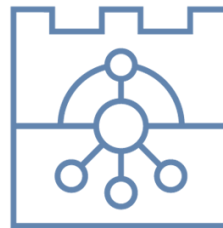




Szkoła Doktorska
Politechniki Krakowskiej



*Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki,
Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej,
Katedra Chemii i Technologii Organicznej C-2.*

Rozprawa Doktorska

mgr inż. Karolina Zawadzińska

SYNTEZA NOWYCH NITROFUNKCJONALIZOWANYCH POŁĄCZEŃ HETEROCYKlicZNYCH NA DRODZE [3+2] CYKLOADDYCJI

*Synthesis of novel heterocyclic nitrocompounds via [3+2] cycloaddition reaction.
Síntesis de nuevos nitrocompuestos heterocíclicos mediante la reacción de cicloadición [3+2]*

Promotor: dr hab. inż. Radomir Jasiński, prof. nadzw. PK

Promotor pomocniczy: dr inż. Karolina Kula

*„Gutta cavat lapidem non vi,
sed saepe cadendo,
sic homo doctus fit non vi,
sed saepe studendo”*

- Kropla drąży kamień nie siłą, lecz częstym spadaniem,
tak też człowiek nie staje się uczonym gwałtownie,
lecz przez to, że często się uczy.

Publius Ovidius Naso, Epistulae ex Ponto IV.

Spis treści

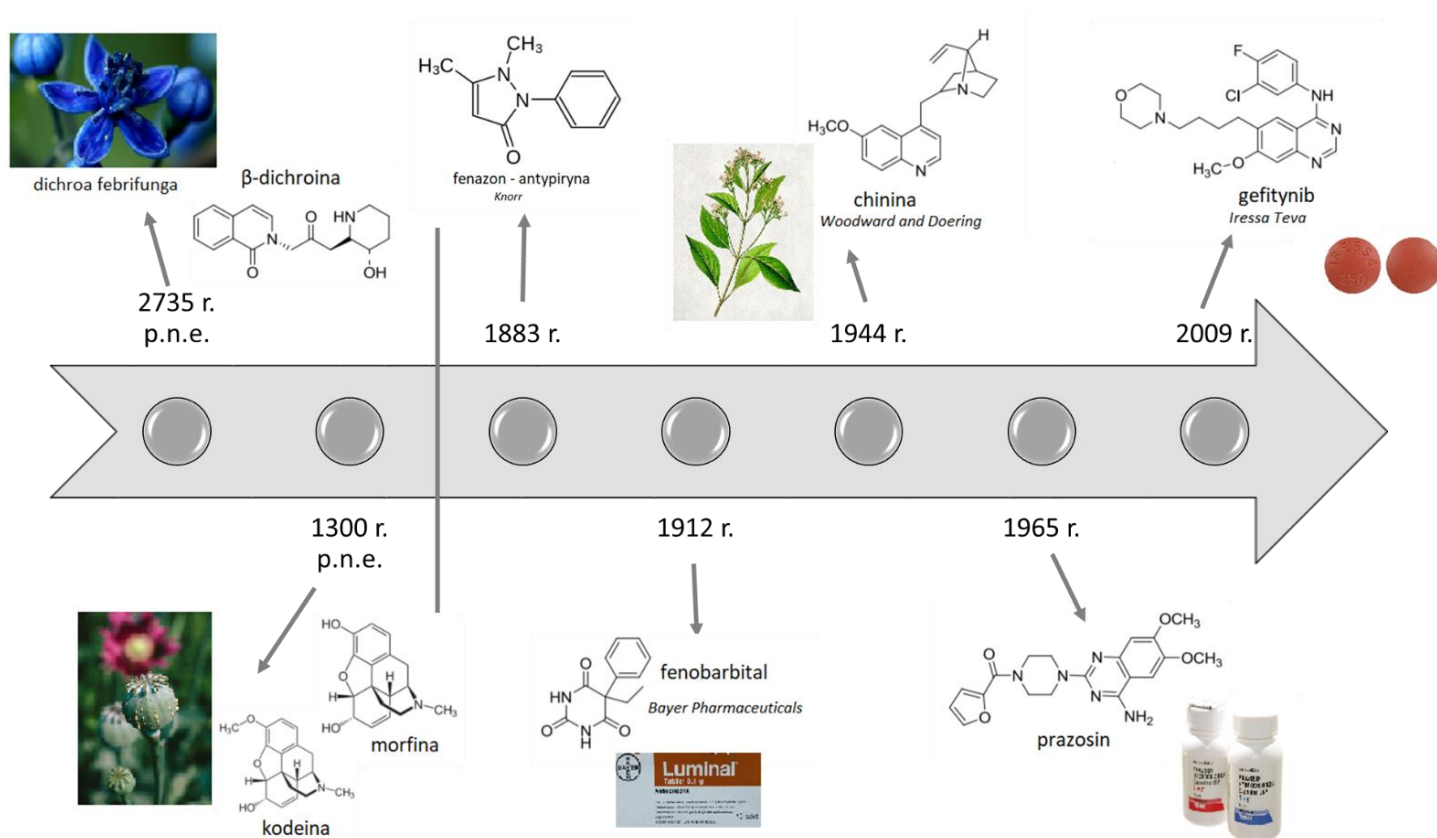
WSTĘP	5
I. CZĘŚĆ LITERATUROWA	8
1.1. Izoksazol i jego analogi – ogólna charakterystyka i ich zastosowanie.....	8
1.2. Metody otrzymywania izoksazoli i ich analogów.....	16
1.3. Mechanistyczne aspekty reakcji [3+2] cykloaddycji	23
II. CZĘŚĆ BADAWCZA.....	30
2.1. Cel i zakres pracy.....	30
2.2. Synteza komponentów [3+2] cykloaddycji i ich prekursorów.....	31
2.3. Kwantowo-chemiczne studia reakcji [3+2] cykloaddycji.....	35
2.3.1. Ocena reaktywności komponentów reakcji na bazie teorii CDFT	36
2.3.2. Struktura elektronowa reagentów - analiza ELF	39
2.3.3. Analiza profili energetycznych [3+2] cykloaddycji N-tlenków benzonitryli 1a-e oraz nitroalkenów 2 i 3	41
2.4. Regioselektywność [3+2] cykloaddycji N-tlenków nitryli z nitroalkenami	50
2.6. Charakterystyka procesu formowania się wiązań w toku analizy BET	71
2.7. Badanie potencjalnej aktywności biologicznej otrzymanych Δ^2 -izoksazolin na drodze dokowania molekularnego	75
III. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA	84
3.1. Aparatura i techniki analityczne	84
3.2. Spis użytych odczynników	86
3.3. Synteza obiektów badań.....	88
3.3.1. Synteza aromatycznych oksymów.....	88
3.3.2. Synteza chlorków kwasów hydroksamowych.....	89
3.3.3. Synteza (E)-3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-enu	91
3.3.4. Synteza (E)-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enu	92
3.3.5. Synteza 3-(R-fenilo)- 4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazolin	94
3.3.6. Synteza 3-(R-fenilo)- 4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazolin	97
IV. WNIOSKI.....	101
V. STRESZCZENIE	103
VI. ABSTRACT.....	104
VII. ABSTRACTO	105
VIII. PIŚMIENNICTWO CYTOWANE	106
V. WYKAZ DOROBKU NAUKOWEGO	116

