

Синтез и свойства 5-арил-3-диазо-3*H*-пиразолов и солей 3-арил-1*H*-пиразол-5-дiazония. Получение 2-арилпиразоло[5,1-*c*][1,2,4]бензотриазинов и изучение их цитолитической активности

Дарья Л. Алексеева¹, Виктория Ю. Рахимова¹, Артем С. Минин¹⁻³,
Анна В. Белоусова^{1,4}, Елена В. Садчикова^{1,2*}

¹ Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина,
ул. Мира, 19, Екатеринбург 620002, Россия; e-mail: e.v.sadchikova@urfu.ru

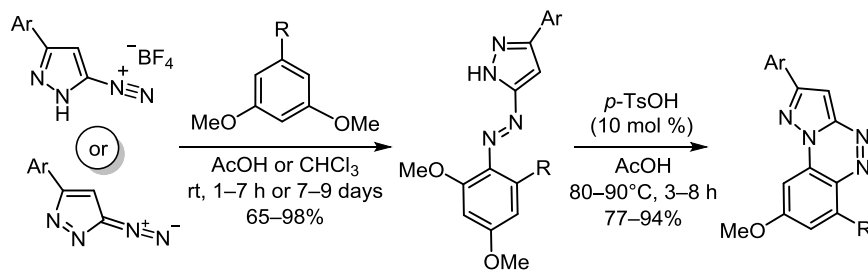
² Уральский государственный медицинский университет,
ул. Декабристов, 32, Екатеринбург 620026, Россия; e-mail: e.v.sadchikova@urfu.ru

³ Институт физики металлов им. М. Н. Михеева УрО РАН,
ул. Софьи Ковалевской, 18, Екатеринбург 620108, Россия; e-mail: calamatica@gmail.com

⁴ Институт иммунологии и физиологии УрО РАН,
ул. Первомайская, 106, Екатеринбург 620049, Россия; e-mail: an7777778@gmail.com

Поступило 23.07.2018

Принято после доработки 18.11.2018



Ar = Ph, 4-MeC₆H₄, 4-MeOC₆H₄, 4-ClC₆H₄; R = H, OMe

Выполнен сравнительный анализ физико-химических свойств и реакционной способности фторборатов 3-арил-1*H*-пиразол-5-дiazония и 5-арил-3-диазо-3*H*-пиразолов в реакциях *S*-азосочетания. Показано, что соли diaзония обладают большей реакционной способностью по сравнению с соответствующими 3-дiazопиразолами, что согласуется с их физико-химическими характеристиками. Осуществлена гетероциклизация синтезированных азосоединений с образованием 2-арилпиразоло[5,1-*c*][1,2,4]бензотриазинов и проведена оценка их противоопухолевой активности в отношении раковых клеток эндотелия матки человека HeLa и фибробластов кожи человека с помощью МТТ-теста и проточной цитометрии. Обнаружено, что все тестируемые соединения обладают средним и высоким цитотоксическим действием. Наилучший результат продемонстрировал 6,8-диметокси-2-фенилпиразоло[5,1-*c*][1,2,4]бензотриазин.

Ключевые слова: 2-арилпиразоло[5,1-*c*][1,2,4]бензотриазины, 3-дiazопиразолы, соли пиразол-5-дiazония, гетероциклизация, diaзотирование, противоопухолевая активность, *S*-азосочетание.

Обширные *in vitro* и *in vivo* исследования природных биологически активных соединений и их химических аналогов привели к увеличению количества противоопухолевых лекарственных средств, применяемых в клинической практике. Несмотря на значительные терапевтические успехи, рак является вторым в мире по распространенности смертельным заболеванием среди неинфекционных болезней, которые вызывают 70% от общего числа смертей.¹ Вследствие чего поиск новых лекарственных препаратов остается актуальной задачей современной науки.

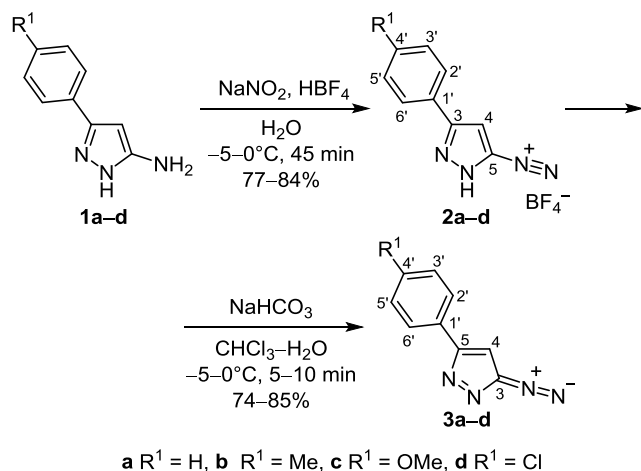
Дiazопиразолы и соли пиразолдiazония представляют интерес в качестве ключевых реагентов в синтезе новых гетероциклических систем, проявляющих противомикробную² и анксиолитическую³ активность, а также в качестве препаратов для лечения заболеваний центральной нервной системы.⁴ Одними из наиболее значимых продуктов на их основе являются производные пиразоло[5,1-*c*][1,2,4]-триазина, которые характеризуются некоторым структурным сходством с пуриновыми основаниями, что предопределило их использование в качестве антиметаболитов в противовирусной⁵ и противоопухолевой терапии.⁶

Несмотря на то, что химики-синтики широко используют азолы, содержащие в своей структуре диазофункцию, для решения прикладных экспериментальных задач, зачастую они не указывают, какая из форм была вовлечена во взаимодействие, что усложняет систематический анализ и прогнозирование результатов последующих исследований.⁷ Ранее нами были изучены методы получения, свойства⁸ и реакционная способность 5-замещенных 4-диазоимидазолов и соответствующих им солей 4-замещенного имидазол-5-диазона в реакциях, характерных для ароматических солей диазона.⁹

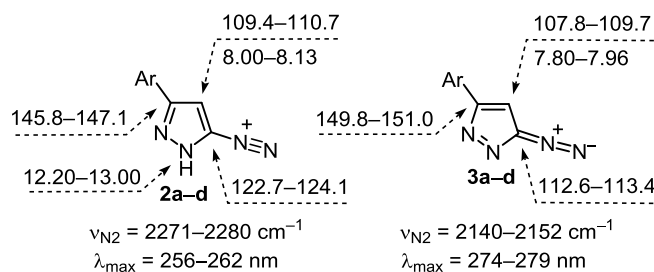
Целью настоящей работы является исследование свойств 5-замещенных 3-диазопиразолов и родственных им солей пиразол-5-диазона, их применение в качестве реагентов при получении ряда новых пиразоло[5,1-с][1,2,4]бензотриазинов и оценка их противоопухолевой активности.

