



Kauno technologijos universitetas
Cheminės technologijos fakultetas

Lietuvos sveikatos mokslų universitetas
Farmacijos fakultetas

(3-Alkiloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-onų sintezė ir savybių tyrimas

Baigiamasis magistro projektas

Svetlana Vachovičienė

Projekto autorė

doc. dr. Eglė Arbačiauskienė

Vadovė



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

Farmacijos fakultetas

(3-Alkiloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-onų sintezė ir savybių tyrimas

Baigiamasis magistro projektas

Medicininė chemija (6281CX001)

Svetlana Vachovičienė

Projekto autorė

doc. dr. Eglė Arbačiauskienė

Vadovė

J. m. d. dr. Birutė Grybaitė

Recenzentė



Kauno technologijos universitetas
Cheminės technologijos fakultetas

Lietuvos sveikatos mokslų fakultetas
Farmacijos fakultetas

Svetlana Vachovičienė

(3-Alkiloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-onų sintezė ir savybių tyrimas

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad:

1. baigiamąjį projektą parengiau savarankiškai ir sąžiningai, nepažeisdama kitų asmenų autoriaus ar kitų teisių, laikydamasi Lietuvos Respublikos autorių teisių ir gretutinių teisių įstatymo nuostatų, Kauno technologijos universiteto ir Lietuvos sveikatos mokslų universiteto teisės aktų, reglamentuojančių akademinę etiką, intelektinės nuosavybės teises, jų valdymą ir perdavimą;
2. baigiamajame projekte visi pateikti duomenys ir tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti teisėtai, nei viena šio projekto dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar elektroninių šaltinių, visos baigiamojo projekto tekste pateiktos citatos ir nuorodos yra nurodytos literatūros sąrašė;
3. įstatymų nenumatytų piniginių sumų už baigiamąjį projektą ar jo dalis niekam nesu mokėjusi;
4. suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo ar kitų asmenų teisių pažeidimo faktui, man bus taikomos akademinės nuobaudos pagal Kauno technologijos universitete ir(ar) Lietuvos sveikatos mokslų universitete galiojančią tvarką ir mano studijų sutartis bus nutraukta, o baigiamasis projektas gali būti pateiktas Akademinės etikos ir procedūrų kontrolieriaus tarnybai dėl galimo akademinės etikos pažeidimo.

Svetlana Vachovičienė

Patvirtinta elektroniniu būdu

Vachovičienė, Svetlana. (3-Alkiloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-onų sintezė ir savybių tyrimas. Baigiamasis magistro projektas / vadovė doc. dr. Eglė Arbačiauskienė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas; Lietuvos sveikatos mokslų fakultetas, Farmacijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypčių grupė): chemija, fiziniai mokslai.

Reikšminiai žodžiai: pirazolas, flavanonas, sintezė, Manicho reakcija.

Kaunas, 2021. 56 p.

Santrauka

Naujų, biologinėmis savybėmis pasižyminčių molekulių paieška yra svarbi šiuolaikinės medicininės chemijos dalis. Pasitelkiant jau atrastų biologiniu poveikiu pasižyminčių molekulių fragmentus bei jų derinius galima gauti geresnį biologinį aktyvumą turinčius junginius. Pirazolo dariniai turi platų pritaikymą – pasižymi antimikrobinėmis, priešvėžinėmis, antivirusinėmis savybėmis. Flavanono dariniai yra plačiai paplitę gamtoje, jų poveikis gyvoms sistemoms yra taip pat įvairus – antioksidacinis, priešūždegiminis, antihipertenzinis. Šio darbo tikslas iš 1-fenil-1*H*-pirazol-3-olio susintetinti naujus pirazolo ir flavonono fragmentus turinčius (3-alkiloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-onų darinius, nustatyti tokių junginių sintezei tinkamus būdus bei aptarti susintetintų junginių biologinio aktyvumo tyrimų rezultatus.

Pirmiausia, pirazolo-flavanono darinių (3-alkiloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-onų gavimui per dvi stadijas – alkilinimo ir formilinimo reakcijas – buvo susintetinti pradiniai 3-alkiloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-karbaldehydai. Tikslinių (3-alkiloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-onų sintezei iš *O*-pirazolkarbaldehydų buvo išbandyti keli vienos stadijos sintezės metodai: Klaiseno-Šmito kondensacijos reakcijos bei Michaelio prisijungimo reakcijos derinys bei Manicho β -amino-karbonilproduktų transformacijos reakcija. Nustatyta, kad tikslinių ciklinių junginių gavimui geriausi pritaikoma Manicho reakcija. Optimizavus šios reakcijos sąlygas vienos stadijos reakcija iš pakeistų 2-hidroksiacetofenonų bei atitinkamų *O*-pirazol-4-karbaldehydų gauta (3-alkiloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-ono darinių serija.

Atlikus gautų junginių biologiniai tyrimų rezultatų analizę nustatyta, kad (3-alkiloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-onai turi nedidelį priešvėžinį aktyvumą, tačiau keli galėtų būti toliau tiriami. Antibakteriniai junginių tyrimai taip pat parodė kelių junginių aktyvumą slopinant gramneigiamų bakterijų augimą.

Gautų junginių struktūros buvo patvirtintos spektroskopiniais ir spektrometriniais metodais. Priešvėžinio aktyvumo tyrimus atliko Vladimir Kryštof grupė (Palacký universitetas, Olomoucas, Čekija), antibakteriniai tyrimai buvo atlikti Kauno technologijos universiteto Biotechnologijos laboratorijoje agar difuziniu metodu.

Vachovičienė, Svetlana. Investigation of Synthesis and Properties of 2-(3-Alkyloxy-1-phenyl-1*H*-pyrazol-4-yl)chroman-4-ones. Master's Final Degree Project / supervisor Assoc. Prof. Dr. Eglė Arbačiauskienė; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology; Faculty of Pharmacy, Lithuanian Health Science University.

Study field and area (study field group): Chemistry, Physical Sciences.

Keywords: pyrazole, flavanone, synthesis, Manich reaction.

Kaunas, 2021. 56 pages.

Summary

The discovery of new biologically active molecules is one of the key elements of medicinal chemistry. Fragments of compound known to possess biological activity and their combinations can be used to obtain new molecules with better biological properties. Pyrazole derivatives have a wide range of applications as medicinal products due to their antimicrobial, anticancer and antiviral properties. Flavanone derivatives are widespread in nature, their effects on living organisms are also diverse - antioxidant, anti-inflammatory, antihypertensive. The aim of this work was to synthesize new 2-(3-alkyloxy-1-phenyl-1*H*-pyrazol-4-yl)chroman-4-one derivatives starting from 1-phenyl-1*H*-pyrazol-3-ol with pyrazole and flavonone fragments, to determine suitable synthesis method and to investigate the biological effects of the synthesized derivatives.

First, for the preparation of pyrazole-flavanone derivatives - (3-alkyloxy-1-phenyl-1*H*-pyrazol-4-yl)chroman-4-ones, the intermediate 3-alkyloxy-1-phenyl-1*H*-pyrazole-4-carbaldehydes were obtained in two steps synthesis employing alkylation and formylation reactions. Targeted (3-alkyloxy-1-phenyl-1*H*-pyrazol-4-yl)chroman-4-ones were synthesized from *O*-pyrazolecarbaldehydes by several single-step methods: a combination of the Claisen-Schmidt condensation reaction and the Michael addition reaction, and the Manich β -transformation reaction of aminocarbonyl products. The Manich reaction was found to be most convenient to obtain the target cyclic compounds. After optimizing the reaction conditions, a series of (3-alkyloxy-1-phenyl-1*H*-pyrazol-4-yl)chroman-4-one derivatives was obtained from the substituted 2-hydroxyacetophenones and the corresponding *O*-pyrazole-4-carbaldehydes by a one-pot reaction.

Analysis of biological activity investigation results of the targeted compounds have shown that (3-alkyloxy-1-phenyl-1*H*-pyrazol-4-yl)chroman-4-ones have low anticancer activity, although several compounds could be further investigated. Antibacterial studies of the compounds have also shown the activity of several derivatives in inhibiting the growth of gram-negative bacteria.

The structures of the obtained compounds were confirmed by spectroscopic and spectrometric methods. Anticancer activity studies were performed by Vladimír Kryštof's group (Palacký University, Olomouc, Czech Republic), antibacterial studies were performed in Kaunas University of Technology Biotechnology Laboratory by agar diffusion method.

Turinys

Įvadas	10
1. Literatūros apžvalga	12
1.1. Pirazolo ir flavanono darinių biologinio aktyvumo apžvalga.....	12
1.2. Žinomos pirazolo žiedą turinčios natūralios medžiagos	12
1.3. Pirazolo žiedą turinčios sintetinės vaistinės medžiagos	13
1.4. Pirazolo dariniai, pasižymintys priešvėžiniu aktyvumu	14
1.5. Flavanono turinčių biologiškai aktyviųjų medžiagų apžvalga	16
1.6. Flavanono darinių priešvėžinis aktyvumas.....	16
1.7. Pirazolo – flavanono darinių biologinis aktyvumas.....	19
2. Medžiagos ir tyrimų metodai	22
2.1. 1-fenil-3-metoksi-1 <i>H</i> -pirazolas [40]	22
2.2. 1-fenil-3-propoksi-1 <i>H</i> -pirazolas	23
2.3. 1-fenil-3-(2-metoksietoksi)-1 <i>H</i> -pirazolas.....	23
2.4. 3-(benziloksi)-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazolas [41]	24
2.5. 1-fenil-3-metoksi-1 <i>H</i> -pirazol-4-karbaldehidai [42].....	24
2.6. 1-fenil-3-propoksi-1 <i>H</i> -pirazol-4-karbaldehidai.....	25
2.7. 1-fenil-3-(2-metoksietoksi)-1 <i>H</i> -pirazol-4-karbaldehidai	25
2.8. 3-(benziloksi)-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-karbaldehidai [41]	26
2.9. (2 <i>E</i>)- 1-fenil-3-(1-fenil-3-metoksi-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)- prop-2-en-1-onas.....	27
2.10. 1,5-bis(2-hidroksifenil)-3-(3-metoksi-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)pentan-1,5-dionas	27
2.11. 2-(1-fenil-3-metoksi-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)-2,3-dihidro-4 <i>H</i> -1-benzpiran-4-onas.....	28
2.12. 2-(1-fenil-3-propoksi-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)-2,3-dihidro-4 <i>H</i> -1-benzpiran-4-onas	29
2.13. 2-[3-(2-metoksietoksi)-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il]-2,3-dihidro-4 <i>H</i> -1-benzpiran-4-onas.....	30
2.14. 2-[3-(benziloksi)-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il]-2,3-dihidro-4 <i>H</i> -1-benzpiran-4-onas.....	30
2.15. 2-(1-fenil-3-metoksi-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)-6-metoksi-2,3-dihidro-4 <i>H</i> -1-benzpiran-4-onas	31
2.16. 6-metil-2-(3-metoksi-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)-2,3-dihidro-4 <i>H</i> -1-benzpiran-4-onas	32
2.17. 2-(1-fenil-3-metoksi-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)-6-fluor-2,3-dihidro-4 <i>H</i> -1-benzpiran-4-onas.....	32
2.18. 6-chlor-2(3-metoksi-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)-2,3-dihidro-4 <i>H</i> -1-benzpiran-4-onas	33
2.19. 6-brom-2-(3-metoksi-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)-2,3-dihidro-4 <i>H</i> -1-benzpiran-4-onas	34
2.20. 2-(1-fenil-3-propoksi-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)-6-metoksi-2,3-dihidro-4 <i>H</i> -1-benzpiran-4-onas.....	34
2.21. 2-(1-fenil-3-etoksimetoksi-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)-6-metoksi-2,3-dihidro-4 <i>H</i> -1-benzpiran-4-onas..	35
2.22. 2-(3-benziloksi-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)-6-metoksi-2,3-dihidro-4 <i>H</i> -1-benzpiran-4-onas	36
3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas	37
3.1. 3-Alkoksi-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-karbaldehidų sintezė.....	37
3.2. (3-Alkiloksi-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)chroman-4-onų sintezės sąlygų parinkimas ir optimizavimas.....	38
3.2.1. Klaiseno – Šmito kondensacijos ir Michaelio prijungimo reakcijos taikymas tikslinių junginių gavimui	39
3.2.2. Manicho SN2 reakcijos taikymas tikslinių junginių gavimui.....	41
3.3. Įvairių (3-alkiloksi-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)chroman-4-onų sintezė	43
3.3.1. (3-alkiloksi-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)chroman-4-onų sintezė iš įvairių 3-alkiloksi-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-karbaldehidų ir 2-hidroksiacetofenono	43
3.3.2. (3-alkiloksi-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)chroman-4-onų sintezė iš 1-fenil-3-metoksi-1 <i>H</i> -pirazol-4-karbaldehidų ir įvairių 2-hidroksiacetofenonų	45

3.4. Susintetintų junginių priešvėžinių tyrimų rezultatų aptarimas	49
3.5. Susintetintų junginių antibakterinių tyrimų rezultatų aptarimas.....	50
Išvados	51
Literatūros sąrašas	52

Santrumpų sąrašas

Acetil Co-A acetilo kofermentas A

BAD (*angl. Bcl-2 associated agonist of cell death*) su Bcl-2 susijęs ląstelės žūties antagonistas

Bax (*angl. Bcl-2 associated X protein*) su Bcl-2 susijęs X baltymas

Bcl (*angl. B-cell lymphoma*) B-ląstelių limfoma

BMR branduolių magnetinis rezonansas

CDCl₃ deuteriuotas chloroformas

cm⁻¹ atvirkštiniai centimetrai

d dubletas

DCM dichlormetanas

DME dimetoksietanas

DMF *N,N*-dimetilformamidas

EGFR (*angl. epidermal growth factor receptor*) epiderminio augimo faktoriaus receptoriaus

eIF4E (*angl. eukaryotic translation initiation factor 4E*) eukariotų translacijos iniciacijos faktorius 4E

ERα (*angl. estrogen receptor alpha*) estrogeno receptoriaus alfa

EtOAc etilacetatas

EtOH etanolis

J protonų tarpsukininės sąveikos konstanta

m multipletas

Mcl (*angl. myeloid cell leukemia*) mieloidinių ląstelių leukemija

MB mikrobangos

m.d. milijoninės dalys

MeOH metanolis

MHz megahercas

MNK (*angl. mitogen activated protein kinase interacting kinase*) su mitogeno aktyvuojama proteinkinaze sąveikaujanti kinazė

MS masių spektrometrija

m/z masės ir krūvio santykis

PDGF (*angl. platelet derived growth factor*) trombocitų augimo faktorius

Ph fenilgrupė

PI3K (*angl. phosphatidylinositol-3-kinase*) fosfotidilinozitol-3-kinazė

Raf (*angl. rapidly accelerated fibrosarcoma*) greitai auganti fibrosarkoma

s singletas

t tripletas

t_{lyd} lydymosi temperatūra

ν bangos skaičius

VEGF (*angl. vascular endothelial growth factor*) kraujagyslių endotelio augimo faktorius

^{13}C BMR anglies ^{13}C izotopo branduolių magnetinis rezonansas

^1H BMR protonų magnetinis rezonansas

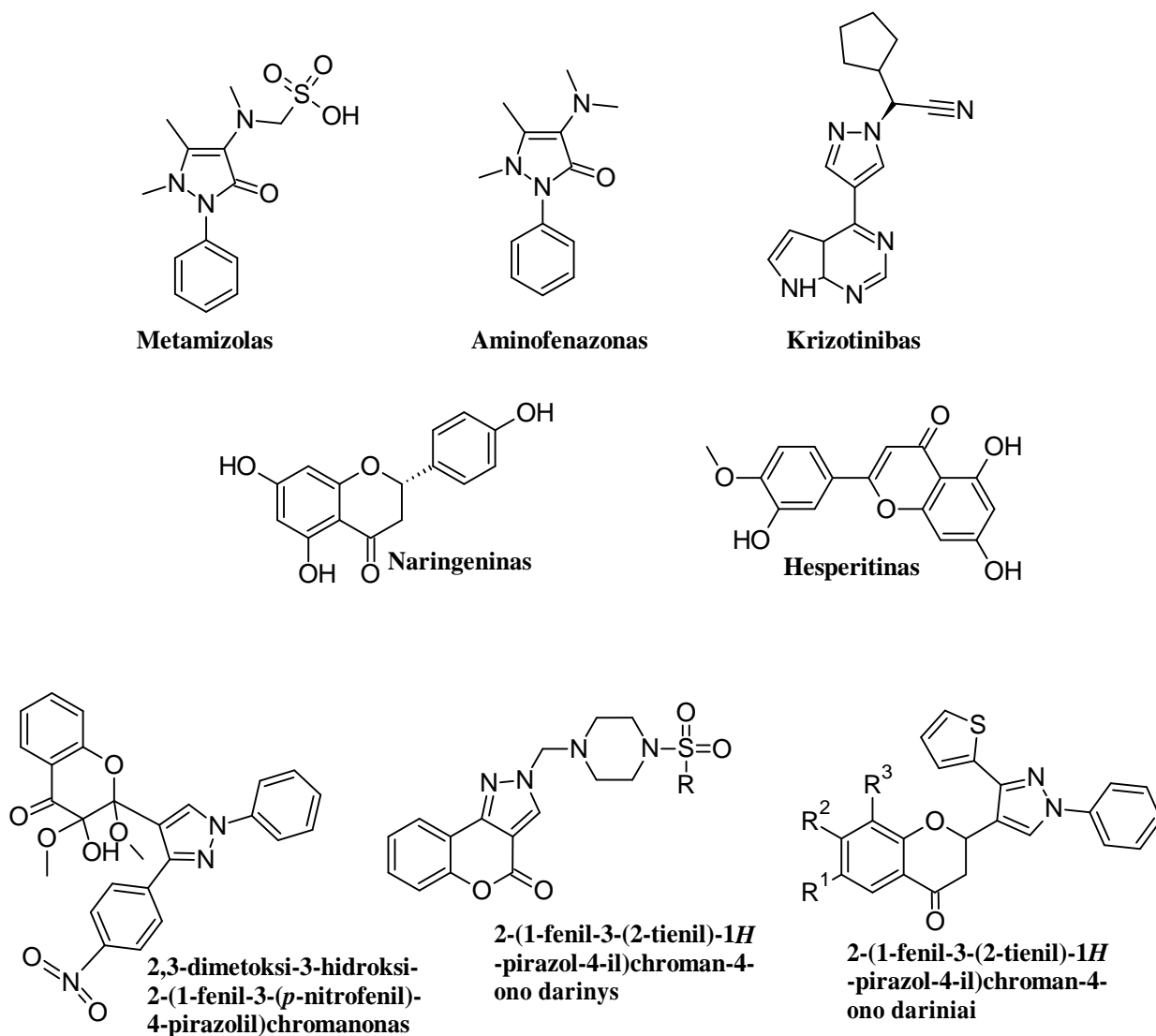
4E-BP1 (*angl. 4E binding protein 1*) 4E prisijungiantis baltymas 1

Δ virinimas

Įvadas

Heterociklai yra labai svarbi junginių klasė. Jie plačiai paplitę gamtoje, kur aptinkami alkaloiduose, hormonuose, vitaminuose bei kitose biologiškai aktyviose medžiagose. Vienas iš heterociklų - pirazolas, priešingai nei kiti, natūralioje aplinkoje sutinkamas retai. Nepaisant to, pirazolo dariniai pasižymi plačiu poveikiu ir yra naudojami įvairiose chemijos srityse. Nemažai vaistinių medžiagų molekulių turi pirazolo fragmentą. Tokios medžiagos pasižymi priešuždegiminiu, analgetiniu poveikiu – metamizolas, aminofenazonas (1 pav.), H₂ receptorių agonistiniu poveikiu – betazolas (1 pav.). Pirazolo heterociklas taip pat yra naujų priešvėžinių vaistinių preparatų, pavyzdžiui, krizotinibo (1 pav.) farmakoforo dalis [1, 2, 3].

Flavanonai – natūralios flavanoidų grupei priklausančios medžiagos, gamtoje dažniausiai aptinkamos augaluose. Flavanono dariniai, pavyzdžiui, hesperitinas (1 pav.), pasižymi priešuždegiminiu poveikiu. Taip pat flavanonai gali veikti ląstelės dalijimosi ciklą (naringeninas, 1 pav.), hesperitinas taip pat veikia kaip antioksidantas [4, 5, 6].



1 pav. Biologiškai aktyvūs pirazolo, flavanono bei pirazolo-flavanono junginiai

Biocheminės ir farmakologinės natūralių medžiagų savybės gali būti modifikuojami įvedant įvairius, gamtoje rečiau aptinkamus cheminius fragmentus. Pirazolo-flavanono dariniai pasižymi

priešvėžinėmis (chromeno[4,3-*c*]pirazol-4(2*H*)-onas (1 pav.)), antimikrobinėmis (2,3-dimetoksi-3-hidroksi-2-(1-fenil-3-(*p*-nitrofenil)-4-pirazolil)chromanonas (1 pav.)), priešgrybelinėmis 2-(1-fenil-3-(2-tienil)-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-ono dariniai (1 pav.)), savybėmis. Tokių junginių sintezei taikomi įvairūs būdai: hidroksichalkonų izomerizacija rūgštine ar bazine katalize; flavan-4-olio oksidacija; vidumolekulinė aktyvuotų α,β -nesočiųjų ketonų Michaelio reakcija; Manicho reakcija su benzaldehidais, aminais ir hidroksiacetofenonais bei kt. [7].

Darbo tikslas – iš 1-fenil-1*H*-pirazol-3-olio susintetinti naujus (3-alkiloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-onų darinius ir aptarti jų biologinio aktyvumo tyrimų rezultatus.

Darbo uždaviniai:

1. iš 1-fenil-1*H*-pirazol-3-olio gauti 3-alkoksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-karbaldehidus;
2. optimizuoti 2-(1-fenil-3-metoksi-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-ono gavimo reakcijos sąlygas;
3. nustatyti optimalias sąlygas ir jas pritaikyti analogų su skirtingais pakaitais sintezei;
4. išanalizuoti susintetintų junginių biologinio aktyvumo tyrimų rezultatus.

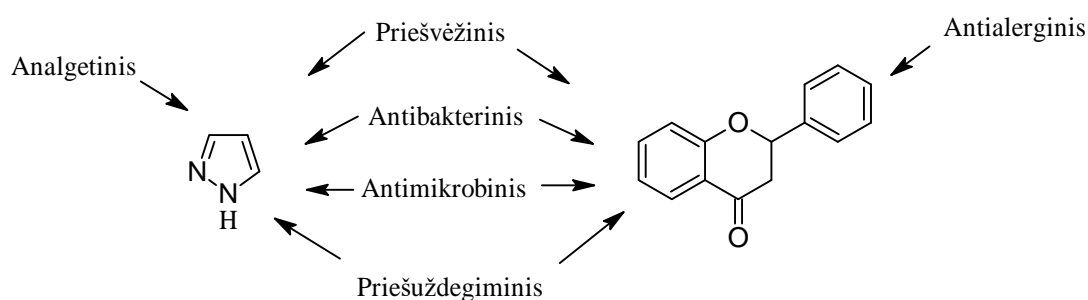
Darbo metodai:

1. mokslinės literatūros analizė;
2. organinių junginių sintezės atlikimas laboratorijoje;
3. susintetintų junginių struktūrų nustatymas IR, BMR spektroskopijos, masių spektrometrijos metodais;
4. biologinio aktyvumo tyrimų rezultatų analizė.

1. Literatūros apžvalga

1.1. Pirazolo ir flavanono darinių biologinio aktyvumo apžvalga

Daugelio farmacinių, agrocheminių bei gamtinių medžiagų sudėtyje yra heterociklinių fragmentų. Tarp pastarųjų, pirazolai sudaro didelę klasę, pasižyminčią farmakologiniu aktyvumu, pavyzdžiui, analgetiniu, priešvėžiniu, antibakteriniu, antimikrobinu bei priešuždegiminiu (2 pav.). Pirazolo dariniai taip pat yra tiriami dėl tolimesnio pritaikymo vaistinių medžiagų kūrime. Įvairiomis funkcinėmis grupėmis pakeisti pirazolai yra naudojami kondensuotų heterociklinių sistemų su kitais karbo- arba heterociklais sintezei, be to, gali būti pritaikomi kombinatorinėje sintezėje. Pirazolas, kurio heterocikle yra 2 azoto atomai, retai aptinkamas gamtoje, tačiau dažnai yra veikliųjų medžiagų farmakoforo dalis [1, 2, 3].

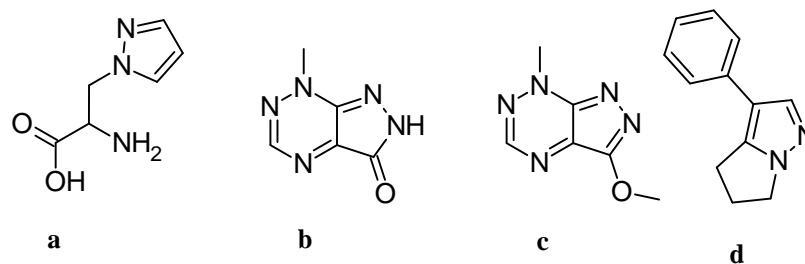


2 pav. Pirazolo ir flavanono junginių biologinis aktyvumas

Chromonai – heterocikliniai junginiai, kurie yra labai paplitę gamtoje. Chromonų arba 4*H*-chromenonų dariniai sudaro flavonoidų, tarp jų ir flavanonų, pagrindą. Flavanonų biologinis poveikis yra labai platus – priešuždegiminis, priešgrybelinis, antimikrobinis, priešalerginis, antivirusinis, priešnavikinis (2 pav.), be to, būtent redukuota chromono forma – 2-fenil-3,4-dihidro-2*H*-1-benzpirano sistemą turinčios medžiagos – gali slopinti kai kuriuos patologiniuose procesuose dalyvaujančius fermentus. Pastaruoju metu yra atliekama nemažai tyrimų, siekiant pagerinti biochemines bei farmakologines natūralių medžiagų pagrindo medžiagas įvedant įvairius, gamtoje rečiau aptinkamus cheminius fragmentus [4, 5, 6].