5.1. Artykuły w czasopismach naukowych indeksowanych przez JCR.....	116
5.2. Artykuły w czasopismach naukowych nieindeksowane przez JCR.....	116
5.3. Rozdział w monografii:	117
5.4. Konferencje naukowe	117
5.5. Pozostałe osiągnięcia.....	119

WSTĘP

W chemii organicznej pod pojęciem heteroatomu rozumie się każdy inny atom niż atom węgla, który stanowi strukturę molekuly. W większości przypadków heteroatom wprowadzony do związku organicznego powoduje zmianę jego reaktywności, a więc jego przydatności w dalszej syntezie lub bezpośredniej aplikacji. Najczęściej spotykanymi heteroatomami w związkach organicznych są azot, siarka oraz tlen. Obecność w strukturze któregoś z wymienionych pierwiastków powoduje wymuszone oddziaływanie wolnych par elektronowych z atomem węgla, doprowadzając do wystąpienia na nim deficytu elektronowego. Konsekwencją tego jest zmiana reaktywności nowej cząsteczki polegającej na, przykładowo, zwiększeniu aktywności biologicznej [1-2].

Heterocykliczne związki organiczne to takie, które zawierają w pierścieniu co najmniej jeden heteroatom. Są one szeroko rozpowszechnione i stanowią jeden z najszerzej opisanych działów chemii organicznej. Szacuje się, że wśród około 20 milionów zidentyfikowanych i opatentowanych związków chemicznych aż 1/6 stanowią heterocykle. Ze względu na ich właściwości i aktywność biologiczną znajdują zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu. Zdecydowana większość farmakoforów, kosmetyków, agrochemikaliów, dodatków do tworzyw sztucznych, czy środków antykorozyjnych dostępnych obecnie na rynku w swojej strukturze zawiera pierścień heterocykliczny [3-5],[6-8]. (Rys.1).



Rys.1. Zastosowanie związków heterocyklicznych w medycynie.

Wspólną cechą wszystkich heterocykli, jest to, że łatwo ulegają modyfikacjom, co daje możliwość zaprojektowania ich późniejszego, szerokiego zastosowania w syntezie organicznej. Łatwość wprowadzania do pierścienia heterocyklicznego różnych grup funkcyjnych sprawia, że związki te cieszą się ogromnym zainteresowaniem wśród naukowców, a chemia układów heterocyklicznych stale się rozwija.

Wśród ważnych heterocykli wyróżnić należy izoksazol i jego analogi [9]. Związki te posiadają w swojej strukturze jeden atom tlenu i jeden atom azotu w sąsiednich pozycjach w pierścieniu. Taka budowa ma bezpośredni wpływ na ich szerokie spektrum aktywności biologicznych i potencjał terapeutyczny [10]. Jak podaje literatura, pierścień izoksazolowy zajmuje 33 miejsce na 351 układów heterocyklicznych pod względem aplikowalności w popularnych lekach. W związku z powyższym, izoksazol i jego analogi stanowią ważne farmakofory, a zainteresowanie nowymi sposobami ich syntezy jest bardzo duże [11].

Istnieje szereg metod syntezy izoksazolu oraz jego funkcjonalizowanych pochodnych i analogów [12]. Jednakże, większość z nich ma mało uniwersalny charakter, a ponadto są one mało selektywne i nie realizują, zgodnie z promowanymi obecnie postulatami, tak zwanej Zielonej Chemii. Do jednej z najbardziej popularnej i powszechnie stosowanej metody syntezy

izoksazoli oraz ich analogów można zaliczyć reakcję alkenów z nitronami, ketoazenami, karbonyloiminami, czy N-tlenkami nitryli [13]-[14].

W ramach mojej pracy doktorskiej postanowiłam zająć się syntezą tego rodzaju połączeń w sposób stereoselektywny. Dysertacja stanowi podsumowanie kompleksowych studiów nad syntezą Δ^2 -izoksazolin funkcjonalizowanych grupami nitrową oraz trihalometylową. Do tego celu posłużyły mi reakcje [3+2] cykloaddycji z udziałem N-tlenków nitryli oraz sprzężonych nitroalkenów.

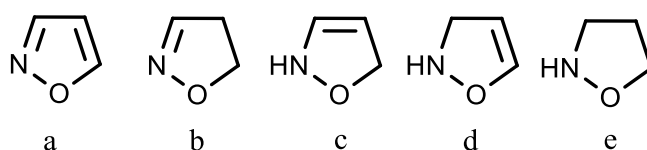
W efekcie oczekiwałam otrzymać serię Δ^2 -izoksazolin funkcjonalizowanych grupami nitrową oraz tribromo- i trichlorometylową wraz z opisem kwantowo-chemicznym procesu ich otrzymywania i próbą określenia aktywności biologicznej.

