

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

MONIKA IŠKAUSKIENĖ

NAUJŲ FUNKCIONALIZUOTŲ
PIRAZOLO AR INDOLO ŽIEDĄ
TURINČIŲ HETEROCIKLINIŲ
JUNGINIŲ SINTEZĖ IR TYRIMAS

Daktaro disertacijos santrauka
Gamtos mokslai, chemija (N 003)

Kaunas, 2022

Disertacija rengta 2015–2021 metais Kauno technologijos universiteto Cheminės technologijos fakulteto Organinės chemijos katedroje.

Mokslinis vadovas:

prof. habil. dr. Algirdas ŠAČKUS (Kauno technologijos universitetas, gamtos mokslai, chemija, N 003).

Mokslinis konsultantas:

dr. Asta ŽUKAUSKAITĖ (Kauno technologijos universitetas, gamtos mokslai, chemija, N 003).

Redagavo: anglų k. redaktorius dr. Armandas Rumšas (Leidykla „Technologija“), lietuvių k. redaktorė Violeta Meiliūnaitė (Leidykla „Technologija“)

Chemijos mokslo krypties disertacijos gynimo taryba:

prof. dr. Vytautas GETAUTIS (Kauno technologijos universitetas, gamtos mokslai, chemija, N 003) – **pirmininkas**;

dr. Sonata KRIKŠTOLAITYTĖ (Kauno technologijos universitetas, gamtos mokslai, chemija, N 003);

prof. dr. Vladimír KRYŠTOF (Eksperimentinės botanikos institutas ir Palacký universitetas, Čekija, gamtos mokslai, biochemija, N 004);

prof. dr. Linas LABANAUSKAS (Fizinių ir technologijos mokslų centras, gamtos mokslai, chemija, N 003);

prof. dr. Vytas MARTYNAITIS (Kauno technologijos universitetas, gamtos mokslai, chemija, N 003).

Disertacija bus ginama viešame chemijos mokslo krypties disertacijos gynimo tarybos posėdyje 2022 m. kovo 23 d. 11 val. Kauno technologijos universiteto Disertacijų gynimo salėje.

Adresas: K. Donelaičio g. 73-403, 44249 Kaunas, Lietuva.

Tel. (370) 37 300 042; faks. (370) 37 324 144; el. paštas doktorantura@ktu.lt

Disertacijos santrauka išsiųsta 2022 m. vasario 23 d.

Su disertacija galima susipažinti internetinėje svetainėje <http://ktu.edu> ir Kauno technologijos universiteto bibliotekoje (K. Donelaičio g. 20, 44239 Kaunas).

ĮVADAS

Per pastarąjį dešimtmetį peptidai tapo svarbūs kaip terapeutiniai agentai, gebantys susijungti su receptoriais ar atlikti inhibitoriaus vaidmenį sudarant baltymas-baltymas ryšį [1]. Bioaktyvūs peptidai užpildo receptoriaus aktyvųjį centrą, kurio neretai negali užpildyti mažos molekulinės masės vaistų molekulės [2]. Tačiau neretai bioaktyvūs peptidai negali kirsti epitelinio barjero dėl didelės molekulinės masės, mažo tirpumo, funkcinių grupių gausos [3]. Dėl šių priežasčių tik keletas peptidų pagrindu sukurtų vaistų yra naudojami orališkai. Natūraliai aptinkamų peptidų biologinis aktyvumas ir metabolinis stabilumas didinamas į struktūrą įvedant sintetinių amino rūgščių ir struktūrą stabilizuojančių elementų [1]. Peptidų sąveika su kitomis biologiškai aktyviomis molekulėmis atveria platesnes chemines galimybes – panaudojamas peptidų gebėjimas kuo tiksliau užpildyti receptorių aktyviuosius centrus ir mažų molekulių gebėjimas pereiti membranas. Šie nauji baltymų pagrindu sukurti vaistai vadinami biologiniais, pvz., insulinas, augimo hormonai ir įvairūs antikūniai [4].

Sintetinės amino rūgštys plačiai naudojamos kuriant įvairius farmacijos produktus. Esanti laisva karbonilo grupė suteikia junginiui biologinį aktyvumą. Jų taip pat gali būti įterpiama į linijinius ar ciklinius biologiškai aktyvius peptidus. Sintetinės amino rūgštys gali būti naudojamos tiriant baltymų struktūrą, dinamiką bei baltymų sąveikas ir modeliuojant baltymų aktyvumą biologinėse ląstelėse. Sintetinės amino rūgštys kuriamos remiantis natūraliai aptinkamų amino rūgščių struktūromis ar modeliuojant susijusių junginių chemines modifikacijas [5]. Visų sintetinių amino rūgščių struktūros turi atitikti Lipinskio taisyklės, įskaitant molekulinę masę (<500 Da), vandenilinio ryšio sudarymo skaičių, laisvai besisukančių jungčių skaičių [6].

Sintetinių amino rūgščių, turinčių heterociklo fragmentą, įvairovė yra ribota dėl naudojamų tų pačių lengvai komerciškai prieinamų pradinių medžiagų [6]. Norint sukurti kuo įvairesnę junginių biblioteką, hidrazinų bei hidrazidų ciklizacijos reakcijos tampa svarbios sintezės dalys.

Svarbu paminėti, kad gautos organinės molekulės su farmakoforiniais heterocikliniais žiedais gali būti naudojamos ne tik peptidams gaminti, bet gali pasižymėti vertingomis biologinėmis savybėmis.

Pagrindinis darbo tikslas:

Atlikus hidrazinų ciklizacijos ir / ar alkilavimo reakcijas, gauti pirmtakų bibliotekas peptidų sintezei bei susintetinti potencialiai biologiškai aktyvius indolo 1,3,4-oksadiazolus.

Tiksliui pasiekti buvo iškelti šie uždaviniai:

1. Susintetinti naujus 5-[1-(*tert*-butoksikarbonil)azetid-3-il]-1*H*-pirazol-3-karboksilatų atliekant *N*-alkilavimo reakcijas.

2. Susintetinti naujas amino rūgštis, turinčias pirazolo ir azetidino fragmentus.

3. Susintetinti naujas amino rūgštis, turinčias pirazolo ir piperidino fragmentus.

4. Susintetinti pirazol[4,3-*c*]piridiną atliekant *N*-alkilavimo reakcijas.

5. Susintetinti 5-[(1*H*-indol-3-il)metil]-1,3,4-oksadiazol-2(3*H*)-tionus ir atlikti *S*-alkilavimo reakcijas.

6. Aptarti naujai susintetintų 2-[(1*H*-indol-3-il)metil]-5-(alkiltio)-1,3,4-oksadiazolų antioksidacines savybes.

Darbo mokslinis naujumas ir praktinė reikšmė

Sukurtas efektyvus sintetinių amino rūgščių sintezės būdas iš lengvai prieinamų pradinių junginių. 5-[1-(*tert*-Butoksikarbonil)azetidino-3-il]-1*H*-pirazol-3-karboksilatą gautas iš komerciškai prieinamo *N*-Boc azetidino 3-karboksilato atlikus 5 žingsnių sintezę. Atlikus šio pirazolo *N*-alkilavimą su įvairiais alkilo halogenidais, susidarė du chromatografiškai atskiriami regioizomerai, tinkami pamatinių struktūrų bibliotekai. Komercinis *N*-Boc-3-jodazetidinas buvo panaudotas kaip *N*-alkilavimo agentas reakcijose su įvairiais komerciniais pirazolo ir indazolo karboksilatais, siekiant praplėsti sintetinių amino rūgščių įvairovę. Junginiai, turintys pirazolo ir piperidino fragmentų, buvo gauti atlikus *N*-alkilavimo reakcijas su mezilatu. Pirazol[4,3-*c*]piridinas buvo gautas iš komercinio *tert*-butilo 4-oksopiperidino-1-karboksilato, katalizuojant ličio bis(trimetilsilil)amidu. Atlikus pirazol[4,3-*c*]piridino *N*-alkilavimą įvairiais alkilo halogenidais, susidarė du chromatografiškai atskiriami regioizomerai, tinkami pamatinių struktūrų bibliotekai. 3-Indolilacto rūgšties karbonilo grupė buvo transformuota į 1,3,4-oksadiazolo žiedą, gaunant biologiškai aktyvius junginius, pasižyminčius antioksidacinėmis savybėmis. Visų naujai gautų junginių struktūros patvirtintos išsamiais BMR spektroskopijos metodais, gautų regioizomerų struktūros patvirtintos šiuolaikiniais organinių junginių BMR spektrometrijos metodais, atlikti ¹H, ¹H-NOESY, ¹H, ¹³C-HMBC ir ¹H, ¹⁵N-HMBC eksperimentai.

Ginamieji teiginiai:

1. 5-[1-(*tert*-Butoksikarbonil)azetidino-3-il]-1*H*-pirazol-3-karboksilatą ir 5-(*tert*-butil) 3-etil 1,4,6,7-tetrahidro-5*H*-pirazolo[4,3-*c*]piridin-3,5-dikarboksilatą yra patrauklios pradinės medžiagos sintetinėms amino rūgštims gauti.

2. *N*-Boc-3-Jodazetidinas ir *N*-Boc-4[(metilsulfonyl)oksi]piperidinas dalyvauja *N*-alkilavimo reakcijose.

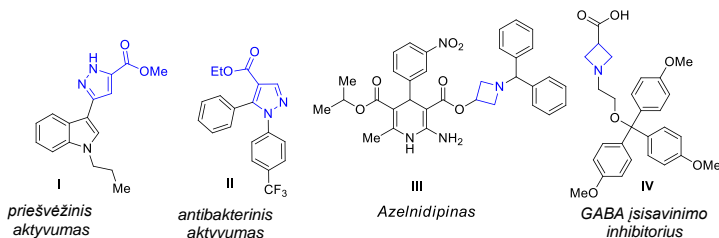
3. *S*-Alkilavimo reakcijos produktai 2-[(1*H*-indol-3-il)metil]-5-(alkiltio)-1,3,4-oksadiazolai yra biologiškai aktyvūs junginiai.

1. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

1.1 Pirazolo-azetidino darinių sintezė

Pirazolo karboksilatai plačiai naudojami kuriant agrochemijos bei farmacijos agentus [7]. Pavyzdžiui, indolo pakaitą turintis pirazolo karboksilatą **I** pasižymi priešvėžiniu [8], o *N*-pakeistas pirazolo karboksilatą **II** pasižymi antibakteriniu aktyvumu [9] (1 pav.).

Azetidinas – tai keturnaris aza-heterociklas, plačiai naudojamas organinėje chemijoje, kuriant heterociklinių junginių blokus bei vaistus [6]. Azetidino fragmentai naudojami natūraliai aptinkamų amino rūgščių analogų, tokių kaip 4-aminobutano rūgštis (γ -aminobutirinė rūgštis, GABA) ir 3-aminopropano rūgštis (β -alaninas) [6, 10], sintezėje. Vienas iš pavyzdžių tai puikiai žinomas azetidino fragmentą turintis antihipertenzinis vaistas – azelnidipinas **III** (1 pav.) [11]. Taip pat Faustas su kolegomis susintetino GABA įsisavinimo inhibitorių **IV** [10].



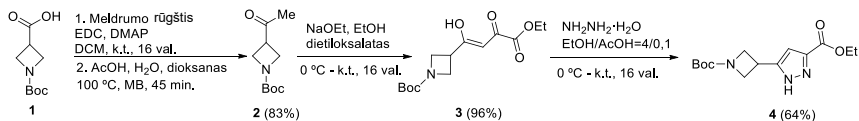
1 pav. Biologiškai aktyvių, pirazolo karboksilato bei azetidino fragmentą turinčių, junginių struktūros

Tikėtina, kad sujungus pirazolą su azetidinu, galima gauti patrauklios struktūros junginius, tačiau literatūroje trūksta duomenų apie šiuos darinius. Tad siekiant užpildyti šią spragą buvo nuspręsta sukurti pirazolo-azetidino blokus.

1.1.1. *N*-Alkil-1*H*-pirazol-5-karboksilatų sintezė

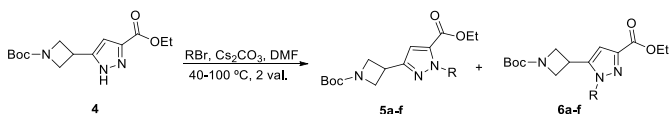
Šiame poskyryje pateikiama pirazolo karboksilatų, turinčių azetidino-3-ilo pakaitą 3 ar 5-oje pozicijoje, sintezė.

Vienas iš būdų gauti pirazolo karboksilatus yra Michaelio ciklizacijos reakcija tarp hidrazino ir α,β -nesotaus ketono [12]. Pirmiausia, pagal literatūroje aprašytą metodiką [13], *N*-Boc azetidino 3-karboksirūgštis (**1**) transformuota į ketoną **2**, kuris toliau veikiamas NaOEt ir dietiloksalatu, gaunant enolinę junginio **3** formą (1 schema). Atlikus nesotaus ketono **3** kondensaciją su hidrazino hidratu etanolio ir acto rūgštis mišinyje (4/0,1, v/v) [14], gautas tikslinis produktas **4**.



1 schema. 5-[1-(*tert*-Butoksikarbonil)azetid-3-il]-1*H*-pirazol-3-karboksilato (**4**) sintezė

Gavus pradinį junginį 5-[1-(*tert*-butoksikarbonil)azetid-3-il]-1*H*-pirazol-3-karboksilatą (**4**), toliau buvo atliktos *N*-alkilinimo reakcijos su skirtingais alkilo halogenidais (2 schema). Atlikus pirazolo **4** *N*-alkilinimus, buvo gauti regioizomerų mišiniai **5a–f** ir **6a–f**. Junginių **5a–f** išeiga buvo didesnė nei 60 %, o **6a–f** – nesiekė 14 %. Svarbu paminėti tai, kad pagrindiniai produktai **5a–f** formavosi ties N-2 azoto atomu, lyginant su pradiniu junginiu.

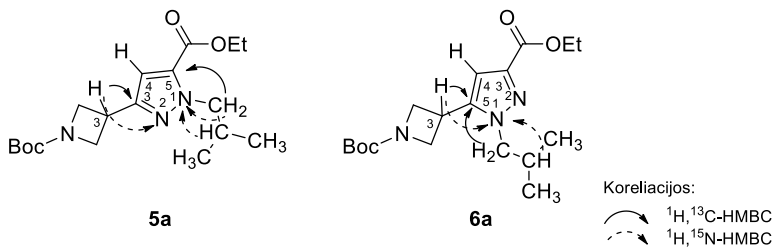


	a	b	c	d	e	f
R						
temperatūra, °C	90	100	40	40	100	100
junginio 5 išeiga, %	91	77	63	70	78	67
junginio 6 išeiga, %	9	15	14	11	5	14

2 schema. 5-[1-(*tert*-Butoksikarbonil)azetid-3-il]-1*H*-pirazol-3-karboksilato (**4**) *N*-alklinimas

Stebimas žymus sulaikymo koeficiento skirtumas tarp gautų regioizomerų **5a–f** ir **6a–f**, pvz., **5a** $R_f = 0,54$, tuo tarpu **6a** $R_f = 0,14$. Dėl šios priežasties regioizomerai lengvai gryninami kolonėlinės chromatografijos metodu.