Диазотирование 1*H*-пиразол-5-аминов **1a–d** проводили при действии водного раствора NaNO₂ на суспензию аминов **1a–d** в 48% водном растворе HBF₄ при строгом контроле температуры (–5–0 °С). Тетрафторбораты 3-арил-1*H*-пиразол-5-диазона **2a–d** были выделены в индивидуальном виде с высокими выходами. В результате последующей нейтрализации суспензии соединений **2a–d** в CHCl₃ водным раствором NaHCO₃ до pH 4–5 при 0 °С в индивидуальном виде были получены соответствующие 5-арил-3-диазо-3*H*-пиразолы **3a–d** (схема 1).¹⁰

Схема 1



Строение синтезированных солей 1*H*-пиразол-5-диазона **2a–d** и 3-диазо-3*H*-пиразолов **3a–d** исследовано с помощью спектроскопии УФ, ИК, ЯМР ¹H, ¹³C и ¹H–¹³C НМВС (рис. 1). В УФ спектрах, записанных в MeCN, максимум поглощения регистрируется в области 256–262 нм для фторборатов 3-арил-1*H*-пиразол-5-диазона **2a–d** и в области 274–279 нм для 5-арил-3-диазо-3*H*-пиразолов **3a–d**. В сравнении с полученными нами ранее аналогичными характеристиками для производных имидазола⁸ наблюдается гипсохромный сдвиг на 36–42 нм для солей диазона и на 56–59 нм для диазопроизводных. В ИК спектрах



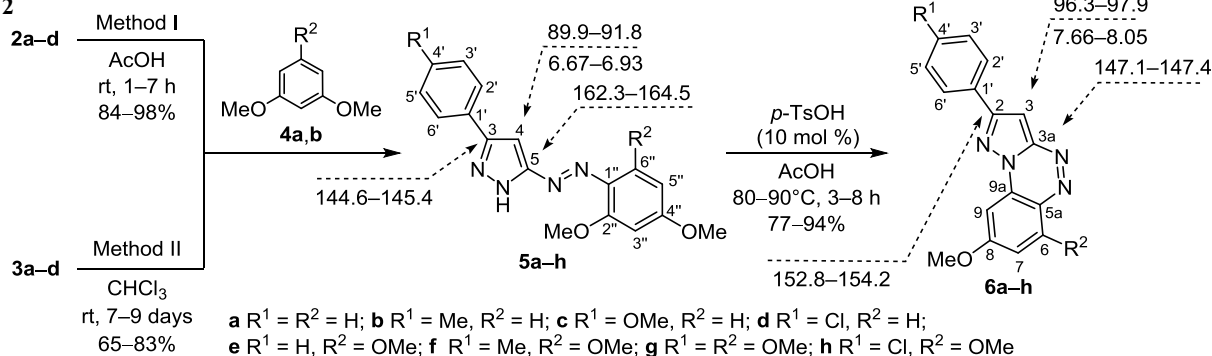
a Ar = Ph, b Ar = 4-MeC₆H₄, c Ar = 4-MeOC₆H₄, d Ar = 4-ClC₆H₄

Рисунок 1. Спектральные характеристики (ИК, УФ, ЯМР ¹H и ¹³C) соединений **2a–d** и **3a–d** (химические сдвиги в спектрах ЯМР приведены в м. д.).

соединений **3a–d** наблюдается узкая интенсивная полоса поглощения валентных колебаний диазогруппы в области 2140–2152 см⁻¹. Полоса валентных колебаний диазониевой функции в спектрах тетрафторборатов 3-арил-1*H*-пиразол-5-диазона **2a–d** смещена в область 2271–2280 см⁻¹. Частота валентных колебаний диазофункции может служить своеобразным индексом относительной электрофильности: чем больше значение, тем выше электрофильность соответствующей группы и тем выше должна быть реакционная способность содержащих ее соединений при взаимодействии с нуклеофилами.

В спектрах ЯМР ¹H 5-арил-3-диазо-3*H*-пиразолов **3a–d** отсутствуют сигналы протона NH и зарегистрирован синглет протона, связанного с атомом C-4 пиразольного цикла, в области 7.80–7.96 м. д., тогда как в спектрах соответствующих солей 3-арил-1*H*-пиразол-5-диазона **2a–d** наблюдаются сигналы подвижного протона в области 12.20–13.00 м. д. и слабopольный сдвиг протона H-4 в области 8.00–8.13 м. д. У незамещенных пиразолов сигнал данного протона проявляется при 6.25 м. д.¹¹ При использовании спектроскопии ЯМР ¹H также изучено взаимное превращение одной формы диазопроизводного в другую. В условиях записи протонных спектров добавление половины эквивалента, эквивалентного количества и избытка дейтерированной трифторуксусной кислоты (CF₃CO₂D) к раствору соединения **3d** в ДМСO-*d*₆ приводит к слабopольному смещению сигнала протона, связанного с атомом C-4 пиразольного цикла, на ~0.2 м. д. При этом все регистрируемые сигналы протонов соответствуют сигналам, присутствующим в спектре индивидуальной соли диазона **2d**. Следует отметить, что в условиях постепенного подкисления диазо раствора не наблюдается снижения интенсивности сигнала протона H-4 диазосоединения **3d** и накопления соответствующего сигнала для соли **2d**, то есть отсутствует прямое прототропное равновесие между соединениями **3d** и **2d**. При добавлении половины эквивалента CF₃CO₂D к раствору соединения **3d** в ДМСO-*d*₆ и постепенном увеличении температуры прибора от –40 до 30 °С не удалось зафиксировать ни образования промежуточного продукта, ни постепенного генерирования диазониевой соли **2d**, наблюдалось лишь одномоментное превращение одной формы диазопроизводного в

Схема 2



другую. Это означает, что диазосоединение **3d** напрямую не превращается в соль **2d**, и по аналогии с ранее полученными нами результатами при изучении кислотно-основных превращений в ряду 4-диазоимидазолов можно предположить, что в данном равновесии также присутствует как минимум еще один партнер.¹²

Отнесение сигналов атомов углерода в спектрах ЯМР ¹³C соединений **2a–d** и **3a–d** проводилось на основании комплексного анализа двумерных спектров ЯМР с привлечением корреляционной методики ¹H–¹³C НМВС. Наблюдаемые корреляции позволили однозначно интерпретировать химические сдвиги четвертичных атомов углерода. Для атома углерода C-5, связанного с диазониевой группой, в спектрах ЯМР ¹³C наблюдается слабополюный сдвиг в область 122.7–124.1 м. д. относительно сигнала атома углерода C-3 при диазогруппе (112.6–113.4 м. д.). Следует также отметить, что у всех изучаемых соединений атом углерода, связанный с диазофункцией, характеризуется сильнополюным сдвигом на ~10 м. д. в диазониевых солях и на ~20 м. д. в диазопиразолах по сравнению с обычным диапазоном нормального *sp*²-гибридизованного атома углерода в незамещенном цикле.¹⁰ Смещение химических сдвигов протона Н-4 и углерода C-5 в слабополюную область в спектрах солей 3-арил-1*H*-пиразол-5-диазония **2a–d**, по сравнению со спектрами диазопиразолов **3a–d**, указывает на снижение электронной плотности в гетероароматическом цикле, что влияет на повышение электрофильности диазониевой группы и, как следствие, на увеличение ее реакционной способности в отношении нуклеофильных агентов.

