системе жидкость-твердая фаза с применением ацетона в качестве органического растворителя и катализатора – триэтилбензиламмонийхлорида (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 связано с протеканием ряда побочных реакций. Во-первых, при алкилировании пиразолов **1-3** в присутствии избытка этилового эфира хлоруксусной 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,б** и последующим алкилированием реагентов.



Во-вторых, по-видимому, под действием 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 соединения **4-6** с водой (в отсутствие K_2CO_3) происходит гидролиз.

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

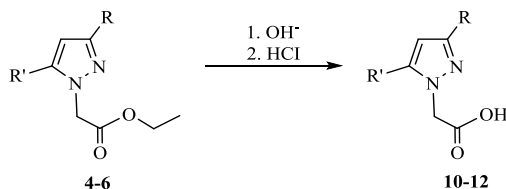
В пользу этого свидетельствует тот факт, что при переходе от пиразола **1** к пиразолу **3** продолжительность реакции гидролиза увеличивается в 2.5 раза.

Другим важным фактом 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, вследствие чего повышается устойчивость эфиров к воздействию воды.

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 электронодонорных метильных заместителей в пиразольное кольцо затрудняет реакцию алкилирования.

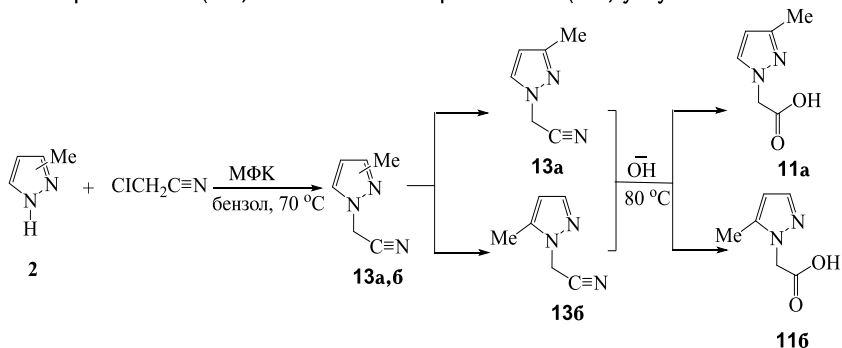
Гидролиз полученных сложных эфиров **4-6** проводили действием водного раствора NaOH при комнатной температуре. Выходы кислот **10-12** составили 78-80 % соответственно.



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

При алкилировании 3(5)-метилпиразола (**2**) образуется смесь **5a** и **5b** изомерных пиразолов с общим выходом 60 % в соотношении 3:2 (по данным спектров ¹H ЯМР). 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 **11a,б**.

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

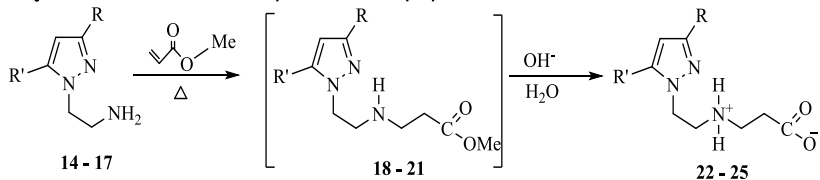


Установлено, что алкилирование 3(5)-метилпиразола (**2**) можно осуществить, используя систему жидкость-твердая фаза (бензол, K₂CO₃, ТЭБАХ). Максимальные выходы соединений **13а,б** (65-70 %) достигнуты при соотношении реагентов пиразол - хлорацетонитрил - K₂CO₃ – 1:2:3.

2. Щелочной гидролиз сложных эфиров 1-(2'-аминоэтил)пиразолов Антимикробная активность хитозановых пленок, модифицированных пиразолкарбоновыми кислотами

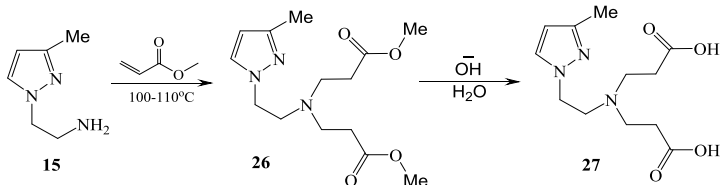
Одной из целей диссертационной работы являлась разработка методов синтеза пиразолкарбоновых кислот, получение на их основании новых аммониевых солей хитозана и изучение их биологических активностей. В этом разделе нами рассмотрен синтез новых классов пиразолкарбоновых кислот.

Показано, что легкодоступные эфиры N-карбоксиэтил производные аминок-этилпиразолов легко гидролизуются уже при комнатной температуре в присутствии эквимольного количества водного раствора едкого натра. Следует отметить, что гидролиз интермедиатов **18-21** проводили без их предварительной перегонки. В результате проведенной реакции получены пиразол-этиламинопропионо-вые кислоты **22-25** с выходами 65-72 %. Установлено, что соединения **22-25** существуют исключительно в β-ионных формах.