Regioizomerų **5a–f** ir **6a–f** struktūros patvirtintos naudojant ^1H , ^{13}C -HMBC ir ^1H , ^{15}N -HMBC spektroskopijos metodus. Pavyzdžiui, junginio **5a** ^1H , ^{13}C -HMBC spektre stebima stipri izobutilo grupės CH_2 protono (4,24–4,36 m. d.) sąveika su pirazolo C-5 anglimi ties 151,8 m. d. (2 pav.). Taip pat ^1H , ^{15}N -HMBC spektre stebima izobutilo grupių CH_2 ir CH (2,13–2,23 m. d.) protonų koreliacija su N-1 azotu ties -167,7 m. d. Tuo tarpu azetidino 3-H protonas per du ryšius sąveikauja su C-3 anglimi ties 133,4 m. d. (^1H , ^{13}C -HMBC spektras) ir su N-2 azotu ties -63,0 m. d. (^{15}N -HMBC spektras). Tuo tarp junginio **6a** ^1H , ^{13}C -HMBC spektre stebimos šios sąveikos: izobutilo grupės CH_2 protono stipri sąveika (per tris ryšius) su pirazolo C-5 anglimi ties 145,0 m. d. ir azetidino 3-H protono sąveika (per du ryšius) su pirazolo C-5 anglimi. ^1H , ^{15}N -HMBC spektre stebimos izobutilo CH protono ir azetidino 3-H protono sąveikos su N-1 azotu ties -166,8 m. d.



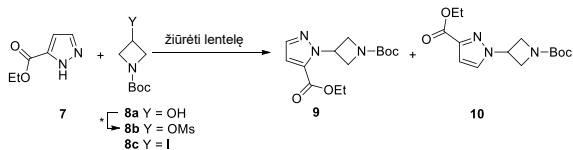
2 pav. Junginių **5a** ir **6a** ^1H , $^{13}\text{C}\text{-HMBC}$ ir ^1H , $^{15}\text{N}\text{-HMBC}$ koreliacijos

Išanalizavus ^1H , $^{13}\text{C}\text{-HMBC}$ ir ^1H , $^{15}\text{N}\text{-HMBC}$ spektrus, buvo pastebėtas sąveikų dėsningumas, t. y. kai alkilo pakaitų protonai turi sąveiką su pirazolo anglimi, prie kurios prijungta karboksilo grupė (C-5, 2 pav. **5a**), susidaro **5a-f** junginiai. Tuo tarpu, kai azetidino 3-H protonas ir alkilo pakaito protonai koreliuoja su ta pačia pirazolo anglimi (2 pav. **6a**), gaunami **6a-f** junginiai.

1.1.2. Pirazolo ir indazolo karboksilatų *N*-alkilinimas *N*-Boc-3-jodazetidinu

Neseniai mes publikavome heterociklų *N*-alkilinimo reakcijas, kurių metu gaunamos naujos sintetinės amino rūgštys, kurios gali būti naudojamos kaip pamatinės struktūros [6]. Šiame poskyryje bus nagrinėjamos įvairių komerciškai prieinamų pirazolo ir indazolo karboksilatų *N*-alkilinimo reakcijos su *N*-Boc-3-jodazetidinu.

Siekiant rasti optimalų sintezės kelią, pirazolo karboksilatams gauti, buvo atliktas reakcijos sąlygų optimizavimas. Pirmiausia, pagal standartines Mitsunobu reakcijos sąlygas (diizopropilo azodikarboksilatas (DIAD), PPh_3 , DCM), pirazol-5-karboksilatas **7** buvo jungiamas su *N*-Boc-3-hidroksiazetidinu **8a** (3 schema, 1 lentelė) [15]. Buvo gauti du regioizomerai **9** ir **10**, santykiu 2 : 1, kurių išeiga, deja, neviršijo 41 % (1 lentelė, 1 eilutė). Toliau buvo nuspręsta transformuoti alkoholį **8a** į mezilatą **8b** standartinėmis alkoholių mezilinimo sąlygomis [16], taip gaunant aktyvų nukleofilinį agentą. Jis toliau buvo jungtas su pirazolo karboksilatu **7** kaip baze naudojant Cs_2CO_3 dimetilformamide. Reakcijos metu susidarė du regioizomerai **9** ir **10**. Junginio **9** išeiga sumažėjo iki 12 %, o junginio **10** išeiga padidėjo iki 46 % (1 lentelė, 2 eilutė). Kitas būdas gauti *N*-pakeistus pirazolo karboksilatus yra *N*-alkilinimo reakcijos įvairiais alkilo halogenidais. Dėl šios priežasties buvo pasirinktas komercinis jodidas **8c**. *N*-Alkilinimo reakcija su *N*-Boc-3-jodazetidinu **8c** buvo vykdyta dimetilformamide naudojant Cs_2CO_3 . Susidarė du tiksliniai produktai **9** ir **10** kiekybiniu santykiu 1 : 1, abiejų junginių išeigos didesnės nei 40 % (1 lentelė, 3 eilutė). Pakeitus Cs_2CO_3 į K_2CO_3 ir įprastinį reakcijos kaitinimą į kaitinimą mikrobangomis, geresnių rezultatų nepavyko gauti (1 lentelė, 4 ir 5 eilutės).



3 schema. Pirazolo karboksilatų **9** ir **10** sintezė

1 lentelė. Pirazolo karboksilatų **9** ir **10** gavimo sąlygų optimizavimas

Eil. nr.	Y	Reakcijų sąlygos	Junginio 9 išeiga, %	Junginio 10 išeiga, %
1.	OH	DIAD, PPh ₃ , DCM, k. t., 48 val.	29	12
2.	OMs	Cs ₂ CO ₃ , DMF, 100 °C, 5 val.	12	46
3.	I	Cs ₂ CO ₃ , DMF, 100 °C, 6 val.	44	40
4.	I	Cs ₂ CO ₃ , DMF, MB, 40 °C, 1 val.	31	20
5.	I	K ₂ CO ₃ , DMF, 100 °C, 6 val.	34	41

***8a**, metansulfonio chloridas, TEA, DCM, k. t., 2 val. [16]

Optimaliomis reakcijų sąlygomis toliau buvo atliktas kitų pirazolo karboksilatų **11a–d** *N*-alkilinimas (4 schema). Kaitinant jodidą **8c** dimetilformamide su pirazolo karboksilatais **11a–d** esant Cs₂CO₃, buvo gauti regioizomerų **12a–d** ir **13a–d** mišiniai. Kai pirazole ties C-3 ir C-4 anglimi yra prijungtas metilo pakaitas, susidarė tiksliniai produktai **12a, b** ir **13a, b** panašiomis išeigomis. Tačiau pirazole ties C-3 anglimi metilo pakaitą pakeitus į (hetero)arilą, *N*-alkilinimo reakcijos labiau vyko į N-1 azoto atomo padėtį nei į N-2 azoto padėtį ir susidarė pagrindiniai regioizomerai **12c** ir **12d**, kurių išeiga didesnė nei 60 %. Taip pat buvo išskirti ir antri izomerai **13c** ir **13d**, tačiau jų išeigos neviršijo 5 %.

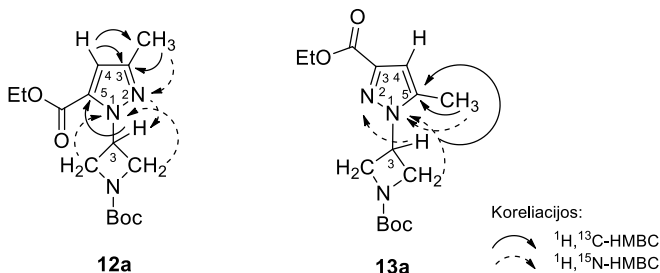


	a	b	c	d
R		H		
R ¹	H		H	H
junginio 12 išeiga, %	45	30	70	63
junginio 13 išeiga, %	27	26	4	5

4 schema. Pirazolo karboksilatų **11a–d** *N*-alkilinimas

Gautų regioizomerų **9, 10, 12a–d** ir **13a–d** struktūros patvirtintos naudojant ¹³C-HMBC ir ¹H, ¹⁵N-HMBC spektroskopijos metodus. Pavyzdžiui, junginio **12a** ¹H, ¹³C-HMBC spektre azetidino žiedo 3-H protonas per tris ryšius sąveikauja su pirazolo C-5 anglimi ties 132,2 m. d., tuo tarpu metilo grupė per du ryšius koreliuoja su pirazolo C-3 anglimi ties 148,0 m. d. (3 pav.). Pirazolo 4-H protonas (5,63 m. d.) per du ryšius sąveikauja su pirazolo C-3 ir C-5 anglimis (148,0 m. d.

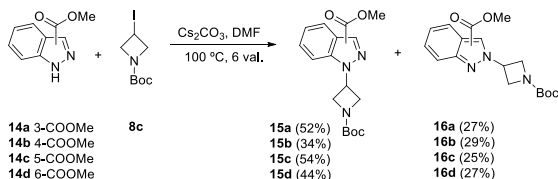
ir 132,2 m. d.) ir per tris ryšius sąveikauja su metilo grupės anglimi (3-CH₃, 13,6 m. d.). ¹H, ¹⁵N-HMBC spektre stebimos šios koreliacijos: azetidino žiedo CH₂ grupės protonų su N-1 azotu ties -169,9 m. d., azetidino žiedo 3-H ir 3-CH₃ protonų su N-2 azotu ties -68,6 m. d. Tuo tarpu junginio **13a** ¹H, ¹³C-HMBC spektre stebima azetidino žiedo 3-H protono (4,98–5,07 m. d.) stipri sąveika per tris ryšius su pirazolo C-5 anglimi ties 140,0 m. d. ¹H, ¹⁵N-HMBC spektre stebimos sąveikos: tarp pirazolo metilo grupės protonų (5-CH₃, 2,28 m. d.) ir azetidino žiedo CH₂ grupės protonų (4,49–4,58 m. d.) su N-1 azotu ties -162,9 m. d., azetidino žiedo 3-H protono (4,98–5,07 m. d.) su N-2 azotu ties -71,8 m. d.



3 pav. Junginių **12a** ir **13a** ¹H, ¹³C-HMBC ir ¹H, ¹⁵N-HMBC koreliacijos

Siekiant praplėsti pirazolo karboksilatų, turinčių azetidino žiedą, pirmtakų biblioteką, buvo atliktos indazolų karboksilatų *N*-alkilimo reakcijos. Indazolo karboksilatų struktūra susideda iš pirazolo ir benzeno žiedų, kurie yra svarbūs užpildant fermentų aktyviuosius centrus [17]. Taip pat verta pažymėti, kad karboksilo grupė gali būti išdėstyta platesniu plokštumos diapazonu nei pirazolo karboksilatuose.

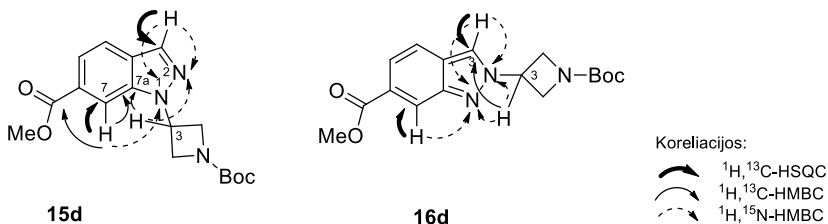
Atsižvelgiant į prieš tai aptartų reakcijų eigą, indazolo karboksilatai **14a–d** jungiami su *N*-Boc-3-jodazetidinu **8c**, esant bazei Cs₂CO₃ (5 schema). Reakcijos metu gauti chromatografiškai atskiriami tiksliniai produktai **15a–d** ir **16a–d**, kurių išeigos atitinkamai neviršijo 55 % ir 30 %.



5 schema. Indazolo karboksilatų **14a–d** *N*-alkilinimas

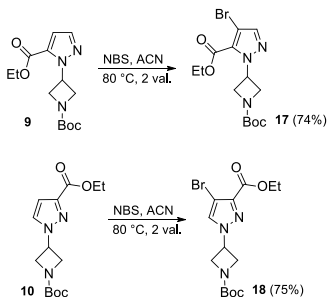
Regioizomerų **15a–d** ir **16a–d** struktūros patvirtintos naudojant ¹H, ¹³C-HMBC, ¹H, ¹³C-HSQC ir ¹H, ¹⁵N-HMBC spektroskopijos metodus. Pavyzdžiui, junginio **15d** ¹H, ¹³C-HSQC spektre stebima indazolo 3-H protono (8,13 m. d.)

sąveika per vieną ryšį su indazolo C-3 anglimi ties 134,4 m. d. ir indazolo 7-H protono (8,18 m. d.) sąveika su indazolo C-7 anglimi ties 111,2 m. d. (4 pav.). ^1H , ^{13}C -HMBC spektre stebima koreliacija tarp azetidino 3-H protono ir indazolo C-7a anglimi ties 139,1 m. d. ^1H , ^{15}N -HMBC spektre matomos azetidino 3-H protono sąveikos per du ryšius su N-2 azotu ties -61,8 m. d. ir per tris ryšius su N-1 azotu ties -195,2 m. d. Tuo tarpu junginio **16d** ^1H , ^{13}C -HMBC spektre stebima azetidino 3-H protono (5,30–5,39 m. d.) sąveika su indazolo C-3 anglimi ties 122,3 m. d. ^1H , ^{15}N -HMBC spektre stebima azetidino 3-H protono koreliacija su N-1 ir N-2 azotais atitinkamai ties -94,8 m. d. ir -148,5 m. d.