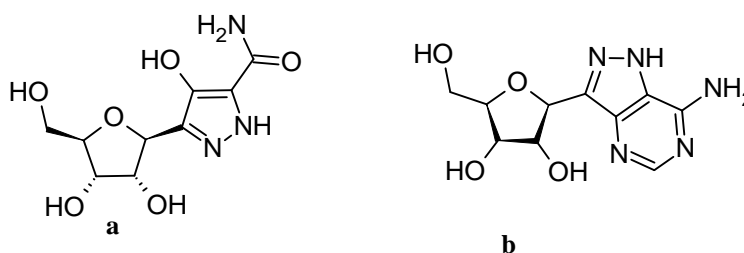
1.2. Žinomos pirazolo žiedą turinčios natūralios medžiagos

L- α -amino- β -(pirazolil-*N*)-propano rūgštis (2 pav. **a**), histidino izomeras, pirmą kartą gauta iš arbūzų. Tai yra viena iš nedaugelio natūralių pirazolų turinčių medžiagų, antidiabetinį poveikį turinti aminorūgštis [13]. Nostocinas A (2 pav. **b**), gaunamas iš cianobakterijų, pasižymi citotoksiniu poveikiu, gali tiesiogiai jungtis prie DNR ir slopinti jos replikaciją. Kiti natūralios kilmės pirazolo dariniai, pasižymintys antivėžiniu poveikiu, yra fluvoliolai (2 pav. **c** fluviolis C). Jie turi stiprų priešnavikinį poveikį Erlichio karcinomos ląstelėms [2]. Vitasomninai (2 pav. **d**) yra pirazolo alkaloidai gaunami iš nakvišų šaknų, jie pasižymi antidepresiniu bei švelniu skausmą slopinančiu poveikiu, pasireiškiančiu dėl COX-1, COX-2 fermentų slopinimą [14].



3 pav. Žinomos pirazolo žiedą turinčios natūralios medžiagos

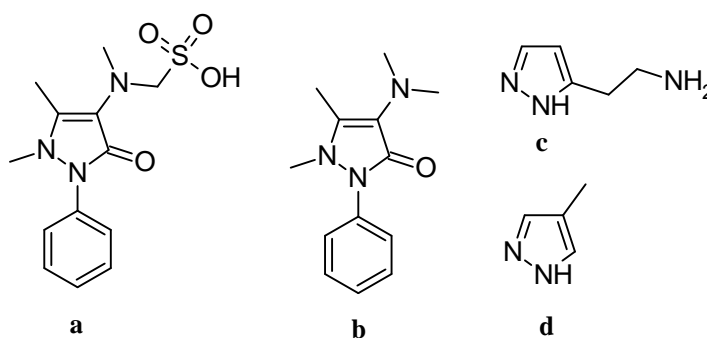
Pirazofurinai bei formicinai (3 pav. **a** ir **b**) yra pirazolo dariniai, gaunami iš *Streptomyces candidus* bakterijų padermės, turi antibakterinį poveikį [15].



4 pav. Žinomos pirazolo žiedą turinčios natūralios medžiagos

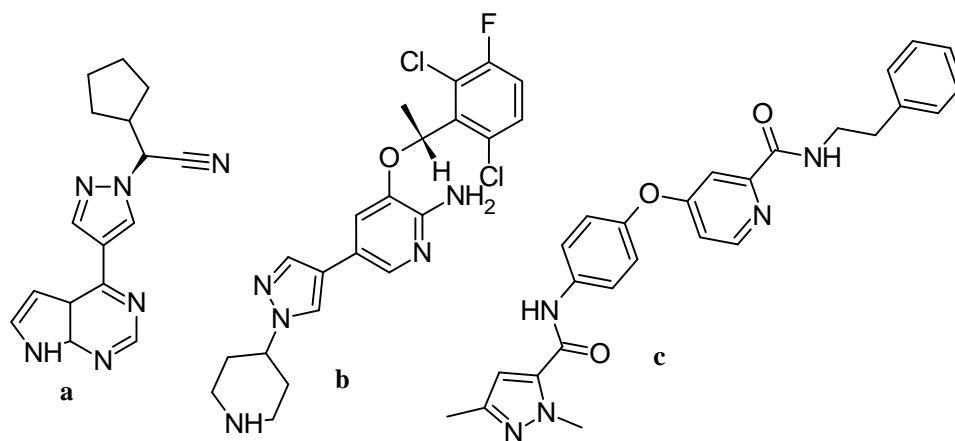
1.3. Pirazolo žiedą turinčios sintetinės vaistinės medžiagos

Pirmos pirazolo heterociklą turinčios vaistinių medžiagų molekulės pasižymėjo priešūždegiminiu bei analgetiniu aktyvumu (metamizolas 5 pav. **a**, aminofenazonas 5 pav. **b**), be to, pirazolo dariniai rodo H₂ receptorių agonistinį poveikį (betazolas 5 pav. **c**) bei gali veikti kaip konkurenciniai alkoholio dehidrogenazės inhibitoriai (fomepizolas 5 pav. **d**) [1].



5 pav. Pirazolo žiedą turinčios sintetinės vaistinės medžiagos

Vienos naujausiai sukurtos pirazolo fragmentą turinčios molekulės yra krizotinibas bei ruksolitinibas (6 pav. **a** ir **b**). Šios medžiagos yra vartojamos priešvėžinei terapijai ir priklauso proteinkinazių inhibitorių klasei [17]. Be to, šiuo metu yra tiriami pirazolo fragmentą turinčio junginio aktyvumas slopinant VEGFR-2 kinazę (6 pav. **c**).



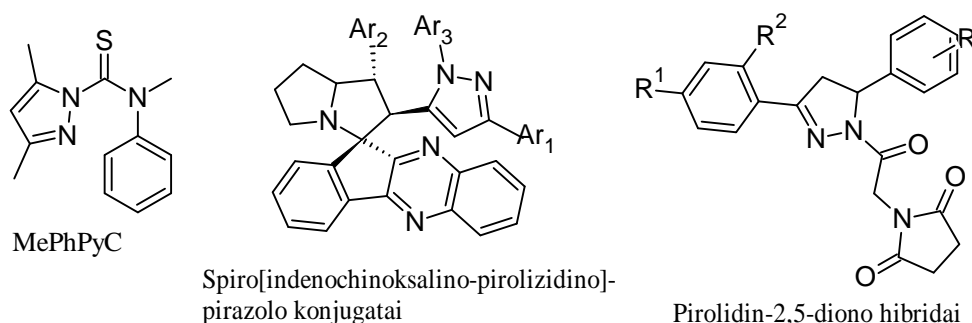
6 pav. Pirazolo žiedą turinčios sintetinės vaistinės medžiagos

1.4. Pirazolo dariniai, pasižymintys priešvėžiniu aktyvumu

Neseniai sukurtas *N*-fenil-*N*-3,5-trimetil-1*H*-pirazol-1-karbotiamidas (toliau *MePhPyC*, 7 pav.) pasižymi aukštu citotoksiškumu *in vitro* Daltono limfomos ascitų ląstelių linijose bei *in vivo* tyrimuose su gyvūnais. Tiriamųjų žiurkių, sergančių Erlichio ascitų karcinomos naviku, *MePhPyC* grupėje išgyvenamumas pailgėjo 21,7 - 38,7% [17].

Pirazolo dariniai taip pat turi priešnavikinį poveikį gimdos kaklelio vėžio ląstelėse. Neseniai susintetinti spiro[indenochinoksalino-pirolizidino]-pirazolo konjugatai (7 pav.) pasižymėjo *in vitro* citotoksiškumu gimdos kaklelio vėžio HeLA ląstelių linijoje. Šio tyrimo metu nustatyta, kad *N*-arilpirazolo įvedimas į spirodarinius ženkliai padidina priešvėžinį aktyvumą [18].

Nauji pirazolino pakeisti pirolidin-2,5-diono hibridai (7 pav.) taip pat pasižymėjo ženkliai citotoksišku poveikiu *in vitro* bei *in vivo*. Šių naujų junginių aktyvumas buvo tiriamas keliose ląstelių linijose – MCF7, HT29 bei K562. Nustatyta, kad junginiai turi stiprų citotoksiškumą MCF7 ir HT29 ląstelėse, K562 ląstelėse jų citotoksiškumas yra vidutiniškas. Vienas iš junginių turėjo ypatingai aukštą citotoksiškumą, be to, jis sukėlė ląstelės ciklo sutrikimus – sumažėjo ląstelių populiacija G2/M fazėje bei padidėjo G0/G1 fazėje esančių ląstelių populiacija. Manoma, kad šis teigiamas antiproliferacinis poveikis yra susijęs su antiapoptotinio Bcl-2 baltymo slopinimu [19].

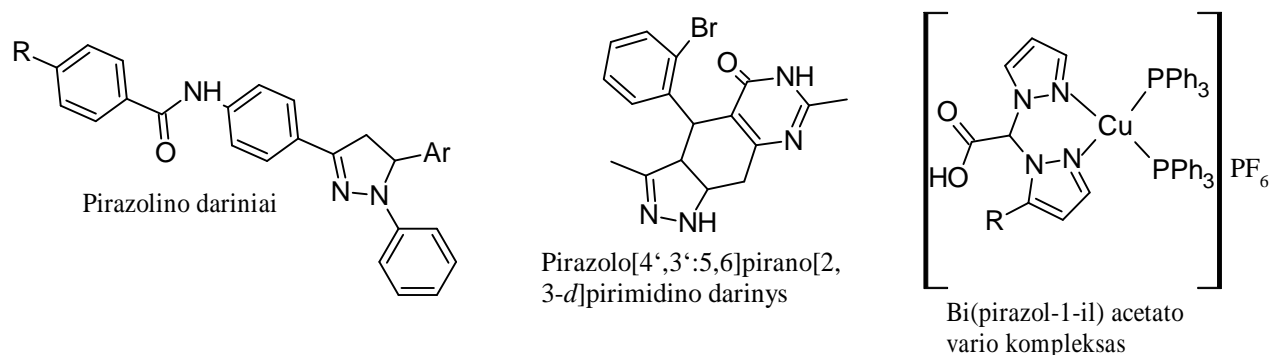


7 pav. Pirazolo dariniai, pasižymintys priešvėžiniu aktyvumu

Kito tyrimo metu susintetinti pirazolino dariniai (8 pav.) tai pat slopino Bcl-2 baltymą bei didino proapoptotinio Bax baltymo kiekius. Be to, šios medžiagos rodė citotoksiškumą gimdos kaklelio vėžio HeLA, krūties vėžio MCF7 bei skrandžio vėžio MKN-45 vėžio ląstelių linijose [20]

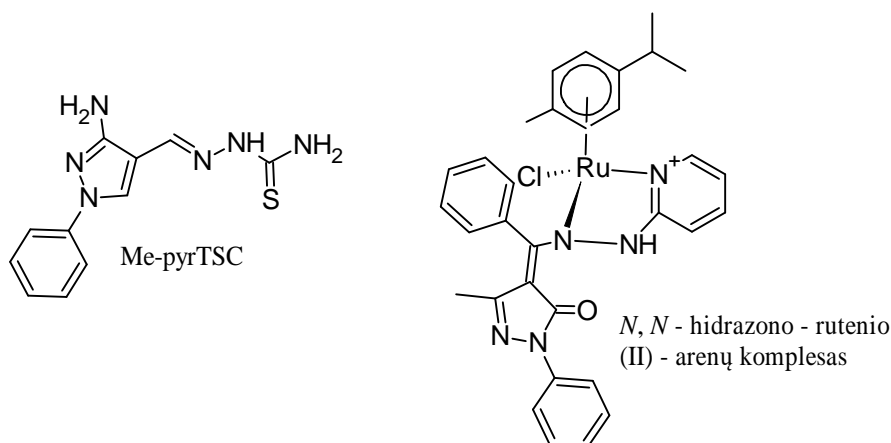
Citotoksinis poveikis taip pat buvo nustatytas tiriant naujus bi(pirazol-1-il)acetato vario (I) kompleksus (8 pav.). Šių junginių taikiny yra *N*-metil-d-aspartato receptoriai, kurie yra ekspresuojami vėžinių ląstelių ir yra susiję su įvairios rūšies vėžio atsiradimu. Viena iš svarbiausių susintetintų medžiagų savybė – gebėjimas veikti vaistams (pvz., cisplatinai) atsparias žmogaus navikines ląsteles. Šie kompleksai parodė aukštą citotoksiškumą plokščialąstelinės karcinomos H157 ir žmogaus kasos vėžio BxPC3 ląstelių linijose [21].

Dar viena naujų pirazolo darinių serija buvo įvertinta lyginant jų efektyvumą su rinkoje esančiomis veikliosiomis medžiagomis – erlotinibu (EGFR tirozino kinazės inhibitorius) ir sorafenibu (Raf kinazės, PDGF, VEGF receptorių kinazės inhibitorius), vartojamų vėžio gydymui, kadangi EGFR bei VEGFR-2 receptoriai yra svarbūs vėžio atsiradimui, ypač dėl dalyvavimo angiogenezėje bei metastazių susidaryme. Keli iš susintetintų darinių - pirazolo[4',3':5,6]pirano[2,3-*d*]pirimidino dariniai (8 pav.) žmogaus kepenų vėžio ląstelėse parodė beveik 10 kartų didesnę nei erlotinibo aktyvumą. Be to, kai kurie iš šių pirazolo darinių pasižymėjo dvigubu EGFR bei VEGF-2 slopinimu [3].



8 pav. Pirazolo dariniai, pasižymintys priešvėžiniu aktyvumu

Tiriant pirazoliltiosemikarbazonų priešvėžines savybes buvo nustatyta, kad pirazolhidrazinkarbotioamidų dariniai vidutiniškai veikia žmogaus adenokarcinomos ląsteles. Pažymėtina, kad vienas iš darinių – 2-[(1-fenil-3-metil-1*H*-pirazol-4-il)metilen]hidrazinkarbotioamidas (toliau Me-pyrTSC (9 pav.), parodė citotoksiškumą vaistams atspariose žmogaus žarnyno adenokarcinomos Colo320 ląstelių linijose. Atliktas vertinimas sveikų embriono plaučių fibroblastų ląstelių linijose šio junginio toksinio poveikio neparodė [22].

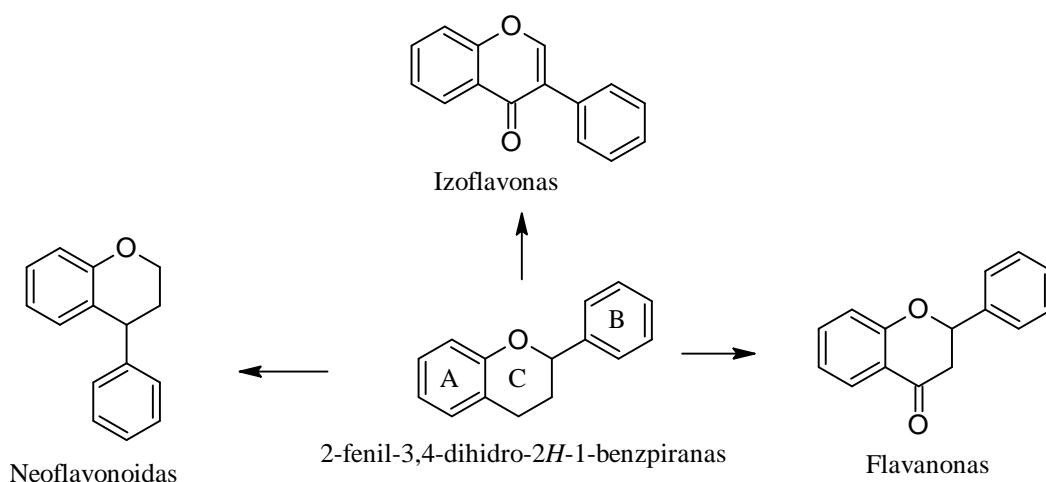


9 pav. Pirazolo dariniai, pasižymintys priešvėžiniu aktyvumu

Yra pranešimų apie kitus, citotoksiniu poveikiu vaistams atspariose vėžinėse ląstelėse pasižyminčius, pirazolo darinius, pavyzdžiui, neseniai susintetintus *N,N*-hidrazono–rutenio (II)-arenų kompleksus (9 pav.). Šie dariniai žmogaus krūties adenokarcinomos ląstelių linijoje MCF-7 bei cisplatinai atspariose MCF-7CR turi priešnavikinį poveikį. Manoma, jis pasireiškia dėl navikinių ląstelių su p27 baltymu susijusios apoptozės skatinimo [23].

1.5. Flavanono turinčių biologiškai aktyviųjų medžiagų apžvalga

Flavonoidai yra natūralių junginių grupė, jų pagrindą sudaro 2-fenil-3,4-dihidro-2*H*-1-benzpirano sistema (10 pav.). Šie junginiai yra labai paplitę gamtoje, ypač augaluose. Flavonoidai yra skirstomi į klases, priklausomai nuo aromatinio žiedo anglies atomo, kuris yra prisijungęs benzpiranui: izoflavonai (3-benzpiranai) (10 pav.), neoflavonoidai (4-benzpiranai) (10 pav.). Tuo tarpu, flavonoidai, kurių B žiedas yra prisijungęs per C-2 atomą (2-fenilbenzpiranai) yra skirstomi į poklasius, priklausomai nuo γ -benzpirano fragmento C žiedo oksidacijos laipsnio: flavonai, flavonoliai, flavanonai (10 pav.), flavanonoliai, flavanoliai ar katechinai, antocianinai ir chalkonai [5, 6, 19, 20].

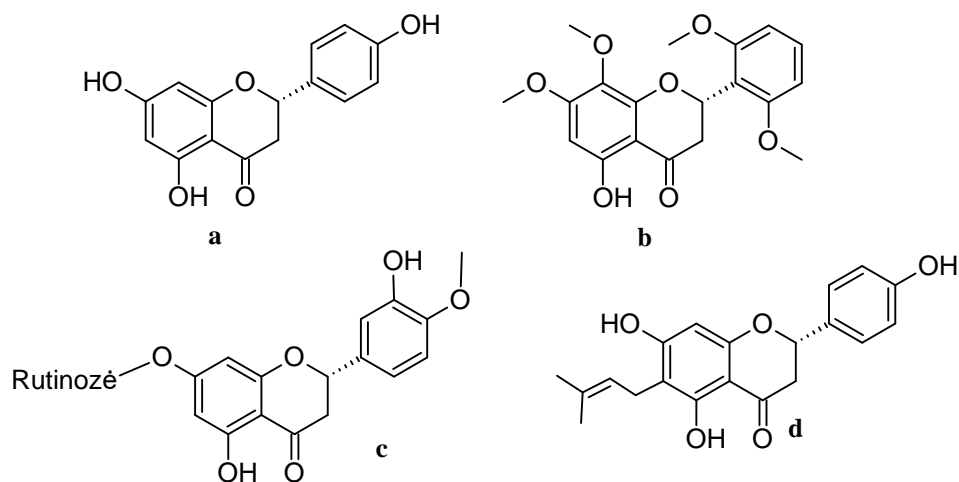


10 pav. Flavonoidų klasifikavimas

1.6. Flavanono darinių priešvėžinis aktyvumas

Flavanonai dažniausiai aptinkami citrusiniuose vaisiuose. Tarp daugumos gamtoje atrastų flavanonų, kai kurie jų pasižymi plačiu biologiniu poveikiu. Vienas tokių – naringeninas (11 pav. a), su kuriuo buvo atlikta nemažai tyrimų. Naringenino priešvėžinis aktyvumas pasireiškia dėl jo gebėjimo skatinti uridino 5'-difosfogliukuronoziltransferazės ir chinino reduktazės gamybą. Šios medžiagos dalyvauja vėžinių ląstelių pašalinimo iš organizmo procese. Be to, naringeninas slopindamas ciklinus skatina ląstelių ciklo sustabdymą tarp G ir S fazių. Naringeninas didina kaspazių, citochromo ir Bax kiekius bei mažina Bcl-2 kiekį mitochondrijose. Slopindamas nuo ER α priklausomą mitogeninio signalo perdavimo kaskadą arba skatindamas nuo ER α priklausomą p38 kinazę, naringeninas sukelia vėžinių ląstelių apoptozę [26].

Kita farmakologiniu poveikiu pasižyminti medžiaga yra 5-hidroksi-7,8,2,6'-tetrametoksiflavanonas (TMF, 11 pav. b) – dihidroflavanoidas gaunamas iš kalpokės augalo. Buvo nustatyta, kad TMF sukelia apoptozę bei slopina žmogaus kepenų vėžio ląstelių HepG-2 metastazes ir proliferaciją. Šie poveikiai pasireiškia dėl Bcl-2 baltymo slopinimo bei kaspazės-3, Bax ir p53 indukcijos [4].



11 pav. Flavanono dariniai, pasižymintys priešvėžiniu aktyvumu

Hesperidinas (hesperitin 7-rutinozidas) (11 pav. c) yra vienas iš citrusinių flavonoidų, flavanono glikozidas, sudarytas iš aglikono hesperitino bei prie jo prisijungusio disacharido rutinozės [2]. Hesperidino yra gausu jaunuose citrusų vaisiuose bei sunokusiu vaisių odelėje. Yra pranešimų apie hesperidino sukeltą vėžinių ląstelių žūtį. Hesperidinas indukuoja vidinį bei išorinį apoptozės kelią. Pavyzdžiui, hesperidinas aktyvuoja specifinį viduląstelinį mirties receptorių kelią, esant žarnyno vėžiui. Šis poveikis gaunamas dėl DNR fragmentacijos indukcijos, ir apoptozės kūno susiformavimo. Tiriant hesperidino poveikį skrandžio vėžio ląstelėse pastebėta, kad apoptozė buvo sukelta dėl Bax ir kaspazės 3 iRNR reguliacijos padidėjimo, esant 100 μ M hesperidino koncentracijoms. Hesperidino teigiamas poveikis buvo nustatytas veikiant juo vėžines žarnyno ląsteles kartu su 5-fluoruracilu. Manoma, kad hesperidinas padidino 5-fluoruracilo biologinį prieinamumą dėl ląstelės membranos praeinamumo padidėjimo. Teigiamas hesperidino poveikis buvo nustatytas juo veikiant krūties, plaučių ir kepenų vėžines ląsteles [27, 28]. Hesperidinas stabdo ląstelių proliferaciją keliose vėžio rūšyse. Šis poveikis yra nevienodas skirtingose ląstelių linijose. Ląstelės ciklo sustabdymas buvo pastebėtas linijose, kurių p53 ir nuo ciklinų priklausomos kinazės inhibitorių kiekiai buvo padidėję, o tam tikrų ciklinų ir nuo ciklinų priklausomų kinazių kiekiai – sumažėję. Be to, apoptotinis poveikis buvo susijęs su padidėjusiomis pro- ir antiapoptotinių baltymų koncentracijomis, kaspazės ir JNK kelio aktyvavimu [5].

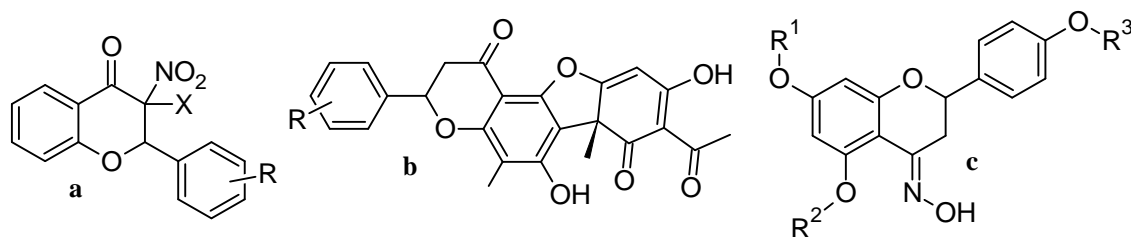
Atlikus turimų duomenų apie C-prenilintų flavanoidų citotoksiškumą solidinių navikų ląstelių linijose analizę, buvo nustatyta, kad šių junginių, pavyzdžiui, 6-prenilnaringenino (11 pav. d) biologinis aktyvumas yra ženklus, tad tokie junginiai gali būti toliau tiriami siekiant sukurti priešvėžinius vaistus [29].

Susintetintos kelios flavanono fragmentą turinčių junginių serijos: nauja DNR metiltransferazės inhibitorių klasė – 3-halogen-3-nitroflavanonai (12 pav. a) – pasižymi DNR metiltransferazės ženkli slopinimu. Padidėjęs DNR metilinimas yra susijęs su navikų supresuojančių genų inaktyvacija. Nemažai tyrimų parodė, kad šis mechanizmas yra aptinkamas kelių rūšių navikuose. Naujai susintetinti 3-brom-2,3-dihidro-3-nitro-2-(2-nitrofenil)-4*H*-1-benzpiranonas ir 3-brom-2,3-dihidro-2-(5-metoksi-2-nitrofenil)-3-nitro-4*H*-1-benzpiranonas buvo veiksmingi esant mikromoliarinėms koncentracijoms. Šiuo metu registruoti nukleozidų analogai, vartojami leukemijos gydymui turi blogą stabilumą fiziologinėmis sąlygomis, be to, jie nėra selektyvūs. Nauji 3-brom-3-nitroflavanonai pasižymėjo stabilumu bei mažu toksiškumu sveikose ląstelėse, tad šie nauji dariniai

galėtų būti potencialiai naudojami vėžio gydyme kaip necitotoksiški sveikoms ląstelėms „perprogramuotojai“ [30].