Praca składa się z trzech części. W części literaturowej przedstawiłam charakterystykę izoksazoli i ich analogów oraz omówiłam właściwości, zastosowanie i metody syntezy tych związków, jak również - w sposób syntetyczny - opisałam najważniejsze informacje dotyczące mechanistycznych aspektów reakcji [3+2] cykloaddycji. W drugiej części przedstawiłam wyniki badań własnych. W tym celu, najpierw wykonałam badania kwantowo-chemiczne obejmujące analizę ELF struktur elektronowych stosowanych reagentów, ocenę ich reaktywności w oparciu o teorię CDFT, a następnie przeprowadziłam analizę profili energetycznych badanych reakcji z pełną charakterystyką procesu formowania się wiązań w toku analizy BET. W kolejnym fragmencie dysertacji, przebadalam reakcje [3+2] cykloaddycji N-tlenków nitryli z nitroalkenami na gruncie eksperymentalnym. Badania te obejmowały syntezę addentów, dobór warunków reakcji oraz wyizolowanie powstałych produktów i ich identyfikację w oparciu o charakterystyki spektralne. Na sam koniec, dla zsyntezowanych Δ^2 -izoksazolin wykonałam testy dokowania molekularnego. W trzeciej części przedstawiłam wykaz stosowanych technik badawczych oraz metodyki syntezy reagentów i prowadzenia reakcji [3+2] cykloaddycji. Pracę zamykają ogólne wnioski, spis cytowanej literatury oraz wykaz dorobku naukowego powiązanego tematycznie z treścią rozprawy.

I. CZĘŚĆ LITERATUROWA

1.1. Izoksazol i jego analogi – ogólna charakterystyka i ich zastosowanie

Izoksazole to grupa heterocyklicznych związków organicznych, zawierających w swojej strukturze pięcioatomowy pierścień, w skład którego wchodzi trzy atomy węgla oraz sąsiadujące ze sobą atom azotu i tlenu. Wewnątrz pierścienia znajdują się dwa wiązania podwójne (Rys. 2a). W zależności od stopnia nasycenia pierścienia izoksazolu, wyróżniamy także izoksazoliny (Rys. 2b-d), posiadające w swojej strukturze jedno wiązanie podwójne oraz izoksazolidyny (Rys. 2e), będące w pełni nasyconymi analogami izoksazolu [15].

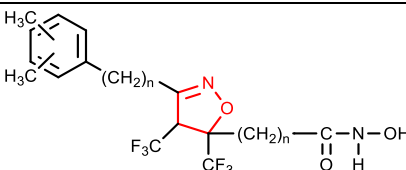
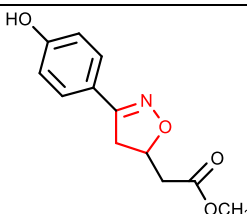
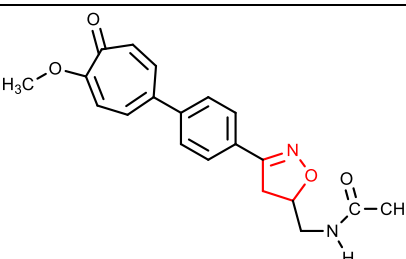
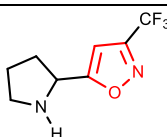


Rys.2. Izoksazol i jego podstawowe pochodne [15].

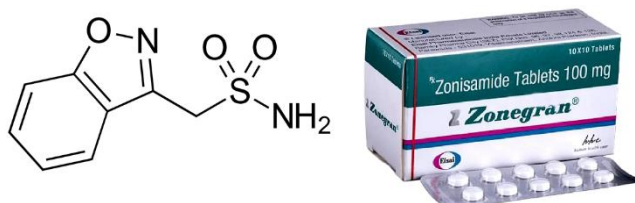
Izoksazole i ich analogi wykorzystywane są do wielu syntez organicznych. Związki tej klasy są stosowane do otrzymywania między innymi nitryli, β -hydroksyketonów, jak również α,β -nienasyconych ketonów i oksymów [8]. Stanowią one doskonałe prekursory w syntezie β -aminokwasów, C-disacharydów, a także imino lub amino polioli [16].

Same izoksazole i ich analogi wykazują różnorodne aktywności biologiczne. Posiadają one między innymi właściwości przeciwbakteryjne, antybiotyczne, przeciwnowotworowe, przeciwgrzybicze oraz przeciwgruźlicze [17]. Z kolei analogi izoksazoli jakimi są izoksazoliny, charakteryzują się właściwościami przewidobnoustrojowymi. W związku z tym możliwe jest zastosowanie ich jako leków przeciwzapalnych [13]-[14]. Dzięki stymulacji przez izoksazoliny ośrodkowego układu nerwowego związki te zaliczane są także do antydepresantów [12-16]. Z kolei nukleozydy, które zawierają ugrupowanie izoksazolinowe, wykazują aktywność przewirusową [12]. Z tego powodu, zaliczają się do szerokiej gamy farmakoforów stosowanych w wielu środkach terapeutycznych [12-16]. W Tabeli 1 przedstawiono zestawienie patentów dotyczących kilku związków zawierających ugrupowanie izoksazolinowe o zastosowaniu zgodnym z ich powyższą charakterystyką.

Tab.1. Zestawienie aktywności biologicznej wybranych związków na bazie analogów izoksazolu.

PATENT	STRUTURA ZWIĄZKU	DZIAŁANIE
US005716967A [18]		Selektywne inhibitory fosfodiasterazy typu IV, stosowane w leczeniu AIDS, reumatyzmu, działanie przeciwzapalne
US007662843B2 [19]		Działanie przeciwnowotworowe, przeciwzapalne,
US0059901.36A [20]		Antybakteryjne,
EP0588917A4 [21]		Preparat hamujący zapotrzebowanie na nikotynę, Leki hamujące rozwój choroby Alzheimera.

W literaturze, obszernie opisane jest lecznicze działanie związków zawierających pierścień izoksazolowy lub izoksazolinowy. Komercyjnie dostępne leki to np. *Zonisamid* pod nazwą *Zonegran* (Rys.3). Związek ten zawiera ugrupowanie izoksazolowe i wykazuje działanie antyepileptyczne, ale może być także stosowany w leczeniu choroby Alzheimera [24-25].



Rys.3. Struktura chemiczna Zonisamidu w komercyjnie dostępnym leku pod nazwą Zonegran.