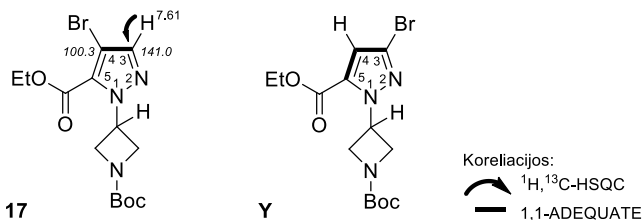
4 pav. Junginių **15d** ir **16d** ^1H , ^{13}C -HSQC, ^1H , ^{13}C -HMBC ir ^1H , ^{15}N -HMBC koreliacijos

Kitas būdas praplėsti pirmtakų biblioteką yra Suzuki-Miyaura kryžminio jungimo reakcijos su halogenintais substratais ir (hetero)arilo boro rūgštimis. Dėl šios priežasties *N*-alkilinti produktai **9** ir **10** buvo pasirinkti kaip pradinės medžiagos halogeninimo reakcijoms atlikti (6 schema). Literatūroje galima rasti keletą pirazolo brominimo pavyzdžių. Pirazolas gali būti veikiamas Br_2 vandeniu [18] ar NBS organiniame tirpiklyje tokiaime kaip chloroformas, acetonas, tetrachlormetanas [19], etilo acetatas ir tetrahidrofuranas [20]. Šiame darbe *N*-(azetidino-3-il)pirazolo karboksilatui **9** ir **10** buvo veikiami *N*-bromosukcinimidu acetonitrile pagal koreguotą literatūroje aprašytą metodiką [21]. Brominimo reakcijos metu atitinkamai gauti tiksliniai produktai **17** ir **18**. Verta paminėti, kad reakcijos metu nebuvo pastebėta *N*-Boc apsauginės grupės skilimo.



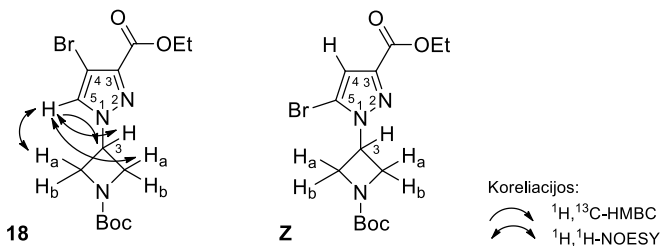
6 schema. *N*-(Azetidin-3-il)pirazolo karboksilatų **9** ir **10** brominimas

Brominto junginio **17** struktūra patvirtinta naudojant 1,1-ADEQUATE ir ^1H , ^{13}C -HSQC spektroskopijos metodus. ^1H , ^{13}C -HSQC spektre stebimas pirazolo 3-H protono (7,61 m. d.) sąveika su pirazolo C-3 anglimi ties 141,0 m. d. (5 pav.). 1,1-ADEQUATE spektras, kuris parodo sąveikas tarp tretinės bei ketvirtinės anglių²², atskleidė tretinės pirazolo C-3 anglies (141,0 m. d.) sąveiką su ketvirtine pirazolo C-4 anglimi ties 100,3 m. d. Jei būtų susidaręs produktas **Y**, 1,1-ADEQUATE spektre būtų stebimos dvi sąveikų poros: C-4 su C-3 ir C-4 su C-5.



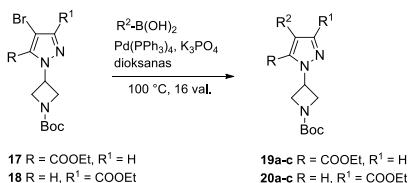
5 pav. Junginio **17** ^1H , ^{13}C -HSQC bei 1,1-ADEQUATE koreliacijos

Brominto junginio **18** struktūra buvo patvirtinta naudojant ^1H , ^1H -NOESY ir ^1H , ^{13}C -HMBC spektroskopijos metodus. ^1H , ^1H -NOESY spektre stebima NOE sąveika tarp pirazolo 5-H protono ir azetidino H_a ir 3-H protonų (6 pav.). ^1H , ^{13}C -HMBC spektre per tris ryšius stebima 5-H protono sąveika su azetidino C-3 anglimi. Jei būtų susidaręs produktas **Z**, pirazolo 4-H protonas turėtų tik vieną NOE sąveiką su azetidino 3-H protonu [23].



6 pav. Junginio **18** ^1H , ^{13}C -HMBC ir ^1H , ^1H -NOESY koreliacijos

Gavus *N*-(azetid-3-il)-4-brompirazolo karboksilatų **17** ir **18**, toliau buvo vykdomos Pd katalizuojamos kryžminio jungimo reakcijos su organinėmis borono rūgštimis (7 schema). Substratas **17** jungiamas su fenilborono rūgštimi dioksane, esant bazei K_3PO_4 , katalizuojant $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$. Reakcijos metu gautas produktas **19a**, kurio išeiga siekė 93 %. Atlikus jungimus su tiofen-3-ilborono rūgštimi ir 3,6-dihidro-2*H*-piran-4-borono rūgštimi, buvo gauti tiksliniai produktai **19b** ir **19c** geromis išeigomis (48 % ir 86 %). Tuo tarpu atlikus jungimus su kitu pradiniu junginiu **18**, gauti tiksliniai produktai **20a–c** geromis išeigomis.



	a	b	c
R²			
junginio 19 išeiga, %	93	48	86
junginio 20 išeiga, %	29	35	52

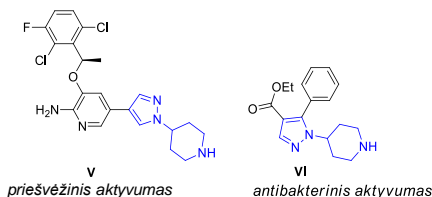
7 schema. Suzuki kryžminio jungimo reakcijos

Apibendrinant pasakytina, kad pirazolo ir indazolo karboksilatų lengvai *N*-alkilinami su 3-jodazetidinu, susidarant dviem chromatografiškai atskiriamais regioizomerams. Regioizomerų struktūros patvirtintos naudojant BMR spektroskopijos metodus, tokius kaip ^1H , ^1H -NOESY, ^1H , ^{13}C -HMBC ir ^1H , ^{15}N -HMBC.

1.2 Pirazolo-piperidino darinių sintezė

Šešianaris piperidino žiedas yra svarbi pamatinė struktūra organinėje sintezėje. Piperidino fragmentai aptinkami natūraliai randamuose alkaloiduose, kurie gali būti naudojami kaip insekticidai, antibakteriniai ir priešgrybeliniai junginiai, pasižymi aktyvumu prieš ŽIV [24]. Piperidinas yra vienas iš labiausiai naudojamų fragmentų kuriant mažos molekulinės masės medikamentus [25].

Sujungus piperidiną su pirazolu per azoto atomą, gaunamos mažos molekulinės masės biologiškai aktyvios molekulės. Pavyzdžiui, Xalkori™ (krizotinibas, PF-02341066) **V** naudojamas plaučių vėžiui gydyti [26], etilo 5-fenil-1-(piperidin-4-il)-1*H*-pirazol-4-karboksilat **VI** pasižymi antibakteriniu aktyvumu prieš *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* ir *P. aeruginosa* bakterijų kultūras [27] (7 pav.).

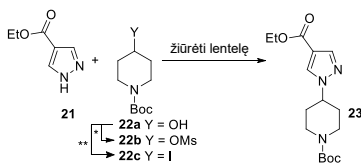


7 pav. Biologiškai aktyvių pirazolo-piperidino darinių struktūros: krizotinibas **V** ir etilo 5-fenil-1-(piperidin-4-il)-1*H*-pirazol-4-karboksilat **VI**

1.2.1. Alkilo *N*-(1-Boc-piperidin-4-il)pirazolo karboksilatų sintezė ir struktūrų identifikavimas

Remiantis ankstesniu poskyriu (1.1.2. poskyris), buvo nuspręsta susintetinti naujus pirazolo karboksilatų pirmtakus, kuriuose azetidino žiedas pakeičiamas į šešianarį piperidino žiedą.

N-(1-Boc-Piperidin-4-il)pirazolo karboksilato **23** sintezė prasidėjo nuo reakcijų sąlygų optimizavimo (8 schema, 2 lentelė). Pirmiausia buvo atlikta Mitsunobu reakcija, kur pirazol-4-karboksilat **21** jungiamas su *N*-Boc-4-hidroksipiperidinu **22a** naudojant DIAD, PPh₃ ir dichlormetaną kaip tirpiklį, susidarant tiksliniam produktui **23**, kurio išeiga siekė 35 % (2 lentelė, 1 eilutė) [15]. Antras būdas gauti pirazolą **23** yra naudoti mezilatą **22b**, kuris gaunamas OH- funkcinę grupę pakeitus į mezilatą pagal anksčiau minėtą procedūrą [16]. Junginį **21** paveikus nukleofiliškai aktyviu agentu **22b**, esant Cs₂CO₃ dimetilformamide, gautas junginys **23**, kurio išeiga didesnė nei 40 % (2 lentelė, 2 eilutė). Taip pat alkoholį **22a** pagal literatūroje aprašytą metodiką [28] galima transformuoti į jodidą **22c**. Deja, atlikus pirazolo **21** *N*-alkilinimo reakciją su *N*-Boc-4-jodpiperidinu (**22c**), tikslinis produktas **23** nesusidarė (2 lentelė, 3 eilutė). Darome prielaidą, kad jodidas **22c** yra nestabilus esant aukštai reakcijos temperatūrai (100 °C), todėl tolesnės *N*-alkilinimo reakcijos vykdytos naudojant mezilatą **22b**.



8 schema. Pirazolo karboksilato **23** sintezė

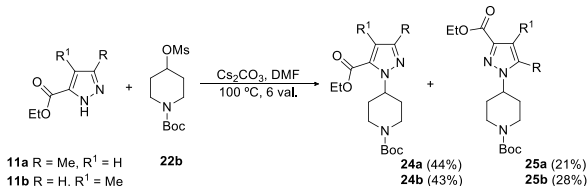
2 lentelė. Pirazolo karboksilato **23** reakcijos sąlygų optimizavimas

Eil. nr.	Y	Reakcijos sąlygos	Junginio 23 išeiga, %
1.	OH	DIAD, PPh ₃ , DCM, k. t., 48 val.	35
2.	OMs	Cs ₂ CO ₃ , DMF, 100 °C, 6 val.	43
3.	I	Cs ₂ CO ₃ , DMF, 100 °C, 6 val.	-

***22a**, metansulfonilo chloridas, TEA, DCM, k. t., 2 val. [16]

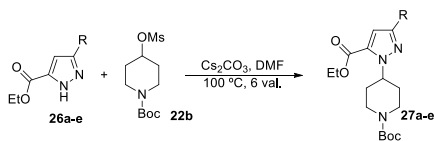
****22b**, imidazolas, PPh₃, I₂, toluenas, 100 °C, 1 val. [28]

Optimaliomis reakcijų sąlygomis toliau buvo atliktos *N*-alkilavimo reakcijos kaip substratus naudojant kitus komercinius pirazolo karboksilatus **11a**, **b** (9 schema). Mezilatą **22b** kaitinant su pirazolo karboksilatu **11a**, **b**, esant bazei Cs₂CO₃ dimetilformamide, buvo gautas regioizomerų mišinys **24a**, **b** ir **25a**, **b**. Pagrindiniai produktai **25a**, **b** susiformavo, kai piperidino žiedas jungėsi ties N-1 azotu ir jų išeiga siekė daugiau nei 40 %, tuo tarpu antrų regioizomerų **25a**, **b** išeiga mažesnė nei 29 %.



9 schema. Pirazolo karboksilatų **11a**, **b** *N*-alkilinimas

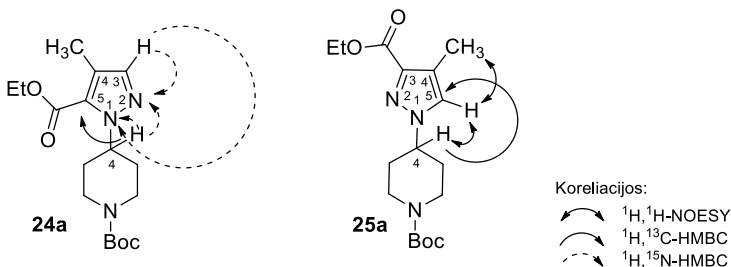
Pakeitus pirazolo žiede trečioje pozicijoje (C-3 anglis) metilo grupę į (hetero)arilo pakaitą, *N*-alkilavimo reakcijos vyko tik į pirmą azoto (N-1) padėtį ir susiformavo tik po vieną produktą **27a–e**, išeiga, didesne nei 37 % (10 schema). Antri regioizomerai nesusidarė arba susidarė labai maži jų kiekiai, todėl jų kolonėlinės chromatografijos metodu išskirti nepavyko.



	a	b	c	d	e
R					
junginio 28 išeiga, %	39	51	38	45	57

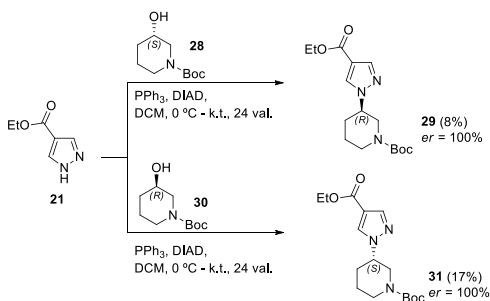
10 schema. Pirazolo karboksilatų **26a–e** *N*-alkilininimas

Regioizomerų **24a**, **b**, **25a**, **b** ir **27a–e** struktūros patvirtintos naudojant ^1H , ^{13}C -HMBC, ^1H , ^1H -NOESY ar ^1H , ^{15}N -HMBC spektroskopijos metodus. Junginio **24a** ^1H , ^{13}C -HMBC spektre stebima piperidino 4-H protono (5,13–5,26 m. d.) sąveika per tris ryšius su pirazolo C-5 anglimi ties 129,1 m. d. (8 pav.). ^1H , ^{15}N -HMBC spektre piperidino žiedo 4-H protonas ir pirazolo 3-H protonas turi sąveikas su N-1 azotu ties 156,8 m. d. ir N-2 azotu ties -69,9 m. d. Tuo tarpu junginio **25a** pirazolo 5-H protonas (7,23 m. d.) turi NOE sąveikas su metilo grupės protonais ties 2,27 m. d. ir piperidino 4-H protonu ties 4,18–4,42 m. d. ^1H , ^{13}C -HMBC spektre stebima per tris ryšius sąveika tarp pirazolo C-5 anglimi (127,2 m. d.) ir piperidino 4-H protonu.