Нами исследована реакционная способность фторборатов 3-арил-1*H*-пиразол-5-диазония **2a–d** и соответствующих 5-арил-3-диазо-3*H*-пиразолов **3a–d** в реакциях *S*-азосочетания с 1,3-диметоксибензолом (**4a**) и 1,3,5-триметоксибензолом (**4b**) (схема 2). Показано, что соли 1*H*-пиразол-5-диазония **2a–d** реагируют с полиметоксипроизводными бензола **4a,b** при комнатной температуре в ледяной AcOH в течение 4–7 и 1–3 ч соответственно. При этом азосоединения **5a–h** образуются с выходами 84–98%. Следует отметить, что реакционная способность 5-арил-3-диазо-3*H*-пиразолов **3a–d** в реакциях *S*-азосочетания существенно ниже, нежели соответствующих солей диазония **2a–d**. Реакция в CHCl₃ проходит за 7–9 сут и приводит к получению азосоединений **5a–h** с выходами в среднем на

15–20% ниже. Важно подчеркнуть, что хроматографически в реакционной смеси не фиксировалось образования продуктов деметилирования, полученных в аналогичном превращении в ряду имидазолов.⁸ В целом реакционная способность соединений **2a–d** и **3a–d** в реакциях *S*-азосочетания несколько выше в сравнении с производными имидазола, но ниже, чем у производных триазола.¹³

Строение соединений **5a–h** подтверждено с помощью физико-химических методов анализа и превращением в соответствующие пиразоло[5,1-*c*][1,2,4]бензотриазины **6a–h**, являющиеся продуктами внутримолекулярной циклизации синтезированных азосоединений **5a–h** (схема 2). Механизм данного превращения рассматривался в ранее опубликованных работах.¹⁴ Доказательством образования продуктов гетероциклизации является, во-первых, отсутствие сигнала протона NH, во-вторых, смещение сигнала атома углерода C-3a в спектрах соединений **6a–h** в более сильное поле до 147.1–147.4 м. д., в сравнении с сигналом атома углерода C-5 азосоединений **5a–h** (162.3–164.5 м. д.), что связано с образованием системы сопряженных π-связей. Анализ спектров ¹H–¹³C НМВС позволил четко определить как четвертичные, так и связанные с протонами атомы углерода. Так, химические сдвиги атомов углерода C-3 и C-2 для пар соединений **5a–h** и **6a–h** соответственно были установлены по кросс-пикам с ароматическими протонами Н-2',6', а также с протонами Н-4 (соединения **5a–h**) и Н-3 (соединения **6a–h**) пиразольного цикла, свидетельствующими об их спин-спиновом взаимодействии. Определение сигнала атома углерода, непосредственно связанного с протоном, проводилось по наличию прямой КССВ: для атомов углерода C-4 (соединения **5a–h**) и C-3 (соединения **6a–h**) пиразольного цикла она составляет 179.0–184.2 Гц.

Таким образом, полученные для соединений **2a–d** и **3a–d** физико-химические характеристики хорошо коррелируют с результатами химического эксперимента по изучению их реакционной способности в реакциях по терминальному атому азота, а также с данными рентгеноструктурного анализа для родственных соединений.¹⁵ Это делает возможным использование физико-химических характеристик при планировании экспериментов с участием пятичленных азотистых гетероциклов, содержащих в своей структуре диазофункцию.

Современный протокол фармацевтического скрининга NCI60 был принят в 1990 г. Национальным институтом рака, США (National Cancer Institute, USA) и включает тестирование веществ на панели из 60 клеточных линий человека опухолевого происхождения.¹⁶ Однако традиционно, независимо от спектра последующего физиологического действия, исследование биологической активности вновь синтезированных соединений начинают с оценки их цитотоксичности.¹⁷

В данной работе для оценки цитотоксичности полученных соединений использовался колориметрический МТТ-тест.¹⁸ В качестве испытуемых клеток были выбраны хорошо изученные и часто используемые в таких исследованиях опухолевые клетки HeLa и фибробласты кожи человека.

Следует отметить, что исследование биологической активности соединений **6a–h** осложняется тем, что не все из них хорошо растворяются в H₂O, также как и в среде фосфатного буфера, являющегося основой культуральной среды DMEM. Для улучшения растворения в H₂O и стерилизации растворов все вещества обрабатывались ультразвуком. Для анализа и сравнения цитотоксического действия пиразоло[5,1-с][1,2,4]бензотриазинов **6a–h** была проведена серия экспериментов, в которых использовались несколько вариантов концентраций тестируемых образцов: 0.065 и 0.016 ммоль/л в фосфатном буфере и 0.016 ммоль/л в 1% водном растворе ДМСО. Для веществ, вносившихся в среду в виде их раствора в ДМСО, в качестве контроля использовалось соответствующее количество ДМСО.

При испытании на опухолевых клетках HeLa наилучший результат показали соединения **6e, f, h**, растворенные в фосфатном буфере (концентрация 0.065 ммоль/л), однако при растворении этих веществ в 1% водном ДМСО (концентрация 0.016 ммоль/л) они не отличаются высокой противоопухолевой активностью, за исключением соединения **6e**. При испытании влияния этих же соединений в аналогичных концентрациях на фибробласты кожи человека высокого губительного эффекта не наблюдалось, за исключением соединений **6f, h** (при концентрации 0.065 ммоль/л). Соединение **6e** обладает высокой активностью в отношении клеток HeLa как при концентрации 0.016 ммоль/л в 1% водном растворе ДМСО, так и при концентрации 0.065 ммоль/л в фосфатном буфере.

Влияние соединения **6e** как наиболее цитотоксичного было изучено при помощи проточной цитометрии (рис. 2). Было показано, что гибель клеток происходит по апоптотическому механизму, что может представлять интерес для медицины, так как апоптотическая гибель клеток опухоли менее травматична для окружающих тканей и всего организма в целом, чем некротическая.¹⁹

Цитотоксическое действие соединения **6e** было изучено на культуре опухолевых клеток HeLa (табл. 1). Исследуемое соединение стимулирует апоптоз клеток, однако в случае изменения концентрации соединения

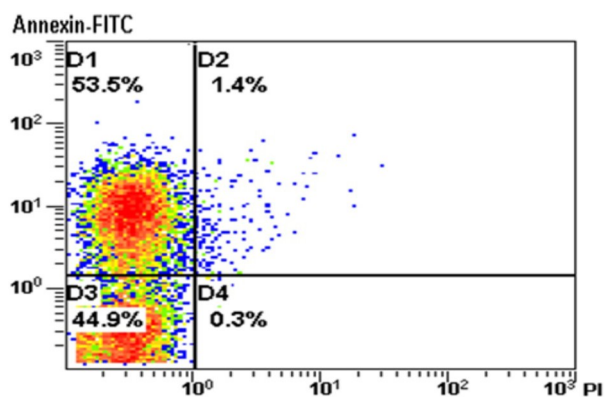


Рисунок 2. Данные о светорассеянии клеток, полученные для соединения **6e** методом проточной цитофлуориметрии и представленные на точечной диаграмме.

Таблица 1. Цитотоксическое действие соединения **6e** на культуру клеток HeLa (доля погибших клеток, %)

Вызываемые изменения	Концентрация соединения в фосфатном буфере, ммоль/л			Контроль
	0.030	0.015	0.003	
Ранний апоптоз	53.5	24.6	19.3	13.2
Ранний некроз	1.4	1.2	1.1	0.2
Поздний некроз	0.3	0.2	0.1	0.3

снижается и процентное содержание клеток, находящихся в зоне апоптоза.

Таким образом, были изучены цитолитические свойства пиразоло[5,1-с][1,2,4]бензотриазинов, синтезированных реакцией *S*-азосочетания фторборатов 3-арил-1*H*-пиразол-5-диазония и 5-арил-3-диазо-3*H*-пиразолов с 1,3-диметоксибензолом или 1,3,5-триметоксибензолом с последующей циклизацией полупродуктов, в отношении опухолевых клеток HeLa и фибробластов кожи человека в различных условиях с помощью МТТ-теста. Обнаружено, что 2-арил-6,8-диметоксипиразоло[5,1-с][1,2,4]бензотриазины с фенильной, *p*-толильной и 4-метоксифенильной группой в ДМСО обладают высоким цитотоксическим действием, но не только на опухолевые клетки, но и на здоровые, что является неприемлемым. Однако следует отметить, что 6,8-диметокси-2-фенилпиразоло[5,1-с][1,2,4]бензотриазин проявляет достаточно высокое токсическое действие (количество выживших клеток – 47%) в отношении клеток HeLa, при этом практически отсутствует такое (количество выживших клеток – 93%) в отношении фибробластов кожи человека, что, несомненно, представляет интерес. При проведении эксперимента выяснено, что гибель опухолевых клеток проходит по апоптотическому пути, а также установлено, что тестируемый 6,8-диметокси-2-фенилпиразоло[5,1-с][1,2,4]бензотриазин не вызывает некроза опухолевых клеток.