Kita naujai susintetintų kedeninės rūgšties, kuri yra antrinis kerpenų metabolitas, darinių, turinčių flavanono fragmentą, serija (12 pav. **b**) pasižymėjo antiproliferaciniu poveikiu HL-60 ir K562 leukemijos ląstelių linijose. Nustatyta, kad jų veikimo mechanizmas susijęs su apoptozės skatinimu ir Mcl-1 bei kitų MNK/eIF4E ašies baltymų ekspresijos reguliavimu. Be to, susintetinti dariniai gali slopinti pan-Pim kinazes bei blokuoti BAD ir 4E-BP1 fosforilinimą, taip stabdydami vėžines ląsteles [31].

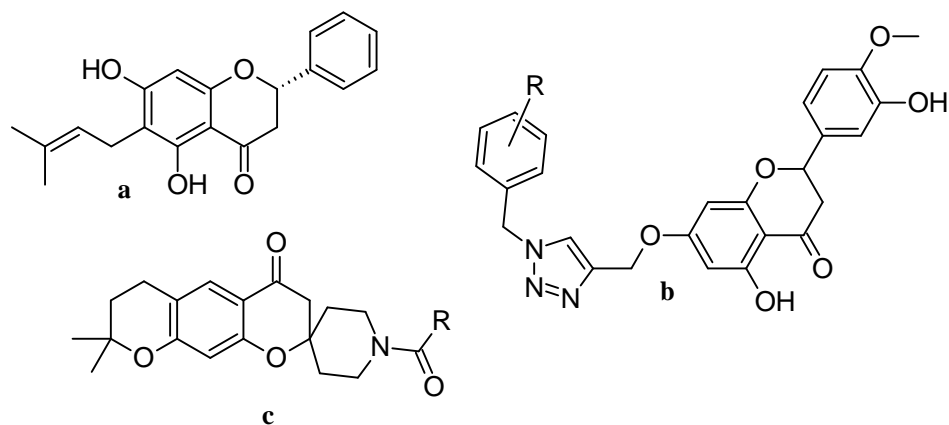
Naringenino dariniai, gauti reakcijoje su alkiliodidais (12 pav. **c**) pasižymėjo ląstelių augimą stabdančiu poveikiu žmogaus storosios žarnos ląstelių linijoje HT-29. *O*-Alkilnaringenino junginių, kuriuose karbonilgrupė buvo pakeista oksimo fragmentu antiproliferacinis poveikis buvo didžiausias [32].



12 pav. Flavanono dariniai, pasižymintys priešvėžiniu aktyvumu

Kitos junginių serijos pagrindas buvo (2*S*)-5,7-dihidroksi-6-prenilflavanonas (13 pav. **a**), išskirtas iš *Eysenhardtia platycarpa* augalo lapų. Atlikus šio junginio esterifikacijos, metilinimo bei ciklizacijos reakcijas, gauti junginiai pasižymintys priešvėžiniu aktyvumu kasos ląstelių MiaPaCa-2 linijoje [6].

Kito tyrimo metu buvo bandoma atrasti pusiau sintetinius flavanono darinius, pasižyminčius antioksidacinėmis ir priešvėžinėmis savybėmis. Tam buvo panaudotos cinko katalizuojamos azidoalkino cikloprijungimo reakcijos ir gauti flavanono-hesperetino-fenil-1,2,3-triazolo dariniai (13 pav. **b**). Atlikus junginių biologinio aktyvumo tyrimus nustatyta, kad elektrondonorinių bei akceptorinių grupių prigimtis ir vieta turi didelę reikšmę aktyvumui: molekulės, turinčios elektrondonorinę grupę parodė gerą laisvųjų radikalų surišimo gebą bei slopino gimdos kaklelio vėžinių ląstelių CaSki liniją, tuo tarpu, elektronakceptorinės grupės turėjo labai gerus rezultatus slopinant kiaušidžių vėžio HeLa ląsteles [33].



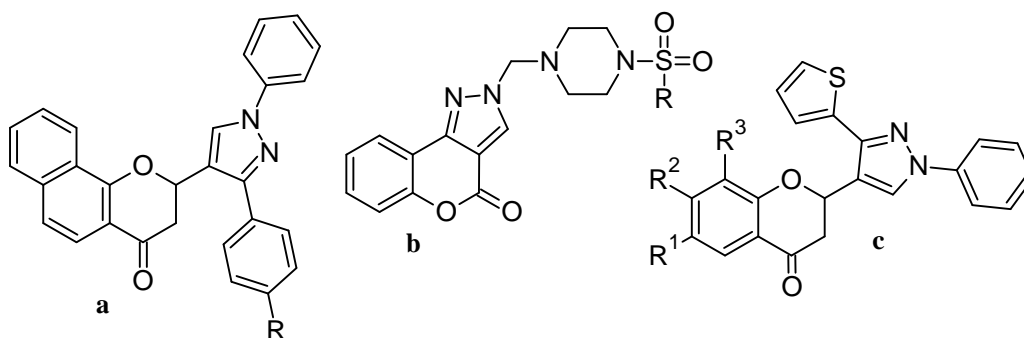
13 pav. Flavanono dariniai, pasižymintys priešvėžiniu aktyvumu

Be apoptozę skatinančių savybių, benzodihidropirano dariniai taip pat pasižymi fermentus slopinančiu poveikiu. Žinoma, kad kai kurie iš fermentų, pavyzdžiui, acetil-CoA karboksilazės, turi didelę įtaką vėžiniam procesui. Viena iš benzodihidropirano junginių (13 pav. c) serijų pasižymėjo antiproliferaciniu poveikiu keliuose vėžinių ląstelių linijose [34].

1.7. Pirazolo – flavanono darinių biologinis aktyvumas

Sujungus du biologiškai aktyvius fragmentus į vieną molekulę galima gauti dar geresnėmis savybėmis pasižyminčius junginius. Keli tyrimai parodė, kad junginiai su pirazolo bei benzodihidropirano fragmentais vienoje molekulėje gali turėti gerą biologinį poveikį. Pavyzdžiui, flavanono ir pirazolo darinių, susintetintų iš acetilnaftolių ir pirazol-4-karbaldehidų (14 pav. a), priešvėžinis aktyvumas įvertintas keliose vėžinių ląstelių linijose – žmogaus krūties, burnos, storosios žarnos ir plaučių. Visų junginių aktyvumas buvo ženklus palyginus su referencinės medžiagos adriamicino aktyvumu. Pažymėtina, kad junginių aktyvumas nepriklausė nuo elektroninės pakaitų prigimties [35].

Kitas svarbus vėžinio proceso veiksnys yra PI3K signalinis kelias. Keli nauji chromeno[4,3-c]pirazol-4(2*H*)-ono dariniai (14 pav. b) pasižymi ypatingai didele antiproliferacine geba keturiuose vėžinių ląstelių linijose: žmogaus plaučių alveolių epitelio A549, žmogaus hepatocitinėse karcinomos Huh7, žmogaus promielocitinės leukemijos HL60 ir žmogaus storosios žarnos HCT-116). Be to, vienas iš šių darinių, kaip ir prieš tai minėti pirazolai, ženkliai slopina Bcl-2 baltymą bei didina Bax baltymo kiekį ir kaspazės 3/9 skilimą taip sukeldamas navikinių ląstelių apoptozę [36].

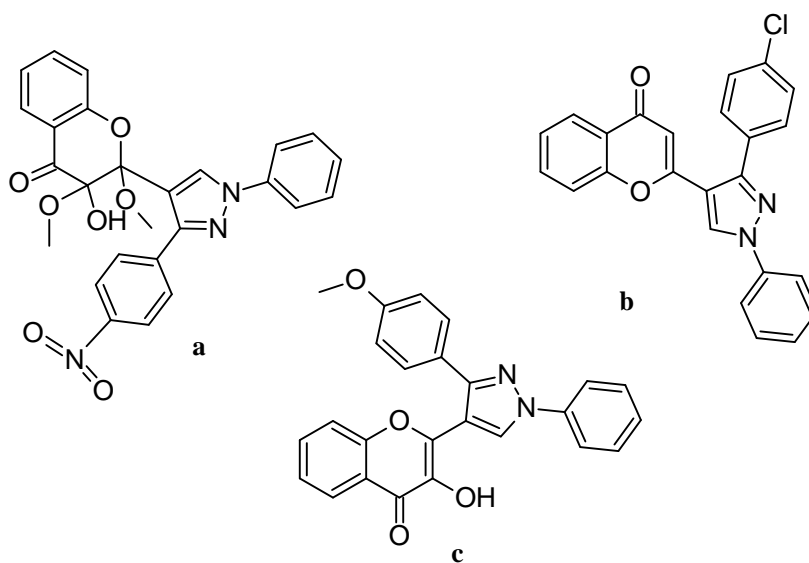


14 pav. Biologiniu aktyvumu pasižymintys pirazolo-flavanono dariniai

Kita tyrėjų grupė vertino pirazolo-flavanono darinių antimikrobinį aktyvumą. Nauji 2-(1-fenil-3-(2-tienil)-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-ono dariniai (14 pav. c) buvo gauti vienos stadijos reakcijos mikrobangoje pagalba. Antibakterinis aktyvumas buvo patikrintas *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* ir *E. coli* padermėse. Pagal gautus duomenis nustatyta, kad antibakterinis aktyvumas beveik nepriklausė nuo elektroninės junginio prigimties.

Priešgrybeliniai šių junginių tyrimai, priešingai nei antibakteriniai, parodė darinių aktyvumo priklausomybę nuo pakaitų. Brompakeistų junginių aktyvumas buvo ženkliai didesnis nei chlor- ir fluorpakeistų. [35]. Priešgrybeliniu aktyvumu pasižymi ir 3-hidroksi-2-(3-aril-1-fenil-4-pirazolil)chromonai. Jų aktyvumas *Helminthosporium*, *Fusarium oxysporum* bei *Alternaria alternata* rūšyse buvo didesnis nei rinkoje esančio fungicido cikloheksimido [7].

Kiti flavanono dariniai, turintys pirazolo fragmentą, taip pat rodo labai gerą antibakterinį aktyvumą, lyginant su kai kuriais rinkoje esančiais antibakteriniais vaistais. Susintetintų pirazolo-chromanono darinių aktyvumas ištirtas gramteigiamose bei gramneigiamose bakterijose. Keli junginiai parodė labai panašų antibakterinį aktyvumą į rinkoje esančius antimikrobinius vaistinius preparatus, o vienas jų – 2,3-dimetoksi-3-hidroksi-2-(1-fenil-3-(*p*-nitrofenil)-4-pirazolil)chromanono (15 pav. a) aktyvumas *S. aureus*, *S. typhi* bei *P. aeruginosa* padermėse buvo geresnis nei antibiotinių vaistų linezolido bei cefuroksimo [37].



15 pav. Biologiniu aktyvumu pasižymintys pirazolo-flavanono dariniai

Flavanono-pirazolo dariniai taip pat gali būti naudojami metalų aptikimui. Vienas iš tokių junginių, sudarančių stabilius ir spalvotus kompleksus su pereinamųjų metalų jonais, pritaikomas volframo likučių aptikimui, yra 3-hidroksi-2-[1-fenil-3-(*p*-chlorofenil)-4-pirazolil]-4-okso-4*H*-1-benzpiranas (15 pav. b). Toks metodas, priešingai nuo daugelio šiuo metu naudojamų metodų, pasižymi aukštu selektyvumu volframui, metodo aptikimo riba yra labai maža. Jo naudojimas spektrofotoskopinei analizei ženkliai pagerina metodo jautrumą, tokiu būdu, per kelias minutes gali būti nustatomi net labai maži metalų kiekiai [38].

Kitas flavanono ir pirazolo fragmentus turintis junginys, kuris gali būti sėkmingai pritaikomas molibdeno aptikimui, yra 3-hidroksi-2-[3-(4-metoksifenil)-1-fenil-4-pirazolil]-4-okso-4*H*-1-benzpiranas (15 pav. c). Šis darinis per kelias minutes sudaro stabilų spalvotą kompleksą su

molibdenu, metodas pasižymi jautrumu ir selektyvumu, tokiu būdu galima greitai aptikti molibdeno likučius skirtinguose pavyzdžiuose kaip plienas ar vanduo [39].

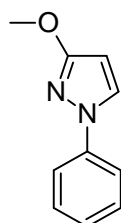
Iš aukščiau pateiktų duomenų galime teigti, kad chromanono ir pirazolo fragmentų derinimas vienoje molekulėje gali turėti kelis teigiamus aktyvumus:

- Priešvėžinį: tokios molekulės dalyvauja vėžinio proceso signaliniuose keliuose, pvz. PI3K, veikia Bcl-2 šeimos baltymus, didina pro-apoptotinio baltymo Bax kiekį bei kaspazių 3-9 kiekį.
- Antimikrobinį ir priešgrybelinį: kai kurie iš naujų pirazol-chromanono darinių pasižymėjo didesniu aktyvumu prieš tam tikrų bakterijų bei grybų rūšis nei rinkoje esantys vaistiniai preparatai.
- Pritaikymą metalų aptikimui: pirazol-chromanonų dariniai pasižymi aukštu jautrumu aptinkant metalų priemaišas, tuo pačiu jų naudojimas žymiai sutrumpina tokių procedūrų laiką.

2. Medžiagos ir tyrimų metodai

Kristalinių medžiagų lydymosi taškai buvo nustatyti su *BUCHI M-565* bei *BUCHI M-560* aparatais. IR spektrai užrašyti *Bruker Vertex 70 V* spektrometru esant 4 cm^{-1} rezoliucijai (absorbcijos bangų ilgis – nuo 3600 iki 400 cm^{-1}). Mėginiai presuoti ant deimantinio kristalo. BMR spektrai užrašyti *Bruker Avance III* spektrometru ($400\text{ MHz} - {}^1\text{H BMR}$, $101\text{ MHz} - {}^{13}\text{C BMR}$) $25\text{ }^\circ\text{C}$ temperatūroje. Cheminiai poslinkiai nustatyti standartu laikant CDCl_3 (${}^1\text{H BMR } \delta = 7,26$; ${}^{13}\text{C BMR } \delta = 77,0$). Reakcijos eiga buvo stebima plonasluoksnės chromatografijos būdu naudojant *Merck* firmos plokšteles padengtas silikageliu 60 F_{254} . Medžiagas gryninant greitosios chromatografijos būdu, sorbentu naudotas silikagelis 60 \AA Merck , 9385, 230–400. Masių spektrai gauti naudojant *Shimadzu LCMS 2020 SQ LC* masių spektrometrą (El, 70 eV). Mikrobangų reakcijos atliktos CEM Discover Synthesis Unit (CEM Corp., Matthews, NC) mikrobangų reaktoriuje. Reaktoriuje yra nuolat energiją tiekianti sistema, kuri suteikia $0\text{--}300\text{ W}$ galią. Visos naudotos cheminės medžiagos buvo gautos iš tiekėjų FluoroChem, Sigma-Aldrich, Eurochemicals, AlfaAesar, TCI Europe ir papildomai negrynintos. Tirpikliai chromatografiniam gryninimui buvo papildomai perdistiliuojami.

2.1. 1-fenil-3-metoksi-1H-pirazolas [40]



2a

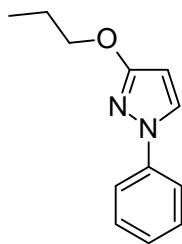
1-Fenil-1H-pirazol-3-olis ($1,6\text{ g}$, 10 mmol) argono atmosferoje, kambario temperatūroje ištirpinamas 5 ml DMF. Kolbą laikant ledo vonioje, į reakcijos mišinį porcijomis sudedama $0,4\text{ g}$ 60% NaH (10 mmol). Po 20 min. maišymo į reakcijos mišinį sulašinama $0,68\text{ ml}$ metilbromido (11 mmol). Reakcijos mišinys 30 min. maišomas $45\text{ }^\circ\text{C}$ temperatūroje.

Reakcijos mišinys praskiedžiamas 20 ml vandens, ekstrahuojamas etilacetatu ($4 \times 25\text{ ml}$). Organiniai sluoksniai apjungiami, plaunami NaCl sočiuoju tirpalu, džiovinami Na_2SO_4 , filtruojami, tirpiklis nugarinamas. Produktas valomas kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentas – etilacetatas ir heksanas (santykiu $1:10$).

Gauta balta kristalinė medžiaga, $R_f = 0,8$ (etilacetatas/ heksanas $1:2$), sutampa su laboratorijoje turimo junginio pavyzdžio R_f reikšme.

Išeiga: 909 mg (52%).

2.2. 1-fenil-3-propoksi-1*H*-pirazolas



2b

1-Fenil-1*H*-pirazol-3-olis (3,2 g, 20 mmol) argono atmosferoje, kambario temperatūroje ištirpinamas 6 ml DMF. Kolbą laikant ledo vonioje, į reakcijos mišinį porcijomis sudedama 0,8 g 60% NaH (20 mmol) ledo vonioje. Po 15 min. maišymo į reakcijos mišinį sulašinama 2,1 ml propiljodido (22 mmol). Reakcijos mišinys 50 min. maišomas 80 °C temperatūroje.

Reakcijos mišinys praskiedžiamas vandeniu, ekstrahuojamas etilacetatu (4 kartus po 25 ml). Organiniai sluoksniai apjungiami, plaunami NaCl sočiuoju tirpalu, džiovinami Na₂SO₄, filtruojami, tirpiklis nugarinamas. Produktas valomas kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentas – etilacetatas ir heksanas (santykiu 1:10).

Gauta gelsva skysta medžiaga.

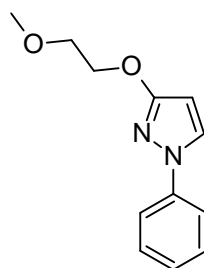
¹H BMR (400 MHz, CDCl₃), δ, m.d.: 1,06 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H, CH₃); 1,84 (m, 2H, CH₂); 4,21 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H, CH₂); 5,9 (s, 1H, CH); 7,17-7,21 (m, 1H, Ar); 7,38-7,42 (m, 2H, Ar); 7,60-7,62 (m, 2H, Ar); 7,94 (s, 1H, pyr-5-H).

¹³C BMR (101 MHz, CDCl₃), δ, m.d.: 10,59; 22,70; 70,89; 93,76; 117,90; 125,30; 127,63; 129,42; 140,32; 164,81.

IR (ν cm⁻¹): 934,88; 1048,92; 1176,56; 1365,99; 1463,76; 1600,52; 2964,91; 3048,22.

Išeiga: 2,57 g (64%).

2.3. 1-fenil-3-(2-metoksietoksi)-1*H*-pirazolas



2c

1-Fenil-1*H*-pirazol-3-olis (4 g, 25 mmol) argono atmosferoje, kambario temperatūroje ištirpinamas 10 ml DMF. Kolbą laikant ledo vonioje, į reakcijos mišinį porcijomis sudedama 0,6 g 60 % NaH (25 mmol). Po 15 min. maišymo į reakcijos mišinį sulašinama 2,6 ml (27,7 mmol) 1-bromo-2-metoksietano. 100 °C temperatūroje reakcija vykdoma 48 val.

Reakcijos mišinys praskiedžiamas vandeniu, ekstrahuojamas etilacetatu (4 kartus). Organiniai sluoksniai apjungiami, plaunami NaCl sočiuoju tirpalu, džiovinami Na₂SO₄, filtruojami, tirpiklis

nugarinamas. Produktas valomas kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentas – etilacetatas ir heksanas (santykiu 1:12).

Gauta gelsva skysta medžiaga.

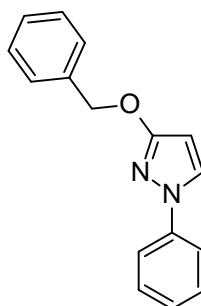
^1H BMR (400 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 3,45 (s, 3H, CH_3); 3,77 (t, 2H, CH_2); 4,44 (t, 2H, CH_2); 5,93(s, 1H, CH); 7,18-7,21 (m, 1H, Ar); 7,39-7,41 (m, 2H, Ar); 7,59-7,60 (m, 2H, Ar); 7,72 (s, 1H, pyr-5-H).

^{13}C BMR (101 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 10,59; 22,70; 70,89; 93,76; 117,90;125,30; 127,63; 129,42; 140,32; 164,81.

IR (ν cm^{-1}): 751,61; 1128,29; 1351,46; 1482,50; 2881,11; 1981,70; 3127,74.

Išeiga: 1,75 g (32%).

2.4. 3-(benziloksi)-1-fenil-1H-pirazolas [41]



2d

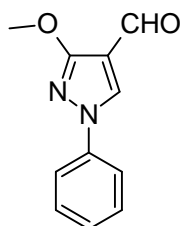
1-Fenil-1H-pirazol-3-olis (3,2 g, 20 mmol) argono atmosferoje, kambario temperatūroje ištirpinamas 5 ml DMF. Kolbą laikant ledo vonioje, į reakcijos mišinį porcijomis sudedama 0,8 g 60% NaH (20 mmol). Po 12 min. maišymo kolba išimama iš ledo vonios ir į reakcijos mišinį sulašinama 2,5 ml chlormetilbenzeno (22 mmol). Reakcijos mišinys 3 val. maišomas 80 °C temperatūroje.

Reakcijos mišinys praskiedžiamas vandeniu, ekstrahuojamas etilacetatu (4 kartus). Organiniai sluoksniai apjungiami, plaunami NaCl sočiuoju tirpalu, džiovinami Na_2SO_4 , filtruojami, tirpiklis nugarinamas. Produktas valomas kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentas – etilacetatas ir heksanas (santykiu 1:12).

Gauta balta kieta medžiaga, $t_{\text{lyd.}} = 70$ °C (literatūroje $t_{\text{lyd.}} = 71$ °C) [41]

Išeiga: 3,231 g (65 %).

2.5. 1-fenil-3-metoksi-1H-pirazol-4-karbaldehidas [42]



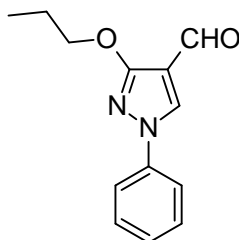
3a

Į 1,6 ml (20 mmol) DMF ledo vonioje lašinama 1,93 ml (20 mmol) POCl₃, maišoma 10 min. Į reakcijos mišinį supilamas junginys **2a** 0,9 g (5 mmol), ištirpintas 3 ml DMF. Reakcijos mišinys maišomas 50 min. 70°C temperatūroje. Mišinys atvėsinaamas ir neutralizuojamas 10% Na₂CO₃ tirpalu, neutralizacijos eigą stebint pH indikatoriumi. Po neutralizacijos reakcijos mišinys skiedžiamas distiliuotu vandeniu ir filtruojamas. Kristalai plaunami heksanu ir džiovinami.

Gauta balta kristalinė medžiaga. $t_{lyd.} = 128,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ (literatūroje $t_{lyd.} = 128-130\text{ }^{\circ}\text{C}$ [42])

Išeiga: 940 mg (89%).

2.6. 1-fenil-3-propoksi-1H-pirazol-4-karbaldehidus



3b

Į 3,8 ml (50 mmol) DMF ledo vonioje lašinamas 4,6 ml (50 mmol) POCl₃, maišoma 10 min. Į reakcijos mišinį supilamas junginys **2b** (2,5 g, 12,4 mmol), ištirpintas 6 ml DMF. Reakcijos mišinys maišomas 35 min., esant 75 °C temperatūrai. Mišinys atvėsinaamas ir neutralizuojamas 10% NaCO₃ tirpalu, neutralizacijos eigą stebint pH indikatoriumi. Po neutralizacijos reakcijos mišinys skiedžiamas distiliuotu vandeniu ir filtruojamas. Kristalai plaunami heksanu ir džiovinami.

Gauta balta kristalinė medžiaga, $t_{lyd.} = 90,6\text{ }^{\circ}\text{C}$.

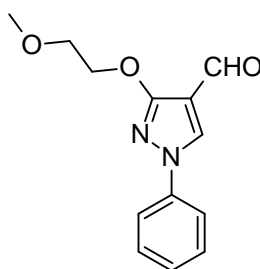
¹H BMR (400 MHz, CDCl₃), δ , m.d.: 1,06 (t, $J = 7,4\text{ Hz}$, 3H, CH₃); 1,89 (dd, $J = 7,1\text{ Hz}$; $J = 14,2\text{ Hz}$, 2H, CH₂); 4,36 (t, $J = 6,7\text{ Hz}$, 2H, CH₂); 7,30-7,34 (m, 1H, Ar); 7,44-7,48 (m, 2H, Ar); 7,63-7,65 (m, 2H, Ar); 8,25 (s, 1H, pyr-5-H); 9,87 (s, 1H, CHO).

¹³C BMR (101 MHz, CDCl₃), δ , m.d.: 10,55; 22,51; 71,25; 111,62; 118,99; 127,35; 129,34; 129,74; 139,24; 164,25; 183,64.

IR ($\nu\text{ cm}^{-1}$): 753,56; 867,38; 1006,76; 1206,26; 1370,34; 1558,78; 1668,51; 1734,76; 2959,70; 3103,02.