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.

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 приводит к целевому продукту **27**.

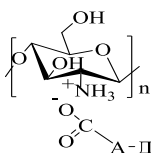


Известно, что хитозан и его производные, благодаря уникальной поликатионной природе, обладают широким спектром антимикробной активности, поэтому

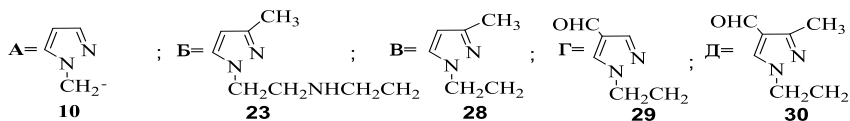
они применяются в медицине, в пищевой и фармацевтической промышленности, сельском хозяйстве.

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-карбоксиитил-3-метилпиразол (**28**), (3-(4'-формилпиразол-1'-ил)пропионовая кислота (**29**) и 3-(4'-формил-3'-метилпиразол-1'-ил)пропионовая кислота (**30**).

Для исследований использовали хитозан (Sigma Aldrich) с низкой [M_r = 300 кДа (а)] 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 °С и при перемешивании порциями добавляли хитозан. Полученные хитозановые пленки сушили при комнатной температуре. На схеме изображены структуры полученных модификаций хитозана (**31а,б - 35а,б**).



31А (а,б), 32В (а,б), 33В (а,б), 34Г (а,б), 35Д (а,б).

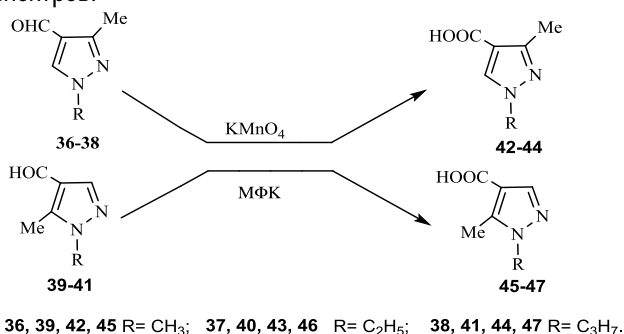


Как свидетельствуют результаты биологических испытаний, все модифицированные хитозаны обладают антибактериальной активностью, за исключением пленок модифицированного хитозана **33В(б)**. Модифицированный же хитозан **32Б(б)** только незначительно ингибирует рост эндоспорообразующих бактерий. Диски модифицированных хитозанов **31А(а)** и **32Б(а)** подавляли рост только грамположительных бактерий. Особый интерес представляли пробы **34Г(а,б)** и **35Д(а,б)**, которые подавляли рост как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, следовательно, они обладают широким спектром действий. Большинство модифицированных хитозанов подавляло рост грамположительных, эндоспорообразующих бактерий, однако ни один из хитозанов не подавлял роста мицелиального грибка (*A. flavus* WT). Исследование антибак-

териальной активности растворов хитозановых солей выявило аналогичные результаты.

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

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



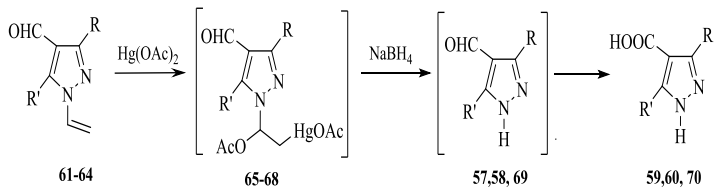
В частности, в ИК спектрах полученных соединений наблюдаются характерные полосы поглощений COOH группы в области $3000\text{--}3200\text{ см}^{-1}$, а валентные колебания C=O группы – в области $1700\text{--}1710\text{ см}^{-1}$. В спектрах ЯМР ^1H протоны метильных групп в положениях 3- и 5-пиразольного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

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

Синтез 1Н-пиразол-4-карбальдегидов **57,58** нам удалось осуществить по схеме, включающей первоначальное 1-карбоксиэтилирование пиразолов **1-3**, с образованием пиразолов **48-50**.

Далее последующими стадиями формилирования, гидролиза и термического β -распада полученных формилпиразолкислот **54-56** и, наконец, окислением

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 при комнатной температуре в течении 30 мин. Ход реакции контролировался методом ГЖХ.

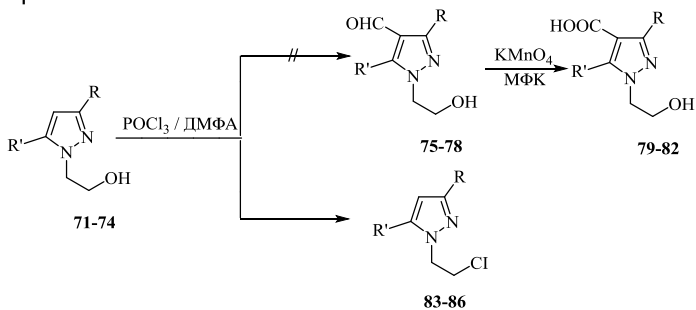


61, 65, 69-70 R=R'=H; 62, 66, 57, 59 R=CH₃, R'=H; 63, 67, 57, 59 R=H, R'=CH₃; 64, 68, 58, 60 R=R'=CH₃.