Экспериментальная часть

ИК спектры зарегистрированы на фурье-спектрометре Bruker Alpha (HPBO, ZnSe) в тонком слое. УФ спектры записаны на спектрофотометре PerkinElmer Lambda 35 в MeCN. Спектры ЯМР ¹H, ¹³C и ¹H-¹³C NMR

записаны на приборе Bruker Avance II 400 (400 и 100 МГц) в ДМСО- d_6 с использованием ТМС в качестве внутреннего стандарта. Температуры плавления определены на приборе Stuart SMP30. Элементный анализ выполнен на анализаторе PerkinElmer 2400 II. Контроль за ходом реакций и индивидуальностью полученных соединений осуществлен методом ТСХ на пластинах Silufol UV-254 (тип сорбента – силикагель СТХ-1А), элюент CHCl_3 –EtOH (3:1, 10:1) для соединений **2a–d** и **3a–d** или гексан–EtOAc (1:3) для соединений **5a–h** и **6a–h**.

Исходные 3-арил-1*H*-пиразол-5-амины **1–d** синтезированы по описанным методикам.²⁰

Синтез тетрафторборатов 3-арил-1*H*-пиразол-5-диазония 2a–d (общая методика). К охлажденной суспензии 1.0 ммоль 3-арил-1*H*-пиразол-5-амина **1a–d** в 3 мл 48% водного раствора HBF_4 медленно прикапывают ледяной раствор 83 мг (1.2 ммоль) NaNO_2 в 1 мл H_2O . Реакционную смесь перемешивают в течение 45 мин на ледяной бане, поддерживая температуру в интервале -5 – 0 °С. Окончание реакции фиксируют методом ТСХ по отсутствию исходного амина **1a–d**. Осадок отфильтровывают и сушат на воздухе.

Тетрафторборат 3-фенил-1*H*-пиразол-5-диазония (2a). Выход 207 мг (80%), бежевый порошок, т. пл. 129–130 °С (с разл.). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3222 (N–H), 2275 (N_2^+). УФ спектр, λ_{max} , нм (lg ϵ): 260 (4.26). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 7.55–7.61 (3H, м, H-3',4',5'); 7.90 (2H, д, $J = 7.3$, H-2',6'); 8.10 (1H, с, H-4); 12.80 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 110.2 (C-4); 122.7 (C-5); 126.4 (C-2',6'); 126.8 (C-4'); 129.5 (C-3',5'); 130.4 (C-1'); 147.1 (C-3).

Тетрафторборат 3-(*p*-толил)-1*H*-пиразол-5-диазония (2b). Выход 210 мг (77%), порошок кремового цвета, т. пл. 131–132 °С (с разл.). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3217 (N–H), 2280 (N_2^+). УФ спектр, λ_{max} , нм (lg ϵ): 257 (4.38). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 2.38 (3H, с, CH_3); 7.40 (2H, д, $J = 8.0$, H-3',5'); 7.80 (2H, д, $J = 8.0$, H-2',6'); 8.09 (1H, с, H-4); 12.20 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 21.0 (CH_3); 109.4 (C-4); 123.2 (C-4'); 123.8 (C-5); 126.4 (C-2',6'); 130.1 (C-3',5'); 140.7 (C-1'); 146.7 (C-3).

Тетрафторборат 3-(4-метоксифенил)-1*H*-пиразол-5-диазония (2c). Выход 225 мг (78%), желтый порошок, т. пл. 125–126 °С (с разл.). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3247 (N–H), 2271 (N_2^+). УФ спектр, λ_{max} , нм (lg ϵ): 262 (5.01). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 3.84 (3H, с, OCH_3); 7.12 (2H, д, $J = 8.7$, H-3',5'); 7.87 (2H, д, $J = 8.7$, H-2',6'); 8.00 (1H, с, H-4); 12.60 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 55.6 (OCH_3); 109.4 (C-4); 115.1 (C-3',5'); 118.2 (C-1'); 124.1 (C-5); 128.2 (C-2',6'); 146.5 (C-3); 161.2 (C-4').

Тетрафторборат 3-(4-хлорфенил)-1*H*-пиразол-5-диазония (2d). Выход 246 мг (84%), бежевый порошок, т. пл. 128–129 °С (с разл.). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3199 (N–H), 2275 (N_2^+). УФ спектр, λ_{max} , нм (lg ϵ): 256 (4.13). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 7.65 (2H, д, $J = 8.5$, H-3',5'); 7.91 (2H, д, $J = 8.5$, H-2',6'); 8.13 (1H, с, H-4); 13.00 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 110.7 (C-4); 123.6 (C-5); 125.3 (C-4'); 128.4 (C-2',6'); 129.7 (C-3',5'); 135.4 (C-1'); 145.8 (C-3).

Синтез 5-арил-3-диазо-3*H*-пиразолов 3a–d (общая методика). К охлажденной до 0 °С суспензии 1.0 ммоль соли 3-арил-1*H*-пиразол-5-диазония **2a–d** в 10 мл CHCl_3 при перемешивании медленно, в течение 10 мин, прикапывают ледяной 10% водный раствор NaHCO_3 до достижения pH 4–5. Двухфазную смесь после завершения добавления раствора NaHCO_3 выдерживают при температуре -5 – 0 °С и перемешивании в течение 5–10 мин. При наличии небольшой взвеси ее отфильтровывают, затем отделяют желтый органический слой. Дополнительно экстракцию 3 мл CHCl_3 проводят еще 2–3 раза до исчезновения диазосоединения в растворе H_2O , что контролируют качественной реакцией с *m*-фенилендиамином. Объединенный экстракт в CHCl_3 сушат над безводным Na_2SO_4 , растворитель упаривают при пониженном давлении. *Осторожно! При трении продукты 3a–d могут разлагаться со взрывом.*

3-Диазо-5-фенил-3*H*-пиразол (3a). Выход 145 мг (85%), желтый порошок, т. пл. 107–108 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 2150 ($=\text{N}^+=\text{N}^-$). УФ спектр, λ_{max} , нм (lg ϵ): 276 (4.42). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 7.32–7.34 (1H, м, H-4'); 7.45 (2H, д, $J = 7.5$, H-3',5'); 7.87 (1H, с, H-4); 7.95 (2H, д, $J = 7.5$, H-2',6'). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 109.3 (C-4); 113.0 (C-3); 125.7 (C-2',6'); 127.8 (C-1'); 128.9 (C-3',5'); 132.6 (C-4'); 151.0 (C-5).

3-Диазо-5-(*p*-толил)-3*H*-пиразол (3b). Выход 150 мг (81%), желто-оранжевый порошок, т. пл. 117–118 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 2141 ($=\text{N}^+=\text{N}^-$). УФ спектр, λ_{max} , нм (lg ϵ): 274 (4.46). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 2.33 (3H, с, CH_3); 7.25 (2H, д, $J = 7.9$, H-3',5'); 7.80 (1H, с, H-4); 7.84 (2H, д, $J = 7.9$, H-2',6'). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 20.8 (CH_3); 108.7 (C-4); 112.6 (C-3); 125.6 (C-2',6'); 129.4 (C-3',5'); 129.9 (C-4'); 137.1 (C-1'); 151.0 (C-5).