Išeiga: 2,39 g (84%).

2.7. 1-fenil-3-(2-metoksietoksi)-1H-pirazol-4-karbaldehidus



3c

Į 2,3 ml (30 mmol) DMF ledo vonioje lašinamas 2,7 ml (30 mmol) POCl₃, maišoma 10 min. Į reakcijos mišinį supilamas junginys **2c** (1,55 g, 7,11 mmol), ištirpintas 3 ml DMF. Reakcijos

mišinys maišomas 35 min., esant 65 °C temperatūrai. Mišinys atvėsinaamas ir neutralizuojamas 10% Na₂CO₃ tirpalu, neutralizacijos eigą stebint pH indikatoriumi. Po neutralizacijos reakcijos mišinys skiedžiamas distiliuotu vandeniu ir filtruojamas vakuumu. Kristalai plaunami heksanu ir džiovinami.

Gauta balta kristalinė medžiaga; t_{lyd} = 91,6 °C

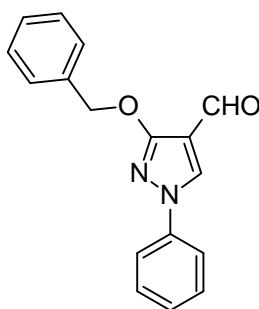
¹H BMR (400 MHz, CDCl₃), δ , m.d.: 3,47 (s, 3H, CH₃); 3,82 (t, 2H, CH₂); 4,57 (t, 2H, CH₂); 7,31-7,35 (m, 1H, Ar); 7,45-7,48 (m, 2H, Ar); 7,63-7,65 (m, 2H, Ar); 8,26 (s, 1H, pyr-5-H); 9,89 (s, 1H, CHO).

¹³C BMR (101 MHz, CDCl₃), δ , m.d.: 59,36; 68,86; 70,82; 111,55; 118,99; 127,42; 129,33; 129,75; 139,16; 163,92; 183,65.

IR (ν cm⁻¹): 760,67; 1224,64; 1752,39; 1499,79; 1668,68; 1752,39; 2811,72; 2974,54; 3099,46; 3121,43.

Išeiga: 1,572 g (90%).

2.8. 3-(benziloksi)-1-fenil-1H-pirazol-4-karbaldehidas [41]



3d

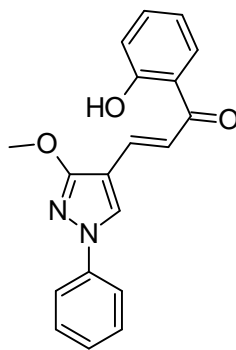
Į 3,95 ml (51 mmol) DMF ledo vonioje lašinamas 4,77 ml (51 mmol) POCl₃, maišoma 10 min. Į reakcijos mišinį supilamas junginys **2d** (3,2 g, 13 mmol), ištirpintas 4,5 ml DMF. Reakcijos mišinys maišomas 20 min., esant 70 °C temperatūrai. Mišinys atvėsinaamas ir neutralizuojamas 10% Na₂CO₃ tirpalu, neutralizacijos eigą stebint pH indikatoriumi. Po neutralizacijos reakcijos mišinys skiedžiamas distiliuotu vandeniu ir filtruojamas vakuumu. Kristalai plaunami heksanu ir džiovinami.

Gauta balta kristalinė medžiaga, t_{lyd} = 150 °C (literatūroje 151-154°C [41])

IR (ν cm⁻¹): 677,23; 734,90; 752,88; 1202,02; 1221,29; 1357,69; 1502,53; 1554,71; 1669,83; 2958,37; 3093,56.

Išeiga: 2,612 g (73%).

2.9. (2E)- 1-fenil-3-(1-fenil-3-metoksi-1H-pirazol-4-il)- prop-2-en-1-onas



4a'

Į 0,06 ml (0,49 mmol) 2-hidroksiacetofenono ir junginio **3a** (0,1 g, 0,49 mmol) mišinio įpilama 1 ml šarminio etanolio (pH 10). Reakcijos mišinys maišomas 2 val. 15 min. 79 °C temperatūroje mikrobangų reaktoriuje (180 W) Reakcijai pasibaigus, mišinys atvėsinamas iki kambario temperatūros ir skiedžiamas vandeniu, filtruojamas. Produktas valomas kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentas – etilacetatas ir heksanas (santykiu 1:20→1:8).

Gauta geltonos spalvos kristalinė medžiaga; $t_{lyd} = 130-131\text{ }^{\circ}\text{C}$;

^1H BMR (400 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 4, 13 (s, 3H, CH_3); 6,89-6,93 (m, 1H, Ar); 6,97-6,99 (1H, Ar); 7,22-7,26 (m, 1H, Ar); 7,40-7,44 (m, 3H, Ar); 7,60-7,69 (m, 3H, Ar); 7,79-7,82 (m, 1H, Ar); 1,87-7,89 (m, 1H, Ar); 7,94 (s, 1H, pyr-5-H); 13,04 (s, 1H, Ar).

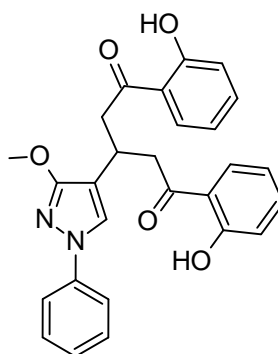
^{13}C BMR (101 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 56,83; 107,15; 118,28; 118,58; 118,63; 118,82; 120,29; 126,50; 129,43; 129,67; 129,81; 134,59; 136,08; 139,43; 163,56; 163,68; 194,12.

IR ($\nu\text{ cm}^{-1}$): 642,40; 747,43; 1012,13; 1159,30; 1203,01; 1564,57; 1638,39; 2940,71; 3147,93.

Išeiga: 196 mg (40%).

MS m/z (%): 320 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 100).

2.10. 1,5-bis(2-hidroksifenil)-3-(3-metoksi-1-fenil-1H-pirazol-4-il)pentan-1,5-dionas



4a''

2-hidroksiacetofenono (0,06 ml, 0,49 mmol), junginio **3a** (0,1 g, 0,49 mmol) bei pirolidino (0,04 ml, 0,49 mmol) mišinys etanolyje (1 ml) maišomas 1 val. 80°C temperatūroje mikrobangų reaktoriuje (180W).

Reakcijai pasibaigus, mišinys praskiedžiamas vandeniu, ekstrahuojamas etilacetatu (4 kartus). Organiniai sluoksniai apjungiami, džiovinami Na₂SO₄, filtruojami, tirpiklis nugarinamas. Produktas valomas kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentas – etilacetatas ir heksanas (santykiu 1:8).

Gauta gelsva kieta kristalinė medžiaga.

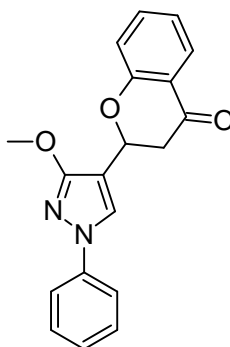
¹H BMR (400 MHz, CDCl₃), δ, m.d.: 3,47 (d, 4H, CH₂); 3,99 (s, 3H, CH₃); 4,04 (t, *J*=6,9 Hz, 1H, CH); 6,91 (t, *J*=7,6 Hz, 1H, CH); 6,97 (d, *J*=8,4 Hz, 1H, CH); 7,14-7,18 (m, 1H, Ar); 7,36-7,39 (m, 2H, Ar); 7,45-7,49 (m, 2H, Ar); 7,52-7,54 (m, 2H, Ar); 7,65 (s, 1H, pyr-5-H); 7,86 (m, 2H, Ar); 12,24 (s, 2H, Ar).

¹³C BMR (101 MHz, CDCl₃), δ, m.d.: 26,77; 42,63; 56,31; 109,50; 117,68; 118,69; 119,13; 119,64; 125,18; 126,46; 129,43; 130,16; 136,62; 140,14; 162,36; 162,66; 205,05.

MS *m/z* (%): 442 ([M + H]⁺, 100).

Išėiga: 73 mg (33%).

2.11. 2-(1-fenil-3-metoksi-1*H*-pirazol-4-il)-2,3-dihidro-4*H*-1-benzpiran-4-onas



4a

Metodas A.

Junginio **3a** (100 mg, 0,49 mmol) anilino (0,067 ml, 0,735 mmol), 2-hidroksiacetofenono (0,07 ml, 0,588 mmol) ir CaCl₂ (0,1 g, 0,98 mmol) mišinys etanolyje (1 ml) virinamas 12 val.

Reakcijai pasibaigus, mišinys praskiedžiamas vandeniu, ekstrahuojamas etilacetatu (4 kartus). Organiniai sluoksniai apjungiami, džiovinami Na₂SO₄, filtruojami, tirpiklis nugarinamas. Produktas valomas kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentas – etilacetatas ir heksanas (santykiu 1:8).

Išėiga: 70 mg (45%).

Metodas B.

Junginio **3a** (100 mg, 0,49 mmol), anilino (0,067 ml, 0,735 mmol), 2-hidroksiacetofenono (0,07 ml, 0,588 mmol) ir I₂ (0,04 g, 0,147 mmol) mišinys metanolyje (1 ml) kaitinamas 45 °C temperatūroje 4 val.

Reakcijai pasibaigus, mišinys praskiedžiamas vandeniniu sočiuoju natrio tiosulfato tirpalu, ekstrahuojamas etilacetatu (4 kartus). Organiniai sluoksniai apjungiami, džiovinami Na₂SO₄,

filtruojami, tirpiklis nugarinamas. Medžiaga perkristalizuojama iš etanolio. Išskirtę kristalai filtruojami, plaunami šaltu etanoliumi.

Išeiga: 106 mg (68%).

Gauta gelsva kristalinė medžiaga; $t_{lyd} = 168-170^{\circ}\text{C}$.

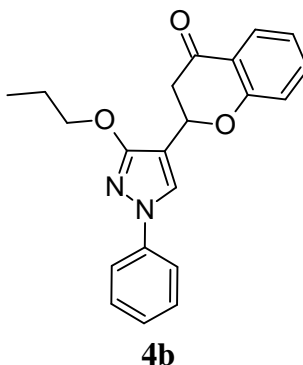
^1H BMR (400 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 2,98 (dd, $J = 3,2$ Hz, $J = 17,0$ Hz, 1H, H_a); 3,25 (dd, $J = 16,9$ Hz, $J = 12,3$ Hz, 1H, H_b); 4,04 (s, 3H, CH_3); 5,52 (dd, $J = 12,3$ Hz, $J = 3,1$ Hz, 1H, H_x); 7,03-7,06 (m, 2H, Ar); 7,21-7,25 (m, 1H, Ar); 7,40-7,44 (m, 2H, Ar); 7,48-7,52 (m, 1H, Ar) 7,59-7,61 (m, 2H, Ar); 7,84 (s, 1H, pyr-5-H); 7,91-7,94 (m, 1H, Ar).

^{13}C BMR (101 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 42,85; 56,49; 71,37; 106,80; 118,12; 118,33; 121,13; 121,69; 125,85; 126,79; 127,17; 129,55; 136,24; 140,00; 161,54; 162,13, 192,39.

IR (ν cm^{-1}): 684,04; 743,88; 1211,14; 1521,59; 1677,21; 2920,16; 3125,37.

MS m/z (%): 320 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 100).

2.12. 2-(1-fenil-3-propoksi-1H-pirazol-4-il)-2,3-dihidro-4H-1-benzpiran-4-onas



Sintezė atliekama pagal junginio **4a** gavimo reakciją (metodas B) iš karbaldehido **3b** ir 2-hidroxiacetofenono, esant 40°C temperatūrai, 24 val. Reakcijai pasibaigus, mišinys praskiedžiamas vandeniniu sočiuoju natrio tiosulfato tirpalu, ekstrahuojamas etilacetatu (4 kartus). Organiniai sluoksniai apjungiami, džiovinami Na_2SO_4 , filtruojami, tirpiklis nugarinamas. Produktas valomas kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentas – etilacetatas ir heksanas (santykiu 1:20). Produktas papildomai perkristalizuojamas iš etanolio, kristalai filtruojami vakuumu.

Gauta balta kristalinė medžiaga; $t_{lyd} = 123-125^{\circ}\text{C}$

^1H BMR (400 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 1,03 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H, CH_3); 1,83 (dd, $J = 14,1$ Hz, $J = 7,1$ Hz, 2H, CH_2); 2,99 (dd, $J = 2,8$ Hz, $J = 17,0$ Hz, 1H, H_a); 3,26 (dd, $J = 16,9$ Hz, $J = 12,5$ Hz, 1H, H_b); 4,3 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H, CH_2); 5,54 (dd, $J = 12,4$ Hz, $J = 2,7$ Hz, 1H, H_x); 7,03-7,06 (m, 2H, Ar); 7,20-7,24 (m, 1H, Ar); 7,39-7,43 (m, 2H, Ar); 7,48-7,52 (m, 1H, Ar); 7,58-7,60 (m, 2H, Ar); 7,85 (s, 1H, pyr-5-H); 7,95-7,95 (m, 1H, Ar).

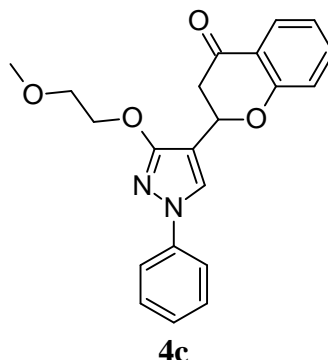
^{13}C BMR (101 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 10,66; 22,60; 42,92; 70,87; 71,50; 107,00; 118,09; 118,30; 121,15; 121,65; 125,74; 126,58; 127,18; 129,52; 136,22; 140,04; 161,62; 161,73; 192,48.

IR (ν cm^{-1}): 690,17; 756,09; 907,74; 1203,50; 1465,58; 1677,08; 2963,97; 3122,08.

MS m/z (%): 348 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 100).

Išeiga: 155 mg (45%).

2.13. 2-[3-(2-metoksietoksi)-1-fenil-1H-pirazol-4-il]-2,3-dihidro-4H-1-benzpiran-4-onas



Sintezė atliekama pagal junginio **4a** gavimo reakciją (metodas B) iš karbaldehido **3c** ir 2-hidroksiacetofenono, esant 40 °C temperatūrai, 24 val. Reakcijai pasibaigus, mišinys praskiedžiamas sočiuoju natrio tiosulfato tirpalu, ekstrahuojamas etilacetatu (3 kartus). Organiniai sluoksniai apjungiami, plaunami sočiuoju NaCl tirpalu, džiovinami Na₂SO₄, filtruojami, tirpiklis nugarinamas. Produktas valomas kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentas – etilacetatas ir heksanas (santykiu 1:20).

Gauta bespalvė kristalinė medžiaga; $t_{\text{lyd}} = 110-112^{\circ}\text{C}$.

¹H BMR (400 MHz, CDCl₃), δ, m.d.: 3,00 (dd, $J = 3,1$ Hz, $J = 17,0$ Hz, 1H, H_a); 3,22 (dd, $J = 16,9$ Hz, $J = 12,4$ Hz, 1H, H_b); 3,43 (s, 3H, CH₃); 3,77 (m, 2H, CH₂); 4,5 (m, 2H, CH₂); 5,56 (dd, $J = 12,4$, 3,0 Hz, 1H, H_x); 7,02-7,06 (m, 2H, Ar); 7,21 (m, 1H, Ar); 7,39-7,43 (m, 2H, Ar); 7,48-7,51 (m, 1H, Ar); 7,58-7,60 (d, 2H, Ar); 7,85 (s, 1H, pyr-5-H); 7,92-7,94 (d, 1H, Ar).

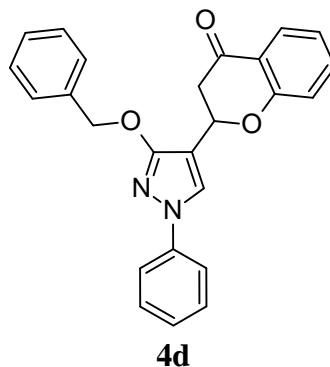
¹³C BMR (101 MHz, CDCl₃), δ, m.d.: 43,03; 59,23; 68,56; 71,01; 71,30; 107,17; 118,11; 118,30; 121,16; 121,67; 125,87; 126,65; 127,19; 129,53; 136,23; 139,97; 161,34; 161,58; 192,39.

IR (ν cm⁻¹): 685,80; 748,92; 1205,27; 1509,51; 1674,33; 2883,87; 3117,43.

MS m/z (%): 364 ([M + H]⁺, 100).

Išeiga: 157 mg (44%).

2.14. 2-[3-(benziloksi)-1-fenil-1H-pirazol-4-il]-2,3-dihidro-4H-1-benzpiran-4-onas



Sintezė atliekama pagal junginio **4a** gavimo reakciją (metodas B) iš karbaldehido **3d** ir 2-hidroksiacetofenono, esant 45 °C temperatūrai, 24 val. Reakcijai pasibaigus, susidarę kristalai

filtruojami, plaunami metanoliu ir perkristalizuojami iš etanolio. Produktas papildomai valomas kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentas – etilacetatas ir heksanas (santykiu 1:8).

Gauta bespalvė kieta medžiaga; $t_{lyd} = 162-164^{\circ}\text{C}$.

^1H BMR (400 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 1,59 (s, 1H, CH); 2,99 (dd, $J=16,9$ Hz, $J=3,1$ Hz, 1H, CH, H_a); 3,25 (dd, $J=16,9$ Hz, $J=12,4$ Hz, 1H, CH, H_b); 5,56 (dd, $J=12,4$ Hz, $J=3,0$ Hz, 1H, H_x); 7,02-7,06 (m, 2H, Ar); 7,33-7,34 (m, 1H, Ar); 7,37-7,41 (m, 3H, Ar); 7,43-7,45 (m, 2H, Ar); 7,47-7,51 (m, 3H, Ar); 7,6-7,62 (m, 2H, Ar); 7,87 (s, 1H, pyr-5-H); 7,92-7,94 (m, 1H, Ar).

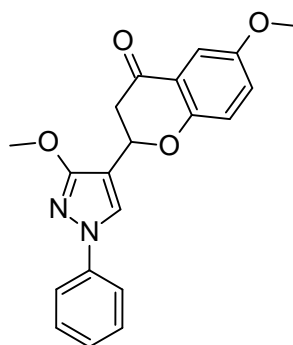
^{13}C BMR (101 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 42,97; 70,97; 71,37; 107,14; 118,13; 118,30; 121,14; 121,69; 125,89; 126,77; 127,19; 128,18; 128,20; 128,61; 129,57; 136,25; 136,95; 139,99; 161,36; 161,57; 192,37.

MS m/z (%): 396 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 100).

IR ($\nu \text{ cm}^{-1}$): 691,93; 746,90; 1201,93; 1353,46; 1506,53; 1676,62; 2942,90; 3122,83.

Išeiga: 161 mg (40%).

2.15. 2-(1-fenil-3-metoksi-1H-pirazol-4-il)-6-metoksi-2,3-dihidro-4H-1-benzpiran-4-onas



4e

Sintezė atliekama pagal junginio **4a** gavimo reakciją (metodas B) iš karbaldehido **3a** ir 2-hidroksi-5-metoksiacetofenono, esant 45°C temperatūrai, 20 val. Reakcijai pasibaigus, mišinys skiedžiamas sočiuoju natrio tiosulfato tirpalu, ekstrahuojamas etilacetatu. Organiniai sluoksniai apjungiami, džiovinami Na_2SO_4 , filtruojami, tirpiklis nugarinamas. Produktas perkristalizuojamas iš metanolio, kristalai filtruojami.

Gauta bespalvė kristalinė medžiaga; $t_{lyd} = 154-156^{\circ}\text{C}$.

^1H BMR (400 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 2,96 (dd, $J = 17,0$ Hz, $J = 3,1$ Hz, 1H, H_a); 3,23 (dd, $J = 17,0$ Hz, $J = 12,5$ Hz, 1H, H_b); 3,81 (s, 3H, CH_3); 4,03 (s, 3H, CH_3); 5,47 (dd, $J = 12,5$ Hz, $J = 3,0$ Hz, 1H, H_x); 6,96-6,98 (d, 1H, Ar); 7,09-7,12 (m, 1H, Ar), 7,21-7,26 (m, 1H, Ar); 7,35-7,36 (m, 1H, Ar); 7,4-7,44 (m, 2H, Ar); 7,59-7,61 (d, 2H, Ar); 7,83 (s, 1H, pyr-5-H).

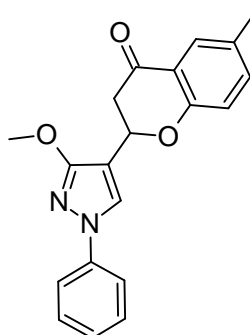
^{13}C BMR (101 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 42,79; 55,94; 56,48; 71,46; 106,9; 107,48; 118,1; 119,64; 120,96; 125,42; 125,82; 126,78; 129,55; 140,01; 154,32; 156,26; 162,11; 192,47.

IR ($\nu \text{ cm}^{-1}$): 683,12; 745,59; 1202,06; 1484,42; 1673,53; 2937,92; 3125,78.

MS m/z (%): 350 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 100).

Išeiga: 144 mg (41%).

2.16. 6-metil-2-(3-metoksi-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-2,3-dihidro-4H-1-benzpiran-4-onas



4f

Sintezė atliekama pagal junginio **4a** gavimo reakciją (metodas B) iš karbaldehido **3a** ir 2-hidroks-5-metoksiacetofenono, esant 45 °C temperatūrai, 15 val. Reakcijai pasibaigus, mišinys praskiedžiamas vandeniniu sočiuoju natrio tiosulfato tirpalu, ekstrahuojamas etilacetatu. Organiniai sluoksniai apjungiami, džiovinami Na₂SO₄, filtruojami, tirpiklis nugarinamas. Susidarę kristalai perkristalizuojami iš etanolio.

Gauta bespalvė kieta medžiaga; $t_{lyd} = 154-156$ °C.

¹H BMR (400 MHz, CDCl₃), δ , m.d.: 2,96 (dd, $J = 17,0$ Hz, $J = 3,1$ Hz, 1H, H_a); 3,23 (dd, $J = 17,0$ Hz, $J = 12,5$ Hz, 1H, H_b); 3,81 (s, 3H, CH₃); 5,4 (s, 2H, CH₃); 5,50 (dd, $J = 12,1$ Hz, $J = 3,1$ Hz, 1H, H_x); 6,92-6,95 (d, 1H, Ar); 7,22-7,25 (m, 1H, Ar); 7,40-7,44 (m, 2H, Ar); 7,55-7,58 (d, 2H, Ar); 7,86 (s, 1H, pyr-5-H).

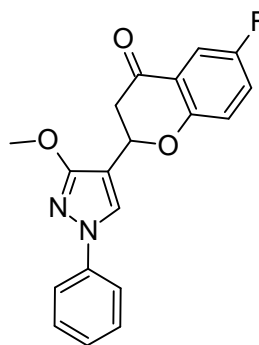
¹³C BMR (101 MHz, CDCl₃), δ , m.d.: 42,40; 56,53; 71,60; 106,30; 114,38; 118,15; 120,45; 122,37; 125,96; 126,83; 129,58; 129,62; 138,83; 139,92; 160,38; 162,10; 191, 11.

IR (ν cm⁻¹): 682,64; 745,82; 823,12; 1213,79; 1487,38; 1678,11; 2921,44; 3123,69.

MS m/z (%): 334 ([M + H]⁺, 100).

Išeiga: 142 mg (43%).

2.17. 2-(1-fenil-3-metoksi-1H-pirazol-4-il)-6-fluor-2,3-dihidro-4H-1-benzpiran-4-onas



4g

Sintezė atliekama pagal junginio **4a** gavimo reakciją (metodas B) iš karbaldehido **3a** ir 5-fluor-2-hidroksiacetofenono, esant 45 °C temperatūrai, 15 val. Reakcijai pasibaigus, susidarę kristalai

filtruojami, plaunami metanoliu, džiovinami ir perkristalizuojami iš etanolio. Produktas papildomai valomas kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentas – dichlormetanas.

Gauta gelsva kieta medžiaga; $t_{lyd} = 159-161\text{ }^{\circ}\text{C}$.

^1H BMR (400 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 2,97 (dd, $J = 17,1\text{ Hz}$, $J = 3,1\text{ Hz}$, 1H, H_a); 3,24 (dd, $J = 17,1\text{ Hz}$, $J = 12,4\text{ Hz}$, 1H, H_b); 4,03 (s, 3H, CH_3); 5,49 (dd, $J = 12,4\text{ Hz}$, $J = 3,0\text{ Hz}$, 1H, H_x); 7,00-7,03 (dd, 1H, Ar); 7,19-7,25 (m, 2H, Ar), 7,40-7,44 (t, 2H, Ar); 7,56-7,61 (dd, 3H, Ar); 7,83 (s, 1H, pyr-5-H).

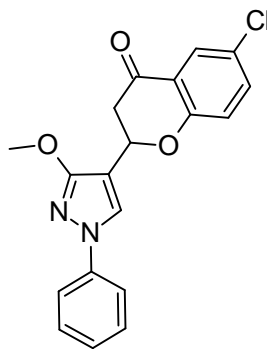
^{13}C BMR (101 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 42,79; 55,94; 56,48; 71,46; 106,9; 107,48; 118,1; 119,64; 120,96; 125,42; 125,82; 126,78; 129,55; 140,01; 154,32; 156,26; 162,11; 192,47.

IR ($\nu\text{ cm}^{-1}$): 684,66; 748,17; 1253,09; 1278,83; 1484,85; 1680,70; 2962,15; 3126,05.