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 %. Можно предположить, что по-видимому, 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 : Hg(OAc)₂ : NaBH₄ – 1:2:1. Действительно, в указанных условиях нам удалось получить 4-пиразолкарбоновые кислоты **59,60,70** с выходами 45-50%.

6. Синтез 1-(2'-гидроксиэтил)-4-пиразолкарбоновых кислот 79-82

С целью получения новых классов функционально замещенных 4-пиразолкарбоновых кислот **79-82** 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.

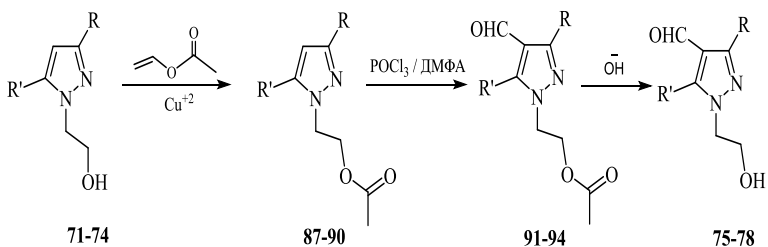
Попытки формилирования 1-(2'-гидроксиэтил)пиразолов **71-74** в условиях реакции Вильсмейера – Хаака претерпевали неудачу. Реакция заканчивалась лишь замещением гидроксильной группы атомом хлора в гидроксиэтильном фрагменте молекулы.

Это, по-видимому, обусловлено 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.

Полученные результаты дают основание предположить, что если HCl выделяется в результате взаимодействия комплекса Вильсмейера – Хаака с пиразолом (в случае 1-хлорэтилпиразолов) то выделяемый HCl не препятствует реакции формилирования. А если соляная кислота выделяется в результате побочных реакций (в случае N-гидроксиэтилпиразолов), то она препятствует реакции формилирования за счет кватернизации пиридинового азота, приводящего к уменьшению нуклеофильности пиразольного кольца.

С целью проведения реакции формилирования 1-(2'-гидроксиэтил)пиразолов **71-74** по Вильсмейеру-Хааку, предполагалось введение защитных групп в органическую молекулу с таким расчетом, чтобы исключить возможность их взаимодействия с другими реакционными центрами молекулы. 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. Предварительное ацетилирование гидроксильной группы позволило формилировать пиразольное кольцо в положении 4.

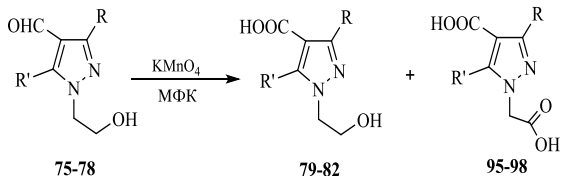


71, 75, 87, 91 R=R'=H; 72, 76, 88, 92 R=CH₃, R'=H; 73, 77, 89, 93 R=H, R'=CH₃; 74, 78, 90, 94 R=R'=CH₃.

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 с обра-

зованием 2-(4-формил-1Н-пиразол-1-ил)этилацетатов **91-94**. Гидролиз последних приводит к образованию соответствующих альдегидов **75-78**.

Окисление 1-(2'-гидроксиэтил)пиразолов **75-78** в условиях МФК (вода-бензол- KMnO_4 -ТЭБАХ) в температурном интервале 0-30 °С привело к смеси двух типов кислот **79-82** и **95-98**.

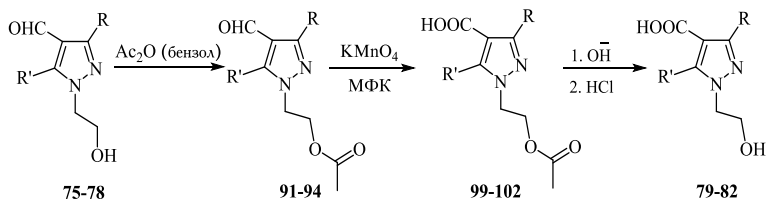


75, 79, 95 R=R'=H; 76, 80, 96 R=CH₃, R'=H; 77, 81, 97 R=H, R'=CH₃; 78, 82, 98 R=R'=CH₃.

По данным ЯМР ¹H спектров, соотношение соединений (**79-82**) : (**95-98**) составляет 4:1.

При более высокой температуре (60 °С) и многократном избытке KMnO_4 гидроксиметильная группа в соединениях **79-82** полностью окисляется с образованием 1-карбоксиметил-4-пиразолкарбоновых кислот (**95-98**) с выходом 35-40 %.