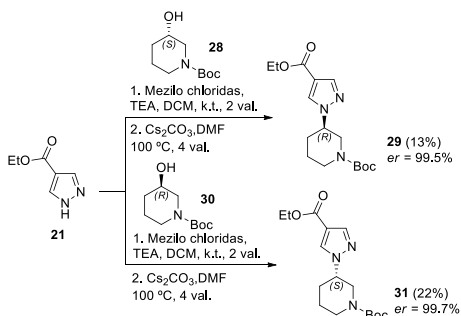
8 pav. Junginių **24a** ir **25a** ^1H , ^{13}C -HMBC, ^1H , ^1H -NOESY ir ^1H , ^{15}N -HMBC koreliacijos

Literatūroje galima aptikti keletą reakcijų su chiraliniais piperidino dariniais [29], dėl šios priežasties buvo nuspręsta išbandyti jungimo reakcijas su (*S*)- ir (*R*)-1-Boc-3-hidroksipiperidinais (11 schema). Yra žinoma, kad Mitsunobu reakcijos metu chiralinį alkoholį jungiant su nukleofilu, įvyksta stereocheminės konfigūracijos inversija [30]. Pirazol-4-karboksilatas **21** buvo jungtas su (*S*)- ar (*R*)-1-Boc-3-hidroksipiperidinais **28** ar **30**, esant DIAD ir PPh_3 dichlormetane. Šios reakcijos metu tiksliniai produktai **29** ir **31** susidarė mažomis išeigomis.



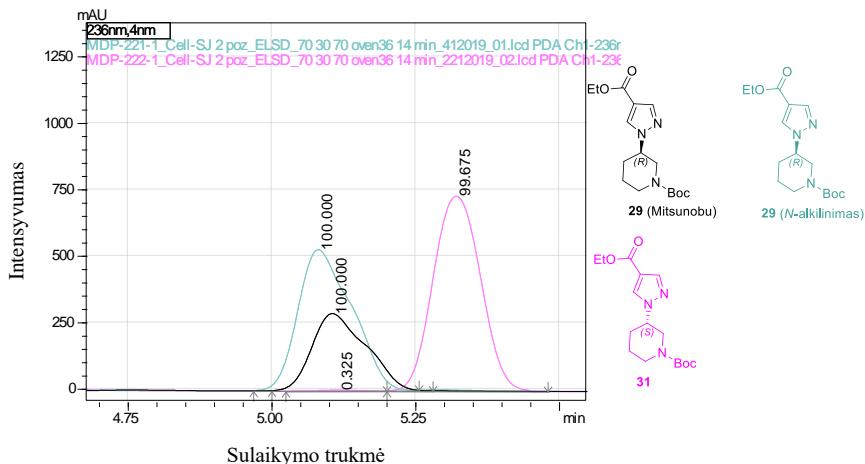
11 schema. Mitsunobu reakcija

Toliau buvo nuspręsta išmėginti pirazolo **21** *N*-alkilinimo reakcijas su mezilatu, siekiant pagerinti junginių **29** ir **31** išeigas (12 schema). Atlikus alkoholių **28** ir **30** transformacijas į mezilatus pagal literatūroje žinomą metodiką [16], pirazolas **21** jungtas su atitinkamais mezilatais dimetilformamide naudojant Cs_2CO_3 . Tikslinių junginių **29** ir **31** išeigos padidėjo 5 %.



12 schema. Pirazolo karboksilato **21** *N*-alkilinimas

Enantiomerų grynumas ir chiraliskumas buvo nustatytas naudojant chiralinę kolonėlinę chromatografiją, tyrimą atliko kolegė dr. Miglė Dagilienė. Junginių **29** ir **31**, gautų atlikus Mitsunobu reakciją, enantiomerinis grynumas siekė 100 %, atlikus jungimą su mezilatu, enantiomerų grynumas sumažėjo tik 0,5 % (9 pav.). Enantiomerai skirtingai sąveikauja su stacionare chiraline faze, dėl to stebima skirtinga sulaikymo trukmė [31]. 9 paveiksle matoma, kad sutampa (*R*) enantiomero **29** (juoda spalva), gauto Mitsunobu reakcijos metu (11 schema), ir enantiomero **31** (žalia spalva), gauto atlikus *N*-alkilinimą mezilatu (12 schema), sulaikymo trukmės. Tuo tarpu (*S*) enantiomero **31** (rožinė spalva) sulaikymo trukmė skiriasi.



9 pav. Junginių (*R*)- ir (*S*)-*N*-Boc-3-[4-(etoksikarbonil)-1*H*-pirazol-1-il]piperidin-1-karboksilatų **31** ir **29** enantiomerinio atskyrimo rezultatai

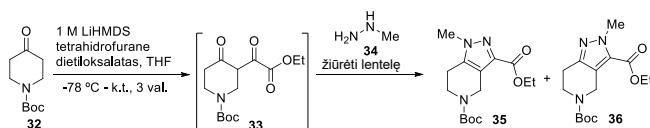
Apibendrinant pasakytina, kad pirazolo dariniai gali lengvai dalyvauti reakcijose su *N*-Boc-4-mezilpiperidinu, kurių metu susidaro vienas arba du chromatografiškai atskiriami regioizomerai. Atlikus enantiomerinio grynumo ir chiralitumo nustatymą, gauti rezultatai atskleidė, kad *N*-alkilinimo reakcijos metu su (*S*)- ir (*R*)-*N*-Boc-3-mezilpiperidinu įvyksta stereocheminės konfigūracijos inversija iš (*S*)- į (*R*)- ir atvirkščiai. Regioizomerų struktūros patvirtintos naudojant BMR spektroskopijos metodus, tokius kaip ^1H , ^1H -NOESY, ^1H , ^{13}C -HMBC ir ^1H , ^{15}N -HMBC.

1.2.2. *N*-Alkil-2,4,6,7-tetrahidro-5*H*-pirazol[4,3-*c*]piperidin-3,5-dikarboksilatų sintezė ir struktūrų identifikavimas

Neseniai Dawidowski su kolegomis pristatė naujus pirazol[4,3-*c*]piperidino darinius, kurie gali būti naudojami gydyti žmogaus afrikietišką tripanosomiazę (miego ligą) ir Chago ligą (amerikietišką tripanosomiazę) [32]. Tai parazitų sukeltos ligos, paplitusios tarp skurdžios visuomenės narių, kurios gali būti mirtinos. Dėl šios priežasties mes nusprendėme sukurti pirazol[4,3-*c*]piperidino darinių pamatines struktūras, kurios toliau lengvai gali būti naudojamos įvairioms modifikacijoms.

Pirazol[4,3-*c*]piperidino sintezė prasidėjo nuo reakcijų sąlygų optimizavimo. Negrynintas Claizeno kondensacijos produktas **33** [32] buvo gautas pagal literatūroje aprašytą metodiką [33] iš pradinės medžiagos *tert*-butilo 4-okspiperidin-1-karboksilato (**32**) (13 schema). Toliau tarpinis junginys **33** ciklinamas metilo hidrazinu skirtinguose tirpikliuose (3 lentelė). Reakcijos mišinį

kaitinant acto rūgštyje, tiksliniai regioizomerai **35** ir **36** nesusidarė (3 lentelė, 1 eilutė). Pakeitus acto rūgštį į etanolį, buvo gauti du chromatografiškai atskiriami regioizomerai **35** ir **36** santykiu 1 : 1,5 (3 lentelė, 2 eilutė). Atlikus kaitinimą etanolio ir acto rūgšties mišinyje (4/0,1), nepavyko pagerinti tikslinių produktų **35** ir **36** išeigų (3 lentelė, 3 eilutė).

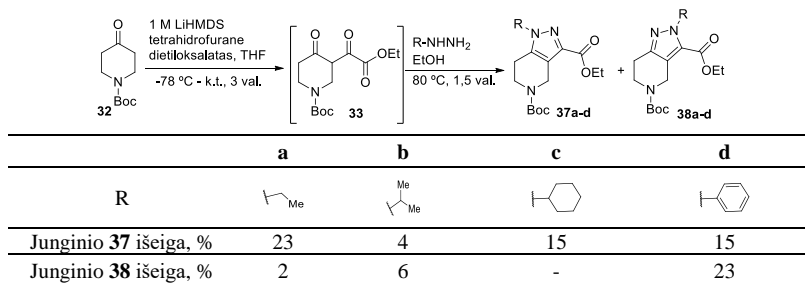


13 schema. Pirazol[4,3-*c*]piridinių **35** ir **36** sintezė

3 lentelė. Pirazol[4,3-*c*]piridinių **35** ir **36** reakcijos sąlygų optimizavimas

Eil. nr.	Reakcijų sąlygos	Junginio 35 išeigos, %	Junginio 36 išeigos, %
1.	AcOH, 80 °C, 1,5 val.	-	-
2.	EtOH, 80 °C, 1,5 val.	31	49
3.	EtOH/AcOH = 4/0,1, 80 °C, 1,5 val.	28	43

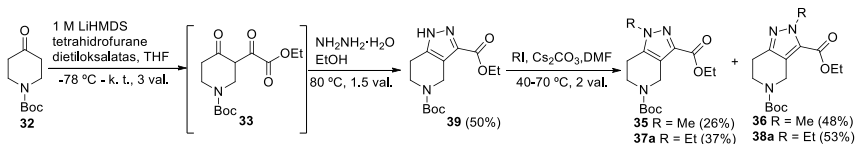
Optimaliomis reakcijų sąlygomis toliau buvo sintetinami pirazol[4,3-*c*]piridiniai **37a–d** ir **38a–d** (14 schema). Atlikus triketono **33** ciklizaciją su cikloheksilhidrazinu, gautas vienas tikslinis produktas **37c**, kurio išeiga siekė tik 15 %. Atlikus ciklizacijos reakcijas su kitais hidraziniais, buvo gauti chromatografiškai atskiriami regioizomerai **37a–d** ir **38a, b, d**, kurių išeigos neviršijo 23 %.



14 schema. Pirazol[4,3-*c*]piridinių **37a–d** ir **38a, b, d** sintezė

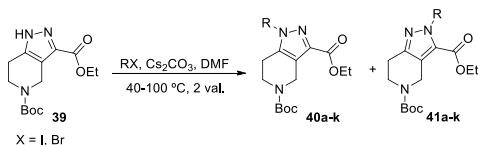
Atlikus ciklizacijos reakcijas, gauti tiksliniai produktai **35**, **36**, **37a–d** ir **38a, b, d** mažomis išeigomis. Dėl to nuspręsta pakeisti sintezės strategiją ir pirma gauti 5-(*tert*-butil)-3-etil-1,4,6,7-tetrahydro-5*H*-pirazol[4,3-*c*]piridin-3,5-dikarboksilatą (**39**), kuris toliau dalyvautų *N*-alkilinimo reakcijose su metilo ir etilo halogenidais (15 schema). Pirazol[4,3-*c*]piridino **39** sintezė prasidėjo nuo Claizeno kondensacijos produkto gavimo **33**, kuris toliau jungiamas su hidrazino hidratu etanolyje, taip suformuojant pirazolo žiedą. Gautas pirazolo darinys **39** *N*-

alkilintas su metilo ir etilo halogenidais, naudojant Cs₂CO₃ dimetilformamide. Reakcijos metu gautų regioizomerų **36** ir **38a** išeigos didesnės nei 48 %, o kitų regioizomerų **35** ir **37a** išeigos neviršijo 37 %. Atliekant keturių žingsnių pirazol[4,3-*c*]piridino sintezę galima gauti įvairesnių *N*-pakeistų junginių.



15 schema. Pirazol[4,3-*c*]piridino **39** *N*-alkilinimas

Toliau buvo atliekamos 5-(*tert*-butil)-3-etil-1,4,6,7-tetrahydro-5*H*-pirazol[4,3-*c*]piridin-3,5-dikarboksilato (**39**) *N*-alkilinimo reakcijos su skirtingais alkilo halogenidais (16 schema) [34]. Atlikus pirazol[4,3-*c*]piridino **39** *N*-alkilinimo reakcijas, buvo gauti regioizomerai **40a–j** ir **41a–j**, kiekybiniu santykiu 1 : 2, išskyrus junginių **41**, **42k**, kurių kiekybinis santykis 1 : 1. Pagrindiniai produktai **41a–k** susiformavo ties *N*-2 azotu pagal pradinį junginį **39**.

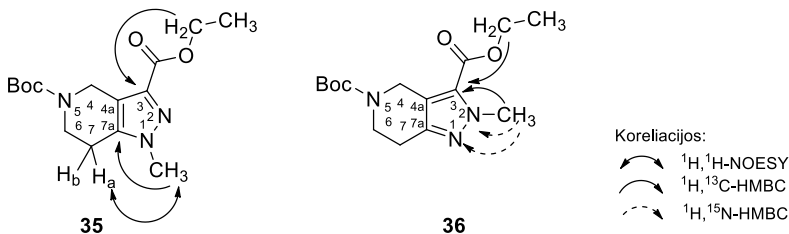


	a	b	c	d	e	f
R						
temperatūra, °C	70	100	100	40	90	100
junginio 40 išeiga, %	19	30	30	23	28	20
junginio 41 išeiga, %	49	57	48	46	44	53
	g	h	i	j	k	
R						
*temperatūra, °C	100	100	100	100	80	
junginio 40 išeiga, %	29	31	29	31	26	
junginio 41 išeiga, %	50	43	53	44	28	

16 schema. Pirazol[4,3-*c*]piridino **40a–k** ir **41a–k** sintezė

Gautų regioizomerų **35**, **36**, **37a–d**, **38a**, **b**, **d**, **40a–k** ir **41a–k** struktūros patvirtintos naudojant ¹H,¹H-NOESY, ¹H, ¹³C-HMBC ar ¹H, ¹⁵N-HMBC spektroskopijos metodus. Junginio **35** metilo grupės protonai (3,83 m. d.) turi NOE sąveiką su pirazol[4,3-*c*]piridino metileno protonu 7-*H*_a ties 2,68 m. d. (10 pav.). ¹H, ¹³C-HMBC spektre metilo grupės protonai per tris ryšius sąveikauja su

pirazol[4,3-*c*]piridino C-7a anglimi ties 138,8 m. d. Tuo tarpu junginio **36** ^1H , ^{13}C -HMBC spektre stebimos pirazol[4,3-*c*]piridino C-3 anglies sąveikos: per tris ryšius su metilo grupės protonais ties 4,09 m. d. ir per keturis ryšius su karboksilo grupės etilo protonais ties 4,31 m. d. (10 pav.). ^1H , ^{15}N -HMBC spektre stebimos metilo grupės protonų sąveikos su N-1 azotu ties -72,0 m. d. ir N-2 azotu ties -181,8 m. d.