Innym przykładem medykamentu z pierścieniem izoksazolowy jest *Seromycin*. Zawiera on w swoim składzie substancję czynną o nazwie *Cykloseryna*. Lek ten znajduje zastosowanie przede wszystkim w leczeniu gruźlicy czy też mykobakteriozy płuc [24].

Kolejną substancją czynną zawierającą pierścień izoksazolowy jest *Flucloxacilinum*. Związek ten jest składnikiem preparatu o nazwie *Floxapen* (Rys. 4), który stosuje się jako antybiotyk w stanach zapalnych skóry i tkanek miękkich, a także stanach zapalnych górnych dróg oddechowych [25]. Ciekawym aspektem, z punktu widzenia apikalności tej substancji, są badania przeprowadzone przez zespół *Fayomi'ego*. Wykazali oni, że *Floxapen* może być wykorzystywany jako czynnik hamujący występowanie elektrochemicznej korozji w stopach zawierających aluminium [26].



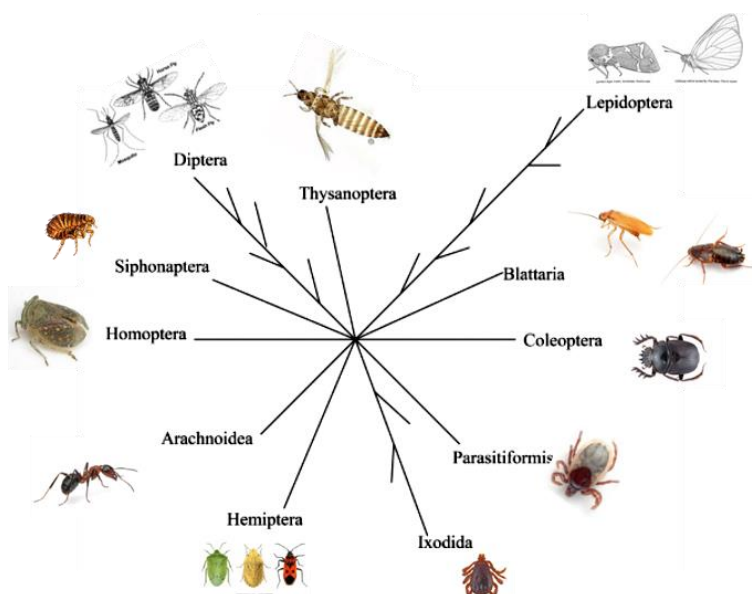
Rys.4. Struktura chemiczna *Flucloxacilinum* w komercyjnie dostępnym leku *Floxapen*.

Izoksazole i ich analogi znalazły także zastosowanie w przemyśle rolniczym i w weterynarii. Związki te wykazują aktywność owadobójczą i z powodzeniem mogą być stosowane jako środki ochrony roślin oraz środki prewencyjne dla zwierząt [27]. Przykłady takich związków znajdują się w Tabeli 2.

Tab.2. Zestawienie właściwości nowo zsyntezowanych związków na bazie analogów izoksazolu.

PATENT	STRUKTURA ZWIĄZKU	DZIAŁANIE
US11278533B2 [28]		Działanie owadobójcze, przeciwpasożytnicze,
US7338967 [29]		Herbicyd,
EP3473101A1 [30]		Działanie przeciwpasożytnicze dla zwierząt i roślin,

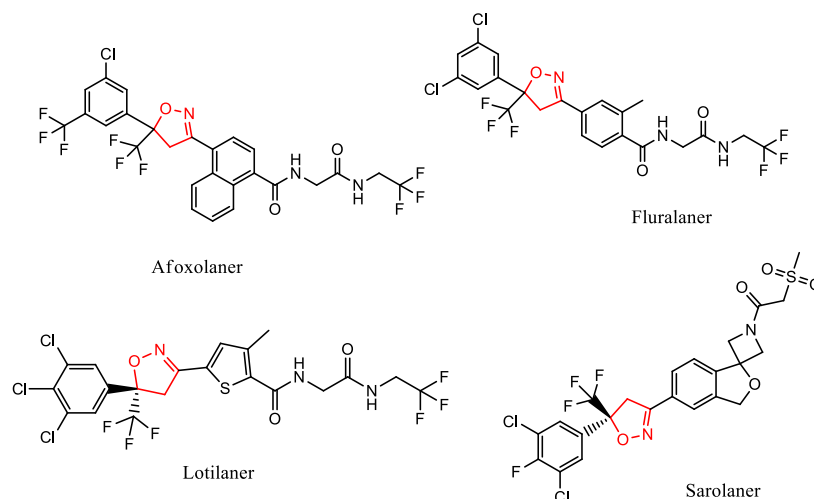
Związki zawierające pierścień izoksazolinowy powszechnie wykorzystywane są w terapii przeciw ektopasożytom, aplikowanym w weterynarii. Szerokie spektrum ich działania obejmuje wiele rodzajów owadów pasożytujących na zwierzętach hodowlanych (Rys.5).



Rys.5. Spektrum działania owadobójczego w leczeniu przeciw ektopasożytom u zwierząt domowych [31]

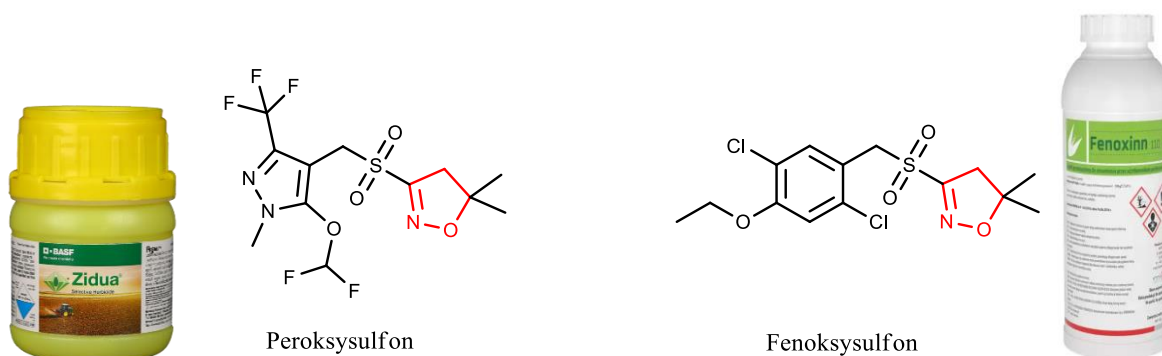
Do najbardziej powszechnej i popularnej substancji obecnej w lekach dla zwierząt zawierającej w swojej budowie pierścień izoksazolinowy należy *Fluralaner*. Związek jest dostępny w preparatach pod handlową nazwą *Exzolt* oraz *Bravecto*. Leki te stosowane są prewencyjnie przeciwko ektopasożytom u drobiu [32] oraz u psów i kotów [33] (Rys.6). Ponadto, preparaty charakteryzują się bardzo szybkim i celowanym działaniem, nawet do czterech miesięcy. Nie wykazują one również toksycznego wpływu na zdrowie zwierząt ani ludzi [34].