Для хемоселективного окисления формильной группы без затрагивания гидроксиметильной группы в молекуле 1-(2'-гидроксиэтил)-4-формилпиразолов **75-78**, был предложен метод введения защитных групп (ацетильная группа). После чего соединения **91-94** окисляют перманганатом калия в условиях межфазного катализа, что приводит к образованию 1-(2'-ацетоксиэтил)-4-пиразолкарбоновых кислот **99-102**. Последние далее подвергаются гидролизу водным раствором NaOH с образованием целевые 1-(2'-гидроксиэтил)-4-пиразолкарбоновые кислоты **79-82**.

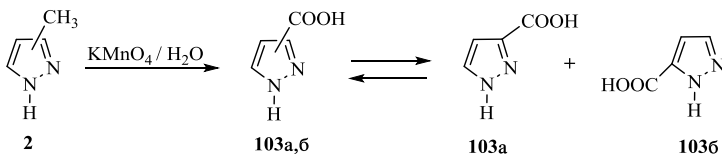


75, 79, 91, 99 R=R'=H; 76, 80, 92, 100 R=CH₃, R'=H; 77, 81, 93, 101 R=H, R'=CH₃; 78, 82, 94, 102 R=R'=CH₃.

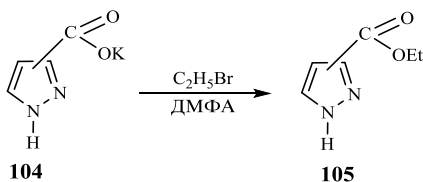
7. Синтез 1-винил-3- и 1-винил-5-пиразолкарбоновых кислот и противоожоговая активность их солей с хитозаном

Для синтеза новых классов пиразолкарбоновых кислот исследовано также окисление метильных групп в пиразольном кольце.

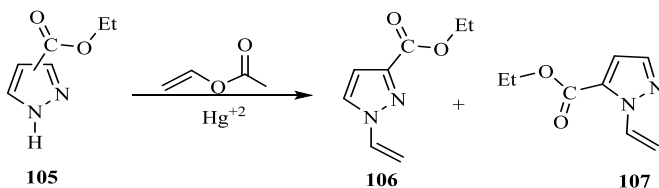
Окисление технически доступного 3(5)-метилпиразола (**2**) перманганатом калия в водной среде приводит к образованию 3(5)-пиразолкарбоновой кислоты (**103**).



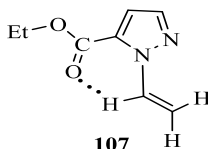
Алкилированием калиевой соли 3(5)-пиразолкарбоновой кислоты (**104**) этилбромидом в ДМФА синтезирован сложный эфир **105** с выходом 60 %. Продукты N-алкилирования в этих условиях не образуются.



Винилированием эфиров 3(5)-пиразолкарбоновой кислоты (**105**) винилацетатом в присутствии каталитического количества сульфата ртути, образуется смесь изомерных эфиров 1-винил-3- (**106**) и 1-винил-5-пиразолкарбоновых (**107**) кислот с общим выходом 80 % и соотношением изомеров 3:2, соответственно. Последние были разделены обычной перегонкой.

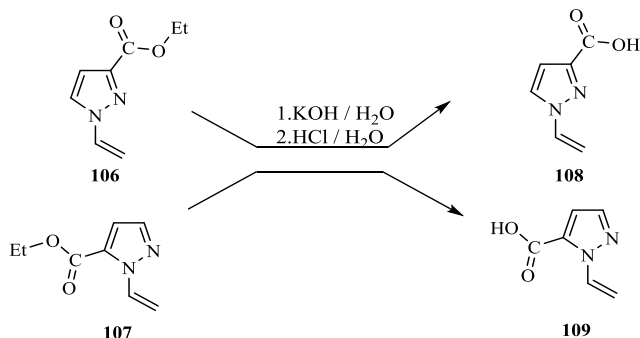


Легкость разделения изомеров **106**, **107** в случае эфиров 1-винилпиразолкарбоновой кислоты объясняется тем, что в эфире 1-винил-5-пиразолкарбоновой (**107**) кислоты существует внутримолекулярная водородная связь между α -атомом водорода винильной группы и р-электронами атома кислорода карбонильной группы ($\text{CH}\cdots\text{O}=\text{C}$), отсутствующая в изомере **106**.