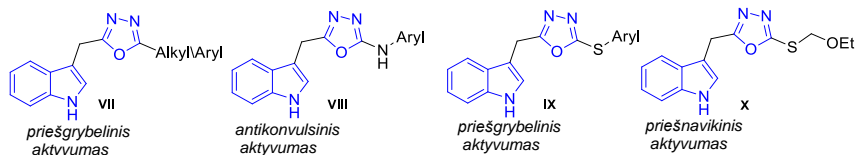


10 pav. Junginių **35** ir **36** ^1H , ^1H -NOESY ^1H , ^{13}C -HMBC ir ^1H , ^{15}N -HMBC koreliacijos

Apibendrinant reikia pasakyti, kad keturių žingsnių pirazol[4,3-*c*]piridino sintezė buvo efektyvesnė nei trijų žingsnių. Visi gauti regioizomerai gryninami kolonėlinės chromatografijos metodu. Naujų regioizomerų struktūros patvirtintos naudojant BMR spektroskopijos metodus, tokius kaip ^1H , ^1H -NOESY, ^1H , ^{13}C -HMBC ir ^1H , ^{15}N -HMBC.

1.3 Indolo darinių sintezė ir biologinių tyrimų rezultatų aptarimas

Zhang su kolegomis parodė, kad indolo žiedą sujungus su 1,3,4-oksadiazolu, galima gauti biologiškai aktyvius 5-alkil/aril-pakeistus indolo 1,3,4-oksadiazolus **VII**, kurie pasižymi priešgrybeliniu aktyvumu (11 pav.) [35]. Song ir kolegos gavo amino tiltelį turinčius 1,3,4-oksadiazolus **VIII**, pasižyminčius antikvulsiniu aktyvumu [36]. Junginiai, turintys sieros tiltelį, nėra plačiai ištirti, tačiau taip pat yra biologiškai aktyvios medžiagos. Kaip pavyzdžiui, junginiai **IX** pasižymi priešgrybeliniu aktyvumu [37], junginys **X** pasižymi priešnavikiniu aktyvumu [38].

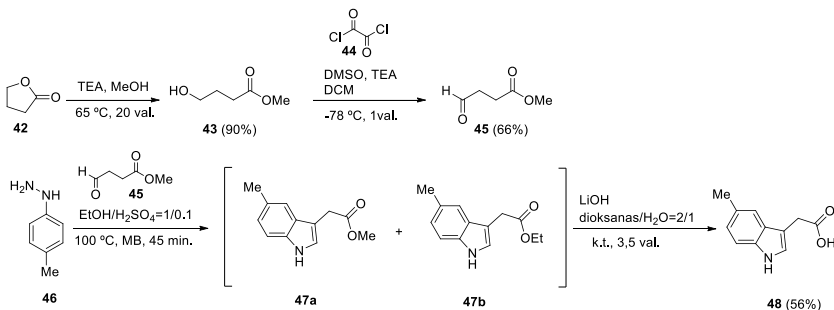


11 pav. Biologiškai aktyvūs indolo ir 1,3,4-oksadiazolo fragmentus turintys junginiai

1.3.1. 2-[(1*H*-Indol-3-il)metil]-5-(alkiltio)-1,3,4-oksadiazolų sintezė

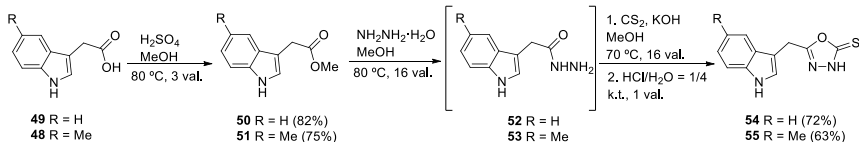
Pasinaudojus viena iš magistro darbo temų [39], buvo nuspręsta augalų hormono 3-indolilacto rūgšties struktūrą transformuoti į 2-[(1*H*-indol-3-il)metil]-5-(alkiltio)-1,3,4-oksadiazolus, tikintis, kad šie junginiai galėtų pasižymėti antioksidacinėmis savybėmis [40].

Pirmiausia buvo gauta 5-metilo 3-indolilacto rūgštis **48** (17 schema). Pagal literatūroje aprašytą metodiką buvo atliktas γ -butirolaktono žiedo **42** atidarymas, naudojant metanolį ir TEA [41]. Gautas alkoholis **43** toliau dalyvauja Swerno oksidacijos reakcijoje, kur pirminiai ar antriniai alkoholiai transformuojami į aldehidą, naudojant oksalilchloridą ir absoliutų DMSO [42]. Aldoesteris **45** iš karto naudojamas Fischerio indolo sintezėje, kur jis kondensuojamas su 4-metilfenilhidrazinu **46** etanolio ir H₂SO₄ mišinyje (1/0,1), mikrobangų reaktoriuje. Reakcijos metu susidarė metilo ir etilo esterių **47a** ir **47b** mišinys, kuris toliau hidrolizintas su LiOH vandens ir dioksano mišinyje (2/1). Susidaręs tikslinis produktas **48** gryntas kolonėlinės chromatografijos metodu.



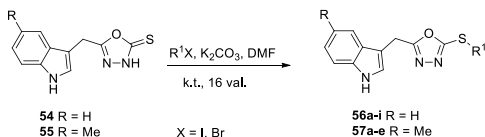
17 schema. 5-Metilo 3-indolilacto rūgšties **48** sintezė

5-Metilo 3-indolilacto rūgštis **48** ir 3-indolilacto rūgštis **49** naudojamos kaip pradinės medžiagos 5-[(1*H*-indol-3-il)metil]-1,3,4-oksadiazol-2(3*H*)-ionų **54** ir **55** sintezei (18 schema). Pradžioje 3-indolilacto rūgštys **48** ir **49** transformuotos į esterius **50** ir **51**, kaitinant reakcijos mišinį H₂SO₄ ir metanolio mišinyje. Literatūroje yra aprašyta, kad hidrazidus galima gauti kaitinant esterius su hidrazino hidratu metanolyje [43] ar etanolyje [44]. Šiame darbe, paveikus acetatus **50** ir **51** hidrazino hidratu metanolyje, susidarė tarpiniai junginiai **52** ir **53**, kurie toliau buvo naudojami negryntinti. Pagal literatūroje aprašytą metodiką [37] hidrazidai **52** ir **53** buvo veikiami anglies disulfidu, esant bazei KOH metanolyje. Po 16 valandų, reakcijos mišinį parūgštinus hidrochlorido rūgšties ir vandens mišiniu (1/4), susidarė tiksliniai 1,3,4-oksadiazolai **54** ir **55** geromis išieigomis.



18 schema. 5-[(1H-Indol-3-il)metil]-1,3,4-oksadiazol-2(3H)-tionų **54** ir **55** sintezė

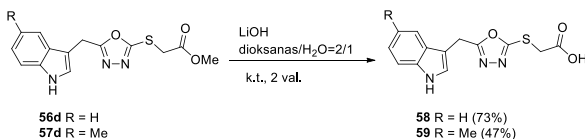
Literatūroje randama duomenų, kad 1,3,4-oksadiazol-2(3H)-tionai gali dalyvauti *S*-alkilavimo reakcijose [37] ir reakcijose su Manicho baze [45]. *S*-Alkilavimo reakcijos gali būti vykdomos naudojant keletą bazių, tokių kaip NaH [46], TEA [37] ir K_2CO_3 [47]. 1,3,4-Oksadiazol-2(3H)-tionai **55** ir **56** *S*-alkilinti su įvairiais alkilo halogenidais, naudojant K_2CO_3 dimetilformamide, reakcijos metu susidarė 2-[(1H-indol-3-il)metil]-5-(alkiltio)-1,3,4-oksadiazolai **56a-i** ir **57a-e** (19 schema).



	a	b	c	d	e
R^1					
junginio 56 išeiga, %	88	65	79	91	90
junginio 57 išeiga, %	90	85	68	83	64
	f	g	h	i	
R^1					
junginio 57 išeiga, %	71	66	77	63	

19 schema. 2-[(1H-Indol-3-il)metil]-5-(alkiltio)-1,3,4-oksadiazolų **56a-i** ir **57a-e** sintezė

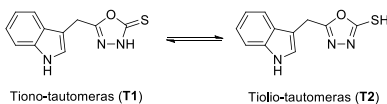
Junginių **56d** ir **57d** poliškumas padidintas, juos paveikus šarminėmis sąlygomis (20 schema). Esteriai **56d** ir **57d** hidrolizinti LiOH vandens ir dioksano mišinyje (2/1), susidarant karboksirūgštims **58** ir **59**.



20 schema. Esterių **56d** ir **57d** hidrolizė

Žinoma, kad 1,3,4-oksadiazolų dariniai turi dvi tautomerines formas – tiono (**T1**) ir sąlyginai stabilesnę tiolio (**T2**) (12 pav.) [48]. Dažniausiai vienas iš tautomerų yra pagrindinis [49]. Šiame darbe dominuojantis tautomeras yra tiono tautomeras (**T1**). Tai patvirtino BMR ir IR spektroskopijos duomenys. Junginio

54 ^{13}C BMR spektre stebimas C=S anglies signalas ties 177,8 m. d., tuo tarpu junginio **56a** ^{13}C BMR spektre stebimas 1,3,4-oksadiazolo žiedo C-5 anglies signalas ties 167,0 m. d. Junginio **54** IR absorbcijos spektre stebima amino grupės (NH) absorbcijos juosta ties 3393 cm^{-1} , tuo tarpu tiolio grupės **T2** (SH) absorbcijos juosta neužfiksuota.



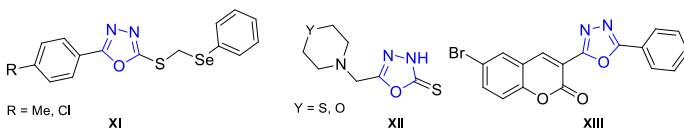
12 pav. Junginio **54** galimos tautomerinės formos

Apibendrinant teigtina, kad šiame darbe hidrazidai **52** ir **53** transformuoti į 1,3,4-oksadiazol-2(3*H*)-tionus **54** ir **55**, kurie gali dalyvauti *S*-alkilavimo reakcijose, kuriant 2-[(1*H*-indol-3-il)metil]-5-(alkiltio)-1,3,4-oksadiazolų **56a–i** ir **57a–e** junginių bibliotekas.

1.3.2. Gautų 1,3,4-oksadiazolo darinių antioksidacinių savybių tyrimų apibendrinimas

Gautų 5-[(1*H*-indol-3-il)metil]-1,3,4-oksadiazol-2(3*H*)-tionų **54** ir **55**, ir 2-[(1*H*-indol-3-il)metil]-5-(alkiltio)-1,3,4-oksadiazolų **56a–i**, **57a–e**, **58** ir **59** antioksidacines savybes ir citotoksiškumą ištyrė mūsų kolegos dr. Alena Kadlecová ir dr. Jiří Voller Palackio universitete, Olomouce (Čekija).

Oksidacinį stresą lemia aktyviųjų deguonies formų (ROS) gamybos ir kaupimosi biologinėje sistemoje disbalansas [50]. Dideli šio tipo deguonies kiekiai gali sukelti ląstelių senėjimą, kuris gali būti susijęs su įvairiomis ligomis, tokiomis kaip vėžiniai susirgimai, diabetas, neurodegeneraciniai sutrikimai ir kitais ląstelės pažeidimo procesais [51]. Laisvą radikalų turinčio deguonies perteklius pašalinimas naudojant natūralius detoksikacijos mechanizmus arba antioksidantus [52]. Neretai natūralūs detoksikacijos mechanizmai nesusidoroja su šio tipo deguonies pertekliumi, o natūralūs antioksidantai neduoda teigiamų rezultatų [53]. Taigi, naujos rūšies sintetiniai, patobulintos struktūros antioksidantai tampa labai paklausūs. Oksadiazolai ir jų dariniai gerai žinomi dėl jų antioksidacinių savybių [54]. Pavyzdžiui, 2-aril-5-(arilselenilmetiltio)-1,3,4-oksadiazol/tiadiazolai **XI** [55], 5-(tiomorfolin-4-ilmetil)-1,3,4-oksadiazol-2(3*H*)-ionas **XII** [56] ir 6-brom-3-(5-fenil-1,3,4-oksadiazol-2-il)-2*H*-chromen-2-onas (**XIII**) [57] parodė geras antioksidacines savybes prieš 2,2-difenil-2-pikrilhidrazilą (DPPH) (13 pav.).

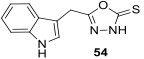
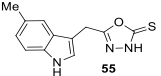
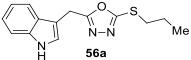
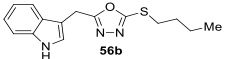
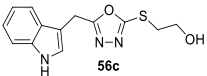
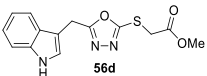
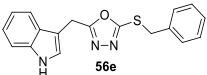


13 pav. Biologiškai aktyvūs junginiai su 1,3,4-oksadiazolo fragmentu

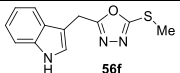
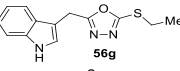
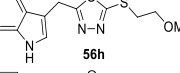
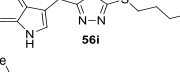
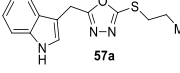
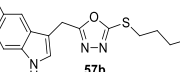
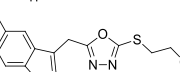
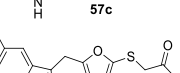
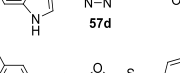
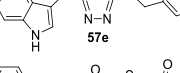
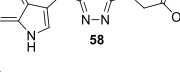
Pirmiausia, buvo iširtos junginių antioksidacinės savybės naudojant nematodą *Caenorhabditis elegans*, kurie turi homologinių panašumų su žmogaus genais [58] ir todėl yra naudingas modelinis organizmas tiriant įvairius su žmonių ligomis susijusius aspektus [59].

Buvo vertinamas junginių **54**, **55**, **56a–i**, **57a–e**, **58** ir **59** gebėjimas neutralizuoti oksidacinį stresą, sukeltą 5-hidroksi-1,4-naftochinonu. Junginių poveikis buvo vertintas esant 5 μM ir 50 μM junginių koncentracijoms, o kurkuminas (100 μM) pasirinktas kaip teigiama kontrolė [60]. Trijų dienų nematodai tris dienas buvo veikiami junginiais **54**, **55**, **56a–i**, **57a–e**, **58** ir **59** arba kurkuminu, o po to – oksidacinio streso generatoriumi, 5-hidroksi-1,4-naftochinonu. Praėjus laikui, buvo vertintas *C. elegans* judrumas. Esant 5 μM junginių koncentracijai, šeši 1,3,4-oksadiazolai **56b**, **f**, **h**, **i** ir **57b**, **e** padidino *C. elegans* išgyvenamumą daugiau kaip 5 % (4 lentelė). Šie rezultatai atskleidė, kad tirti junginiai pasižymi antioksidacinėmis savybėmis.