MS m/z (%): 338 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 100).

Išeiga: 117 mg (35%).

2.18. 6-chlor-2(3-metoksi-1fenil-1H-pirazol-4-il)-2,3-dihidro-4H-1-benzpiran-4-onas



4h

Sintezė atliekama pagal junginio **4a** gavimo reakciją (metodas B) iš karbaldehido **3a** ir 5-chlor-2-hidroksiacetofenono, esant $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūrai, 19 val. Reakcijai pasibaigus, mišinys praskiedžiamas vandeniniu sočiuoju natrio tiosulfato tirpalu, ekstrahuojamas etilacetatu (4 kartus). Organiniai sluoksniai apjungiami, džiovinami Na_2SO_4 , filtruojami, tirpiklis nugarinamas. Produktas perkristalinamas iš etanolio. Gautas produktas papildomai valomas kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentas – etilacetatas:heksanas (santykiu 1:15).

Gauta bespalvė kieta medžiaga; $t_{lyd} = 169-171\text{ }^{\circ}\text{C}$

^1H BMR (400 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 2,98 (dd, $J = 17,1\text{ Hz}$, $J = 3,2\text{ Hz}$, 1H, H_a); 3,25 (dd, $J = 17,0\text{ Hz}$, $J = 12,2\text{ Hz}$, 1H, H_b); 4,03 (s, 3H, CH_3); 5,51 (dd, $J = 12,2\text{ Hz}$, $J = 3,1\text{ Hz}$, 1H, H_x); 6,98-7,00 (d, 1H, Ar); 7,21-7,25 (m, 1H, Ar); 7,40-7,44 (m, 3H, Ar); 7,58-7,60 (m, 2H, Ar); 7,82 (s, 1H, pyr-5-H), 7,88 (s, 1H, Ar).

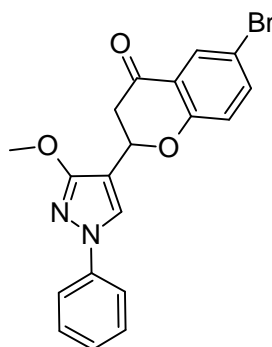
^{13}C BMR (101 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 42,44; 56,52; 71,61; 106,32; 118,13; 120,09; 121,88; 125,95; 126,50; 126,82; 127,22; 129,57; 136,04; 139,92; 159,93; 162,10; 191,23.

IR ($\nu\text{ cm}^{-1}$): 659,23; 746,23; 1204,04; 1275,40; 1516,86; 1682,22; 2949,52; 3126,33.

MS m/z (%): 354 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 100).

Išeiga: 117 mg (33%).

2.19. 6-brom-2-(3-metoksi-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-2,3-dihidro-4H-1-benzpiran-4-onas



4i

Sintezė atliekama pagal junginio **4a** gavimo reakciją (metodas B) iš karbaldehido **3b** ir 5-brom-2-hidroksiacetofenono, esant 45 °C temperatūrai, 15 val. Reakcijai pasibaigus, susidarę kristalai filtruojami, plaunami metanoliu, džiovinami ir perkristalizuojami iš etanolio. Produktas papildomai valomas kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentas – dichlormetanas.

Gauta bespalvė kieta medžiaga; $t_{lyd} = 181-183$ °C.

^1H BMR (400 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 2,98 (dd, $J = 17,0$ Hz, $J = 3,2$ Hz, 1H, H_a); 3,25 (dd, $J = 17,0$ Hz, $J = 12,2$ Hz, 1H, H_b); 4,03 (s, 3H, CH_3); 5,51 (dd, $J = 12,1$ Hz, $J = 3,1$ Hz, 1H, H_x); 6,92-6,95 (d, 1H, Ar); 7,22-7,25 (m, 1H, Ar); 7,40-7,44 (m, 2H, Ar); 7,55-7,58 (d, 2H, Ar); 7,83 (s, 1H, pyr-5-H), 8,03 (d, 1H, Ar).

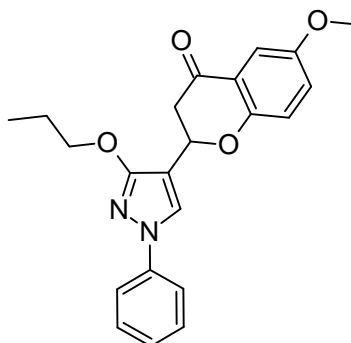
^{13}C BMR (101 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 42,40; 56,53; 71,60; 106,30; 114,38; 118,15; 120,45; 122,37; 125,96; 126,83; 129,58; 129,62; 138,83; 139,92; 160,38; 162,10; 191, 11.

IR ($\nu \text{ cm}^{-1}$): 683,38; 749,26; 1203,50; 1273,53; 1518,17; 1681,52; 2949,37; 3124,51.

MS m/z (%): 399 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 100).

Išeiga: 144 mg (36%).

2.20. 2-(1-fenil-3-propoksi-1H-pirazol-4-il)-6-metoksi-2,3-dihidro-4H-1-benzpiran-4-onas



4j

Sintezė atliekama pagal junginio **4a** gavimo reakciją (metodas B) iš karbaldehido **3a** ir 2-hidroksi-5-metoksiacetofenono, esant 45 °C temperatūrai, 24 val. Reakcijai pasibaigus, mišinys praskiedžiamas vandeniniu sočiuoju natrio tiosulfato tirpalu, ekstrahuojamas etilacetatu (4 kartus).

Organiniai sluoksniai apjungiami, džiovinami Na₂SO₄, filtruojami, tirpiklis nugarinamas. Produktas valomas kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentas – etilacetatas ir heksanas (santykiu 1:20).

Gauta gelsva kieta medžiaga; $t_{lyd} = 114-116\text{ }^{\circ}\text{C}$.

¹H BMR (400 MHz, CDCl₃), δ , m.d.: 2,97 (dd, $J = 17,0\text{ Hz}$; $J = 2,9\text{ Hz}$, 1H, H_a); 3,23 (dd, $J = 17,0\text{ Hz}$; $J = 12,6\text{ Hz}$, 1H, H_b); 3,82 (s, 3H, CH₃); 4,29 (t, $J = 6,6\text{ Hz}$, 2H, CH₂); 5,48 (dd, $J = 12,5\text{ Hz}$; $J = 2,8\text{ Hz}$, 1H, H_x); 6,96-6,98 (d, 2H, Ar); 7,1-7,13 (dd, 1H, Ar); 7,20-7,23 (m, 1H, Ar); 7,36 (d, 1H, Ar); 7,39-7,43 (m, 2H, Ar); 7,58-7,60 (d, 2 H, Ar); 7,83 (s, 1H, pyr-5-H).

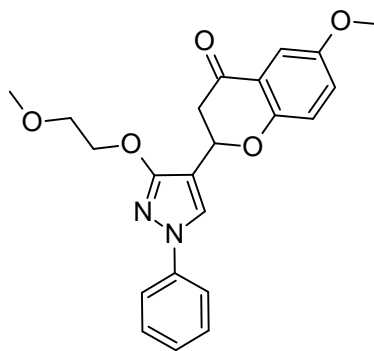
¹³C BMR (101 MHz, CDCl₃), δ , m.d.: 10,67; 22,61; 42,86; 55,94; 70,85; 71,59; 107,11; 107,49; 118,08; 119,61; 120,97; 125,41; 125,72; 126,56; 129,52; 140,05; 154,30; 156,34; 161,71; 192,55.

IR ($\nu\text{ cm}^{-1}$): 689,18; 747,91; 1197,38; 1336,26; 1484,67; 1509,40; 1678,25; 2942,87; 3117,05.

MS m/z (%): 378 ([M + H]⁺, 100).

Išeiga: 164 mg (43%).

2.21. 2-(1-fenil-3-etoksimetoksi-1H-pirazol-4-il)-6-metoksi-2,3-dihidro-4H-1-benzpiran-4-onas



4k

Sintezė atliekama pagal junginio **4a** gavimo reakciją (metodas B) iš karbaldehido **3c** ir 2-hidroksi-5-metoksiacetofenono, esant 45 °C temperatūrai, 24 val. Reakcijai pasibaigus, mišinys praskiedžiamas vandeniniu sočiuoju natrio tiosulfato tirpalu, ekstrahuojamas etilacetatu (4 kartus). Organiniai sluoksniai apjungiami, džiovinami Na₂SO₄, filtruojami, tirpiklis nugarinamas. Produktas valomas kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentas – dichlormetanas. Gautas produktas papildomai valomas kolonėlinės chromatografijos pagalba, eliuentas – etilacetatas ir heksanas (santykiu 1:6).

Gauta bespalvė kieta medžiaga; $t_{lyd} = 116-118\text{ }^{\circ}\text{C}$.

¹H BMR (400 MHz, CDCl₃), δ , m.d.: 2,97 (dd, $J = 17,0\text{ Hz}$; $J = 3,1\text{ Hz}$, 1H, H_a); 3,19 (dd, $J = 17,0\text{ Hz}$; $J = 12,5\text{ Hz}$, 1H, H_b); 3,43 (s, 3H, CH₃); 3,77 (t, 2H, CH₂); 3,81 (s, 3H, CH₃); 4,5 (t, 2H, CH₂); 5,51 (dd, $J = 12,5\text{ Hz}$; $J = 3\text{ Hz}$, 1H, H_x); 6,95-6,97 (d, 1H, Ar); 7,09-7,12 (dd, 1H, Ar); 7,20-7,24 (m, 1H, Ar); 7,35-7,36 (d, 1H, Ar); 7,39-7,43 (m, 2H, Ar); 7,57-7,59 (d, 2 H, Ar); 7,84 (s, 1H, pyr-5-H).

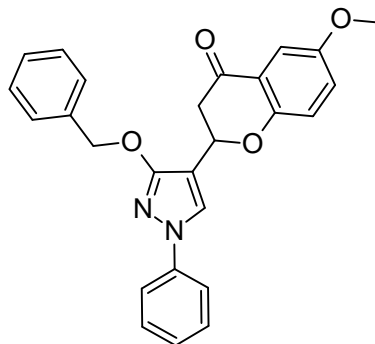
¹³C BMR (101 MHz, CDCl₃), δ , m.d.: 42,52; 56,50; 71,60; 105,49; 112,00; 112,23; 118,12, 120, 00; 121, 54; 123,61; 123,85; 123,61; 123,85; 125,91; 126,81; 129,56; 139,94; 156,24, 157,75, 158,64; 162,10; 191,60.

IR (ν cm^{-1}): 685,01; 746,74; 1196,94; 1484,00; 1671,11; 2919,05; 3122,65.

MS m/z (%): 394 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 100).

Išeiga: 182 mg (46%)

2.22. 2-(3-benziloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)-6-metoksi-2,3-dihidro-4*H*-1-benzpiran-4-onas



41

Sintezė atliekama pagal junginio **4a** gavimo reakciją (metodas B) iš karbaldehido **3d** ir 2-hidroksi-5-metoksiacetofenono, esant 45 °C temperatūrai, 19 val. Reakcijai pasibaigus, mišinys praskiedžiamas vandeniniu sočiuoju natrio tiosulfato tirpalu, ekstrahuojamas dichlormetanu (4 kartus). Organiniai sluoksniai apjungiami, džiovinami Na_2SO_4 , filtruojami, tirpiklis nugarinamas. Produktas valomas kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentas – etilacetatas ir heksanas (santykiu 1:8).

Gauta gelsva kieta medžiaga; $t_{\text{lyd}} = 138\text{-}139$ °C.

^1H BMR (400 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 2,95 (dd, $J = 17,0$ Hz, $J = 3,2$ Hz, 1H, H_a); 3,22 (dd, $J = 17,0$ Hz, $J = 12,3$ Hz, 1H, H_b); 4,03 (s, 3H, CH_3); 5,49 (dd, $J = 12,3$ Hz, $J = 3,0$ Hz, 1H, H_x); 6,92-6,95 (d, 1H, Ar); 7,20-7,24 (m, 1H, Ar), 7,29-7,43 (dd, 1H, Ar); 7,39-7,43 (t, 2H, Ar); 7,58-7,6 (d, 2H, Ar); 7,72 (s, 1H, Ar); 7,83 (s, 1H, pyr-5-H).

^{13}C BMR (101 MHz, CDCl_3), δ , m.d.: 20,56; 42,90; 56,47; 71,31; 106,93; 118,09; 120,72; 125,80; 126,72; 126,76; 129,53; 131,13; 137,31; 140,01; 159,59; 162,11; 192,553.

IR (ν cm^{-1}): 678,77; 749,67; 1033,98; 1197,58; 1483,09; 1674,52; 2931,56; 3120,61.

MS m/z (%): 426 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 100).

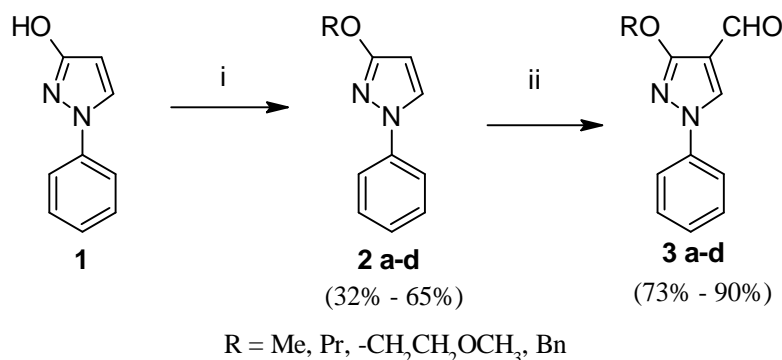
Išeiga: 202 mg (47%).

3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

3.1. 3-Alkoksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-karbaldehidų sintezė

Šio darbo tikslas - naujų pirazolo-flavanono fragmentus turinčių junginių sintezė. Remiantis literatūros šaltiniais flavanono dariniai gali būti gaunami keliais būdais: pakeistų 2-hidroksichalkonų izomerizacija (tokia reakcija gali būti vykdoma naudojant rūgštinę katalizę, bazes, temperatūrinės, fotocheminės reakcijas); flavan-4-olio oksidacija; vidumolekulinė aktyvuotų α,β -nesočiųjų ketonų Michaelio reakcija; Manicho reakcija su benzaldehidais, aminorais ir hidroksiacetofenonais, aldehydų ir 1,3-dionų reakcija bazinėje aplinkoje, fenilalkenilarileterio transformacija su $\text{Hg}(\text{OCOCF}_3)$ bei kt. [37]. Dažniausias literatūroje aprašomas flavanono struktūros gavimo būdas yra chalkono ciklizacijos reakcija su 2-hidroksiacetofenonu bazinėje arba rūgštinėje aplinkoje. Taip pat yra duomenų apie tokio tipo flavanono darinių sintezę, atliktą superkritiniame vandenyje, kuris gali būti tinkamas junginių sintezei nenaudojant baziųjų arba rūgštinių katalizatorių. [43]

Atlikus literatūros analizę buvo pastebėta, kad flavanono darinių vienos stadijos sintezei gali būti sėkmingai naudojami benzaldehidai [42, 27, 28, 43], tad flavanono dariniams iš pradinės medžiagos 1-fenil-1*H*-pirazol-3-olio gauti buvo susintetinta serija pirazolkarbaldehidų **3a-d**. Šių junginių sintezė vykdyta pagal jau aprašytą procedūrą [46] per dvi stadijas: alkilavimo (1 schema, i) ir formilavimo (1 schema, ii).



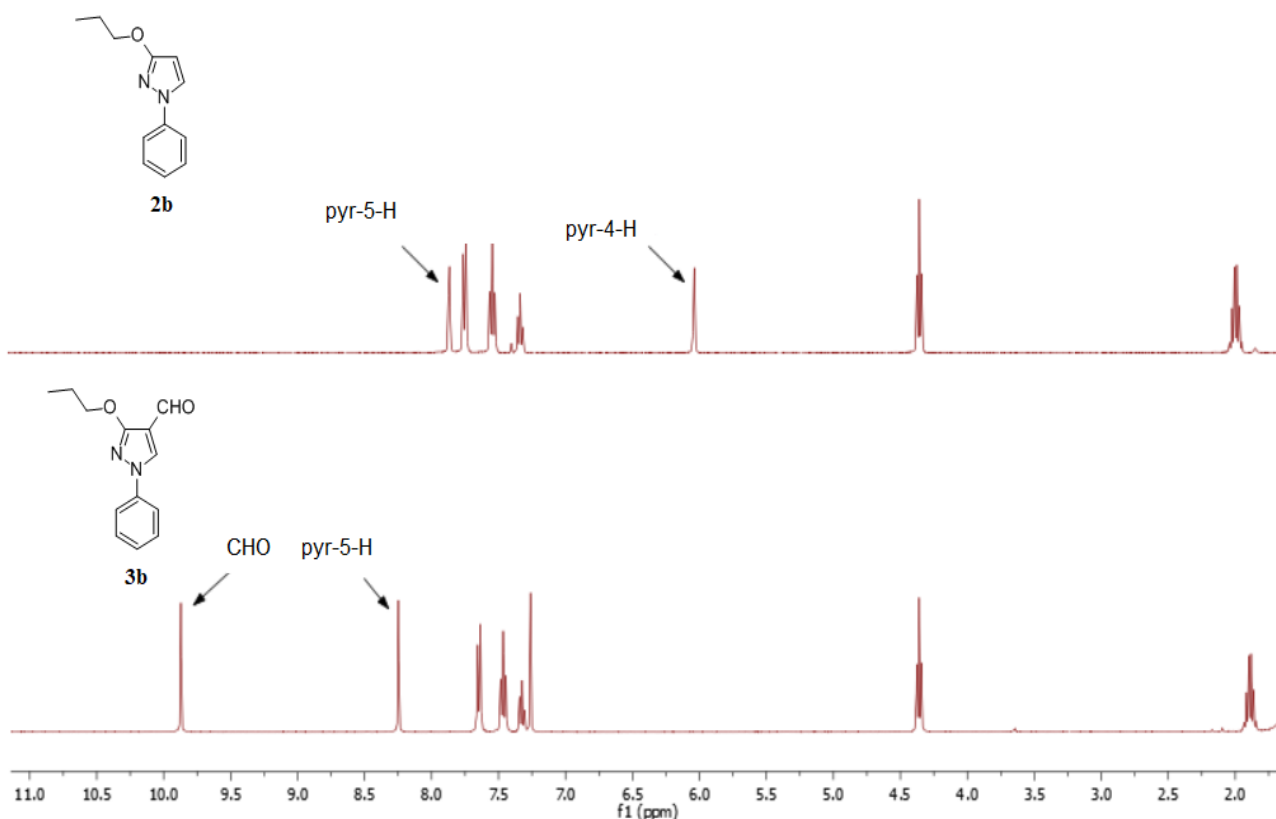
1 schema. Reakcijų sąlygos: (i) NaH 60 %, MeI/ PrI/ 2-brometilmetileris/ BnCl, 45-100 °C, 30-120 min.
(ii) POCl_3 , DMF, 65-75 °C, 35-90 min.

Pirma stadija – alkilavimo reakcija su natrio hidridu bei alkilavimo agentu. Šios reakcijos metu gaunami *O*-pirazolai. Natrio hidridas naudojamas alkoholiams, fenoliams, amidams, ketonams ir kitoms funkcinėms grupėms deprotonuoti. Reakcija vykdoma poliniuose aprotiniuose tirpikliuose. Pradinis junginys **1** kaitinamas su natrio hidridu bei atitinkamu alkilavimo agentu. Reakcija vykdoma dimetilformamide (1 schema, i). Gauti atitinkami *O*-pirazolo junginiai **2a-d**.

Antros sintezės stadijos tikslas – karbaldehidų gavimas. Gauti *O*-pirazolai **2a-d** dalyvauja formilavimo reakcijoje taikant Vilsmeier-Haack metodą. Reakcijos vykdymui naudojami elektrofiliniai chlorometileno iminio tarpiniai produktai. Pastarieji susidaro reaguojant dialkilformamidams ir rūgštiniam chloridams. Šis karbaldehidų sintezės metodas yra plačiai taikomas heterociklų formilavimo reakcijose [47]. Reakcijos metu formilavimo agentas susidaro *in situ* iš DMF ir fosforo oksichlorido, po to seka elektrofilinė aromatinė pakeitimo reakcija, kurios

metu susidaro iminio druska. Pastaroji yra hidrolizuojama susidarant karbaldehidui [48]. Kaitinant tarpinius *O*-pirazolus **2a-d** *N,N*-dimetilformamide su fosforo oksichloridu, susidarę α -chloraminai hidrolizuojami natrio karbonato tirpalu. Tokiu būdu į *O*-pirazolo 4-tą poziciją įvedama formilgrupė (1 schema, ii).

Taip yra gauti atitinkami *O*-pirazolo karbaldehidai **3a-d**. Gauto **3b** junginių ^1H BMR spektre nėra pirazolo 4-H signalo, bet stebimas CHO grupės signalas – singletas ties 9,87 ppm (16 pav.)



16 pav. Junginių **2b** ir **3b** ^1H BMR spektrų fragmentai

Susintetinti pirazolo karbaldehidai **3a-d** toliau naudojami kaip pradiniai junginiai pirazolo-flavanono darinių sintezės tyrime.

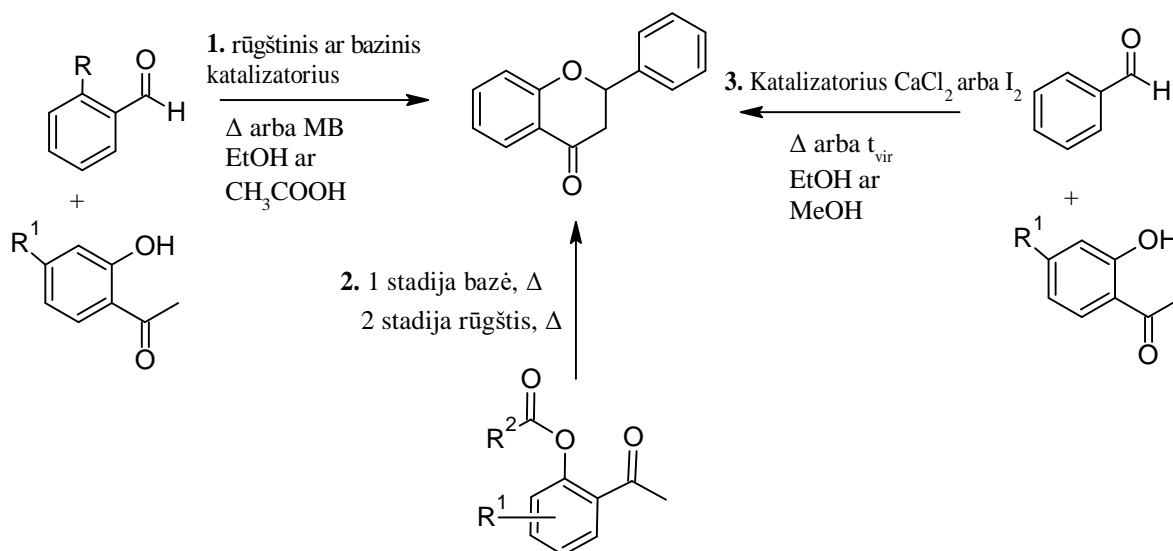
3.2. (3-Alkiloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-onų sintezės sąlygų parinkimas ir optimizavimas

Pagal literatūroje aprašytas reakcijas flavanono darinių sintezei iš benzaldehydų gali būti naudojamos kelių rūšių reakcijos (16 pav.):

- Dviejų stadijų reakcija, susidedanti iš Klaiseno – Šmito kondensacijos reakcijos ir Michaelio prijungimo reakcijos. Kondensacijos metu, dalyvaujant bazei susidaro 2-hidroksichalkonas. Antru etapu vykdoma 2-hidroksichalkono ciklizacijos reakcija [7, 43, 49]. Tokio tipo reakcijas tai pat galima vykdyti per vieną stadiją neišskiriant tarpinių junginių (17 pav. **1**). Vieni autoriai atliko flavanono darinių sintezę šiuo metodu iš 2-hidroksiacetofenonų ir benzaldehydų be rūgšties arba bazės. Reakcija buvo atlikta per vieną

stadiją naudojant superkritinį vandenį, kuris pasirodo esąs tinkamas tirpiklis flavanono struktūros junginių gavimui [43].

- b) Bakerio – Venkataramano O-C acilperkėlimo reakcijos. Šios reakcijos metu 2-hidroksiacetofenonai yra verčiami benzoilesteriais, kurie bazinėje aplinkoje persigrupuoja į difenilpropan-1,3-dionus. Pastarieji rūgštinėje aplinkoje ciklizuojasi į hidroksiflavanonus (17 pav. 2) [50].
- c) Manicho S_N2 reakcija iš benzaldehydų, kurios metu benzaldehydo karbonylgrupė yra protonizuojama ir gali būti atakuojama enolinės 2-hidroksiacetofenono formos. Susidaręs tarpinis junginis dalyvauja S_N2 cikloprijungimo reakcijoje (17 pav. 3) [51].