Innymi przykładami izoksazolin komercyjnie dostępnych jako substancje czynne w lekach dla zwierząt są *Afoxolaner* (nazwa preparatu *NexGard*), działający biobójczo na pchły u psów i kotów [35], *Lotilaner* (nazwa preparatu *Credelio*), stanowiący skuteczny lek na szeroki zakres ektopasożytów psów i kotów [36], *Sarolaner* (nazwa preparatu *Simparica*), który także wykazuje działania na szerokie spektrum pasożytów zewnętrznych, zwalczając inwazję pcheł, nużycy, świerzbowca usznego, czy też kleszczy u psów i kotów [37].



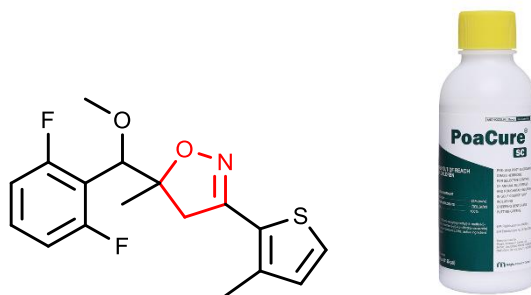
Rys.6. Struktury związków składających się na substancje czynne wykorzystywane w weterynarii.

Oprócz medycznego zastosowania, izoksazoliny z powodzeniem są aplikowane także w rolnictwie jako środki ochrony roślin. I tak, *Pyroxasulfon*, występujący komercyjnie jako *Zidua* (Rys. 6), stosowany jest przy uprawie zbóż. Zapobiega on wzrostowi traw i chwastów, gdyż absorbowany przez korzenie działa na nie przerzedzająco, co pozwala na łatwe kontrolowanie rozrostu niepożądanych roślin [27]. Podobne działanie wykazuje *Fenoxasulfon* (Rys.7), który jest głównie stosowany jako środek zwalczający chmielowica w uprawie ryżu [38].



Rys.7. Struktura chemiczna pyroksasulfonu.

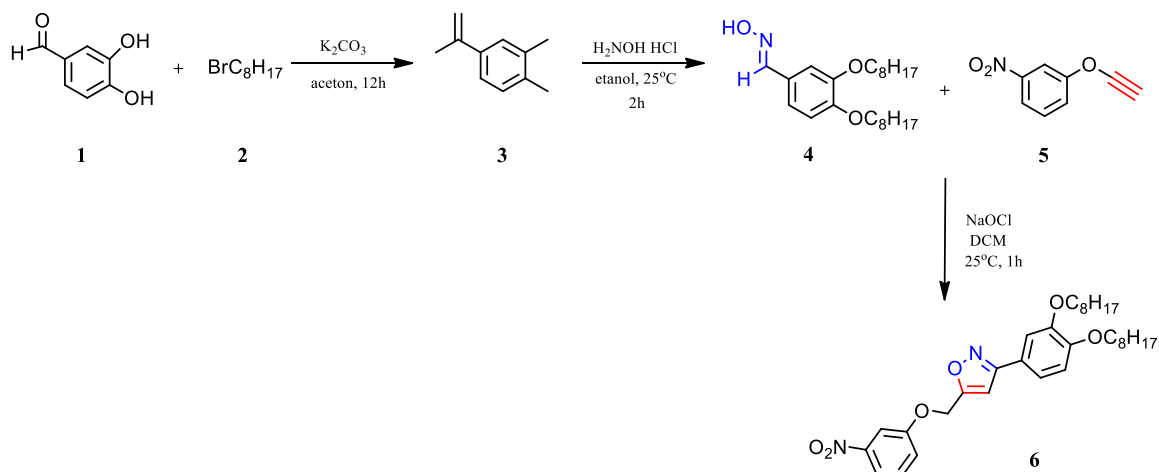
Do herbicydów zawierających ugrupowanie izoksazolinowe należy zaliczyć *Methiozolin* występujący pod handlową nazwą *PoaCure* (Rys.8). Preparat stosowany jest głównie przy uprawie ryżu [39], ale także w celu kontrolowania rozrostu chwastów z gatunku wiechliny rocznej na trawnikach, boiskach sportowych czy polach golfowych. Środek wykazuje powolne i długotrwałe działanie oraz jest wysoce odporny na warunki atmosferyczne [39][40].



Rys.8. Struktura chemiczna methiozolinu.

Inne zastosowania substancji zawierających pierścień izoksazolinowy:

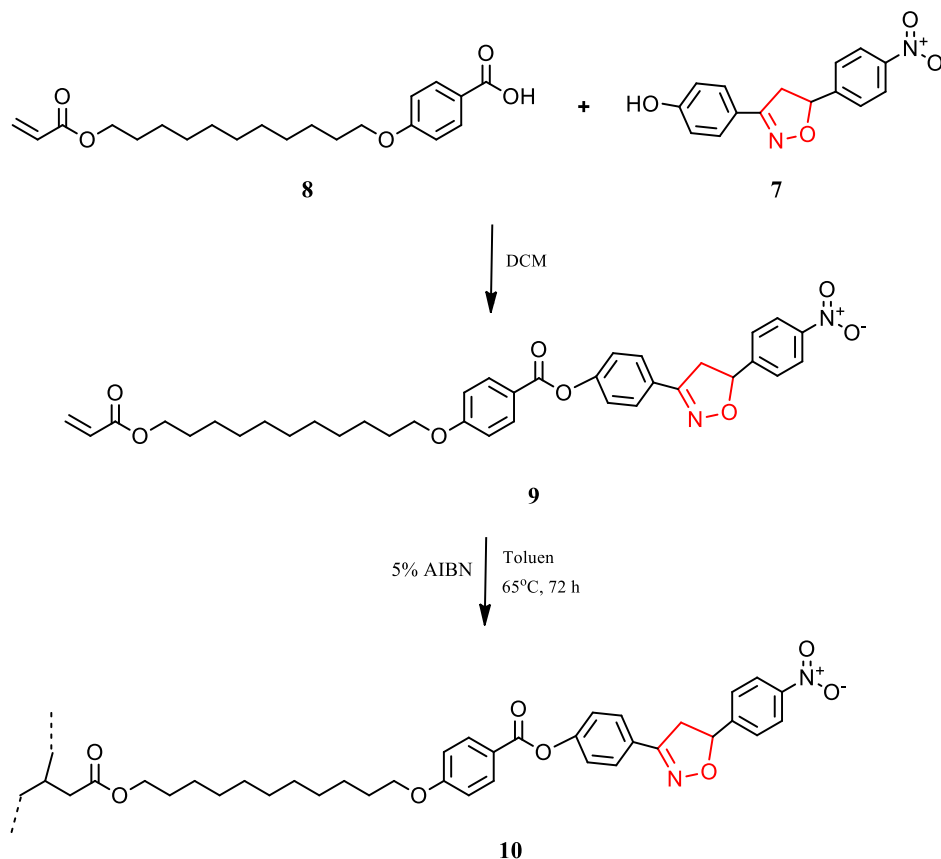
Kumar i współpracownicy [29] przeprowadzili wielostopniową syntezę nowych małowczątkowych substancji żelujących, zawierających w strukturze pierścień izoksazolinowy (Sch.1). Pierwszy etap polegał na reakcji 3,4-dihydroksybenzaldehydu **1** z 1-bromooktanem **2**. Produkt **3** posłużył do otrzymania 3,4-dioktylooksybenzoksymu **4**, który kolejno w reakcji addycji z 1-nitro-3-prop-2-ynoksybenzenem **5** w obecności NaOCl, prowadzonej w DCM, pozwolił na otrzymanie 3-(3,4-di(oktyloksy)fenylo)-5-((3-nitrofenoksy)-metylo)-izoksazolu **6**. Związek ten został przetestowany, jako substancja żelująca ułatwiająca separację bisfenolu A z roztworów wodnych. Zaobserwowany proces selektywnego żelowania pozwala na zastosowanie tego typu związków np. przy usuwaniu wycieków ropy naftowej do mórz i oceanów [41].



Sch.1. Wielostopniowa synteza 3-(3,4-di(oktyloksy)fenylo)-5-((3-nitrofenoksy)-metylo)-izoksazolu **6**, jako substancji żelującej.

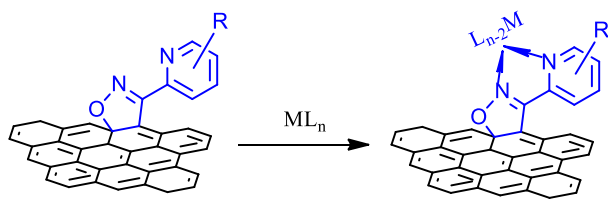
Paso i współpracownicy [30] do syntezy poliakrylanów, zastosowali związki zawierające pierścień izoksazolinowy. Synteza tych związków zachodzi w dwóch etapach. W pierwszym etapie otrzymywany jest monomer **9** poprzez reakcję estryfikacji 3-(4-hydroksyfenylo)-5-(4-nitrofenylo)-izoksazolinu **7** i kwasu 4-(11-(akryloiloksy)-undecyloksy)-

benzoesowego **8**. Otrzymany produkt zostaje następnie poddany reakcji polimeryzacji wolnorodnikowej z zastosowaniem 5% azobis(izobutyro)nitrylu (AIBN) w toluenie (Sch2.). Gotowy poliakrylan **10** wykazuje właściwości ciekło-krystaliczne i może znaleźć zastosowanie przy produkcji telewizorów, monitorów [42].



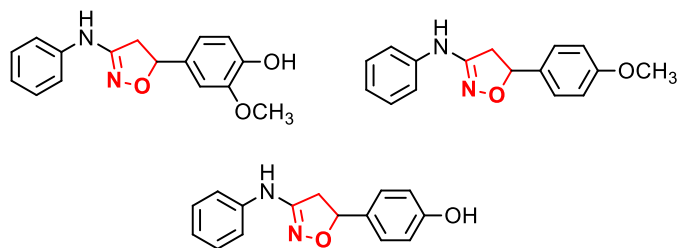
Sch.2. Wielostopniowa synteza poliakrylanu.

Prężny rozwój chemii nanomateriałów warunkuje kolejne zastosowanie izoksazolin [43]. Luo i in. [44] w swoich badaniach zastosowali segment 3-(3-pirydylo)-isoksazolinowy (Sch.3.), w roli funkcjonalizatora struktury grafenu i nanorurek węglowych. Wprowadzony do struktury nanomateriału, pierścień izoksazolinowy, umożliwił efektywne utworzenie kompleksów z metalami grup przejściowych, które następnie skutecznie wykorzystano w elektrokatalizowanej reakcji otrzymywania tlenu cząsteczkowego. Wykazano także, że obecność pierścienia izoksazolinowych zapobiega tworzeniu się aglomeratów nanocząstek. Odkrycie to stanowi nowe rozwiązanie dla nowoczesnych heterogenicznych układów katalitycznych i nie tylko. Dzięki obecności grupy funkcyjnej w postaci pierścienia izoksazolinowego, dotychczasowe nanonapełniacze zyskują nowe właściwości fizykochemiczne.