4 lentelė. Junginių **54**, **55**, **56a–i**, **57a–e**, **58** ir **59** (5 μM ir 50 μM) antioksidacinių savybių tyrimas, vertinant 5-hidroksi-1,4-naftochinonu (500 μM) paveiktų *C. elegans* judrumą. Lentelėje pateiktos vidutinės 3 nepriklausomų tyrimų rezultatų vertės \pm SEM

Junginys	<i>C. elegans</i> judrumo vidutinės reikšmės, % \pm SEM		
	5 μM	50 μM	100 μM
 54	4,5 \pm 2,7	1,5 \pm 2,2	-
 55	0,9 \pm 2,0	1,5 \pm 3,1	-
 56a	6,5 \pm 4,4	9,6 \pm 4,7	-
 56b	8,8 \pm 3,7	7,5 \pm 3,8	-
 56c	3,6 \pm 3,8	-0,4 \pm 1,8	-
 56d	3,4 \pm 3,0	0,0 \pm 0,8	-
 56e	5,5 \pm 4,2	13,7 \pm 4,4	-

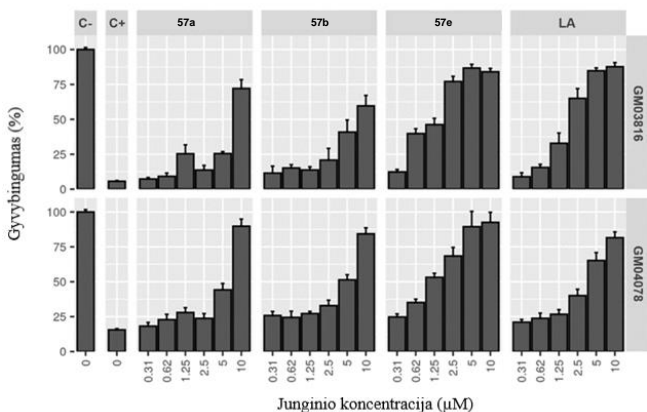
4 lentelės tęsinys

Junginys	<i>C.elegans</i> judrumo vidutinės reikšmės, % ± SEM		
	5 μM	50 μM	100 μM
 56f	11,6 ± 0,7	5,7 ± 0,7	-
 56g	2,9 ± 2,9	9,4 ± 2,6	-
 56h	8,5 ± 0,5	11,7 ± 0,9	-
 56i	9,6 ± 0,6	8,8 ± 1,1	-
 57a	5,9 ± 2,0	7,3 ± 2,6	-
 57b	9,3 ± 1,0	9,4 ± 3,0	-
 57c	7,2 ± 2,9	-0,2 ± 1,9	-
 57d	1,1 ± 1,2	4,2 ± 1,0	-
 57e	11,5 ± 2,5	-1,8 ± 3,5	-
 58	1,9 ± 1,0	-0,2 ± 1,2	-
 59	3,8 ± 1,6	2,5 ± 0,6	-
kurkuminas	-	-	11,7 ± 1,6

Įdomu tai, kad dalies junginių antioksidacinės savybės, esant 50 μM koncentracijai, padidėjo, o dalies – sumažėjo. Todėl buvo padaryta išvada, kad tirti junginiai esant mažoms koncentracijoms pasižymi antioksidacinėmis savybėmis, o esant didelėms koncentracijoms, gali būti toksiški ir prisidėti prie oksidacinio streso.

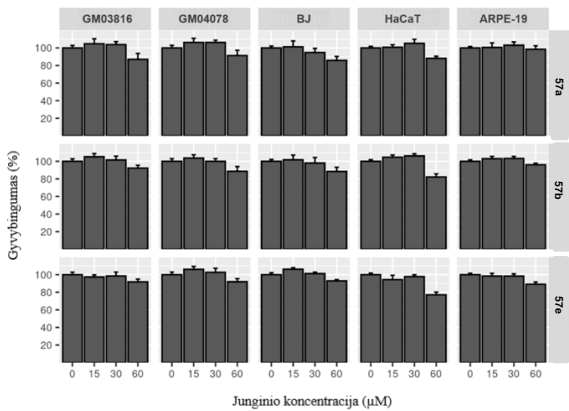
Oksidacinė žala ir mitochondrijų disfunkcija yra keletas pagrindinių neurodegeneracines ligas, tokias kaip Alzheimerio ir Parkinsono ligos bei Friedreicho ataksija, lemiančių priežasčių [61]. Friedreicho ataksiją sukelia pirmojo frataksino geno introno mutacija [62], kas lemia laipsnišką centrinės ir periferinės nervų sistemos degeneraciją, kardiomiopatiją ir padidėjusį cukrinio diabeto dažnį, dėl to laikui bėgant tampa sunku vaikščioti, jaučiamas silpnumas rankose, kojose, sutrinka kalba [63]. Friedreicho ataksija šiuo metu yra nepagydoma liga ir visi gydymo būdai apsiriboja tik simptomų slopinimu [64].

Gavus teigiamus 1,3,4-oksadiazolų **54**, **55**, **56a–i**, **57a–e**, **58** ir **59** antioksidacinių tyrimų rezultatus su nematodu *C. elegans*, junginiai buvo tiriami dėl citoprotekcinio poveikio prieš oksidacinį stresą žmogaus ląstelėse, jį dirbtinai sukeltą glutationo sintezės inhibitoriumi L-butionino sulfoksiminu (BSO). Iš Friedreicho ataksija sergančių pacientų gauti odos fibroblastai GM03816 ir GM04078 buvo veikiami junginiais **54**, **55**, **56a–i**, **57a–e**, **58** ir **59** (10 μM ir 50 μM) 8 valandas, o po to – 24 valandas BSO (100 μM). Buvo nustatytas apsauginis junginių **57a**, **b**, **e** poveikis, kuris toliau iširtas platesniame koncentracijų diapazone (14 pav.). Iš trijų 1,3,4-oksadiazolų **57e** pasižymėjo panašiu ar net geresniu apsauginiu aktyvumu nei žinomas antioksidantas *R*-lipo rūgštis (LR).



14 pav. Apsauginio 1,3,4-oksadiazolų **57a**, **b** ir **57e** poveikio vertinimas prieš L-butionino sulfoksiminą (BSO) Friedreicho ataksijos fibroblastuose

Verta paminėti, kad aktyvūs junginiai **57a**, **b**, **e**, nebuvo toksiški nei Friedreicho ataksijos fibroblastams, nei kitoms nevėžinėms žmogaus ląstelių linijoms (15 pav.). Tik kai kuriais atvejais ląstelių gyvybingumas sumažėjo iki 80 %, esant 60 μM koncentracijai.



15 pav. Junginių 57a, b, e toksiškumo žmogaus ląstelių linijoms vertinimas

PAGRINDINIAI REZULTATAI IR IŠVADOS

1. 5-[1-(*tret*-Butoksikarbonil)azetidin-3-il]-1*H*-pirazol-3-karboksilato (**4**) *N*-alkilinimo reakcijos metu pakaitas lengviau jungiasi prie N-2 azoto nei prie N-1 azoto.

2. Pirazolo (**11a–d**) ir indazolo (**14a–d**) karboksilatai gali būti lengvai *N*-alkilinami *N*-Boc-3-jodazetidinu (**8c**), susidarant dviem chromatografiškai atskiriamiems regioizomerams.

3. Etil-4-pirazolo karboksilato (**21**) *N*-alkilinimo reakcijos (*S*)- ir (*R*)-*N*-Boc-3-mezilpiperidiniais metu įvyksta chiralinio centro konfigūracijos stereocheminė inversija.

4. Optimalus *N*-pakeistų pirazol[4,3-*c*]piridinų sintezės būdas yra gaunant 5-(*tret*-butil)-3-etil-1,4,6,7-tetrahidro-5*H*-pirazol[4,3-*c*]piridin-3,5-dikarboksilatą (**39**) ir atliekant jo *N*-alkilinimo reakcijas.

5. 2-[(1*H*-Indol-3-il)metil]-5-(alkiltio)-1,3,4-oksadiazolai **56a–i** ir **57a–e** gali būti gauti iš hidrazidų **52** ir **53**, atlikus jų transformaciją į atitinkamus 1,3,4-oksadiazol-2(3*H*)-tionus **54** ir **55**, kurie toliau gali dalyvauti *S*-alkilinimo reakcijose.

6. Esant mažoms 2-[(1*H*-indol-3-il)metil]-1,3,4-oksadiazolų **54**, **55**, **56a–i**, **57a–e**, **58** ir **59** koncentracijoms, jie pasižymi antioksidacinėmis savybėmis, o esant didesnėms koncentracijoms, jie gali būti toksiški, nes prisideda prie oksidacinio streso.

7. 1,3,4-Oksadiazolas **57e** Friedreicho ataksijos fibroplastus prieš glutationo sintezės inhibitorių L-butionino sulfoksiminą apsaugo panašiai ar net geriau nei žinomas antioksidantas *R*-lipo rūgštis (LR).

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. ELIOTT, L. D., *et al.* Small peptide diversification through photoredox-catalyzed oxidative C-terminal modification. *Chemical Science*. 2021, 12, 2467-2473. ISSN 2041-6539.
2. CHIA, B. C. S. A review on the metabolism of 25 peptide drugs. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*. 2021, 27, 1397-1418. ISSN 1573-3904.
3. LAU, J. L., and DUNN, M. K. Therapeutics peptides: historical perspectives, current development trends, and future directions. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2018, 26, 2700-2707. ISSN 0968-0896.
4. CRAIK, D. J., *et al.* The future of peptide-based drugs. *Chemical Biology and Drug Design*. 2013, 81, 136-147. ISSN 1747-0285.
5. NARANCIC, T., *et al.* Unnatural amino acids: production and biotechnological potential. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2019, 35(67), 1-11. ISSN 1573-0972.
6. IŠKAUSKIENĖ, M., *et al.* Facile synthesis of novel amino acid-like building blocks by *N*-alkylation of heterocyclic carboxylates with *N*-Boc-3-iodoazetidide. *Molecular diversity*. 2020, 24, 1235-1251. ISSN 1573-501X.
7. CETIN, A. Pyrazole carboxylic acid and derivatives: synthesis and biological applications. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*. 2021, 18(1), 93-109. ISSN 1875-6298.
8. CADONI, R., *et al.* Exploring heteroaryl-pyrazole carboxylic acids as human carbonic anhydrase XII inhibitors. *ACS Medicinal Chemistry Letters*. 2017, 8, 941-946. ISSN 1948-5875.
9. CHANDRAKANTHA, B., *et al.* Synthesis, characterization and antimicrobial activity of novel ethyl 1-(*N*-substituted)-5-phenyl-1*H*-pyrazole-4-carboxylate derivatives. *Medicinal Chemistry Research*. 2012, 21, 2702-2708. ISSN 1054-2523.
10. FAUST, M. R., *et al.* Azetidide derivatives as novel γ -amino butyric acid uptake inhibitors: synthesis, biological evaluation, and structure-activity relationship. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2010, 45, 2453-2466. ISSN 0022-2623.
11. SADA, T., *et al.* Pharmacological profiles and clinical effects of azelnidipine, a long-acting calcium channel blocker. *Folia Pharmacologica Japonica*. 2004, 122, 539-547. ISSN 1347-8397.
12. DANG, T. T., *et al.* One-pot synthesis of pyrazole-5-carboxylates by cyclization of hydrazone 1,4-dianions with diethyl oxalate. *Tetrahedron Letters*. 2007, 48, 3591-3593. ISSN 0040-4039.
13. GIBSON, M., *et al.* Novel heterocyclic acrylamides and their use as pharmaceuticals. 2011, patent: WO 2011/061214 A1.
14. FENG, Q., *et al.* Synthesis and insecticidal activities of novel anthranilic diamides containing modified *N*-pyridylpyrazoles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010, 58, 12327-12336. ISSN 0021-8561.
15. FLETCHER, S. The mitsunobu reaction in the 21st century. *Organic Chemistry Frontiers*. 2015, 2, 739-752. ISSN 2052-4110.

16. HARRISON, R. J., *et al.* Pyrazole compounds as JAK inhibitors. 2013, patent: US 2013/0131043 A1.
17. ALDEGHI, M., *et al.* Two- and three-dimensional rings in drugs. *Chemical Biology and Drug design*. 2014, 83, 450-461. ISSN 1747-0285.
18. BOULTON, B. E., and COLLIER, B. A. W. Kinetics, stoichiometry, and mechanism in the bromination of aromatic heterocycles. I. Aqueous bromination of pyrazole, 1-methylpyrazole, and 3,5-dimethylpyrazole. *Australian Journal of Chemistry*. 1971, 24(7), 1413-1423. ISSN 0004-9425.
19. ZHAO, Z. G., and WANG, Z. X. Halogenation of pyrazoles using *N*-halosuccinimides in CCl₄ and in water. *Synthetic Communications*. 2007, 37, 137-147. ISSN 0039-7911.
20. STEFANI, H. A., *et al.* A mild and efficient method for halogenation of 3,5-dimethyl pyrazoles by ultrasound irradiation using *N*-halosuccinimides. *Tetrahedron Letters*. 2005, 46(40), 6833-6837. ISSN 0040-4039.
21. MALINAUSKIENĖ, V., *et al.* L-proline and related chiral heterocyclic amino acids as scaffolds for the synthesis of functionalized 2-amino-1,3-selenazole-5-carboxylates. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 2018, 54(4), 469-473. ISSN 1573-8353.
22. MARTIN, G. E. Using 1,1- and 1,n- ADEQUATE 2D NMR data in structure elucidation protocols. *Annual Reports on NMR Spectroscopy*. 2011, 74, 215-291. ISBN 9780128021231.
23. DOOST, A. S., *et al.* A review on nuclear overhauser enhancement (NOE) and rotating-frame overhauser effect (ROE) NMR techniques in food science: basic principles and applications. *Trends in Food Science and Technology*. 2019, 86, 16-24. ISSN 0924-2244.
24. LECLERQ, S., *et al.* The defensive chemistry of ants. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*. 2000, 79, 115-229. ISSN 2191-7043.
25. TAYLOR, R. D., *et al.* Rings in Drugs. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2014, 57, 5845-5859. ISSN 0223-5234.
26. CUI, J. J., *et al.* Case history: Xalkori™ (crizotinib), a potent and selective dual inhibitor of mesenchymal epithelial transition (MET) and anaplastic lymphoma kinase (ALK) for cancer treatment. *Annual Reports in Medicinal Chemistry*. 2013, 48, 421-432. ISSN 0065-7743.
27. CHANDRAKANTHA, B., *et al.* Synthesis, characterization and antimicrobial activity of novel ethyl 1-(*N*-substituted)-5-phenyl-1*H*-pyrazole-4-carboxylate derivatives. *Medicinal Chemistry Research*. 2012, 21, 2702-2708. ISSN 1554-8120.
28. QIU, Z., *et al.* Regioselective α -benzylation of 3-iodoazetidine via Suzuki cross-coupling. *Tetrahedron Letters*. 2019, 60, 1321-1324. ISSN 0040-4039.
29. KUBOTA, K., *et al.* Enantioselective synthesis of chiral piperidines via the stepwise dearomatization/borylation of pyridines. *Journal of the American Chemical Society*. 2016, 138, 4338-4341. ISSN 1520-5126.
30. BUT, T. Y. S., and TOY, P. H. The Mitsunobu reaction: origin, mechanism, improvements, and applications. *Chemistry an Asian Journal*. 2007, 2, 1340-1355. ISSN 1861-4728.
31. WIRZ, R., *et al.* Probing chiral recognition in liquid chromatography by absolute configuration modulation ATR-IR spectroscopy. *Spectroscopy Europe*. 2007, 19(1), 8-16. ISSN 0966-0941.