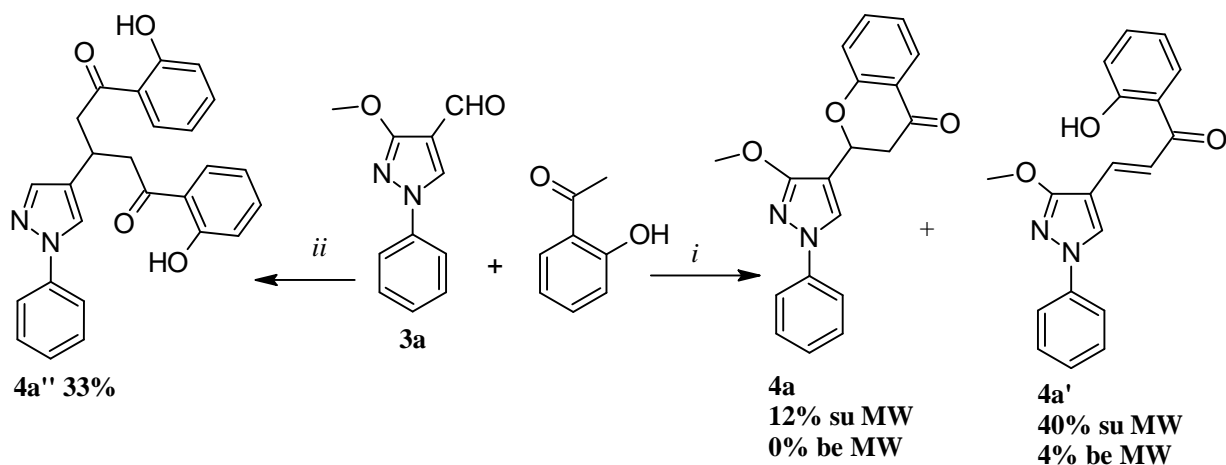
17 pav. Flavanono žiedo formavimo metodai

Iš aukščiau pateiktų metodų buvo nuspręsta tikslinių flavanono produktų gavimui iš pirazol-4-karbaldehydų **3a-d** pasirinkti vienos stadijos reakcijas.

3.2.1. Klaiseno – Šmito kondensacijos ir Michaelio prijungimo reakcijos taikymas tikslinių junginių gavimui

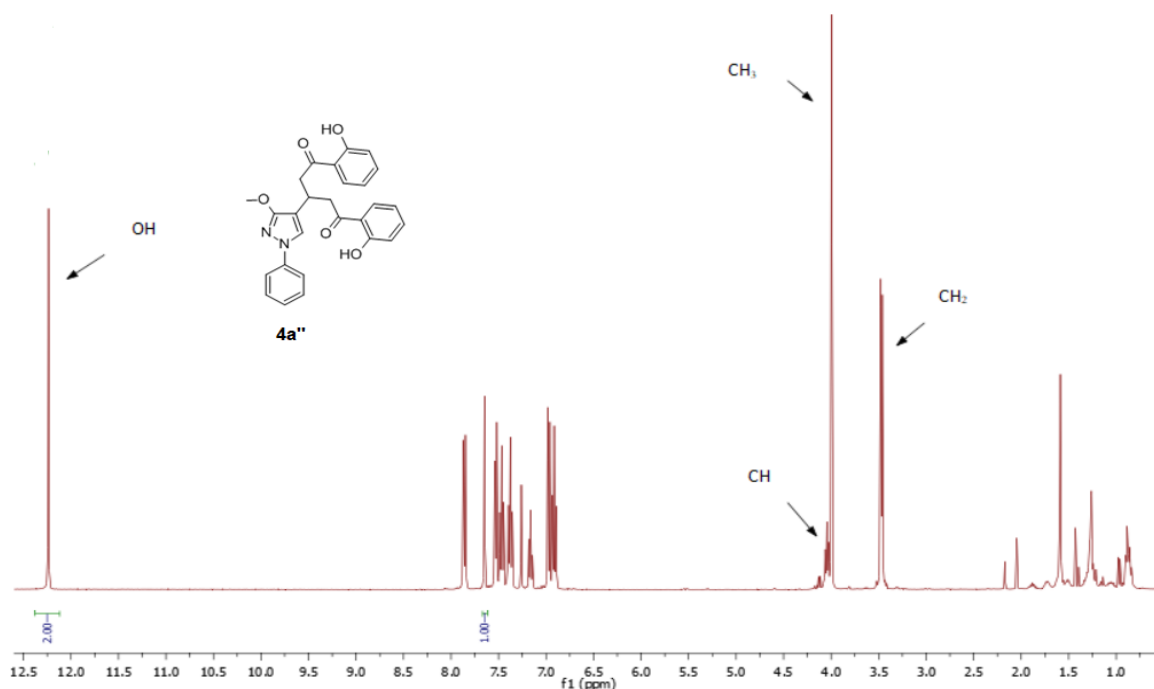
Keli autoriai sėkmingai atliko flavanono gavimo reakciją per vieną stadiją be tarpinių produktų išskyrimo [48, 51, 52]. Reakcija vykdoma su pakeistais 2-hidroksiacetofenonais bei karbaldehydais, į kurių mišinį etanolyje yra pridamos natrio hidroksido granulės terpės pH 10 reikšmei pasiekti. Šio metodo privalumas – vienos stadijos trumpa reakcija. Straipsnio autoriai Dongamanti et al. nurodė, kad tokiomis sąlygomis iš 2-hidroksiacetofenono ir 1-fenil-3-(2-tienil)-1H-pirazol-4-karbaldehydo buvo gautas flavanonas 2-(1-fenil-3(2-tienil)-1H-pirazol-4-il)chroman-4-onas gera išeiga. Tie patys autoriai kito tyrimo metu iš 1-(1-hidroksinaftalen-2-il)etanono ir pirazol-4-karbaldehydo gavo chromen-4-onus. Autoriai teigia, kad reakcijos išeigos padidėjo, o laikas sumažėjo reakcijai naudojant mikrobangų iniciaciją [33, 51].

Pritaikius šias reakcijos sąlygas šio darbo tikslinių junginių gavimui karbaldehydo **3a** bei 2-hidroksiacetofenono mišinys buvo veikiamas natrio šarmu etanolyje mikrobangų aplinkoje (2 schema, i). Sintezės metu gautas produktas, kurį išskyrus ir atlikus BMR spektroskopinę analizę nustatyta, kad susidarė ne vienas produktas, bet jų mišinys – chalkonas 4a' bei flavanonas 4a, kurių išeigos, atitinkamai, 40% ir 12%. Reakciją atlikus analogiškais sąlygomis įprastai kaitinant, gautas tik 4a' chalkonas su 4% išeiga, likusi pradinės medžiagos dalis nesureagavo.



2 schema. Reakcijų sąlygos: (i) NaOH, EtOH, pH 10, 79 °C 180 W, 2 val. 15 min. arba kaitinant įprastai 4 val. (ii) pirolidinas, EtOH, 80 °C, 180 W 60 min.

Toliau vykdant reakcijos sąlygų optimizavimą buvo bandoma keisti naudojamą bazę. Literatūroje pateikto vieno tyrimo metu nustatyta, kad flavanono dariniai iš benzaldehidų ir 2-hidroxiacetofenono gali būti gaunami naudojant organines bazines. Pavyzdžiui, chromano žiedo formavimui vienos stadijos reakcijai buvo sėkmingai naudojamas pirolidinas [32, 33]. Tačiau pritaikius šias sąlygas ir reakciją vykdant su pirolidinu kaitinant pirazolkarbaldehido **3a** bei 2-hidroxiacetofenono mišinį 1 val. etanolyje (2 schema, *ii*) tikslinis produktas nesudarė. Susiformavo **4a''** junginys su 33% išeiga. Pirmiausiai buvo atlikta LCMS spektrometrijos analizė. Iš jos duomenų nustatyta, kad tikslinis junginys nesudarė, kadangi darinio molekulinė masė MS m/z (%): 442 ($[M + H]^+$, 100) neatitinka **4a** junginio molekulinės masės. Siekiant nustatyti susidariusio junginio struktūrą, atlikta spektroskopinė analizė, kuri parodė, kad susidaręs **4a''** junginys nėra ciklinis. Alifatinėje ^1H BMR spektro dalyje neatsispindi flavanonams būdingos ABX sistemos signalų, be to, ^1H BMR spektre aukštesnių laukų pusėje matomas 2-jų OH grupių protonų signalas – singletas 12,25 ppm (18 pav.).



18 pav. Junginio **4a''** ^1H BMR spektro fragmentas

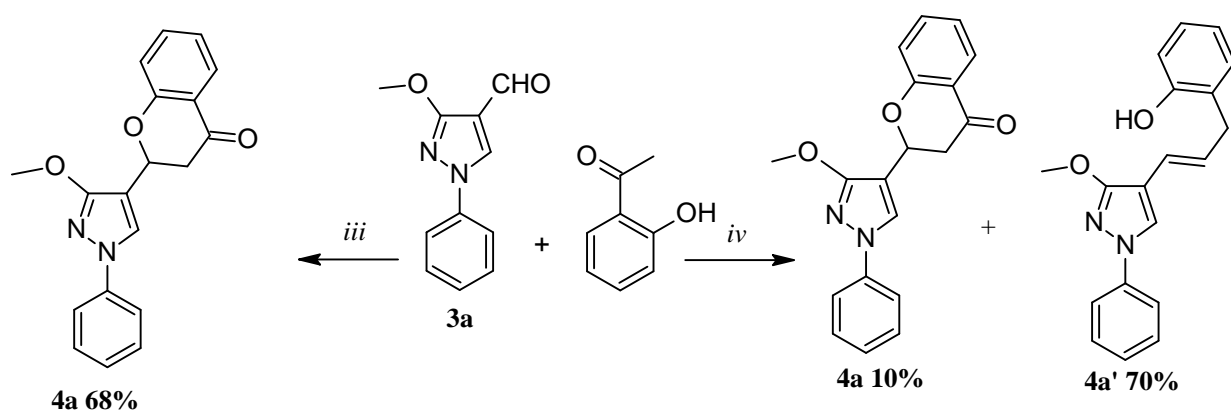
Pagal gautus rezultatus nustatyta, kad nei su organine, nei su neorganine baze iš pradinio *O*-pirazolkarbaldehido **3a** tikslinis junginys nesusidaro, t.y., *ii* metodo atveju ciklinis flavanono darinys nesusidaro visai, o *i* metodo atveju gaunamas neciklinis chalkonas, tuo tarpu tikslinis darinys susidaro kaip pašalinis produktas labai maža išeiga. Pažymėtina, kad pirolidinas gali būti sėkmingai taikomas tarpinių chalkonų ciklizacijos reakcijoms, tokiu būdu, panaudojus kitas pradines medžiagas galima formuoti flavanono žiedą per kelių stadijų reakcijas [53].

3.2.2. Manicho SN2 reakcijos taikymas tikslinių junginių gavimui

Tikslinių junginių gavimas Klaiseno-Šmito kondensacijos bei Michaelio reakcijos su pradinio *O*-pirazolkarbaldehido **3a** neatsikartojo, o kitas galimas būdas – Bakerio – Venkataramano persitvarkymo reakcija – susideda iš dviejų sintezės stadijų. Todėl buvo nuspręsta išbandyti kitą flavanono struktūros formavimui tinkamą reakcijos mechanizmą.

Kaip minėta, keli autoriai aprašė sėkmingą Manicho reakcijos taikymą flavanono darinių sintezei. Šiai reakcijai vykti būtini trys komponentai – aminas, enolizuojamas ketonas bei aldehidas. Manicho reakcija yra viena iš efektyviausių organinės sintezės reakcijų formuojant anglies-anglies ryšius. Taikant Manicho reakcijos metodą flavanono darinių gavimui, enolizuojamu ketonu gali būti pasirenkamas 2-hidroksiacetofenonas, tuo tarpu aminai atlieka nukleofilo vaidmenį. Atlikus pirminių aminų tinkamumo tokio pobūdžio reakcijoms tyrimus, buvo pastebėta, kad alifatiniai aminai yra mažiau efektyvūs flavanono darinių gavimo reakcijose [45]. Remiantis šio tyrimo duomenimis geriausiu reaktiškumu flavanono darinių sintezėje pasižymėjo anilinas, jo naudojimas ženkliai sutrumpino reakcijos laiką bei pagerino išeigą. Tinkamas nukleofilinis agentas vienos stadijos C-C ryšio, tarp jų ir flavanono ciklo, formavimo reakcijose yra labai svarbus.

Kitas reakcijos eigą ir išeigas įtakojantis veiksnys yra katalizatorius. Flavanono sistemos sintezei kaip katalizatoriai gali būti naudojami metalo kompleksai, kalcio chloridas arba jodas [44, 53, 54]. Kalcio chloridas ir jodas buvo išbandyti ir tikslinių junginių sintezei.



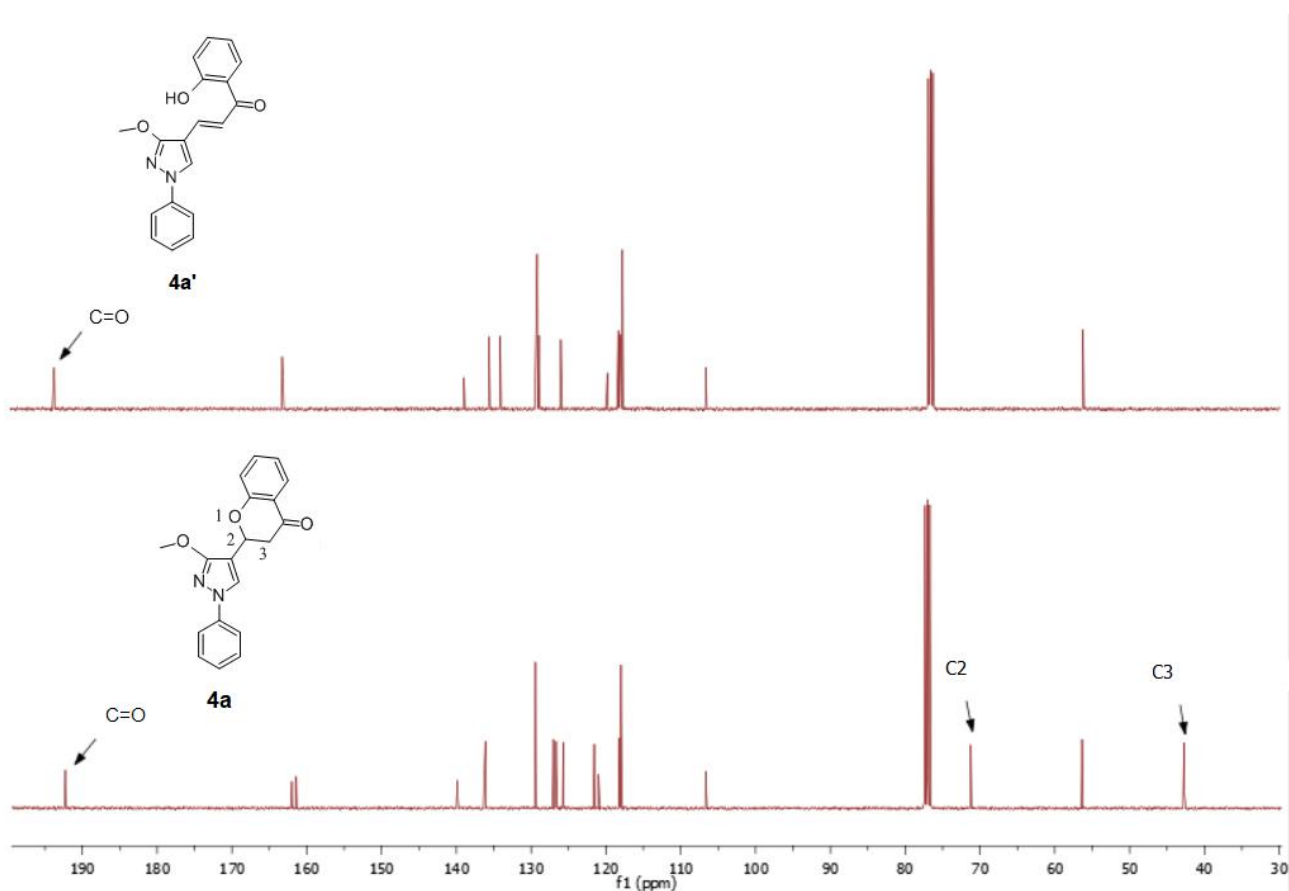
3 schema. Reakcijų sąlygos: (iii) anilinas, I₂, MeOH, 45 °C, 4 val. (iv) anilinas, CaCl₂, EtOH, v.t., 12 val.

Pritaikius reakcijos sąlygas pagal Kavala et al. [45] pasiūlytą schemą, 1-fenil-3-metoksi-1*H*-pirazol-4-karbaldehido **3a** bei 2-hidroksiacetofenonu mišinys su jodu ir anilinu buvo įprastai kaitinamas metanolyje (3 schema, *iii*), susidarė vienas tikslinis ciklinis produktas **4a** su 68% išeiga.

Pakartojus reakciją su kitu katalizatoriumi – kalcio chloridu (3 schema, *iv*) 1-fenil-3-metoksi-1*H*-pirazol-4-karbaldehido **3a** bei 2-hidroksiacetofenono mišinys buvo kaitinamas virimo temperatūroje

etanolyje 12 val. Iš gautų rezultatų nustatyta, kad be tikslinio ciklinio junginio **4a** taip pat susiformavo chalkonas **4a'**, kurių išeigos atitinkamai 10% ir 70%.

Pažymėtina, kad nors **4a** ir **4a'** junginių molekulinės masės yra vienodos, skiriasi junginių išėjimo iš kolonėlės laikas. Taip pat LC/MS duomenimis junginius **4a** ir **4a'** galima atskirti pagal skirtingus išėjimo laikus, t.y., ciklinio produkto **4a** išėjimo laikas yra 7,20 min, tuo tarpu neciklinio produkto išėjimo laikas – 7,28 min. Be to, pagal *iii* reakcijos sąlygas susintetinto junginio **4a** flavanono žiedo struktūra yra aiškiai matoma BMR spektruose. Lyginant ciklinio produkto **4a** ^{13}C BMR spektrą su chalkono **4a'** ^{13}C BMR spektru pastarajame matome C-3 bei C-2 signalus ties 42,8 ppm bei 71,4 ppm, atitinkamai (19 pav.). Šie rezultatai sutampa su kitų autorių atliktų tyrimų metu gautų flavanono žiedo ^{13}C BMR spektrų rezultatais [33, 52]

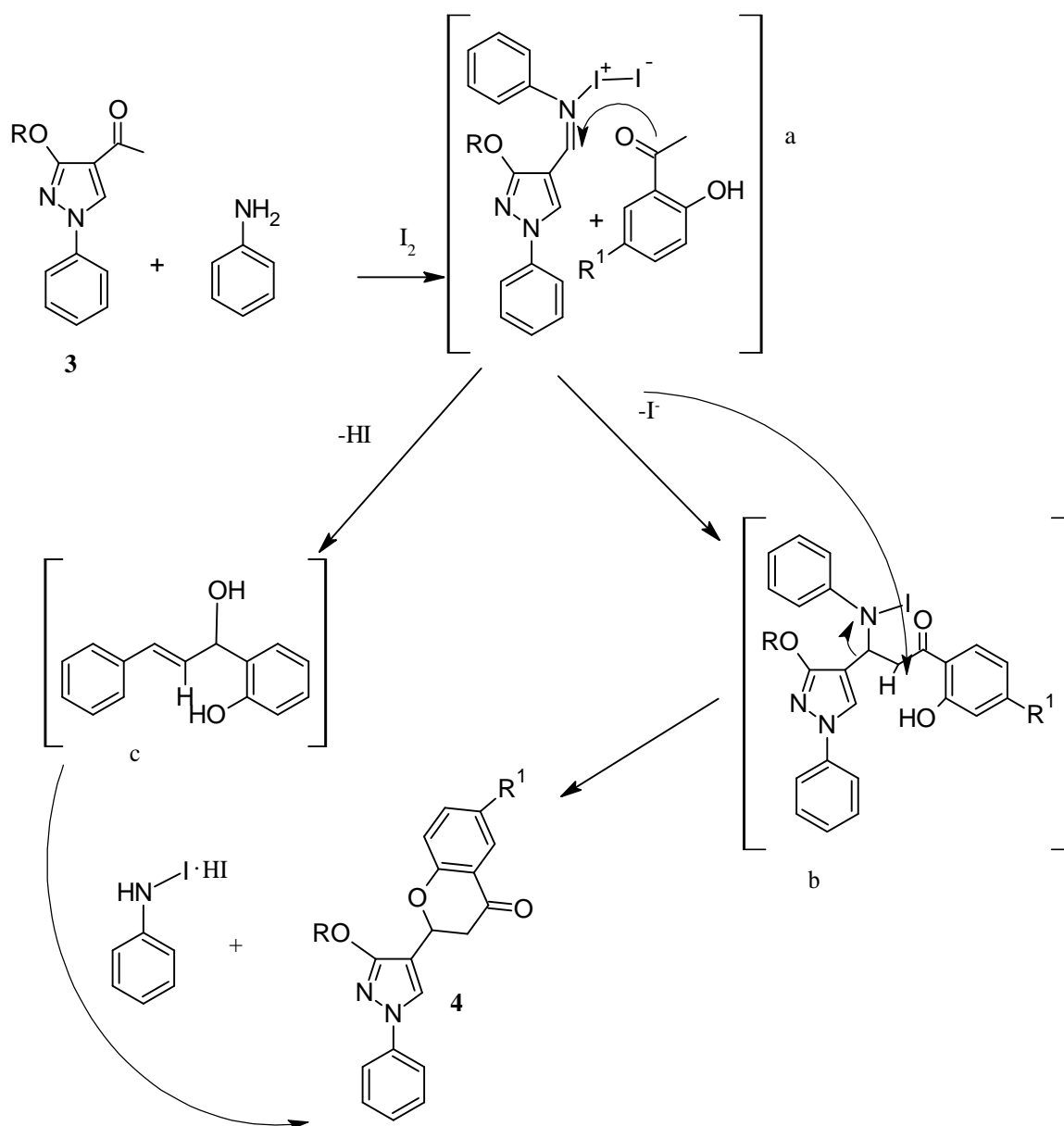


19 pav. Junginių **4a** ir **4a'** ^{13}C BMR spektrų fragmentų palyginimas

Atsižvelgiant į tai, kad reakciją su kalcio chloridu būtina vykdyti virimo temperatūroje, taip pat susidaro du produktai, kurių gryninimas gali būti apsunkintas, tolimesnei pirazolo-flavanono darinių sintezei pasirinktos *iii* (3 schema) reakcijos sąlygas.

Pagal literatūroje aprašytus tokio tipo sintezės numanomus reakcijos mechanizmus galima teigti [45], kad svarbiausias veiksnys flavanono žiedo formavimui tokiose reakcijose yra tarpinio imino susidarymas bei amino eliminacija. Vienu autorių pasiūlytu mechanizmu galima paaiškinti ir šio darbo tikslių junginių susidarymo mechanizmą (20 pav.). Pirmame žingsnyje susiformavęs iminas reaguoja su aukštą poliarizuotumą įgyjančiu jodu (20 pav. a), tada enolinė 2-hidroxiacetofenono forma prisijungia nukleofilinį imino anglies atomą (20 pav. b). Iš šio tarpinio darinio vykstant $\text{S}_{\text{N}}2$

reakcijai gali iš karto susidaryti flavanono žiedas arba atskylant HI ciklinis junginys susidaro iš tarpinio chalkono (20 pav. c).



20 pav. Numanomas tiksliųjų junginių susidarymo mechanizmas [45]

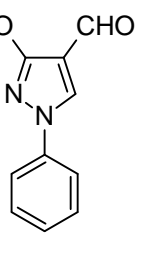
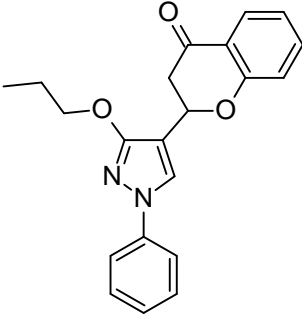
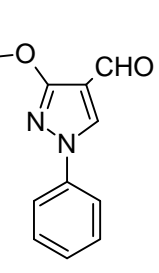
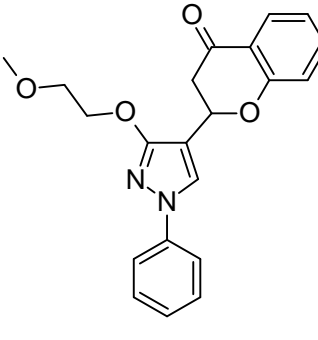
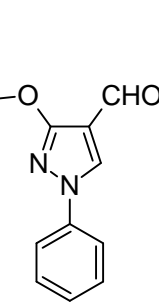
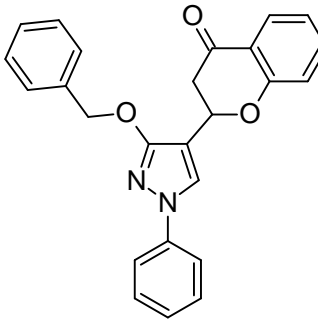
Atlikus eilę reakcijų nustatyta, kad Manicho reakcijos mechanizmas geriausiai tinka (3-alkiloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-onų gavimui, o tinkamiausias katalizatorius yra jodas.

3.3. Įvairių (3-alkiloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-onų sintezė

3.3.1. (3-alkiloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-onų sintezė iš įvairių 3-alkiloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-karbaldehidų ir 2-hidroksiacetofenono

Optimizavus reakcijos sąlygas, jos buvo pritaikytos įvairiems (3-alkiloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-onams gauti. Reakcijose naudotas 2-hidroksiacetofenonas bei skirtingi karbaldehidai **3b-d**. Buvo gauta serija produktų 4b-d (1 lentelė) ir atlikta junginių spektroskopinė analizė.