3-Диазо-5-(4-метоксифенил)-3*H*-пиразол (3c). Выход 148 мг (74%), желто-коричневый порошок, т. пл. 119–120 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 2140 ($=\text{N}^+=\text{N}^-$). УФ спектр, λ_{max} , нм (lg ϵ): 279 (4.42). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 3.85 (3H, с, OCH_3); 7.07 (2H, д, $J = 8.7$, H-3',5'); 7.82 (2H, д, $J = 8.7$, H-2',6'); 7.96 (1H, с, H-4). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 55.5 (OCH_3); 107.8 (C-4); 112.5 (C-3); 114.2 (C-3',5'); 125.3 (C-1'); 127.0 (C-2',6'); 150.8 (C-5); 159.0 (C-4').

3-Диазо-5-(4-хлорфенил)-3*H*-пиразол (3d). Выход 160 мг (78%), желтый порошок, т. пл. 117–118 °С. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 2152 ($=\text{N}^+=\text{N}^-$). УФ спектр, λ_{max} , нм (lg ϵ): 274 (4.15). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 7.50 (2H, д, $J = 8.6$, H-3',5'); 7.90 (1H, с, H-4); 7.98 (2H, д, $J = 8.6$, H-2',6'). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 109.7 (C-4); 113.4 (C-3); 127.3 (C-2',6'); 128.9 (C-3',5'); 131.5 (C-4'); 132.2 (C-1'); 149.8 (C-5).

Синтез 3-арил-5-[(2,4-диметоксифенил)диазенил]- и 3-арил-5-[(2,4,6-триметоксифенил)диазенил]-1*H*-пиразолов 5a–h. Метод I. К суспензии 1.0 ммоль соли диазония **2a–d** в 4 мл ледяной AcOH при комнатной температуре добавляют соответственно 0.14 мл (1.1 ммоль) 1,3-диметоксибензола (**4a**) или 185 мг (1.1 ммоль) 1,3,5-триметоксибензола (**4b**). Реакционную смесь выдерживают в этих условиях при перемешивании до исчезновения исходной соли диазония **2a–d**,

контроль методом ТСХ (1–7 ч). Затем осадок отфильтровывают, промывают 10 мл Et₂O и сушат на воздухе.

Метод II. К раствору 1.0 ммоль диазосоединения **3a–d** в 5 мл CHCl₃ при комнатной температуре и перемешивании добавляют соответственно 0.14 мл (1.1 ммоль) 1,3-диметоксибензола (**4a**) или 185 мг (1.1 ммоль) 1,3,5-триметоксибензола (**4b**). Реакционную смесь выдерживают в этих условиях при перемешивании до исчезновения исходного диазосоединения **3a–d**, контроль методом ТСХ (7–9 сут). Затем осадок отфильтровывают, промывают 10 мл Et₂O и сушат на воздухе.

5-[(2,4-Диметоксифенил)диазенил]-3-фенил-1H-пирозол (5a). Выход 280 мг (91%, метод I), 210 мг (68%, метод II), оранжевый порошок, т. пл. 105–106 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 3.88 (3H, с, OCH₃); 3.99 (3H, с, OCH₃); 6.64 (1H, д, J = 9.0, J = 2.4, H-5''); 6.77 (1H, д, J = 2.4, H-3''); 6.85 (1H, с, H-4); 7.35–7.39 (1H, м, H-4); 7.44–7.48 (2H, м, H-3',5''); 7.63 (1H, д, J = 9.0, H-6''); 7.84 (2H, д, J = 7.8, H-2',6''); 9.27 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 55.4 (OCH₃); 56.3 (OCH₃); 91.3 (C-4); 99.6 (C-3''); 106.4 (C-5''); 117.4 (C-6''); 125.1 (C-3',5''); 128.0 (C-1'); 128.5 (C-2',6''); 129.9 (C-4''); 136.4 (C-1''); 145.4 (C-3); 158.3 (C-2''); 162.3 (C-5); 163.4 (C-4''). Найдено, %: С 65.98; Н 5.29; N 18.24. C₁₇H₁₆N₄O₂. Вычислено, %: С 66.22; Н 5.23; N 18.17.

5-[(2,4-Диметоксифенил)диазенил]-3-(p-толил)-1H-пирозол (5b). Выход 288 мг (89%, метод I), 226 мг (70%, метод II), желто-оранжевый порошок, т. пл. 153–154 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 2.37 (3H, с, CH₃); 3.88 (3H, с, OCH₃); 3.99 (3H, с, OCH₃); 6.56 (1H, д, J = 8.8, J = 2.0, H-5''); 6.67 (1H, д, J = 2.0, H-3''); 6.74 (1H, с, H-4); 7.22 (2H, д, J = 7.8, H-3',5''); 7.65 (1H, д, J = 8.8, H-6''); 7.68 (2H, д, J = 7.8, H-2',6''); 8.64 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 20.8 (CH₃); 55.7 (OCH₃); 56.1 (OCH₃); 90.6 (C-4); 99.2 (C-3''); 106.3 (C-5''); 117.3 (C-6''); 125.2 (C-3',5''); 126.7 (C-1'); 129.5 (C-2',6''); 136.0 (C-4''); 137.9 (C-1''); 144.8 (C-3); 158.4 (C-2''); 163.4 (C-5); 163.6 (C-4''). Найдено, %: С 66.89; Н 5.55; N 17.27. C₁₈H₁₈N₄O₂. Вычислено, %: С 67.07; Н 5.63; N 17.38.

5-[(2,4-Диметоксифенил)диазенил]-3-(4-метоксифенил)-1H-пирозол (5c). Выход 285 мг (84%, метод I), 220 мг (65%, метод II), желтый порошок, т. пл. 131–132 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 3.81 (3H, с, OCH₃); 3.87 (3H, с, OCH₃); 3.99 (3H, с, OCH₃); 6.55 (1H, д, J = 8.8, J = 2.4, H-5''); 6.67 (1H, д, J = 2.4, H-3''); 6.73 (1H, с, H-4); 6.96 (2H, д, J = 8.3, H-3',5''); 7.66 (1H, д, J = 8.8, H-6''); 7.72 (2H, д, J = 8.3, H-2',6''); 8.79 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 55.3 (OCH₃); 55.7 (OCH₃); 56.2 (OCH₃); 90.1 (C-4); 99.2 (C-3''); 106.3 (C-5''); 114.4 (C-3',5''); 117.4 (C-6''); 122.1 (C-1'); 126.8 (C-2',6''); 136.1 (C-1''); 144.7 (C-3); 158.5 (C-4''); 159.5 (C-2''); 163.6 (C-4''); 164.5 (C-5). Найдено, %: С 63.74; Н 5.31; N 16.61. C₁₈H₁₈N₄O₃. Вычислено, %: С 63.89; Н 5.36; N 16.56.