32. DAWIDOWSKI, M., *et al.* Structure-activity relationship in pyrazolo[4,3-*c*]pyridines, first inhibitors of PEX-14-PEX5 protein-protein interaction with trypanocidal activity. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2020, 63, 847-879. ISSN 0022-2623.
33. HARTMAN, G. D. K., and KUDUK, S. Derivatives and methods of treating Hepatitis B infections. 2016, patent: US 2016185777 A1.
34. CASTILLO, J. C., *et al.* Cs₂CO₃-promoted direct *N*-alkylation: highly chemoselective synthesis of *N*-alkylated benzylamines and anilines. *European Journal of Organic Chemistry*. 2016, 3824-3835. ISSN 1434-193X.
35. ZHANG, M. Z., *et al.* Synthesis and antifungal activity of 3-(1,3,4-oxadiazol-5-yl)-indoles and 3-(1,3,4-oxadiazol-5-yl)methyl-indoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2013, 63, 22-32. ISSN 0009-4374.
36. SIDDIQUI, N., *et al.* Synthesis, anticonvulsant and toxicity evaluation of 2-(1*H*-indol-3-yl)acetyl-*N*-(substituted phenyl)hydrazine carbothioamides and their related heterocyclic derivatives. *Acta Pharmaceutica*. 2008, 58(4), 445-454. ISSN 1846-9558.
37. SONG, Z. L., *et al.* Diversity-oriented synthesis and antifungal activities of novel pimprinine derivative bearing a 1,3,4-oxadiazole-5-thioether moiety. *Molecular Diversity*. 2021, 25, 205-221. ISSN 1573-501X.
38. MAMDOUH, A. Z., *et al.* Synthesis and screening of new 5-substituted-1,3,4-oxadiazole-2-thioglycosides as potent anticancer agents. *Pharmacology and Pharmacy*. 2012, 3(2), 254-261. ISSN 2157-9423.
39. DARGYTĖ, M. Synthesis of indole carboxylic acid derivatives. *Applied Chemistry Master's thesis*. 2015, 1-62. Kaunas.
40. IŠKAUSKIENĖ, M., *et al.* Synthesis of 5-[(1*H*-indol-3-yl)methyl]-1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thiones and their protective activity against oxidative stress. *Archiv der Pharmazie*. 2021, 354, 1-10. ISSN 1521-4184.
41. TAMURA, S., *et al.* Unprecedented NES non-antagonistic inhibitor for nuclear export of Rev from *Sida cordifolia*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2010, 20, 1837-1839. ISSN 0968-0896.
42. JACOBUS, J. M., *et al.* Investigation of the Moffat-Swern oxidation in a continuous flow microreactor system. *Organic Process Research and Development*. 2008, 12, 911-920. ISSN 1520-586X.
43. ABBASI, M. A., *et al.* Synthesis, enzyme inhibition and molecular docking studies of 1-arylsulfonyl-4-phenylpiperazine derivatives. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2017, 30(5), 1715-1725. ISSN 1011-601X.
44. GADEGONI, H., and MANDA, S. Synthesis and screening of some novel substituted indoles contained 1,3,4-oxadiazole and 1,2,4-triazole moiety. *Chinese Chemical Letters*. 2013, 24(2), 127-130. ISSN 1001-8417.
45. BANIK, B. K., *et al.* Green synthetic approach: an efficient eco-friendly tool for synthesis of biologically active oxadiazole derivatives. *Molecules*. 2021, 26, 1163-1186. ISSN 1420-3049.
46. ABU-ZAIED, M. A. Z., *et al.* Synthesis and screening of new 5-substituted-1,3,4-oxadiazole-2-thioglycosides as potent anticancer agents. *Pharmacology and Pharmacy*. 2012, 3, 254-261. ISSN 2157-9423.
47. BEKTAS, H., *et al.* Synthesis, antioxidant, and antibacterial activities of some new 2-(3-fluorobenzyl)-1*H*-benzimidazole derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 2018, 55, 2400-2407. ISSN 1943-5193.

48. SOLIMAN, S. M., *et al.* Experimental and theoretical spectroscopic studies, HOMO-LUMO, NBO analyses and thione-thiol tautomerism of a new hybrid of 1,3,4-oxadiazole-thione with quinazolin-4-one. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2015, 145, 270-279. ISSN 1386-1425.
49. OLIVEIRA, C. S., *et al.* Synthetic approaches, and pharmacological activity of 1,3,4-oxadiazoles: a review of the literature from 2000-2012. *Molecules*. 2012, 17, 10192-10231. ISSN 1420-3049.
50. PIZZINO, G., *et al.* Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017, 1-13. ISSN 1942-0994.
51. LIGUORI, I., *et al.* Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging*. 2018, 13, 757-772. ISSN 1178-1998.
52. CUFFARI, B. Foods that reduce oxidative stress and prevent cancer. *News Medical Life Science*. <https://www.news-medical.net/health/Foods-that-Reduce-Oxidative-Stress-and-Prevent-Cancer.aspx>
53. MURPHY, M., P. Antioxidants as therapies: can we improve on nature. *Free Radical Biology and Medicine*. 2014, 66, 20-23. ISSN 0891-5849.
54. ALISI, I., O., *et al.* Free radical scavenging mechanism of 1,3,4-oxadiazole derivatives: thermodynamics of O-H and N-H bond cleavage. *Heliyon*. 2020, 6, 1-9. ISSN 2405-8440.
55. SAUER, A., *et al.* Synthesis and antioxidant properties of organosulfur and organoselenium compounds derived from 5-substituted-1,3,4-oxadiazole/thiadiazole-2-thiols. *Tetrahedron Letters*. 2017, 58, 87-91. ISSN 0040-4039.
56. CEBECI, Y., U., *et al.* Synthesis of novel Schiff bases and azol- β -lactam derivatives starting from morpholine and thiomorpholine and investigation of their antitubercular, antiurease activity, acetylcholinesterase inhibition effect and antioxidant capacity. *Bioorganic Chemistry*. 2019, 88, 1-9. ISSN 0045-2068.
57. BASAPPA, V. C., *et al.* Synthesis, characterization and antioxidant activity studies of new coumarin tethered 1,3,4-oxadiazole analogues. *Journal of Chemical Sciences*. 2021, 133(55), 1-8. ISSN 0974-3626.
58. LAI, C. H., *et al.* Identification of novel human genes evolutionarily conserved in *Caenorhabditis elegans* by comparative proteomics. *Genome Research*. 2000, 10, 703-713. ISSN 1549-5469.
59. MARKAKI, M., and TAVERNARAKIS, N. *Caenorhabditis elegans* as a model system for human diseases. *Current Opinion in Biotechnology*. 2020, 63, 118-125. ISSN 0958-1669.
60. YU, C. W., *et al.* Curcumin-mediated oxidative stress resistance in *Caenorhabditis elegans* is modulated by *age-1*, *akt-1*, *pdk-1*, *osr-1*, *unc-43*, *sek-1*, *skn-1*, *sir-2.1*, and *mev-1*. *Free Radical Research*. 2014, 371-379. ISSN 1029-2470.
61. SANTOS, R., *et al.* Friedreich ataxia: molecular mechanism, redox considerations, and therapeutic opportunities. *Antioxidants and Redox Signaling*. 2010, 13(5), 651-690. ISSN 1523-0864.
62. PARKINSON, M. H., *et al.* Clinical features of Friedreich's ataxia: classical and atypical phenotypes. *Journal of Neurochemistry*. 2013, 126, 103-117. ISSN 1471-4159.
63. BÜRK, K. Friedreich ataxia: current status and future prospects. *Cerebellum and Ataxias*. 2017, 4, 1-9. ISSN 2053-8871.
64. WEISSIG, V. Drug development for the therapy of mitochondrial diseases. *Trends in Molecular Medicine*. 2020, 26(1), 40-57. ISSN 1471-4914.

MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS

Mokslinės publikacijos disertacijos tema, paskelbtos mokslinės informacijos instituto (ISI) referuojamose leidiniuose

1. IŠKAUSKIENĖ, M., KADLECOVÁ, A., VOLLER, J., JANOVSKÁ, L., MALINAUSKIENĖ, V., ŽUKAUSKAITĖ A., ŠAČKUS A. Synthesis of 5-[(1*H*-indol-3-yl)methyl]-1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thiones and their protective activity against oxidative stress. // *Archiv der Pharmazie*. Wiley Online Library. ISSN 0365-6233. eISSN 1521-4184. 2021, 354, 1-10. DOI [10.1002/ardp.202100001](https://doi.org/10.1002/ardp.202100001). [Science Citation Index Expanded (WEB of Science); Scopus] [IF: 2.578; AIF 3.43].
2. IŠKAUSKIENĖ, M., RAGAITĖ G., SLØK., F. A., ŠAČKUS A. Facile synthesis of novel amino acid-like building blocks by *N*-alkylation of heterocyclic carboxylates with *N*-Boc-3-iodoazetidine. // *Molecular Diversity*, SpringerLink. ISSN 1381-1991. eISSN 1573-501X. 2020, 24, 1235-1251. DOI [10.1007/s11030-019-09987-8](https://doi.org/10.1007/s11030-019-09987-8). [Science Citation Index Expanded (WEB of Science); Scopus] [IF: 2.013; AIF 2.51].

Disertacijos tema išspausdinti pranešimai užsienio ir Lietuvos konferencijų pranešimų medžiagoje

1. MALINAUSKIENĖ, V., KADLECOVÁ, A., VOLLER, J., BEZERAITĖ, S., MARKEVIČIUS, V., GARLAITĖ, G., JANOVSKÁ, L., IŠKAUSKIENĖ, M., ŽUKAUSKAITĖ, A., ŠAČKUS, A. 1,3,4-oxadiazole-indole hybrids: synthesis and their protective activity against oxidative stress. // *29th European colloquium on heterocyclic chemistry: virtual event*, 26-28th of April 2021: book of abstracts. [S.I.] : [s.n.]. 2021, OC74, p. 110.
2. VARNELIS, V., IŠKAUSKIENĖ, M., SOLOVJOVA, J., KLEIZIENĖ, N., RAGAITĖ, G., SLØK., F. A., ŠAČKUS A. Synthesis of azetidiny-substituted 1*H*-pyrazole carboxylates. // *21st JCF Frühjarhs-symposium and 2nd EYChem*, Bremen, Germany, 20-23rd of March 2019: book of abstracts. [Bremen]: JungChemikerForum, 2019, p. 1.
3. IŠKAUSKIENĖ, M., URBONAVIČIUS, A., RAGAITĖ, G., DAGILIENĖ, M., SLØK., F. A., ŠAČKUS A. Synthesis and structure determination of alkyl *N*(*N*-Boc-piperidiny)pyrazolecarboxylates. // *Chemistry and Chemical technology*, Vilnius, Lithuania, 16th of May 2019. Lithuanian Academy of Science, Vilnius: conference book. Vilnius: Vilnius University, 2019, p. 62. eISBN: 9786090701676.
4. MALINAUSKIENĖ, V., IŠKAUSKIENĖ, M., KVESELYTĖ, A., NEDZINSKAITĖ, I., BURLĖGAITĖ, L., ŠAČKUS, A. Indole carboxylic acid as starting point towards heteroaryl indoles. // *Chemistry and Chemical technology*, Vilnius, Lithuania, 16th of May 2019. Lithuanian Academy of Science, Vilnius:

conference book. Vilnius: Vilnius University, 2019, p. 90. eISBN: 9786090701676.

5. KEDERIENĖ, V., IŠKAUSKIENĖ, M., SLØK., F. A., ŠAČKUS A. Synthesis of new heterocyclic building blocks bearing the azetidine structural unit. // *German-Polish-Baltic conference on organic chemistry*, Hamburg, Germany, 15-19th of May 2018: book of abstracts. Hamburg: Hamburger print service, 2018 p. 42. ISBN 9783000588839.

6. IŠKAUSKIENĖ, M., RAGAITĖ, G., SLØK., F. A., ŠAČKUS A. Synthesis of N-(azetid-3-yl)pyrazolecarboxylates. // *26th ISHC Congress (International Society of Heterocyclic Chemistry)*, Regensburg, Germany, 3-8th of September 2017: book of abstracts / University of Regensburg, ISHC – International Society of Heterocyclic Chemistry. Regensburg: Institute of Organic Chemistry University of Regensburg, 2017, p. 267.

7. IŠKAUSKIENĖ, M., ARBAČIAUSKIENĖ, E., ŽUKAUSKAITĖ, A., MALINAUSKIENĖ, V., ŠAČKUS, A. Novel indole derivatives with (5-sulfanyl)-1,3,4-oxadiazole fragment. // *Chemistry and chemical technology 2017*, Kaunas, Lithuania, 28th of April 2017: proceedings of the international conference. Kaunas: Kauno technologijos universitetas, 2017, p. 43. ISSN 2538-7359.

8. IŠKAUSKIENĖ, M., BUTKUTĖ, Ž., MALINAUSKIENĖ, V., ŠAČKUS, A. Synthesis and hydrolysis of 4-(indol-2-yl)butanamide derivatives. // *BOS16: Balticum Organicum Syntheticum: 9th biennial international conference on organic synthesis*, Riga, Latvia, 3-6th of March 2016: program and abstract book. Riga: Latvian Institute of Organic Synthesis, 2016, PO17, p. 54.

9. IŠKAUSKIENĖ, M., MALINAUSKIENĖ, V., ŠAČKUS, A. Synthesis of 5-aryl-3,3-dimethyl-2,3-dihydro-1H-indole carboxylic acid derivatives. // *Chemistry and Chemical technology: international conference of Lithuanian Society of Chemistry: Lithuanian Academy of Science*, Vilnius, Lithuania, 28-29th of April 2016: book of abstracts / Fizinių ir technologijos mokslų centras, Vilniaus universitetas, Lietuvos mokslų akademija, Kauno technologijos universitetas, 2016, p. 171. ISBN 9786099551135.