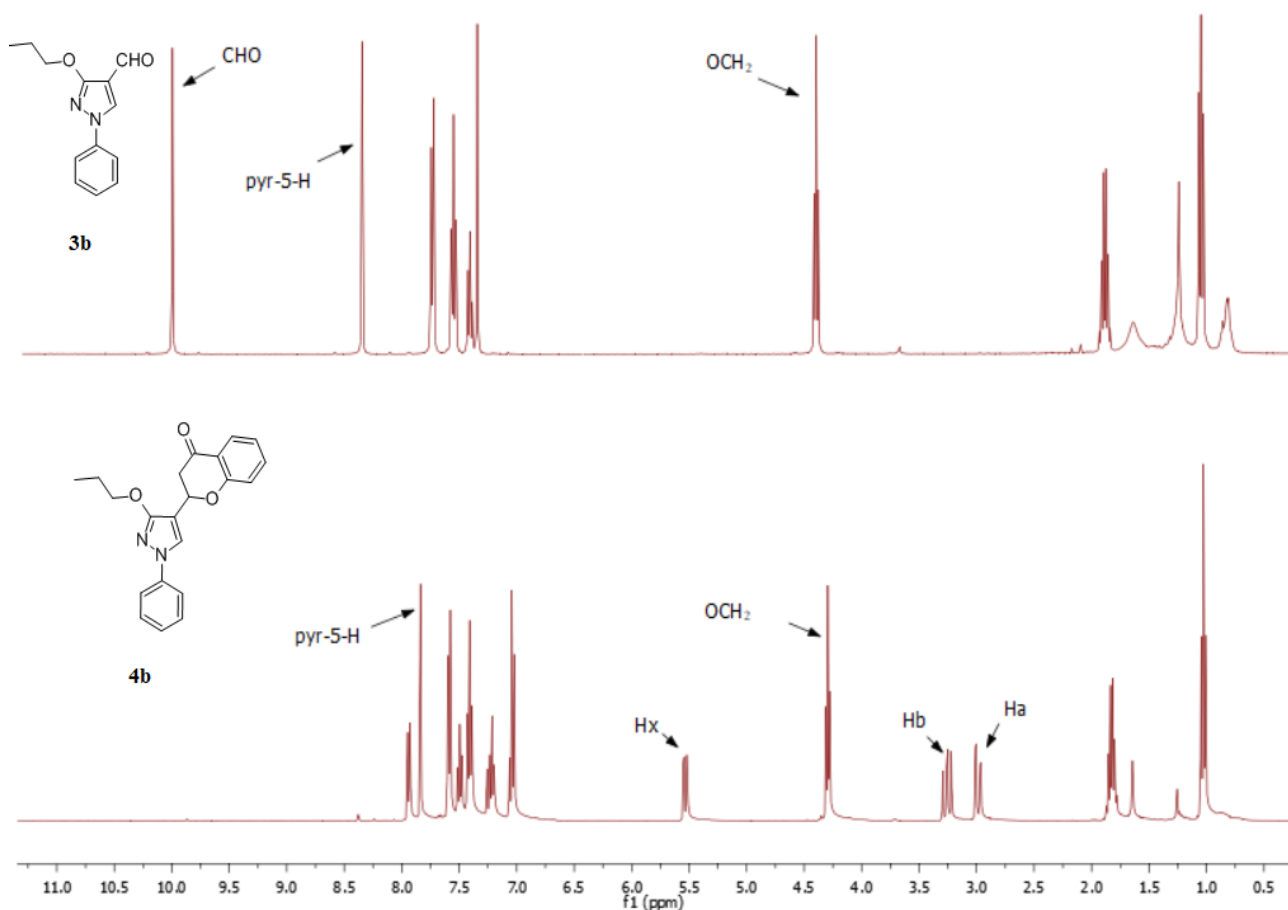
1 lentelė. Karbaldehidų **3b-d** reakcijos su 2-hidroksiaceofenonu

Nr.	Karbaldėhidas	Produktas	Išėiga (%)
1..	 <p style="text-align: center;">3b</p>	 <p style="text-align: center;">4b</p>	45%
2..	 <p style="text-align: center;">3c</p>	 <p style="text-align: center;">4c</p>	44%
3.	 <p style="text-align: center;">3d</p>	 <p style="text-align: center;">4d</p>	40%

Pagal gautus reakcijų rezultatus nustatyta, kad karbaldehido pakaitų, esančių *vic*-padėtyje, prigimtis reakcijos išėigos neįtakoja. Tačiau stebima įtaka reakcijos trukmei. Trumpiausiai reakcija vyko 4 val. – su metoksipakeistu karbaldehidu **3a**, kaip aprašyta aukšėiau. Panaši tendencija yra stebima ir literatūroje pateiktuose duomenyse. Kavala et al. bei Kondhare et al. nustatė, kad elektorininė

karbaldehydų prigimtis neįtakojo reakcijos išeigų, tačiau turėjo įtakos reakcijos trukmei. Pavyzdžiui, reakcija su *o*-pakeistu nitrobenzaldehydu įvyko per dvigubai trumpesnę laiką nei *o*-pakeisto metoksibenzaldehydo atveju. Taip pat nustatyta, kad žemiausia išeiga pasižymėjo reakcijos su *o*- bei *m*- pakeistais aldehidais [44, 45].

Gautų **4b-d** junginių struktūros patvirtintos spektroskopine analize. Pradinių karbaldehydų ^1H BMR spektre matomas aldehido grupės signalas (21 pav.). Visuose *iii* metodu gautuose chroman-4-onų darinių ^1H BMR spektruose matomi ABX sistamai būdingi signalai – H_a protono, esančio *cis*-padėtyje H_x protono atžvilgiu, signalas matomas apie stipresnių laukų intervale (nuo 1 iki 3 ppm) kaip dubletų dubletas, *trans*-padėtyje esančio H_b protono signalas dubletų dubletas yra silpnesnių laukų intervale, nuo 1,83 iki 3,5 ppm, H_x protono signalas matomas apie 5 ppm. Be to, ABX sistema yra matoma ir iš sąveikos konstantų, pavyzdžiui, junginio **4b** ^1H BMR spektre matome 3 būdingus signalus – H_a protonas, turintis signalą ties 2,98 ppm su $J=3,2$ Hz ir $J=17$ Hz, H_b protono signalas, esantis 3,25 ppm su $J=12,3$ Hz ir $J=16,9$ bei H_x protono signalas matomas 5,52 ppm ir turintis atitinkamas sąveikos konstantas $J=12,3$ Hz ir $J=3,1$ Hz (20 pav.).

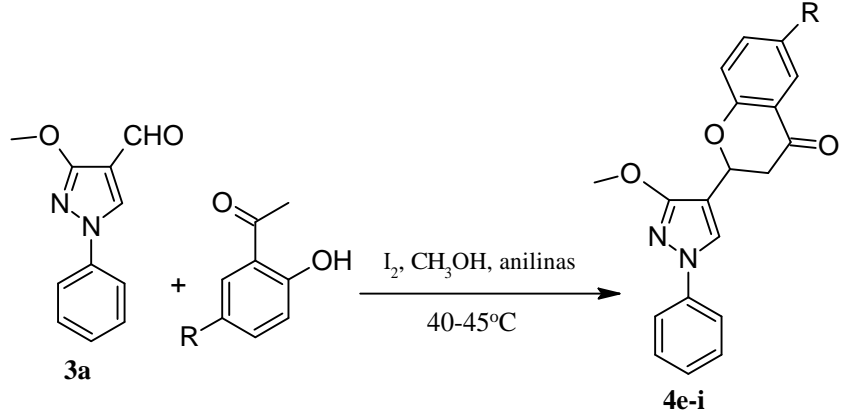
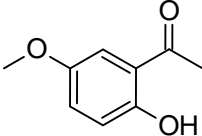
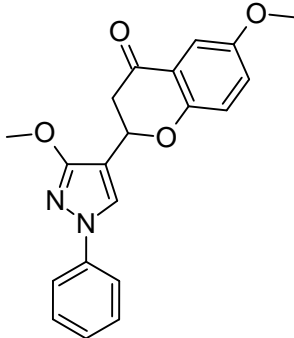
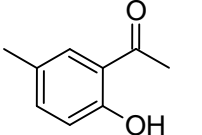
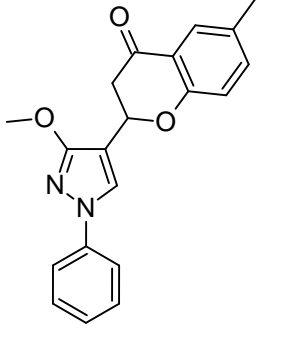
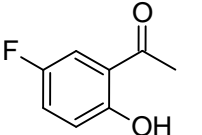
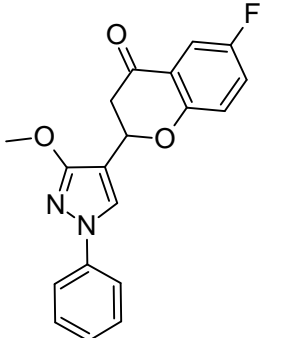


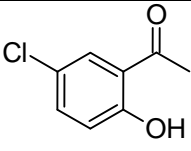
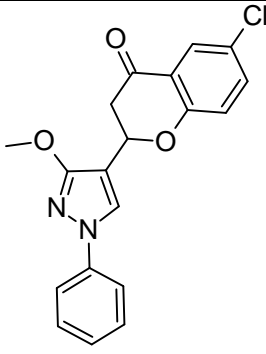
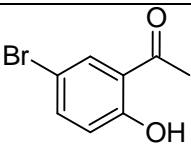
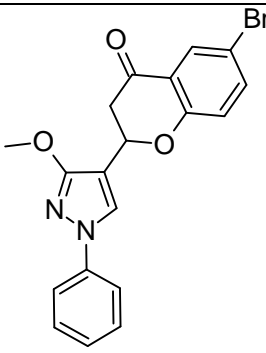
21 pav. Pradinio **3b** bei susidariusio junginio **4b** ^1H BMR spektrų palyginimas

3.3.2. (3-alkiloksi-1-fenil-1H-pirazol-4-il)chroman-4-onų sintezė iš 1-fenil-3-metoksi-1H-pirazol-4-karbaldehydų ir įvairių 2-hidroksiacetofenonų

Siekiant nustatyti 2-hidroksiacetofenonų įtaką reakcijai buvo susintetinta (3-alkiloksi-1-fenil-1H-pirazol-4-il)chroman-4-onų serija iš karbaldehydo **3a** bei įvairiai pakeistų 2-hidroksiacetofenonų. Gauti **4e-i** junginiai (2 lentelė).

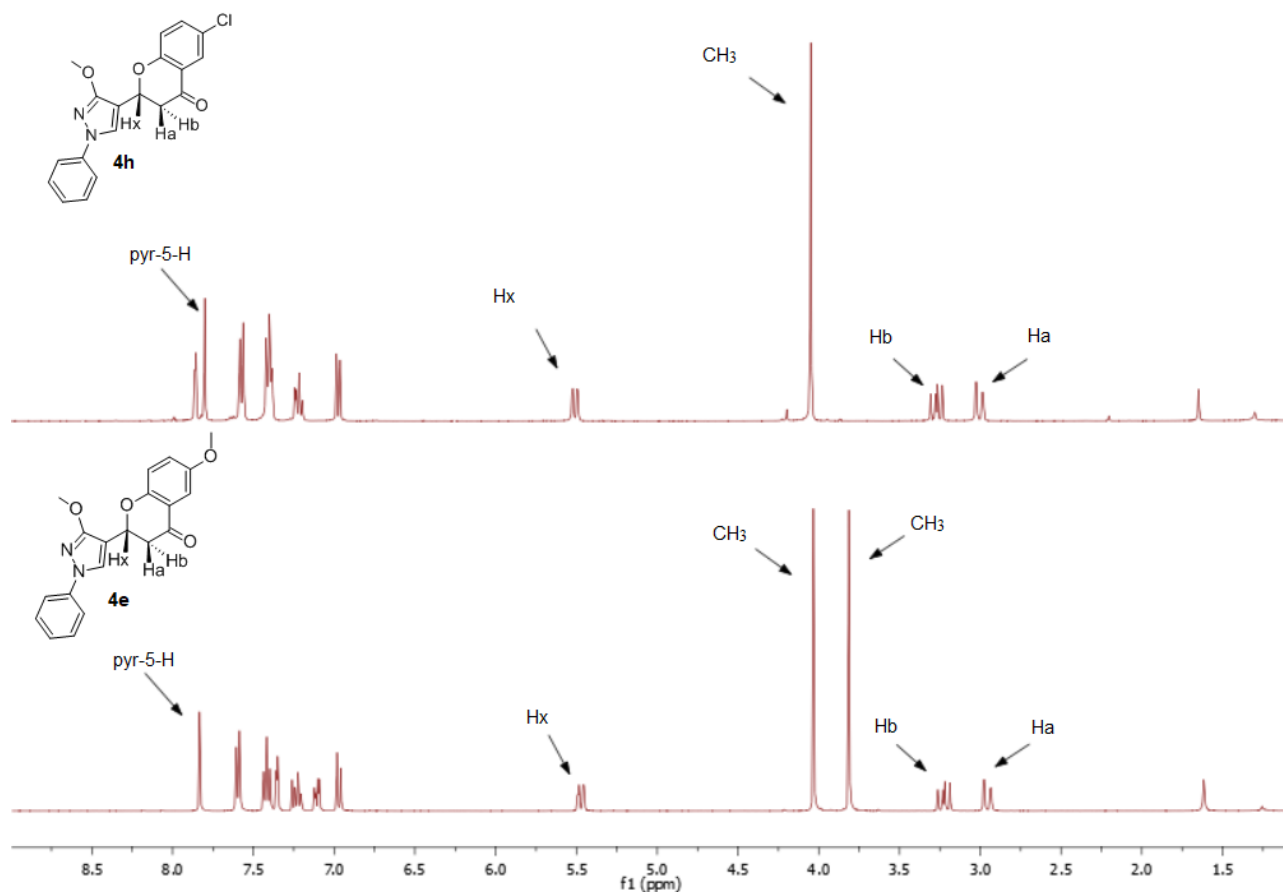
2 lentelė. Karbaldehido **3a** reakcijos su pakeistais 2-hidroksiacetofenonais

Nr.	2-hidroksiacetofenonas	Produktas	Reakcijos laikas (val.)	Išeiga (%)
 <p style="text-align: center;"> <chem>COC1=CN=C(C=O)N1c2ccccc2</chem> + <chem>CC(=O)c1ccc(O)c(R)c1</chem> $\xrightarrow[40-45^{\circ}\text{C}]{\text{I}_2, \text{CH}_3\text{OH}, \text{anilinas}}$ <chem>COC1=CN=C(C2=CC(=O)C(O)C2)c3ccccc3N1</chem> </p> <p style="text-align: center;">3a + R \rightarrow 4e-i</p>				
1.		 <p style="text-align: center;">4e</p>	20	41
2.		 <p style="text-align: center;">4f</p>	15	43
3.		 <p style="text-align: center;">4g</p>	15	35

4.		 <p style="text-align: center;">4h</p>	19	33
5.		 <p style="text-align: center;">4i</p>	15	36

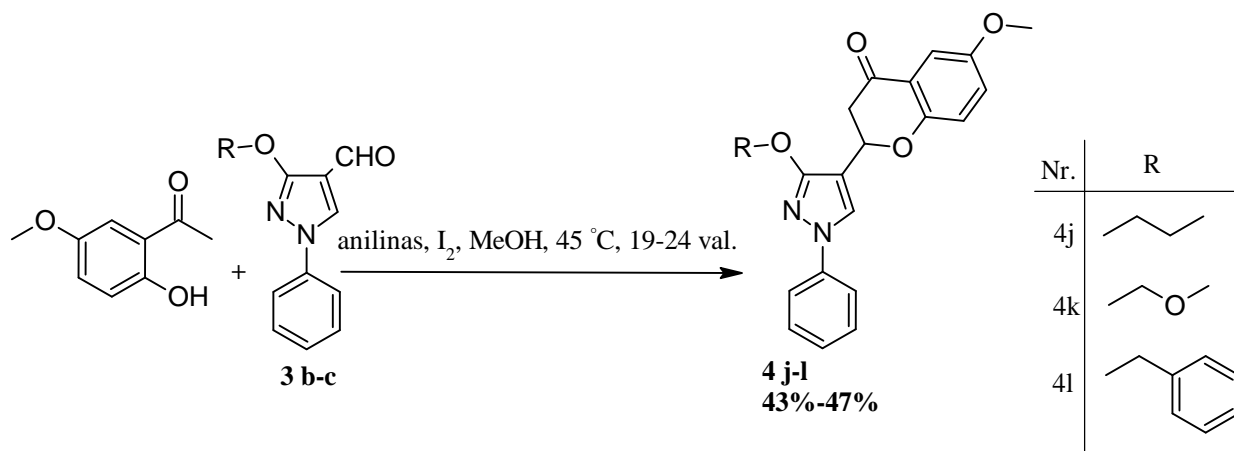
Pastebėta, kad 2-hidroksiacetofenono pakaitų elektroninė prigimtis įtakojo reakcijos trukmę. *m*-padėtyje esantis chlorpakaitas, pasižymintis didžiausiu elektronų afiniškumu, ženkliai pailgino reakcijos trukmę. Tad reakcija su 2-hidroksi-5-chloracetofenonu vyko ilgiausiai, ir jos išėiga buvo mažiausia lyginant su kitais elektronakceptorinius bei elektronodonorines grupes turinčiais acetofenonais. Reakcijų su 2-hidroksiacetofenonu, kurių *m*- padėtyje buvo elektrondonorinės grupės –OCH₃ bei –CH₃, reakcijos išėigos geresnės. Tokia pati tendencija stebima ir literatūros duomenyse. Pavyzdžiui, Kondhare [44] nustatė, kad aromatinio aldehido pakaito prigimtis bei padėtis įtakoja reakcijos išėigą – pagal šio tyrimo gautus rezultatus galima teigti, kad aldehydų, kurie para- padėtyje turėjo pakaitus, reakcijos vyko trumpesnę laiką bei pasižymėjo geresnėmis išėigomis. Tuo tarpu Kavala su bendraautoriais pastebėjo, kad para- pakeistų benzaldehidų reakcijos išėigos buvo didesnės, o reakcijos laikas priklausė nuo šių pakaitų prigimties [45].

Kaip ir prieš tai susintetintų **4b-d** junginių serijos ¹H BMR spektruose, **4e-i** junginių ¹H spektruose matomi ABX sistemos signalai. Pavyzdžiui, **4e** ¹H BMR spektre matomi tokie ABX sistemos dubletų dubletų signalai: H_a protono ties 2,96 ppm su *J*=3,1 Hz ir *J*=17 Hz, H_b protono ties 3,23 ppm su *J*=12,5 Hz ir *J*=17 bei H_x protono signalas matomas 5,52 ppm su atitinkamomis sąveikos konstantomis *J*=12,5 Hz ir *J*=3,0 Hz. (22 pav.). ABX sistemos signalai matomi ir **4f** junginio ¹H BMR spektre (22 pav.).



22 pav. **4e** ir **4h** ¹H BMR spektrų fragmentai

Iš gautų rezultatų nustatyta, kad reakcijos trukmei nedidelę įtaką turi acetofenono pakaitai – reakcija su metoksipakaitą turinčiu 2-hidroxiacetofenonu vyko ilgiausiai. Pakartojus tą pačią reakciją su skirtingais pradiniais pirazolkarbaldehidais ši tendencija buvo patvirtinta. Reakcijos vyko ilgiausiai – nuo 19 iki 24 val., tačiau reakcijos išeigos buvo panašios – nuo 43% iki 47%. Kita vertus, reakcijos su metoksiapakeistu 2-hidroxiacetofenonu pasižymėjo didesne išeiga (4 schema). Šie rezultatai taip pat patvirtina, kad pasirinkta sintezės schema turi didelį pritaikomumą ir gali būti naudojama flavanono darinių su įvairiais pakaitais sintezei.

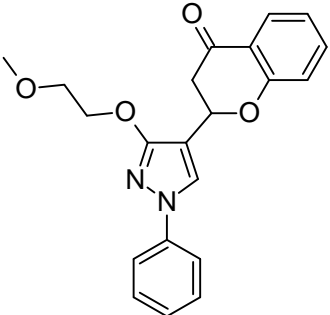
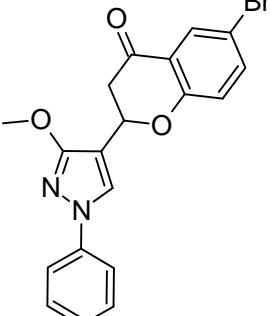
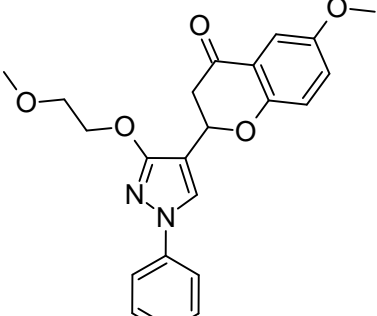


4 schema. 2-hidroksi-5-metoksiacetofenono reakcija su skirtingais pirazolkarbaldehidais

3.4. Susintetintų junginių priešvėžinių tyrimų rezultatų aptarimas

Remiantis literatūros duomenimis apie pirazol-chromanono junginių priešvėžines savybes, buvo atlikti susintetintų visų junginių **4a-l** priešvėžinio aktyvumo tyrimai tam tikrose ląstelių linijose: žmogaus lėtinės mieloleukemijos K562 bei bifentipinės B mielomonocitinės leukemijos MV4-11. Priešvėžinio aktyvumo tyrimus atliko mokslinė doc. dr. Vladimír Kryštof grupė (Palacký universitetas, Olomoucas, Čekija) pagal aprašytą metodiką [56]. Atlikti tyrimai parodė, kad beveik visi junginiai pasižymi nedideliu aktyvumu (3 lentelė). Tai gali būti susiję ir su junginiu nepakankamu tirpumu. Junginiai **4a'**, **4a**, **4b**, **4f**, **4g**, **4j** bei **4l** nebuvo aktyvūs. Vieno iš junginių **4i** aktyvumas K562 ląstelėse yra didesnis, tačiau lyginant su šiuo metu registruotu vaistu lėtinės mieloidinės leukemijos gydymui, imatinibu, kurio IC₅₀ yra 5 μM yra nėra pakankamas [57]. Kitoje MV4-11 ląstelių linijoje geriausias aktyvumas nustatytas **4c** – 7,14 μM bei **4l** – 12,04 μM junginiams. Toje pačioje ląstelių linijoje šiuo metu registruotos veikliosios medžiagos citarabino IC₅₀ reikšmės svyruoja nuo 0,26 μM iki 3,4 μM [58]. **4c** ir **4l** junginių 3 padėtyje yra etoksimetoksipakaitas, kitų junginių priešvėžinio aktyvumo savybių neįtakojo nei 3-oje pirazolo padėtyje esantys pakaitai, nei 7-je chromanono padėtyje esantys pakaitai.

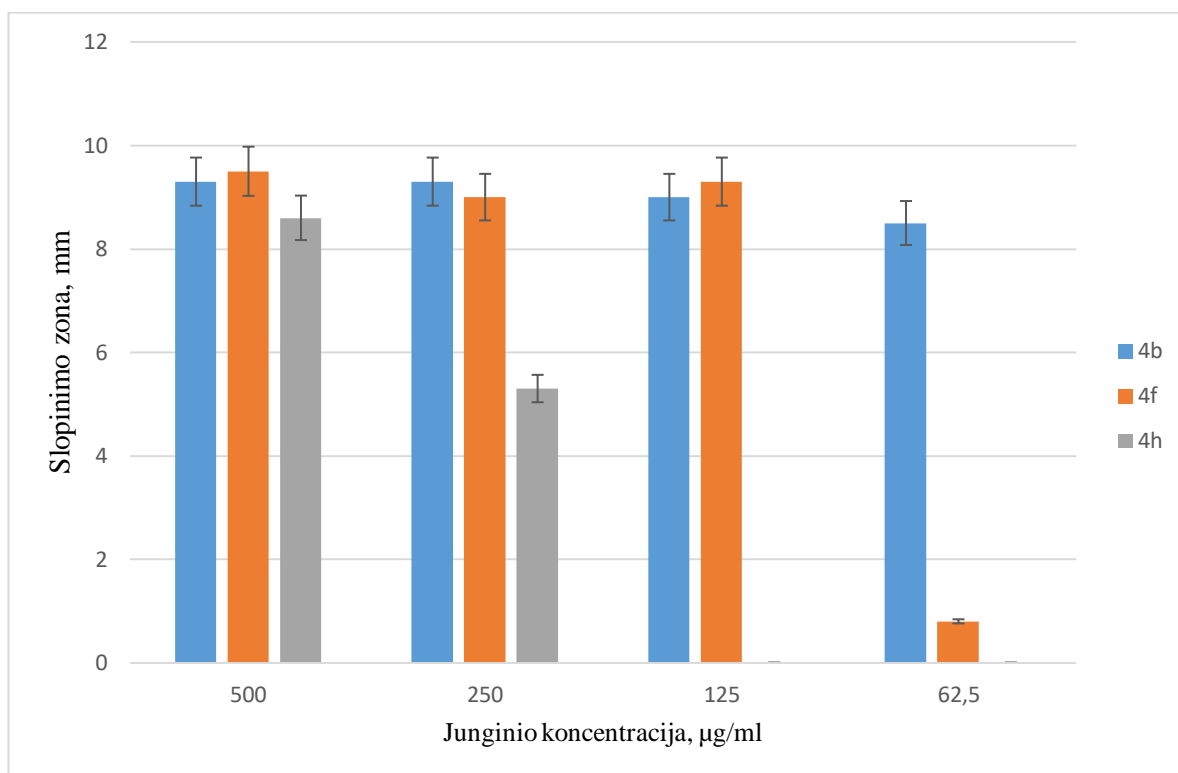
3 lentelė. Susintetintų junginių priešvėžinis aktyvumas

Nr.	Junginys	Ląstelių linija IC ₅₀ (μM)	
		K562	MV4-11
4c		>12,50	7,14
4i		12,36	>12,50
4k		>12,50	12,04

Atsižvelgiant į šių tyrimų duomenis, pirazolo-flavanono dariniai gali pasižymėti priešvėžiniu poveikiu, tačiau junginių struktūrą reikia toliau optimizuoti.