5-[(2,4-Диметоксифенил)диазенил]-3-(4-хлорфенил)-1H-пирозол (5d). Выход 323 мг (94%, метод I), 247 мг (72%, метод II), оранжевый порошок, т. пл. 115–116 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 3.88 (3H, с, OCH₃); 3.97 (3H, с, OCH₃); 6.65 (1H, д, J = 8.8, J = 2.3, H-5''); 6.78

(1H, д, J = 2.3, H-3''); 6.93 (1H, с, H-4); 7.54 (2H, д, J = 8.5, H-3',5''); 7.64 (1H, д, J = 8.8, H-6''); 7.91 (2H, д, J = 8.5, H-2',6''); 10.35 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 55.8 (OCH₃); 56.2 (OCH₃); 91.8 (C-4); 99.2 (C-3''); 106.5 (C-5''); 117.5 (C-6''); 127.1 (C-3',5''); 129.0 (C-2',6''); 129.1 (C-4''); 133.0 (C-1'); 136.1 (C-1''); 144.6 (C-3); 158.7 (C-2''); 162.5 (C-5); 163.9 (C-4''). Найдено, %: С 59.38; Н 4.21; Cl 10.42; N 16.53. C₁₇H₁₅ClN₄O₂. Вычислено, %: С 59.57; Н 4.41; Cl 10.34; N 16.34.

5-[(2,4,6-Триметоксифенил)диазенил]-3-фенил-1H-пирозол (5e). Выход 322 мг (95%, метод I), 281 мг (83%, метод II), оранжевый порошок, т. пл. 164–165 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 3.84 (6H, с, OCH₃); 3.88 (3H, с, OCH₃); 6.30 (2H, с, H-3',5''); 6.75 (1H, с, H-4); 7.31–7.34 (1H, м, H-4''); 7.40–7.46 (2H, м, H-3',5''); 7.80 (2H, д, J = 7.8, H-2',6''); 9.40 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 55.8 (OCH₃); 56.3 (2OCH₃); 91.1 (C-4); 91.8 (C-3',5''); 125.4 (C-3',5''); 126.8 (C-1''); 128.5 (C-4''); 129.1 (C-2',6''); 130.0 (C-1'); 145.3 (C-3); 154.4 (C-2',6''); 162.1 (C-4''); 163.2 (C-5). Найдено, %: С 63.74; Н 5.31; N 16.62. C₁₈H₁₈N₄O₃. Вычислено, %: С 63.89; Н 5.36; N 16.56.

3-(p-Толлил)-5-[(2,4,6-триметоксифенил)диазенил]-1H-пирозол (5f). Выход 345 мг (98%, метод I), 256 мг (73%, метод II), оранжево-красный порошок, т. пл. 199–200 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 2.37 (3H, с, CH₃); 3.83 (6H, с, OCH₃); 3.88 (3H, с, OCH₃); 6.31 (2H, с, H-3',5''); 6.70 (1H, с, H-4); 7.23 (2H, д, J = 7.5, H-3',5''); 7.68 (2H, д, J = 7.5, H-2',6''); 9.32 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 20.9 (CH₃); 55.7 (OCH₃); 56.3 (2OCH₃); 90.6 (C-4); 91.7 (C-3',5''); 125.3 (C-3',5''); 126.8 (C-1''); 127.1 (C-1'); 129.6 (C-2',6''); 138.0 (C-4''); 145.1 (C-3); 154.3 (C-2',6''); 162.0 (C-4''); 163.3 (C-5). Найдено, %: С 64.82; Н 5.78; N 15.76. C₁₉H₂₀N₄O₃. Вычислено, %: С 64.76; Н 5.72; N 15.90.

3-(4-Метоксифенил)-5-[(2,4,6-триметоксифенил)диазенил]-1H-пирозол (5g). Выход 327 мг (89%, метод I), 260 мг (71%, метод II), оранжевый порошок, т. пл. 115–116 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 3.82 (3H, с, OCH₃); 3.85 (6H, с, OCH₃); 3.89 (3H, с, OCH₃); 6.31 (2H, с, H-3',5''); 6.67 (1H, с, H-4); 6.96 (2H, д, J = 8.5, H-3',5''); 7.73 (2H, д, J = 8.5, H-2',6''); 9.78 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 55.3 (OCH₃); 55.6 (OCH₃); 56.2 (2OCH₃); 89.9 (C-4); 91.7 (C-3',5''); 114.4 (C-3',5''); 122.4 (C-1''); 126.7 (C-2',6''); 126.8 (C-1'); 144.8 (C-3); 154.1 (C-2',6''); 159.4 (C-4''); 161.6 (C-4''); 163.6 (C-5). Найдено, %: С 61.83; Н 5.55; N 15.09. C₁₉H₂₀N₄O₄. Вычислено, %: С 61.95; Н 5.47; N 15.21.

5-[(2,4,6-Триметоксифенил)диазенил]-3-(4-хлорфенил)-1H-пирозол (5h). Выход 358 мг (96%, метод I), 287 мг (77%, метод II), оранжевый порошок, т. пл. 181–182 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 3.85 (6H, уш. с, OCH₃); 3.89 (3H, с, OCH₃); 6.30 (2H, с, H-3',5''); 6.80 (1H, с, H-4); 7.42 (2H, д, J = 8.3, H-3',5''); 7.83 (2H, д, J = 8.3, H-2',6''); 9.64 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 55.7 (OCH₃); 56.3 (2OCH₃); 91.6 (C-4); 91.8 (C-3',5''); 126.8 (C-1''); 127.1 (C-3',5''); 129.1 (C-2',6''); 129.3 (C-4''); 132.9 (C-1'); 144.9 (C-3); 154.5 (C-2',6''); 162.2 (C-4''); 162.4 (C-5). Найдено, %: С 57.96; Н 4.58; Cl 9.53;

N 14.98. $C_{18}H_{17}ClN_4O_3$. Вычислено, %: C 57.99; H 4.60; Cl 9.51; N 15.03.

Синтез 2-арилпиразоло[5,1-с][1,2,4]бензотриазинов 6а–h (общая методика). Растворяют 1 ммоль азосоединения **5а–h** в 5 мл ледяной $AcOH$, затем добавляют 17 мг (10 моль. %) $p-TsOH$. Реакционную смесь выдерживают при температуре 80–90 °С и перемешивании до исчезновения исходного азосоединения **5а–h**, контроль методом ТСХ (3–8 ч), затем растворитель упаривают при пониженном давлении на две трети объема и охлаждают реакционную смесь. Образовавшийся осадок отфильтровывают, перекристаллизовывают из $EtOH$ и сушат.

8-Метокси-2-фенилпиразоло[5,1-с][1,2,4]бензотриазин (6а). Выход 218 мг (79%), оранжевый порошок, т. пл. 206–207 °С. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 4.03 (3H, с, OCH_3); 7.29 (1H, д, д, $J = 9.1, J = 2.5$, H-7); 7.42–7.46 (1H, м, H-4'); 7.49–7.52 (2H, м, H-3',5'); 7.63 (1H, д, $J = 2.5$, H-9); 7.83 (1H, с, H-3); 8.11 (2H, д, $J = 7.3$, H-2',6'); 8.39 (1H, д, $J = 9.1$, H-6). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 56.6 (OCH_3); 94.2 (C-9); 97.8 (C-3); 117.6 (C-7); 126.4 (C-3',5'); 127.2 (C-5a); 128.9 (C-2',6'); 129.3 (C-1'); 131.6 (C-4'); 132.3 (C-6); 133.9 (C-9a); 147.2 (C-3a); 154.0 (C-2); 164.4 (C-8). Найдено, %: C 69.58; H 4.42; N 20.25. $C_{16}H_{12}N_4O$. Вычислено, %: C 69.55; H 4.38; N 20.28.