10. IŠKAUSKIENĖ, M., MALINAUSKIENĖ, V., ŠAČKUS, A. Synthesis of 2,3-dihydro-1H-indole carboxylic acid derivatives. // *41st A. Corbella international summer school on organic synthesis*, Gargnano, Italy, 17-21st of June 2016, Università degli Studi di Milano, Gargnano (BS) / Società Chimica Italiana Divisione di Chimica Organica. Roma: Società Chimica Italiana, 2016, p. 126.

Kiti pranešimai, išspausdinti užsienio ir Lietuvos konferencijų pranešimų medžiagoje

1. BEZERAITĖ, S., IŠKAUSKIENĖ, M., ŽUKAUSKAITĖ, A., MALINAUSKIENĖ, V. A convenient synthetic approach for the preparation of indole-3-acetic acid analogues. // *The [extra]ordinary COINS 2021*: book of abstracts. [SI]: [s.n.], 2021, 40, p. 43.

2. JURGELĖNAITĖ, A., MYKOLAITIENĖ, E., BURLĖGAITĖ, L., MALINAUSKIENĖ, V., **IŠKAUSKIENĖ, M.**, ŽUKAUSKAITĖ, A., ŠAČKUS, A. Synthesis of heterocyclic amino acids for application as building blocks. // *COINS 2019: 14th international conference of life sciences*, Vilnius, Lithuania, 26-28th of February 2019: abstract book. Vilnius: Vilniaus universitetas. 2019, p. 38.
3. ŽUKAUSKAITĖ, A., BIELESZOVA, K., SAIZ-FERNÁNDEZ, I., SEDLÁŘOVÁ, M., **IŠKAUSKIENĖ, M.**, KUBEŠ, M., DZEDULIONYTĖ, K., PAŘIZKOVÁ, B., PAVLOVIĆ, I., BAZGIER, V., VAIN, T., MALINAUSKIENĖ, V., ŠAČKUS, A., ROBERT, S., NAPIER, R., STRNAD, M., DOLEŽAL, K., NOVÁK, O. Novel anti-auxin with different activity in roots and in shoots. // *Chemistry and biology of phytohormones and related substances 2019*, Luhačovice, Czech Republic, 19-21st of May 2019: book of abstracts / organized by Laboratory of Growth Regulators, Palacky University and Institute of Experimental Botany. Olomouc: [s.n.]. 2019, p. 19.
4. ŽUKAUSKAITĖ, A., BIELESZOVA, K., SAIZ-FERNÁNDEZ, I., SEDLÁŘOVÁ, M., **IŠKAUSKIENĖ, M.**, KUBEŠ, M., DZEDULIONYTĖ, K., PAŘIZKOVÁ, B., PAVLOVIĆ, I., BAZGIER, V., VAIN, T., MALINAUSKIENĖ, V., ŠAČKUS, A., ROBERT, S., NAPIER, R., STRNAD, M., DOLEŽAL, K., NOVÁK, O. Novel anti-auxin shows different activity in the root and in the shoot. // *Plant biotechnology: green for good*, Olomouc, Czech Republic, 10-13rd of June 2019. [S.I.] : [s.n.]. 2019, p. 120.
5. BUTKUTĖ, Ž., **IŠKAUSKIENĖ, M.**, MALINAUSKIENĖ, V., ŠAČKUS, A. 4-(Indol-2-il)butanamido darinių sintezė ir hidrolizė. // *Studentų mokslinė konferencija: Chemija ir cheminė technologija*, Kaunas, Lithuania, 27th of April 2017: student mokslinė konferencija / Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas, Kaunas: Kauno technologijos universitetas. 2017, p. 75. ISSN 2538-7332.

PADEKA

Noriu padėkoti visiems, prisidėjusiems prie disertacijos rengimo: prof. habil. dr. Algirdui Šačkui – už galimybę dirbti jo mokslinėje grupėje, už vadovavimą šiam darbui ir naudingus patarimus, dr. Astai Žukauskaitei, dr. Vidai Malinauskienei – už pagalbą ir naudingus patarimus, dr. Gretai Račkuskienei ir Aurimui Bieliauskui – už BMR spektrų užrašymą, dr. Sauliui Burinskui – už pagalbą rašant IR ir HRMS spektrų užrašymą, dr. Miglei Dagilienei – už enantiomerinio junginių grynumo nustatymą, Palackio universiteto mokslininkams – dr. Alena Kadlecová ir dr. Jiří Voller už atliktus biologinius tyrimus. Visiems kolegoms esu dėkinga už vertingą pagalbą ir globą nuo pat pirmųjų mano žingsnių sintezės laboratorijoje iki paskutinio taško rengiant disertaciją. Jūsų dėka turėjau galimybę dirbti draugiškoje, jaukioje ir palaikančioje aplinkoje. Nuoširdžiai dėkoju savo vyrui, sūneliui, tėveliams, vyro tėvams, sesei už meilę, supratimą, kantrybę ir palaikymą.

GYVENIMO APRAŠYMAS

Vardas Pavardė:	Monika Iškauskienė
Gimimo data, vieta:	1990 m. lapkričio 2 d., Gargždai
El. paštas	monika.dargyte@ktu.lt
Išsilavinimas:	
2015 – 2021 m.	Doktorantūros studijos – chemijos kryptis. Organinės chemijos katedra, Kauno technologijos universitetas.
2013 – 2015 m.	Taikomosios chemijos magistras – Organinės chemijos katedra, Kauno technologijos universitetas.
2009 – 2013 m.	Taikomosios chemijos bakalauras – Organinės chemijos katedra, Kauno technologijos universitetas.
2001 – 2009 m.	Gargždų „Kranto“ vidurinė mokykla.
1997 – 2001 m.	Gargždų „Ąžuoliukas“ darželis-mokykla.
Darbo patirtis	
2019 10 21 iki dabar	Jaunesnysis mokslo darbuotojas, Sintetinės chemijos institutas.

- 2018 11 26 – 2019 10 20 Kviestinis jaunesnysis mokslo darbuotojas. Organinės chemijos katedra, Kauno technologijos universitetas.
- 2016 12 01 – 2018 08 31 Lektorius. Cheminės technologijos fakultetas, Kauno technologijos universitetas. Dėstyta bakalauro ir magistro studentams: Vaistų chemija ir Rinktiniai medicininės chemijos skyriai.
- 2017 04 02 – 2018 02 28 Vyr. inžinierius. Organinės chemijos katedra, Kauno technologijos universitetas.
- 2016 09 01 – 2016 12 31 Projekto jaunesnysis mokslo darbuotojas. Sintetinės chemijos institutas.

ABSTRACT

Over the past several decades, bioactive peptides have been attracting scientific interest due to their ability to interact with receptors or inhibit protein–protein interactions [1]. They can fill the huge target receptor’s area which cannot be filled by small molecule drugs [2]. However, most peptides are denoted by low lipophilicity, high molecular weights and charged functional groups; as a result, they are unable to cross the intestinal epithelial barrier [3]. For these reasons, in order to improve the properties of the native peptides, such as their biological activity and metabolic stability, unnatural amino acids (UAAs) are usually used as rigidifying elements [1]. Moreover, combining peptides with other types of natural bioactive or synthetic molecules allows to cover a broader chemical space. This is particularly relevant for drug discovery and development as it allows combining the best of the two worlds, such as the higher target affinity of peptides, and the better membrane permeability of small nonpolar synthetic compounds. These new classes of protein-based drugs are generally referred to as ‘biologics’ and include such molecules as insulin, growth factors, and engineered antibodies [4].

Unnatural amino acids are important building blocks in the pharmaceutical industry. UAAs exhibit biological activity not only as free acids, but they can also be incorporated into biologically active linear or cyclic peptides. UAAs can be used to analyze the protein structure and dynamics, to study protein interactions, or to modulate the activity of proteins in living cells. UAAs can be obtained by modifying natural amino acids or related compounds [5]. Almost all the structural features of UAAs correspond to the extended Lipinski’s rules, including the molecular weight (<500 Da), the number of hydrogen bond acceptors, and the number of rotatable bonds [6].

There is a limited number of synthetic commercially available amino acids, especially heterocyclic ones, which can be applied as building blocks for the synthesis of more complex functional molecules. Moreover, all the obtained libraries become similar if the same commercially available building block collections are used to generate them [6]. In order to obtain a variety of building-blocks with the *N*-heterocycle core, cyclization reactions with hydrazines or their derivatives become important.

Finally, it is of importance to mention that the obtained organic molecules with pharmacophoric heterocyclic rings could be used not only with the objective to generate peptides, but they also may possess interesting biological properties themselves.

The aim of this work:

To prepare a library of new building blocks of amino acids for the synthesis of peptides and to obtain biologically active 1,3,4-oxadiazole derivatives by employing hydrazine cyclization and alkylation reactions.

The tasks proposed to achieve the above stated aim were as follows:

1. To synthesize novel 5-[1-(*tert*-butoxycarbonyl)azetid-3-yl]-1*H*-pyrazole-3-carboxylates and evaluate their activity in *N*-alkylation reactions.
2. To synthesize novel amino acid-like building blocks with the pyrazole core and an azetidine unit.
3. To synthesize novel amino acid-like building blocks with the pyrazole core and a piperidine ring.
4. To synthesize pyrazolo[4,3-*c*]pyridine and evaluate its activity in the *N*-alkylation reaction.
5. To synthesize 5-[(1*H*-indol-3-yl)methyl]-1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thiones and evaluate their activity in *S*-alkylation reaction.
6. To discuss the antioxidative properties of the newly developed 2-[(1*H*-indol-3-yl)methyl]-5-(alkylthio)-1,3,4-oxadiazoles.

Scientific novelty:

An effective method for convenient synthesis of new amino acid-like building blocks from easily accessible starting materials has been developed. 5-[1-(*tert*-Butoxycarbonyl)azetid-3-yl]-1*H*-pyrazole-3-carboxylate was synthesized from commercially available *N*-Boc-protected azetidine 3-carboxylic acid *via* a 5-step synthetic approach. This pyrazole was easily *N*-alkylated with various types of alkyl halogenides with the objective to obtain two separable regioisomers suitable for the building-block library. Easily accessible *N*-Boc-3-iodoazetidine was used as the *N*-alkylating agent in the reaction with commercially available pyrazole and indazole carboxylates so that to extend the variety of synthetic amino acids. Pyrazole and the piperidine ring were easily connected by the *N*-alkylation reaction with mesylate activated nucleophile. Pyrazolo[4,3-*c*]pyridine was synthesized from commercially available *tert*-butyl 4-oxopiperidine-1-carboxylate by using lithium bis(trimethylsilyl)amide as a strong non-nucleophilic base. Later, pyrazolo[4,3-*c*]pyridine was easily *N*-alkylated with various types of alkyl halogenides to obtain two separable regioisomers suitable for the building-block library. The carbonyl group of two selected indole-3-acetic acids was transformed into a 1,3,4-oxadiazole ring. The prepared 1,3,4-oxadiazoles possess antioxidant properties at low concentrations. The structures of the novel compounds and the identification of the formed regioisomers was reliably confirmed by methods of advanced NMR spectroscopy, namely, by the application of the ¹H, ¹H-NOESY, ¹H, ¹³C-HMBC and ¹H, ¹⁵N-HMBC experiments.

Main statements to be defended:

1. 5-[1-(*tert*-Butoxycarbonyl)azetid-3-yl]-1*H*-pyrazole-3-carboxylate and 5-(*tert*-butyl) 3-ethyl 1,4,6,7-tetrahydro-5*H*-pyrazolo[4,3-*c*]pyridine-3,5-dicarboxylate are convenient starting materials for the synthesis of novel unnatural amino acids.

2. *N*-Boc-3-Iodoazetidide and *N*-Boc-4-[(methylsulfonyl)oxy]piperidine are suitable for *N*-alkylation reactions.

3. Treatment of 5-[(1*H*-indol-3-yl)methyl]-1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thiones with alkyl halides affords biologically active 2-[(1*H*-indol-3-yl)methyl]-5-(alkylthio)-1,3,4-oxadiazoles.

MAIN RESULTS AND CONCLUSIONS

1. *N*-Alkylation reaction of 5-[1-(*tert*-butoxycarbonyl)azetidin-3-yl]-1*H*-pyrazole-3-carboxylate (**4**) primarily proceeds at N-2 nitrogen, and it yields derivatives **5a-f** as the major products, while N-1 nitrogen substituted derivatives **6a-f** are formed as the minor products.

2. Pyrazole (**11a-d**) or indazole (**14a-d**) carboxylates can be *N*-alkylated with *N*-Boc-3-iodoazetidide (**8c**) to obtain two separable regioisomers.

3. *N*-Alkylation reaction of ethyl 4-pyrazolecarboxylate (**21**) with (*S*)- and (*R*)-*N*-Boc-3-mesylypiperidines leads to the inversion of the stereochemical configuration.

4. The optimal synthesis path towards *N*-substituted pyrazolo[4,3-*c*]pyridines proceeds *via* the formation of 5-(*tert*-butyl) 3-ethyl 1,4,6,7-tetrahydro-5*H*-pyrazolo[4,3-*c*]pyridine-3,5-dicarboxylate (**39**) and the subsequent *N*-alkylation reactions.

5. 2-[(1*H*-Indol-3-yl)methyl]-5-(alkylthio)-1,3,4-oxadiazoles **56a-i** and **57a-e** can be obtained from hydrazides **52** and **53** upon their transformation to 1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thiones **54** and **55** followed by *S*-alkylation reactions.

6. 2-[(1*H*-Indol-3-yl)methyl]-1,3,4-oxadiazoles **54**, **55**, **56a-i**, **57a-e**, **58** and **59** have antioxidant properties at low concentrations, while, at higher concentrations, they can be toxic, presumably by contributing to the oxidative stress themselves.

7. 2-(Benzylthio)-5-[(5-methyl-1*H*-indol-3-yl)methyl]-1,3,4-oxadiazole (**57e**) shows protective activity against L-buthionine sulfoximine (BSO) induced oxidative stress in Friedreich's ataxia fibroblasts similar or superior to that of a known antioxidant *R*-lipoic acid (LA).

UDK 547.77+547.752](043.3)

SL344. 2022-**-*, * leidyb. apsk. I. Tiražas 35 egz.

Išleido Kauno technologijos universitetas, K. Donelaičio g. 73, 44249 Kaunas
Spausdino leidyklos „Technologija“ spaustuvė, Studentų g. 54, 51424 Kaunas