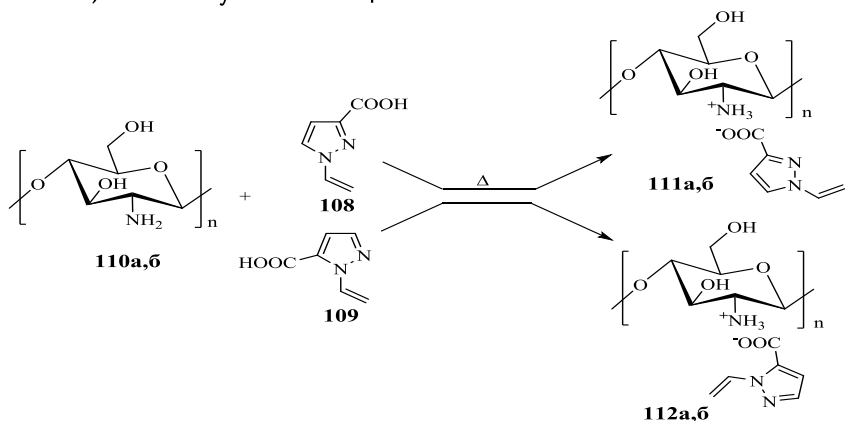


Это проявляется в том, что в ЯМР ^1H спектре сигнал α -протона смещен в слабое поле и резонирует в области 8.03 м.д. В соединении **106** α -протон винильной группы не дезэкранирован и резонирует в более сильном поле (7.01 м. д.).

Гидролизом сложных эфиров 1-винил-3- (**106**) и 1-винил-5-пиразолкарбоновых (**107**) кислот водным раствором едкого калия были получены соответствующие соли, которые при подкислении приводят к образованию 1-винил-3- (**108**) и 1-винил-5-пиразолкарбоновых (**109**) кислот.



Соли **a,6** 1-винил-3- (**111**) и 1-винил-5-пиразолкарбоновых (**112**) кислот с хитозаном **110 a,6** были получены по общей схеме:



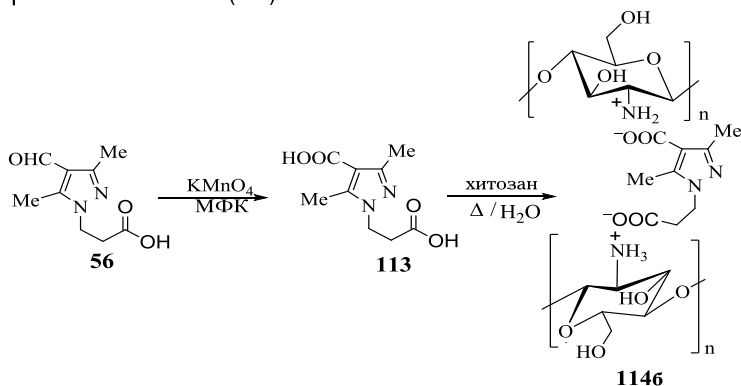
Реакция легко протекает при кипячении хитозана **110a,6** и соответствующих пиразолкарбоновых кислот **108, 109** в воде, в течение 1-3 мин. После фильтрации и удаления нерастворимых остатков, полученный раствор был высушен методом полива для образования тонких пленок, эластичность которых возрастает с увеличением количества хитозана.

Замечено, что практически все функциональные свойства хитозана зависят от его молекулярных параметров, в большей степени от массы (степени полимеризации). Мы не случайно ввели в молекулу хитозана 1-винилпиразолкарбоновую кислоту, так как при полимеризации винильных групп можно изменить молекулярную массу хитозана, тем самым контролируя его функциональные свойства. Полимеризацию солей **111a,6** и **112a,6** в выбранных условиях (H_2O , 20-50 °C, $Na_2S_2O_7$) осуществить не удалось.

Исследована противоожоговая активность 1-винил-3-пиразолкарбоновой кислоты (**108**), низкомолекулярного **110a** и высокомолекулярного **1106** хитозанов, а также солей хитозана 1-винил-3-пиразолкарбоновой кислоты **111a,6**.

Макрофотографические и гистологические исследования показали, что 1-винилпиразолкарбоновая кислота **108** по сравнению как с хитозаном **110a,6**, так и с контрольной группой, не проявляет противоожоговой активности. Однако, соль высокомолекулярного хитозана **1116**, по сравнению как с контрольной группой, так и с 1-винилпиразолкарбоновой кислотой **108** и высокомолекулярным хитозаном **1106**, проявляет заметную противоожоговую активность в условиях экспериментальных термических ожогов II степени.

Так как нам не удалось изменить молекулярную массу хитозановых солей **111a,6** и **112a,6** при помощи полимеризации и тем самым урегулировать его функциональные свойства, был выбран другой путь увеличения молекулярной массы, а именно – увеличение доли хитозана в хитозановых солях **1146** при помощи кватернизации хитозана **1106** 1-(2-карбоксиил)-3,5-диметил-1Н-пиразол-4-карбоновой кислотой (**113**).



1-(2-Карбоксиил)-3,5-диметил-1Н-пиразол-4-карбоновая кислота (**113**) получена окислением 3-(3,5-диметил-4-формилпиразол-1-ил)пропионовой кислоты (**56**) в условиях межфазного катализа. Соли хитозана **1146** получили нагреванием

хитозана **1106** с пиразолдикарбоновой кислотой **113** в воде при соотношении хитозан:кислота – 2:1 соответственно. После фильтрования и удаления нерастворимого остатка полученный раствор сушили методом полива для образования тонких пленок.