8-Метокси-2-(*p*-толил)пиразоло[5,1-с][1,2,4]бензотриазин (6б). Выход 273 мг (94%), красно-коричневый порошок, т. пл. 189–190 °С. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 2.42 (3H, с, CH_3); 4.12 (3H, с, OCH_3); 7.31 (2H, д, $J = 8.0$, H-3',5'); 7.34 (1H, д, д, $J = 9.1, J = 2.4$, H-7); 7.74 (1H, с, H-3); 7.78 (1H, д, $J = 2.4$, H-9); 8.03 (2H, д, $J = 8.0$, H-2',6'); 8.46 (1H, д, $J = 9.1$, H-6). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 21.0 (CH_3); 56.8 (OCH_3); 94.2 (C-9); 97.6 (C-3); 117.8 (C-7); 126.3 (C-3',5'); 127.4 (C-5a); 128.9 (C-1'); 129.6 (C-2',6'); 132.5 (C-6); 134.0 (C-9a); 139.1 (C-4'); 147.4 (C-3a); 154.2 (C-2); 164.5 (C-8). Найдено, %: C 70.15; H 4.82; N 19.48. $C_{17}H_{14}N_4O$. Вычислено, %: C 70.33; H 4.86; N 19.30.

8-Метокси-2-(4-метоксифенил)пиразоло[5,1-с][1,2,4]бензотриазин (6с). Выход 254 мг (83%), бордовый порошок, т. пл. 219–220 °С. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 3.85 (3H, с, OCH_3); 4.09 (3H, с, OCH_3); 7.09 (2H, д, $J = 8.2$, H-3',5'); 7.36 (1H, д, д, $J = 9.1, J = 2.4$, H-7); 7.70 (1H, д, $J = 2.4$, H-9); 7.84 (1H, с, H-3); 8.10 (2H, д, $J = 8.2$, H-2',6'); 8.46 (1H, д, $J = 9.1$, H-6). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 55.1 (OCH_3); 56.5 (OCH_3); 94.2 (C-9); 96.9 (C-3); 114.2 (C-3',5'); 117.3 (C-7); 124.1 (C-1'); 127.2 (C-5a); 127.7 (C-2',6'); 132.2 (C-6); 133.9 (C-9a); 147.2 (C-3a); 154.0 (C-2); 160.2 (C-4'); 164.3 (C-8). Найдено, %: C 66.49; H 4.54; N 18.42. $C_{17}H_{14}N_4O_2$. Вычислено, %: C 66.66; H 4.61; N 18.29.

8-Метокси-2-(4-хлорфенил)пиразоло[5,1-с][1,2,4]бензотриазин (6д). Выход 242 мг (78%), желтый порошок, т. пл. 216–217 °С. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 4.11 (3H, с, OCH_3); 7.45 (1H, д, д, $J = 9.0, J = 2.5$, H-7); 7.64 (2H, д, $J = 8.4$, H-3',5'); 7.82 (1H, д, $J = 2.5$, H-9); 8.05 (1H, с, H-3); 8.23 (2H, д, $J = 8.4$, H-2',6'); 8.54 (1H, д, $J = 9.0$, H-6). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 56.5

(OCH_3); 94.4 (C-9); 97.9 (C-3); 117.4 (C-7); 127.1 (C-5a); 127.9 (C-3',5'); 128.7 (C-2',6'); 130.4 (C-1'); 132.3 (C-6); 133.9 (C-9a); 134.0 (C-4'); 147.1 (C-3a); 152.8 (C-2); 164.4 (C-8). Найдено, %: C 61.69; H 3.46; Cl 11.54; N 18.08. $C_{16}H_{11}ClN_4O$. Вычислено, %: C 61.84; H 3.57; Cl 11.41; N 18.03.

6,8-Диметокси-2-фенилпиразоло[5,1-с][1,2,4]бензотриазин (6е). Выход 236 мг (77%), светло-желтый порошок, т. пл. 229–230 °С. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 4.09 (3H, с, OCH_3); 4.11 (3H, с, OCH_3); 6.74 (1H, д, $J = 2.5$, H-9); 7.30 (1H, д, $J = 2.5$, H-7); 7.41–7.44 (1H, м, H-4'); 7.48–7.52 (2H, м, H-3',5'); 7.71 (1H, с, H-3); 8.13 (2H, д, $J = 7.3$, H-2',6'). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 56.3 (OCH_3); 56.4 (OCH_3); 86.3 (C-7); 96.9 (C-3); 98.0 (C-9); 126.1 (C-3',5'); 126.6 (C-5a); 127.7 (C-9a); 128.5 (C-2',6'); 128.9 (C-4'); 131.5 (C-1'); 147.2 (C-3a); 153.9 (C-2); 158.8 (C-8); 165.6 (C-6). Найдено, %: C 66.47; H 4.56; N 18.37. $C_{17}H_{14}N_4O_2$. Вычислено, %: C 66.66; H 4.61; N 18.29.

6,8-Диметокси-2-(*p*-толил)пиразоло[5,1-с][1,2,4]бензотриазин (6ф). Выход 282 мг (88%), желтый порошок, т. пл. 245–246 °С. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 2.42 (3H, с, CH_3); 4.09 (3H, с, OCH_3); 4.11 (3H, с, OCH_3); 6.74 (1H, с, H-9); 7.29 (2H, д, $J = 7.5$, H-3',5'); 7.30 (1H, с, H-7); 7.66 (1H, с, H-3); 8.01 (2H, д, $J = 7.5$, H-2',6'). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 20.5 (CH_3); 56.3 (OCH_3); 56.4 (OCH_3); 86.3 (C-7); 96.5 (C-3); 97.9 (C-9); 126.0 (C-3',5'); 126.6 (C-5a); 127.7 (C-9a); 128.7 (C-1'); 129.1 (C-2',6'); 138.6 (C-4'); 147.2 (C-3a); 154.0 (C-2); 158.8 (C-8); 165.5 (C-6). Найдено, %: C 67.30; H 4.94; N 17.37. $C_{18}H_{16}N_4O_2$. Вычислено, %: C 67.49; H 5.03; N 17.49.

6,8-Диметокси-2-(4-метоксифенил)пиразоло[5,1-с][1,2,4]бензотриазин (6г). Выход 276 мг (82%), желтый порошок, т. пл. 220–221 °С. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 3.85 (3H, с, OCH_3); 4.08 (3H, с, OCH_3); 4.10 (3H, с, OCH_3); 6.83 (1H, уш. с, H-9); 7.10 (2H, д, $J = 8.8$, H-3',5'); 7.33 (1H, уш. с, H-7); 7.76 (1H, с, H-3); 8.09 (2H, д, $J = 8.8$, H-2',6'). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 55.1 (OCH_3); 56.5 (OCH_3); 56.6 (OCH_3); 86.3 (C-7); 96.3 (C-3); 98.0 (C-9); 114.3 (C-3',5'); 124.1 (C-5a); 126.7 (C-9a); 127.7 (C-2',6'); 127.9 (C-1'); 147.4 (C-3a); 154.1 (C-2); 158.8 (C-8); 160.2 (C-4'); 165.7 (C-6). Найдено, %: C 64.35; H 4.84; N 16.46. $C_{18}H_{16}N_4O_3$. Вычислено, %: C 64.28; H 4.79; N 16.66.

6,8-Диметокси-2-(4-хлорфенил)пиразоло[5,1-с][1,2,4]бензотриазин (6h). Выход 273 мг (80%), оранжевые хлопья, т. пл. 230–231 °С. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д. (J , Гц): 4.09 (3H, с, OCH_3); 4.11 (3H, с, OCH_3); 6.76 (1H, с, H-9); 7.28 (1H, с, H-7); 7.50 (2H, д, $J = 7.0$, H-3',5'); 7.77 (1H, с, H-3); 8.13 (2H, д, $J = 7.0$, H-2',6'). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 56.6 (OCH_3); 56.7 (OCH_3); 86.4 (C-7); 97.4 (C-3); 98.4 (C-9); 126.9 (C-5a); 127.9 (C-9a); 128.0 (C-3',5'); 128.9 (C-2',6'); 130.5 (C-1'); 133.9 (C-4'); 147.4 (C-3a); 152.8 (C-2); 158.9 (C-8); 165.8 (C-6). Найдено, %: C 59.84; H 3.77; Cl 10.63; N 16.26. $C_{17}H_{13}ClN_4O_2$. Вычислено, %: C 59.92; H 3.85; Cl 10.40; N 16.44.