Sch.3. Schemat tworzenia kompleksów metali z grafenem funkcjonalizowanym układem sprzężonych pierścieni izoksazolinowego i pirydynowego

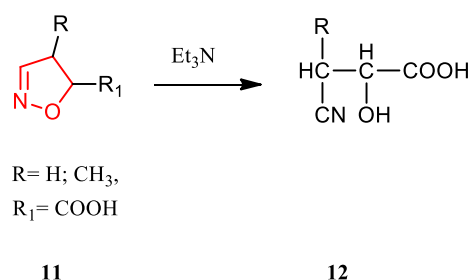
Izoksazoliny znajdują także zastosowanie, jako środki zapobiegające korozji stali. Organiczne związki inhibujące korozję są od dawna wykorzystywane prewencyjnie w przemyśle morskim. Jednak nie zawsze są one bezpieczne dla środowiska oraz wymagają zastosowania wielu wzmacniaczy, czy surfaktantów i niestety, działają wybiórczo na konkretne materiały. Ze względu na to, że izoksazoliny wykazują dużą sprawność w niewielkich stężeniach oraz działają we wszystkich warunkach środowiskowych, rozwój ich fizykochemicznych właściwości jest bardzo pożądanym. Jak powszechnie wiadomo, związki zawierające heteroatomy tj. azot, tlen czy fosfor lub siarkę, wykazują wysoką aktywność w kierunku inhibicji korozji. Częsteczki takie zostają łatwo zaadsorbowane na powierzchni stali izolując ją od bezpośredniego narażenia na korozję. Zjawisko adsorpcji tych cząsteczek związane jest głównie z fizykochemicznymi właściwościami takich związków, które uwarunkowane są np. charakterem aromatycznym ich struktury, obecności różnych grup funkcyjnych, wielkości, czy masą cząsteczki. [42–44]. Anusuya i in. [47] przeprowadzili syntezę i ewaluację pod względem inhibicji korozji stali o niskiej zawartości węgla, różnych pochodnych Δ^2 -izoksazolin (Rys.9.). Działanie zapobiegające korozji tego rodzaju stali ustalili w środowisku roztworów kwasu siarkowego (VI). Badania potwierdziły, że związki te zapobiegają korozji stali o niskiej zawartości węgla w toku zjawiska adsorpcji na powierzchni materiału.



Rys.9. Struktury 3-(fenyloamino)-5-arylo- Δ^2 -izoksazolin, jako inhibitorów korozji stali

Ponadto, związki zawierające pierścień izoksazolinowy stosowane są jako prekursory ważnych syntez organicznych. Curran i in. [48] zastosowali izoksazoliny w reakcji dwustopniowej transformacji chemicznej, obejmującej reakcję cykloaddycji i redukcji,

prowadzącej do β -hydroksy ketonów. Metoda ta stanowi alternatywę dla reakcji aldolowej, ponieważ przebiega w łagodnych warunkach, charakteryzuje się wysoką selektywnością, a także znajduje zastosowanie w przypadku wielu rodzajów grup funkcyjnych. Huisgen i in. [49] opisali przypadek termicznego rozkładu Δ^2 -izoksazolin **11** prowadzącego do β -hydroksy nityli **12** (Sch.4.).

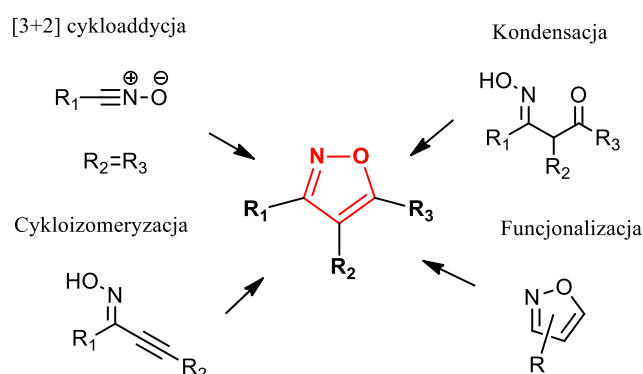


Sch.4. Przykład otrzymywania β -hydroksy nityli wg metody Huisgena

Co ciekawe, Torsell i in. przedstawili nową, wieloetapową metodę syntezy deoksyrybozy z butadienu, przebiegającą przez etap generowania izoksazoliny i jej degradacji do β -hydroksy aldehydu [50].

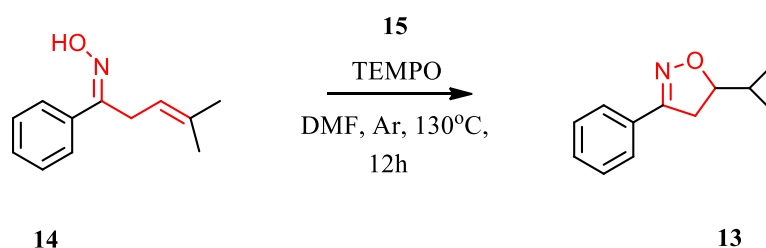
1.2. Metody otrzymywania izoksazoli i ich analogów

Istnieje wiele metod syntezy izoksazoli oraz ich analogów, ale tylko nieliczne z nich mają charakter uniwersalny. Najczęściej wykorzystywane metody obejmują reakcje kondensacji, reakcje cykloaddycji, cykloizomeryzacji oraz reakcje katalizowane metalami przejściowymi prowadzące do bezpośredniej funkcjonalizacji lub utworzenia/nasycenia wiązań podwójnych w obrębie struktur zawierających już pierścienie izoksazolowy (Sch.5) [11].



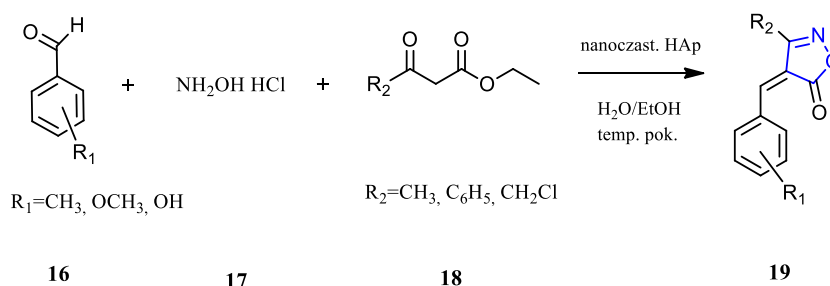
Sch.5. Metody syntezy heterocyklicznych pierścieni izoksazolu i jego analogów.