Интересные результаты получены при исследовании противоожоговой активности высокомолекулярного хитозана, 1-(2-карбоксиитил)-3,5-диметил-1Н-пиразол-4-карбоновой кислоты (**113**) и ее солей (**1146**). Данные макрофотографических и гистологических исследований показали, что высокомолекулярный хитозан модифицированный с 1-(2-карбоксоэтил)-3,5-диметил-1Н-пиразол-4-карбоновой кислотой (**1146**) по сравнению с 1-(2-карбоксиитил)-3,5-ди-метил-1Н-пиразол-4-карбоновой кислотой (**113**) и с высокомолекулярным хито-заном (**1106**) проявляет заметную противоожоговую активность в условиях экспериментальных термических ожогов II степени. Увеличение массы модифицированного хитозана приводит к сокращению времени регенерации поврежденных тканей.

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 основной 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-пиразолкарбоновой 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 противоожоговой активности и к уменьшению времени регенерации поврежденных тканей.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях

1. Бадалян К.С., Акопян А.Э., Саакян Л.А., Атнарян 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.
2. Акопян А.Э. // *Щелочной гидролиз сложных эфиров 1-(2'-аминоэтил)-пиразолов*. Хим. ж. Армении, 2013, т. 66, № 3, с. 512-514.
3. Бадалян К.С., Акопян А.Э., Атнарян О.С., Асратян Г.В. // *Формилирование 1H-пиразолов по Вильсмейеру-Хааку*. ЖОХ, 2014, т. 84, вып. 4, с. 697-699.
4. 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.
5. Рстакян В.И., Акопян А.Э., Закарян Г.Б., Айоцян С.С., Атнарян 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.
6. 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 противожоговая активность их солей с хитозаном*. ЖОХ, 2014, т. 84, вып. 10, с. 1667-1671.
7. 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.
8. 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.
9. Рстакян В.И., Акопян А.Э., Атнарян О.С., Асратян Г.В. // *Получение соли 1-(2-карбоксиэтил)-3,5-диметил-1H-пиразол-4-карбоновой кислоты с хитозаном и ее противожоговая активность*. ЖОХ, 2015, т. 85, вып. 11, с. 1930-1931.
10. 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.

ՀԱԿՈՐՅԱՆ ԱՐԱՔՍՅԱ ԷԴՈՒԱՐԴԻ

ՊԻՐԱԶՈՆԿԱՐԲՈՆԱԹԹՈՒՆՆԵՐԻ ՍԻՆԹԵԶԸ և ԴՐԱՆՑՈՎ ՄՈԴԻՖԻԿԱՑՎԱԾ ԽԻՏՈՋԱՆԻ ԿԵՆՍԱՔԱՆԱԿԱՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒՄԸ

ԱՄՓՈՓԱԳԻՐ

Իրականացվել է պիրազոլի, 3(5)-մեթիլպիրազոլի, 3,5-դիմեթիլպիրազոլի փոխազդեցությունը քլորքացախաթթվի էթիլ էսթերի հետ՝ միջֆազային կատալիզի պայմաններում: Ուսումնասիրվել են ռեակցիայի ընթացքի վրա ազդող մի շարք գործոններ: Ռեակցիան իրականացվել է հեղուկ-պինդ համակարգերում, որպես կատալիզատոր կիրառելով տրիէթիլբենզիլամոնիումի քլորիդը (ՏԷԲԱԲ): Ելքերը կազմել են 45-63 %, կողմնակի արգասիքների առաջացման պատճառով: Իրականացվել է ստացված պիրազոլիքացախաթթուների էթիլ էսթերների հիմնային հիդրոլիզը, որը բերում է համապատասխան պիրազոլիքացախաթթուների առաջացմանը: Նշված ճանապարհով հնարավոր չէր ստանալ 3-մեթիլ- և 5-մեթիլ-1H-պիրազոլիքացախաթթուները, քանի որ դրանց համապատասխան էսթերները չեն բաժանվում: Նշված թթուները ստացվել են համապատասխան նիտրիլների հիդրոլիզով:

Իրականացվել է ամինտէթիլպիրազոլների N-կարբօքսիէթիլ ածանցյալների էսթերների ստացումը: Վերջիններիս ջրահիմնային հիդրոլիզը բարձր ելքերով բերել է համապատասխան թթուների առաջացմանը: Իրականացվել է նաև ամինտէթիլպիրազոլների երկհիմն թթուների սինթեզը:

Միջֆազային կատալիզի պայմաններում ուսումնասիրվել է N-ալկիլ-3-մեթիլ- և N-ալկիլ-5-մեթիլ-4-ֆորմիլպիրազոլների օքսիդացումը և ցույց է տրվել, որ սենյակային ջերմաստիճանում այն ընթանում է սելեկտիվ՝ ֆորմիլ խմբի հաշվին, որը թույլ է տալիս խուսափել մեթիլ խմբերի օքսիդացումից:

Իրականացվել է 1H-4-պիրազոլկարբոնաթթուների սինթեզը համապատասխան 1H-պիրազոլներից: Սինթեզվել են դրանց 1-կարբօքսիէթիլէսթերները, որոնք ֆորմիլացվել են: Ստացված ֆորմիլէսթերները ենթարկվել են β-ճեղքման և ֆորմիլ խմբի օքսիդացման՝ միջֆազային կատալիզի պայմաններում: Այդ ճանապարհով 1H-4-պիրազոլկարբոնաթթուն չի ստացվում, քանի որ չի առաջանում 1H-4-ֆորմիլպիրազոլը: 1-Վինիլ-4-ֆորմիլպիրազոլներից համապատասխան 1H-4-ֆորմիլպիրազոլներ ստանալու նպատակով կիրառվել է վինիլային պաշտպանման եղանակը: Սակայն արդյունքում ստացվել են 1H-4-պիրազոլկարբոնաթթուներ:

Մշակվել է N-հիդրօքսիէթիլ-4-ֆորմիլպիրազոլների ստացման եղանակ N-հիդրօքսիէթիլպիրազոլներից՝ պաշտպանիչ (ացետիլ) խմբի կիրառմամբ: Ստացված N-հիդրօքսիէթիլ-4-ֆորմիլպիրազոլների օքսիդացմամբ միջֆազային

կատալիզի պայմաններում սինթեզվել են համապատասխան N-կարբօքսիլէթիլ-4-պիրազոլկարբոնաթթուները: Ընդ որում՝ նշված ռեակցիան բարձր ջերմաստիճանում և օքսիդիչի ավելցուկի պայմաններում իրականացնելիս՝ ստացվում են համապատասխան երկհիմն թթուներ՝ N-կարբօքսիլէթիլ-4-պիրազոլկարբոնաթթուներ:

N-հիդրօքսիլէթիլ-4-պիրազոլկարբոնաթթուների ստացման նպատակով մշակվել է N-հիդրօքսիլէթիլ-4-ֆորմիլպիրազոլների ֆորմիլ խմբի քեմոսելեկտիվ օքսիդացման եղանակ, պաշտպանիչ (ացետիլ) խմբի կիրառմամբ:

Պիրազոլկարբոնաթթուների կիրառմամբ ստացվել են մոդիֆիկացված խիտոզանային աղեր և ուսումնասիրվել են վերջիններիս չոր թաղանթների և ջրային լուծույթների հակամանրէային հատկությունները:

Հաստատվել է, որ պիրազոլկարբոնաթթուներով մոդիֆիկացված խիտոզաններն օժտված են հակամանրէային ակտիվությամբ, սակայն չեն ցուցաբերում հակասնկային ակտիվություն:

Իրականացվել է 3(5)-պիրազոլկարբոնաթթվի էթիլ էսթերի սինթեզ էթիլբրոմիդով 3(5)-պիրազոլկարբոնաթթվի կալիումական աղի ավիլացմամբ: Ստացված էթիլ էսթերի վինիլացետատով վինիլացմամբ և հետագա հիդրոլիզով ստացվել են 1-վինիլ-3- և 1-վինիլ-5-պիրազոլկարբոնաթթուներ: Իրականացվել է խիտոզանի մոդիֆիկացում համապատասխան 1-վինիլ-3- և 1-վինիլ-5-պիրազոլկարբոնաթթուներով՝ նպատակ ունենալով ստացված արգասիքների պոլիմերմամբ ստանալ մոդիֆիկացված մակրոմոլեկուլ: Սակայն պոլիմերումը չի հաջողվել իրականացնել:

Ուսումնասիրվել է 1-վինիլ-3-պիրազոլկարբոնաթթվով մոդիֆիկացված խիտոզանային աղերի հակաայրվածքային հատկությունները: Փորձարկվել են միջին և բարձր մոլեկուլային կշռով խիտոզանները: Ցույց է տրվել, որ բարձր մոլեկուլային կշռով խիտոզանային աղերն ունեն ավելի բարձր հակաայրվածքային ակտիվություն, քան ցածր մոլ կշիռ ունեցող խիտոզանները:

Խիտոզանի զանգվածային բաժինը խիտոզանային աղերում մեծացնելու նպատակով սինթեզվել է երկհիմն 1-(2-կարբօքսիլէթիլ)-3,5-դիմէթիլ-4-պիրազոլկարբոնաթթու և դրանով մոդիֆիկացվել խիտոզանը: 1-(2-Կարբօքսիլէթիլ)-3,5-դիմէթիլ-4-պիրազոլկարբոնաթթուն ստացվել է միջֆազային կատալիզի պայմաններում համապատասխան 1-(2-կարբօքսիլէթիլ)-3,5-դիմէթիլ-4-ֆորմիլպիրազոլի օքսիդացմամբ: Պարզվել է, որ դիթթվով մոդիֆիկացված խիտոզանների ազդեցությամբ այրվածքների վերականգնման ժամանակահատվածը կրճատվում է:

HAKOBYAN ARAKSYA EDUARD

SYNTHESIS OF PYRAZOLE CARBOXYLIC ACIDS AND INVESTIGATION OF BIOLOGICAL ACTIVITIES OF THE MODIFIED CHITOSANS

SUMMARY

Interaction of pyrazole, 3(5)-methylpyrazole, 3,5-dimethylpyrazole with ethyl ester of chloroacetic acid under phase transfer catalysis conditions has been implemented. A number of factors affecting the duration of the reaction was investigated. The reaction was implemented in the liquid-solid phase systems and the triethylbenzylammonium chloride was used as a catalyst. The yields were 45-63% due to the formation of by-products. Alkaline hydrolysis of the obtained ethyl esters of pyrazolyl acetic acids was carried out that leads to the formation of the corresponding pyrazolyl acetic acids.

It was impossible to obtain 3-methyl- and 5-methyl-1H-pyrazolylacetic acids by the specified way since it was not possible to separate their corresponding esters. The mentioned acids were obtained by hydrolysis of the corresponding nitriles.

Formation of esters of N-carboxyethyl derivatives of aminoethylpyrazoles was implemented. The hydrolysis of the latter with an aqueous base led to the higher yields of the corresponding acids.

Also, the synthesis of dicarboxylic acids of aminoethylpyrazoles has been developed. Oxidation of N-alkyl-3-methyl- and N-alkyl-5-methyl-4-formylpyrazoles was studied under phase transfer catalysis conditions. It was shown that it proceeded selectively at room temperature at the expense of formyl group, which allowed protecting methyl groups from oxidation.

Synthesis of 1H-4-pyrazolecarboxylic acids from the corresponding 1H-pyrazoles was implemented as well. The 1-carboxyethyl esters were synthesized, which have been formylated. The derived formyl esters under phase transfer catalysis conditions were undergone β -decomposition and formyl group oxidation. 1H-4-pyrazole carboxylic acid was not formed via this path since the corresponding 1H-4-formylpyrazole was not formed. Vinyl protecting method was used in order to obtain 1H-4-formylpyrazoles from the corresponding 1-vinyl-4-formylpyrazoles. However as a result 1H-4-pyrazolecarboxylic acids were obtained.

A method of obtaining N-hydroxyethyl-4-formylpyrazoles from the N-hydroxyethylpyrazoles was developed by using protective (acetyl) group. Corresponding N-carboxyethyl 4-pyrazolecarboxylic acids were synthesized under phase transfer cata-

lysis conditions by oxidizing the formed N-hydroxyethyl-4-formylpyrazoles. Moreover, corresponding dibasic N-carboxyethyl-4-pyrazolcarboxylic acids were obtained in case of carrying out the mentioned reaction at high temperature and in the presence of the oxidizer excess. In order to obtain N-hydroxyethyl-4-pyrazolcarboxylic acids the corresponding chemoselective oxidation method of the formyl group of N-hydroxyethyl-4-formylpyrazoles was developed by using protective (acetyl) group. Modified chitosan salts were obtained by using pyrazole carboxylic acids, and antibacterial properties of their dried films and water solutions were studied. It was confirmed that chitosans modified by pyrazole carboxylic acids possessed antibacterial activity, but didn't show antifungal activity.

Synthesis of ethyl ester of 3(5)-pyrazolecarboxylic acid using ethyl bromide for alkylation of potassium salt of 3(5)-pyrazolcarboxylic acid was implemented. 1-vinyl-3- and 1-vinyl-5-pyrazolecarboxylic acids were obtained by vinylation of the derived ethyl esters with vinyl acetate and further hydrolysis.

Modification of chitosan with the 1-vinyl-3-pyrazolecarboxylic acid was carried out with a view to obtain modified macromolecules by polymerization of the resultant products. But polymerization failed to be carried out. Antiburining properties of the chitosan salts modified by 1-vinyl-3-carboxylic acid was studied. Medium and high molecular weight chitosans have been tested. It was shown that high molecular weight chitosan salts have higher activity than the low molecular weight chitosans.

Dibasic 1-(2-carboxyethyl)-3,5-dimethyl-4-pyrazoledicarboxylic acid was synthesized in order to increase the mass portion of chitosan in the chitosan salts and thus the chitosan was modified. 1-(2-carboxyethyl)-3,5-dimethyl-4-pyrazole carboxylic acid was obtained under the phase transfer catalysis conditions by oxidation of 1-(2-carboxyethyl)-3,5-dimethyl-4-formylpyrazole.

It turned out that under the effect of chitosans modified by dibasic acids the recovery time of the burns essentially was shortened.