Биологические исследования соединений 6а–h. Культуры клеток HeLa и фибробластов человека получены из банка клеточных культур Института цитологии РАН (Санкт-Петербург, Россия). Культуры клеток подерживаются в культуральных флаконах (Eppendorf,

Германия) в среде DMEM (Sigma-Aldrich, США) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Biolot, Россия) и 0.5% гентамицина.

МТТ-тест проводят следующим образом: клетки пересевают в 96-луночный планшет (Eppendorf, Германия) и культивируют в течение 1 сут до концентрации примерно 10^5 клеток/мл, после чего к ним добавляют раствор исследуемого соединения **6a–h** в дистиллированной H_2O , фосфатном буфере или ДМСО (концентрация 0.065 или 0.016 ммоль/л). В качестве контроля соответственно используется дистиллированная H_2O , фосфатный буфер или ДМСО. Через 72 ч инкубации среда меняется на чистую и добавляется бромид метилтиазолилдифенилтетразолия (Biolot, Россия) до концентрации в среде 0.1 мг/мл, инкубация с красителем осуществляется в течение 4 ч, после чего среда удаляется и краситель экстрагируется из клеток при помощи ДМСО. Интенсивность окраски определяется с помощью планшетного фотометра BioTek ELx808 (Fisher Scientific, США) на длине волны 540 нм.

Оценка цитотоксического действия соединения (определение некротического и апоптотического действия) осуществляется при помощи проточного цитометра FC500 (Beckman Coulter, США) и набора Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit (Abscam, Великобритания), содержащего антитела к аннексину, меченные FITC, и ядерный краситель иодид пропидия. Для исследования клетки культивируются в 24-луночных планшетах до концентрации 10^4 клеток/мл, после чего в среду добавляется исследуемое соединение **6a–h**, растворенное в фосфатном буфере (pH 7.5). Инкубация с веществом проводится в течение 48 ч, после чего клетки отщепляются от планшета раствором Трипсина-Версена (Biolot, Россия). Далее суспензия клеток исследуется при помощи проточного цитометра по инструкции производителя.

Файл сопроводительных материалов для представителей каждого класса изучаемых соединений, содержащий ИК спектры соединений **2a**, **3b** и спектры ЯМР 1H , ^{13}C и 1H - ^{13}C НМВС соединений **2a**, **3b**, **5a,e** и **6a,g**, доступен на сайте <http://hgs.osi.lv>.

Список литературы

1. World Health Statistics 2017: Monitoring Health for the SDGs, Sustainable Development Goals; World Health Organization: Geneva, 2017.
2. (a) Gouda, M. A.; Berghot, M. A.; Abd El-Ghani, Ghada E.; Khalil, A. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 1338. (b) Mohamed, H. A.; Abdel-Wahab, B. F.; Abdel-Latif, E. *J. Chem. Pharm. Res.* **2015**, *7*, 1218.
3. Gilligan, P. J.; Folmer, B. K.; Hartz, R. A.; Koch, S.; Nanda, K. K.; Andreuski, S.; Fitzgerald, L.; Miller, K.; Marshall, W. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 4093.
4. Guerrini, G.; Ciciani, G.; Costanzo, A.; Daniele, S.; Martini, C.; Ghelardini, C.; Di Cesare Mannelli, L.; Ciattini, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 2186.
5. Karpenko, I.; Deev, S.; Kiselev, O.; Charushin, V.; Rusinov, V.; Ulomsky, E.; Deeva, E.; Yanvarev, D.; Ivanov, A.; Smirnova, O.; Kochetkov, S.; Chupakhin, O.; Kukhanova, M. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, *54*, 2017.
6. Ciciani, G.; Coronnello, M.; Guerrini, G.; Selli, S.; Cantore, M.; Failli, P.; Mini, E.; Costanzo, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 9409.
7. (a) Tišler, M.; Stanovnik, B. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1980**, *16*, 443. [Химия гетероцикл. соединений **1980**, 579.] (b) Cirrincione, G.; Almerico, A. M.; Aiello, E.; Dattolo, G. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1990**, *48*, 65. (c) Ledenyova, I. V.; Didenko, V. V.; Shikhaliev, Kh. S. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2014**, *50*, 1214. [Химия гетероцикл. соединений **2014**, 1318.]
8. Sadchikova, E. V.; Mokrushin, V. S. *Rus. Chem. Bull., Int. Ed.* **2003**, *52*, 1600. [Изв. АН, Сер. хим. **2003**, 1516.]
9. Sadchikova, E. V.; Mokrushin, V. S. *Rus. Chem. Bull., Int. Ed.* **2005**, *54*, 354. [Изв. АН, Сер. хим. **2005**, 348.]
10. Magee, W. L.; Rao, C. B.; Glinka, J.; Hui, H.; Amick, T. J.; Fiscus, D.; Kakodkar, S.; Nair, M.; Shechter, H. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 5538.
11. Pretsch, E.; Bühlmann, P.; Affolter, C. *Structure Determination of Organic Compounds. Tables of Spectral Data*; Springer-Verlag: Berlin, 2000, p. 104, 186.
12. (a) Mokrushin, V. S.; Selezneva, I. S.; Pospelova, T. A.; Usova, V. K. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1997**, *33*, 1086. [Химия гетероцикл. соединений **1997**, 1245.] (b) Sadchikova, E. V.; Mokrushin, V. S.; Pospelova, T. A.; Selezneva, I. S. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1999**, *35*, 176. [Химия гетероцикл. соединений **1999**, 199.]
13. *Химия гетероциклических diazosоединений*; Мокрушин, В. С.; Садчикова, Е. В., Ред.; Проспект Науки: СПб., 2013.
14. (a) Bamberger, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1899**, *32*, 1773. (b) Reimlinger, H.; van Overstraeten, A. *Chem. Ber.* **1966**, *99*, 3350.
15. (a) Leban, I.; Stanovnik, B.; Tišler, M. *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci., Cryst. Eng. Mater.* **1978**, *B34*, 293. (b) Almerico, A. M.; Cirrincione, G.; Aiello, E.; Dattolo, G. *Farmaco Sci.* **1988**, *43*, 1047. (c) Daidone, G.; Maggio, B.; Raimondi, M. V.; Bombieri, G.; Marchini, N.; Artali, R. *Heterocycles* **2005**, *65*, 2753. (d) Parrish, D. A.; Kramer, S.; Windler, G. K.; Chavez, D. E.; Leonard, P. W. *Acta Crystallogr., Sect. E: Crystallogr. Commun.* **2015**, *E71*, o491.
16. Shoemaker, R. H. *Nat. Rev. Cancer* **2006**, *6*, 813.
17. Гильдеева, Г. Н. *Вестн. Росздрава* **2015**, *5*, 59.
18. Mosmann, T. *J. Immunol. Methods* **1983**, *65*, 55.
19. Wang, D.; Lippard, S. J. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2005**, *4*, 307.
20. Checchi, S.; Papini, P.; Ridi, M. *Gazz. Chim. Ital.* **1955**, *85*, 1160.