3.5. Susintetintų junginių antibakterinių tyrimų rezultatų aptarimas

Pirazolo-chromanono dariniai pasižymi antimikrobinėmis savybėmis [7, 35, 37]. Siekiant nustatyti šias susintetintų junginių savybes buvo atlikti antibakteriniai tyrimai agaru difuziniu metodu. Tyrimai atlikti KTU biotechnologijos laboratorijoje su *E. coli* bei *B. subtilis* bakterijų padermėmis bei junginiais **4a** – **4l**, esant 10 mg/ml koncentracijoms. Nustatyta, kad grameigiamoms *B. subtilis* bakterijoms visi tirti junginiai poveikio beveik neturėjo, bakterijų augimas nesumažėjo. *E. coli* bakterijų padermėje poveikį turėjo trys iš tirtų junginių – **4b**, **4f** ir **4h** – junginiai parodė aktyvumą prieš *E. coli* (23 pav.). Atsižvelgus į šiuos rezultatus buvo nuspręsta toliau tirti aktyvumą *E. coli* bakterijų augimui turinčius junginius sumažinant jų koncentracijas. Didžiausiu aktyvumu pasižymėjo **4b**, su propoksipakaitų pirazolo žiede. Junginys **4f**, turintis metoksipakaitą 3-je pirazolo padėtyje bei metilpakaitą 7-je chromanono žiedo padėtyje, taip pat parodė į **4b** panašų rezultatą. Pažymėtina, kad **4f** junginio koncentracijų amplitudėje nuo 500 µg/ml iki 125 µg/ml aktyvumas išlieka panašus, tačiau esant mažiausiai koncentracijai, poveikis ženkliai sumažėja. Šis rezultatas panašus į literatūroje pateikiamus duomenis, pagal kuriuos, didžiausiu antibakteriniu aktyvumu *E. coli* bakterijoms pasižymėjo junginiai su metoksi- bei metilpakaitais chromanono žiede [52].



23 pav. Atrinktų junginių aktyvumas prieš *E. coli* bakterijas

Remiantis gautais rezultatais galima teigti, kad pirazolo-flavanono fragmentų derinys yra tinkamas galimų antimikrobinų medžiagų sintezei, tačiau tokių junginių savybės labai priklauso nuo darinių pakaitų prigimties ir kiekio.

Išvados

1. Iš 1-fenil-1*H*-pirazol-3-olio panaudojant *O*-alkilavimo ir formilavimo reakcijas galima gauti įvairius 3-alkoksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-karbaldehidus.
2. Iš 3-alkoksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-karbaldehidų gali būti gaunami įvairiai pakeisti (3-alkiloksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-onai.
3. Optimaliausias metodas 2-(1-fenil-3-metoksi-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-onų gavimui iš 1-fenil-1*H*-pirazol-3-olio yra Manicho reakcija su jodo katalizatoriumi.
4. Visų gautų 2-(1-fenil-3-metoksi-1*H*-pirazol-4-il)chroman-4-ono darinių ¹H BMR spektruose matomi ABX sistemai būdingi signalai.
5. Susintetintų junginių priešvėžinis aktyvumas nėra labai didelis, didesnę aktyvumą leukemijos ląstelėse turi 2-[3-(2-metoksietoksi)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il]-2,3-dihidro-4*H*-1-benzpiran-4-onas, 6-brom-2-(3-metoksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)-2,3-dihidro-4*H*-1-benzpiran-4-onas bei 2-(1-fenil-3-etoksimetoksi-1*H*-pirazol-4-il)-6-metoksi-2,3-dihidro-4*H*-1-benzpiran-4-onas.
6. Susintetintų junginių antibakterinis aktyvumas nėra aukštas. Didžiausiu aktyvumu slopinant gramneigiamų ląstelių augimą pasižymi 2-(1-fenil-3-propoksi-1*H*-pirazol-4-il)-2,3-dihidro-4*H*-1-benzpiran-4-onas, 6-metil-2-(3-metoksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)-2,3-dihidro-4*H*-1-benzpiran-4-onas ir 6-chlor-2(3-metoksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)-2,3-dihidro-4*H*-1-benzpiran-4-onas.

Literatūros sąrašas

1. ANSARI, A., et al. Review: biologically active pyrazole derivatives. *New Journal of Chemistry*, 2016, 19 (1), 16–41. ISSN 13699261.
2. KUMAR, V., et al. Pyrazole containing natural products: Synthetic preview and biological significance. *European Journal of Medicinal Chemistry* [interaktyvus]. Elsevier Masson, 2013, vol. 69., 735–753 [žiūrėta 2020-09-25]. ISSN 02235234. Prieiga per: Science Direct.
3. DELL'AVERSANA C., et al. Novel Anticancer Fused Pyrazole Derivatives as EGFR and VEGFR-2 Dual TK Inhibitors. *Front. Chem.* [interaktyvus], 2020, vol. 1, 917 [žiūrėta 2020-11-20]. doi 10.3389/fchem.2019.00917.
4. YU L., et al. TMF, a natural dihydroflavonoid isolated from *Scutellaria javanica* Jungh, stimulates anticancer activity of s180 cancer-bearing mice, induces apoptosis, inhibits invasion and migration on HepG-2 cells. *J. Ethnopharmacol.*, 2020, 263, 113072. ISSN 18727573.
5. FERREIRA DE OLIVEIRA J. M. P., et al. Therapeutic potential of hesperidin and its aglycone hesperetin: Cell cycle regulation and apoptosis induction in cancer models. *Phytomedicine* [interaktyvus], Elsevier GmbH, 2020, vol. 73 [žiūrėta 2021-01-08]. ISSN 1618095X. Prieiga per: Science Direct.
6. ANDRADE-CARRERA B., et al. Cytotoxic Evaluation of (2S)-5,7-Dihydroxy-6-prenylflavanone Derivatives Loaded PLGA Nanoparticles against MiaPaCa-2 Cells. *Molecules* [interaktyvus], MDPI, 2017, vol. 22 (9) [žiūrėta 2021-12-08]. doi 10.3390/molecules22091553.
7. PRAKASH O., et al. Synthesis and antifungal activity of some new 3-hydroxy-2-(1-phenyl-3-aryl-4-pyrazolyl) chromones *European Journal of Medicinal Chemistry* [interaktyvus]. Elsevier Masson, 2008, vol. 43 (2), 435–440 [žiūrėta 2021-12-08]. ISSN 02235234.
8. KUMAR V., et al. Pyrazole containing natural products: Synthetic preview and biological significance *European Journal of Medicinal Chemistry* [interaktyvus], Elsevier Masson, 2013, vol. 69, 735–753 [žiūrėta 2021-12-08]. doi: 10.1016/j.ejmech.2013.08.053
9. DAI H., et al. Synthesis and Bioactivities of Novel Pyrazole Oxime Derivatives Containing a 5-Trifluoromethylpyridyl Moiety. *Molecules* [interaktyvus], MDPI, 2016, vol. 21 (3) [žiūrėta 2021-03-15]. doi 10.3390/molecules21030276.
10. SILVA C. F. M., et al. Chromones: A Promising Ring System for New Anti-inflammatory Drugs,” *ChemMedChem* [interaktyvus], Wiley-V C H Verlag GmbH, 2016 vol. 11 (20), 2252–2260 [žiūrėta 2021-03-15]. doi: 10.1002/cmdc.201600359.
11. GASPAR A., et al. Chromone: A Valid Scaffold in Medicinal Chemistry. *Chemical reviews* [interaktyvus]. Amer Cheical soc, 2014, vol. 114 (9), 4960-4992 [žiūrėta 2021-01-08]. doi: 10.1021/cr400265z.
12. UIVAROSI V., MUNTEANU A. C., NIȚULESCU G. M. An Overview of Synthetic and Semisynthetic Flavonoid Derivatives and Analogues: Perspectives in Drug Discovery: iš *Studies in Natural Products Chemistry*, vol. 60, Elsevier B.V., 2018, 29–84. ISBN 978-0-44-464182-3; 978-0-444-64181-6.
13. ROLLAND-FULCRAND V., et al. Efficient chemoenzymatic synthesis of enantiomerically pure β -heterocyclic amino acid derivatives. *Tetrahedron Asymmetry* [interaktyvus]. Elsevier. 2000, vol. 11 (23), 4719–4724. ISSN 09574166. Prieiga per: Science Direct.
14. XIA T., et al. Synthesis of withasomnine and pyrazole derivatives: Via intramolecular dehydrogenative cyclization, as well as biological evaluation of withasomnine-based scaffolds. *Organic Chemistry Frontiers* [interaktyvus]. Royal Society chemistry, 2018, vol. 5 (5), 850–854 [žiūrėta 2021-05-01]. ISSN 2052-4129. Prieiga per: Science Direct.
15. ZHANG M., et al. Comparative investigation into formycin a and pyrazofurin a biosynthesis reveals branch pathways for the construction of C-Nucleoside scaffolds. *Applied and*

- Environmental Microbiology* [interaktyvus]. American Society for Microbiology, 2020, vol. 86 (2) [žiūrėta 2020-12-05]. ISSN 10985336. Prieiga per: Web of Science.
16. DAWOOD D. H., et al. Synthesis and molecular docking study of new pyrazole derivatives as potent anti-breast cancer agents targeting VEGFR-2 kinase. *Bioorganic Chemistry* [interaktyvus]. Academic Press Inc., 2020 vol. 101, 103916 [žiūrėta 2020-09-12]. doi: 10.1016/j.bioorg.2020.103916
 17. SUBIN KUMAR K., et al. Synthesis, crystal structure, and in vitro cytotoxic, antitumor and antimicrobial evaluation of a new pyrazole derivative n-3,5-trimethyl-n-phenyl-1-h-pyrazole-1-carbothioamide. *Pharmaceutical chemistry journal* [interaktyvus] . Springer, 2021, vol. 54 (10), 1079-1086 [žiūrėta 2021-03-15]. ISSN 0091-150X. Prieiga per: Web of Science.
 18. ZIMNITSKIY N. S., et al. An expedient synthesis of novel spiro[indenoquinoxaline-pyrrolizidine]-pyrazole conjugates with anticancer activity from 1,5-diarylpent-4-ene-1,3-diones through the 1,3-dipolar cycloaddition/cyclocondensation sequence. *New Journal of Chemistry* [interaktyvus]. Royal Society of Chemistry, 2020, vol. 44 (37), 16185–16199 [žiūrėta 2021-02-21]. ISSN 13699261. Prieiga per: Web of Science.
 19. TILEKAR K., et al. Synthesis and Biological Evaluation of Pyrazoline and Pyrrolidine-2,5-dione Hybrids as Potential Antitumor Agents. *ChemMedChem* [interaktyvus], Wiley-V C H Verlag GmbH,, vol. 15 (19), 1813–1825 [žiūrėta 2021-02-21]. doi: 10.1002/cmdc.202000458
 20. TOK F., et al. Design, synthesis and biological evaluation of some new 2-Pyrazoline derivatives as potential anticancer agents. *Bioorganic chemistry* [interaktyvus]. Elsevier, 2020, vol. 102 [žiūrėta 2021-02-21]. doi: 10.1016/j.bioorg.2020.104063.
 21. PELLEI M., et al. Synthesis and cytotoxic activity evaluation of new Cu(I) complexes of bis(pyrazol-1-yl) acetate ligands functionalized with an NMDA receptor antagonist. *International Journal of Molecular Sciences* [interaktyvus], MDPI, 2020, vol. 21 (7) [žiūrėta 2021-02-22]. doi: 10.3390/ijms21072616.
 22. DÖMÖTÖR O., et al. Solution equilibrium, structural and cytotoxicity studies on Ru(η^6 -p-cymene) and copper complexes of pyrazolyl thiosemicarbazones. *Journal of Inorganic Biochemistry* [interaktyvus]. Elsevier Inc., 2020, vol. 202 [žiūrėta 2021-02-22]. ISSN 18733344. Prieiga per: Science Direct.
 23. CUCCIOLONI M., et al. Exploring the Molecular Mechanisms Underlying the in vitro Anticancer Effects of Multitarget-Directed Hydrazone Ruthenium(II)-Arene Complexes. *Chemmedchem* [interaktyvus], Wiley-V C H Verlag GmbH, 2019, vol. 15 (1), 105-113 [žiūrėta 2021-02-22]. doi: 10.1002/cmdc.201900551
 24. DE OLIVEIRA N. K. S., et al. Antioxidant Effect of Flavonoids Present in Euterpe oleracea Martius and Neurodegenerative Diseases: A Literature Review. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry* [interaktyvus]. Bentham Science Publishers Ltd., 2019, vol. 19 (2), 75–99 [žiūrėta 2021-05-04]. doi: 10.2174/1871524919666190502105855.
 25. PANCHE A. N., et al. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science* [interaktyvus]. Cambridge university press, 2021, vol. 5, 1–15 [žiūrėta 2021-05-04]. ISSN 2048-6790. Prieiga per: Web of Science.
 26. ARAFAH A., et al. Multi-Therapeutic Potential of Naringenin (4',5,7-Trihydroxyflavonone): Experimental Evidence and Mechanisms. *Plants* [interaktyvus]. MDPI, 2020, vol. 9 (12), 1784 [žiūrėta 2021-03-06]. ISSN 2223-7747. Prieiga per: Web of Science.
 27. MAJUMDAR S., SRIRANGAM R. Solubility, stability, physicochemical characteristics and in vitro ocular tissue permeability of hesperidin: A natural bioflavonoid. *Pharmaceutical Research* [interaktyvus]. Springer/ Plenum, 2009, vol. 26 (5), 1217–1225 [žiūrėta 2021-03-09]. ISSN 07248741. Prieiga per: Web of Science.
 28. DEVI K. P., et al. Hesperidin: A promising anticancer agent from nature. *Industrial Crops and Products* [interaktyvus]. Elsevier, 2015, vol. 76, 582–589 [žiūrėta 2021-03-09]. ISSN 09266690. Prieiga per: Science Direct.

29. MOLČANOVÁ L., et al. C-prenylated flavonoids with potential cytotoxic activity against solid tumor cell lines. *Phytochemistry Reviews* [interaktyvus]. Springer Netherlands, 2019, vol. 18 (4), 1051–1100 [žiūrėta 2021-03-13]. ISSN 1572980X. Prieiga per: SpringerLink
30. PECHALRIEU D., et al. Synthesis of novel 3-halo-3-nitroflavanones and their activities as DNA methyltransferase inhibitors in cancer cells. *European Journal of Medicinal Chemistry* [interaktyvus], Elsevier Masson SAS, 2020, vol. 186, 111829 [žiūrėta 2021-03-12]. ISSN 0223-5234. Prieiga per: Science Direct.
31. WANG S., et al. Discovery of novel (+)-Usnic acid derivatives as potential anti-leukemia agents with pan-Pim kinases inhibitory activity. *Bioorganic Chemistry* [interaktyvus]. Elsevier Science, 2019, vol. 89, 102971 [žiūrėta 2021-03-12]. ISSN 0045-2068. Prieiga per: Science Direct.
32. KOZŁOWSKA J., et al. Novel O-alkyl Derivatives of Naringenin and Their Oximes with Antimicrobial and Anticancer Activity. *Molecules* [interaktyvus]. MDPI, 2019, vol. 24 (4), 679 [žiūrėta 2021-03-10]. doi: 10.3390/molecules24040679.
33. MISTRY B., et al. Access to the substituted benzyl-1,2,3-triazolyl hesperetin derivatives expressing antioxidant and anticancer effects. *Arabian Journal of Chemistry* [interaktyvus]. Elsevier Science, 2017, vol. 10 (2), 157–166 [žiūrėta 2021-03-16]. doi: 10.1016/j.arabjc.2015.10.004
34. WEI Q., et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel chroman derivatives as non-selective acetyl-CoA carboxylase inhibitors. *Bioorganic Chemistry* [interaktyvus]. Academic Press Inc., 2020, vol. 101, 103943 [žiūrėta 2021-03-16]. doi: 10.1016/j.bioorg.2020.103943.
35. ASHOK D., et al. Microwave-assisted one-pot synthesis of pyrazolyl-substituted benzochroman-4-one derivatives and evaluation of their anticancer activity. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* [interaktyvus]. Springer New York LLC, 2016, vol. 52 (1), 15–20, [žiūrėta 2021-03-30]. ISSN 15738353. Prieiga per: Springer Link.
36. YIN Y., et al. Development of novel chromeno[4,3-c]pyrazol-4(2H)-one derivatives bearing sulfonylpiperazine as antitumor inhibitors targeting PI3K α . *European Journal of Medicinal Chemistry* [interaktyvus]. Elsevier Masson SAS, 2019, vol. 182, 111630 [žiūrėta 2021-02-21]. ISSN 17683254. Prieiga per: Science Direct.
37. PRAKASH O., et al. Synthesis and antibacterial activity of some new 2,3-dimethoxy-3-hydroxy-2-(1-phenyl-3-aryl-4-pyrazolyl)chromanones. *European Journal of Medicinal Chemistry* [interaktyvus]. Elsevier Masson SAS, 2009, vol. 44 (4), 1763–1767 [žiūrėta 2021-04-15]. ISSN 02235234. Prieiga per: Science Direct.
38. AGNIHOTRI R., et al. 3-Hydroxy-2-[1'-phenyl-3'-(p-chlorophenyl)-4'-pyrazolyl]-4-oxo-4H-1-benzopyran as a spectrophotometric reagent for trace determination of tungsten(VI) *Coloration Technology* [interaktyvus]. John Wiley & Sons, Ltd, 2008, vol. 124 (6), 379–384 [žiūrėta 2021-04-19]. doi: 10.1111/j.1478-4408.2008.00167.x
39. AGNIHOTRI R., et al. Extraction and Spectrophotometric Determination of Molybdenum(VI) using 3-hydroxy-2-[3-(4-methoxyphenyl)-1-phenyl-4-pyrazolyl]-4-oxo-4H-1-benzopyran as a Chelating Agent. *Journal of Analytical Chemistry* [interaktyvus]. Pleiades Publishing, 2019, vol. 74 (1), 81–86 [žiūrėta 2021-05-21]. doi: 10.1134/S1061934819010027.
40. ARBAČIAUSKIENE E., et al. On the Tautomerism of N-Substituted Pyrazolones: 1,2-Dihydro-3H-pyrazol-3-ones versus 1H-Pyrazol-3-ols. *Molecules* [interaktyvus] MDPI, 2018, vol. 23 (1) [žiūrėta 2021-04-26]. doi: 10.3390/molecules23010129.
41. ARBAČIAUSKIENE E., et al. Synthesis of 3-substituted 1-phenyl-1H-pyrazole-4-carbaldehydes and the corresponding ethanones by Pd-catalysed cross-coupling reactions.” *Arkivoc* [interaktyvus]. ARKAT USA INC, 2011, vol. 2011 (11), 1–21 [žiūrėta 2021-04-25].
42. KAZLAUSKAS K., et al. Morphology and Emission Tuning in Fluorescent Nanoparticles

- Based on Phenylenediacetonitrile. *Journal of Physical Chemistry* [interaktyvus]. Amer Chemical Soc., 2014, vol. 118 (43), 25261-25271 [žiūrėta 2020-09-10]. doi: 10.1021/jp507707f.
43. ŞIRIN Ö. Z., et al. Clean and efficient synthesis of flavanone in sub-critical water. *Journal of Supercritical Fluids* [interaktyvus]. Elsevier SAS, 2013, vol. 81, 217–220 [žiūrėta 2020-09-30]. ISSN 0896-8446. Prieiga per: Science direct.
 44. KONDHARE D. D., et al. An efficient synthesis of flavanones and their docking studies with aldose reductase. *Medicinal Chemistry Research* [interaktyvus]. Birkhauser Boston, 2017, vol. 26 (5), 987–998 [žiūrėta 2020-09-18]. ISSN 15548120. Prieiga per: Web of Science.
 45. Kavala V., et al. Iodine catalyzed one-pot synthesis of flavanone and tetrahydropyrimidine derivatives via Mannich type reaction. *Tetrahedron* [interaktyvus]. Pergamon, 2012, vol. 68, (4), 1321–1329 [žiūrėta 2020-11-09]. doi: 10.1016/j.tet.2011.11.022.
 46. ARBAČIAUSKIENE E., et al. Metal-Free Intramolecular Alkyne-Azide Cycloaddition to Construct the Pyrazolo[4,3-f][1,2,3]triazolo[5,1-c][1,4]oxazepine Ring System. *European Journal of Organic Chemistry* [interaktyvus]. Wiley-VCH Verlag, 2015, vol. 2015 (25), 5663–5670 [žiūrėta 2021-04-15]. doi: 10.1002/ejoc.201500541.
 47. LUO Y., et al. Formylation of N-arylpyrazole containing active amino group using Vilsmeier-Hack reaction. *Chinese Chemical Letters* [interaktyvus]. Chinese Chemical Soc., 2008, vol. 19 (4), 383–386 [žiūrėta 2021-01-22]. doi: 10.1016/j.cclet.2008.01.025.
 48. ALDABBAGH F. Aldehydes: Aryl and heteroaryl aldehydes iš *Comprehensive Organic Functional Group Transformations II*, vol. 3, Elsevier Ltd., 2004, pp. 99–133.
 49. ASHOK D., et al. Solvent-free microwave-assisted synthesis and biological evaluation of 2,2-dimethylchroman-4-one based benzofurans. *Heterocyclic Communications* [interaktyvus]. Walter de Gruyter GmbH, 2016, vol. 22 (6), 363–368 [žiūrėta 2020-10-02]. ISSN 07930283. Prieiga per: Science Direct.
 50. AMEEN D., SNAPE T. J. Review Synthesis Mechanism and Application of Baker-Venkataraman O→C Acyl Migration Reactions. *Synthesis-Stuttgart* [interaktyvus]. Georg Thieme Verlag KG, 2015, vol. 47 (2), 141-158 [žiūrėta 2020-11-18]. doi: 10.1055/s-0034-1379498.
 51. XIA L. Mild and Efficient One-Pot Synthesis of Diverse Flavanone Derivatives via an Organocatalyzed Mannich-Type Reaction. *Synthesis-Stuttgart* [interaktyvus]. Georg Thieme Verlag KG, 2014, vol. 46 (4), 465-474 [žiūrėta 2020-11-19]. doi: 10.1055/s-0033-1340466.
 52. DONGAMANTI A., et al. Microwave-assisted one-pot synthesis and antimicrobial evaluation of 2-(1-phenyl-3-(2-thienyl)-1H-pyrazol-4-yl)chroman-4-one derivatives. *Heterocyclic Communications* [interaktyvus]. Walter de Gruyter GmbH, 2016, vol. 22 (5), 259–264 [žiūrėta 2021-04-16]. ISSN 07930283. Prieiga per: Springer Link.
 53. SINGH O. V., et al. Synthesis of isoflavones containing naturally occurring substitution pattern by oxidative rearrangement of respective flavanones using thallium(III) p-tosylate. *Indian Journal of Chemistry* [interaktyvus]. Natl inst science communication, 2005, vol. 44 (12), 2575-2581 [žiūrėta 2020-12-220]. ISSN 0376-4699. Prieiga per: Science direct.
 54. FENG L., et al. Three-Component Asymmetric Mannich Reaction Catalyzed by a Lewis Acid with Rhodium-Centered Chirality. *Chemistry - An Asian Journal* [interaktyvus]. Wiley-VCH Verlag GmbH, 2017, vol. 12 (9), 963–967 [žiūrėta 2021-04-16]. ISSN: 1861-4728. Prieiga per: PubMed.
 55. KONDHARE D. D., et al. An efficient synthesis of flavanones and their docking studies with aldose reductase. *Med. Chem. Res.*, vol. 26, no. 5, pp. 987–998, May 2017. doi: 10.1007/s00044-017-1813-1
 56. MILIŠIŪNAITĖ V., et al. Synthesis and anti-mitotic activity of 2,4- or 2,6-disubstituted- and 2,4,6-trisubstituted-2H-pyrazolo[4,3-c]pyridines. *European Journal of Medicinal Chemistry* [interaktyvus]. Elsevier Masson SAS, 2018, vol. 150, 908–919 [žiūrėta 2020-11-20]. Prieiga

- per: Science Direct.
57. DANIŞMAN KALINDEMİRTAŞ F., et al. Cytotoxic effects of some flavonoids and imatinib on the K562 chronic myeloid leukemia cell line: Data analysis using the combination index method. *Balkan Medicinal Journal* [interaktyvus]. Galenos Yayincilik, 2019, vol. 36 (2), 96–105 [žiūrėta 2021-05-11]. ISSN 2146-3123. Prieiga per: Web of Science.
 58. KO Y. C., et al. Cytarabine-resistant FLT3-ITD leukemia cells are associated with TP53 mutation and multiple pathway alterations—possible therapeutic efficacy of cabozantinib. *International Journal of Molecular Science* [interaktyvus]. MDPI, 2019, vol. 20 (5), 1230 [žiūrėta 2021-05-21]. ISSN 1422-0067. Prieiga per: Web of Science.