Cykloizomeryzację β,γ -nienasyconych ketoksymów, przedstawili *Chen i in.* [51], jako metodę otrzymania Δ^2 -izoksazolin **13**. Realizuje się ona przez stadium zamknięcia pierścienia C-fenyl-C-allilooksymu **14** katalizowanego za pomocą 2,2,6,6-tetrametylo-1-okso-piperydyny (TEMPO) **15** (Sch.6.).



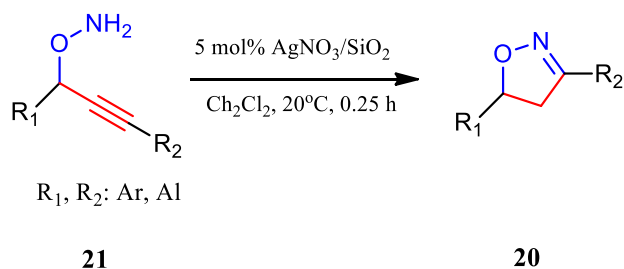
Sch.6. Synteza izoksazoliny przy zastosowaniu reakcji cykloizomeryzacji katalizowanej TEMPO.

Proces otrzymywania izoksazolin analizowano także w środowisku wodnym w temperaturze pokojowej przy zastosowaniu katalizatora w postaci nanocząstek hydroksyapatytu (HAp). Proces ten realizuje się w formule reakcji multikomponentowej (MCR – multicomponent reaction [52]) na bazie analogów aromatycznych aldehydów **16**, chlorowodoru hydroksyloaminy **17** oraz analogów acetylooctanu etylu **18**. Zaobserwowano 90% wydajność otrzymywania Δ^2 -izoksazolin **19** w czasie zaledwie 20 min. Zastosowany katalizator może zostać ponownie wykorzystany w kolejnych reakcjach (Sch.7.) [53].



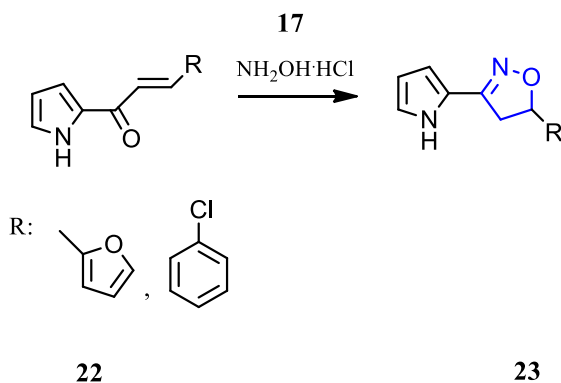
Sch.7. Reakcja otrzymywania 3-metylo-4-(4-metylofenylo)-izoksazolo-5-onu **19** przy zastosowaniu nanokatalizatora.

Knight i in. [54] opracowali metodę otrzymywania Δ^2 i Δ^3 izoksazolin **20** w toku cykloizomeryzacji alkoksyamin **21** (Sch.8.). Reakcje te katalizowane są AgNO_3 naniesionym na żel krzemionkowy, w dichlorometanie i realizują się w pełni regioselektywnie, w temperaturze 20°C przez 15 min. Wydajności tych reakcji zawierają się w zakresie 88-96%. Głównym ograniczeniem tej metody jest fakt, że synteza regioizomeru Δ^3 przebiega jedynie przy zabezpieczeniu grupy aminowej tzw. grupami ochronnymi np. BOC - *tert*-butyloksykarbonylową.



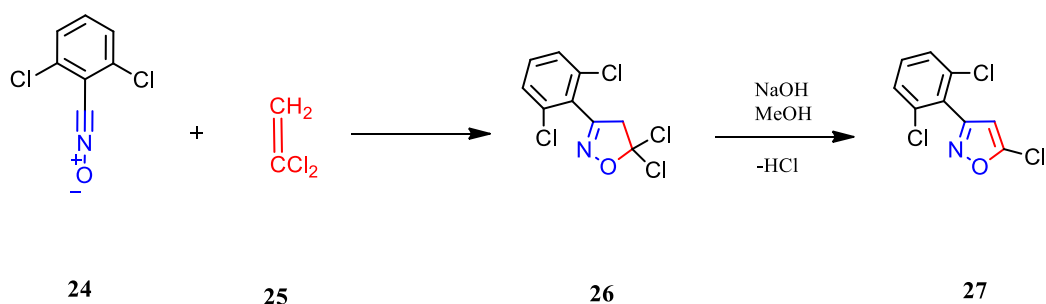
Sch.8.Proces cykloizomeryzacji alkoksyamin 21 prowadzący do Δ^2 -izoksazolin 20.

Reakcje kondensacji stanowią kolejny sposób syntezy izoksazolin. Najlepiej opisanymi reakcjami kondensacji w literaturze są reakcje kondensacji estrów, ketonów oraz wielu innych związków karbonylowych z chlorowodorkiem hydroksyaminy [55]. I tak, ciekawym podejściem jest reakcja kondensacji, 3-(5-metylofuranylo)-1-(1H-pyrrol-2-yl)-prop-2-en-1-onu **22** z chlorowodorkiem hydroksyaminy **17** w obecności bezwodnego octanu sodu, w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika (kwasu octowego), dająca 5-(5-metylofuranylo)-3-(1H-pirol-2-yl)- Δ^2 -izoksazolinę **23** (Sch.9.). Wydajność tych reakcji mieści się w zakresie 69-73% [56].



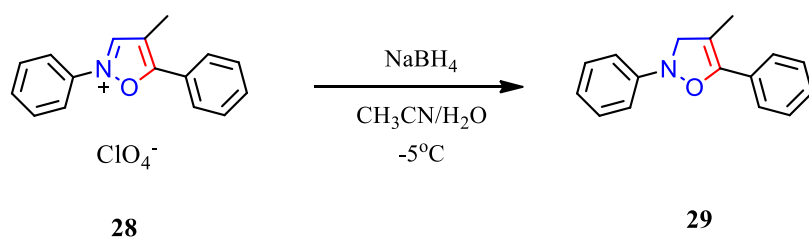
Sch.9.Reakcja kondensacji 3-(5-metylofuranylo)-1-(1H-pyrrol-2-yl)-prop-2-en-1-onu z chlorowodorkiem hydroksyaminy

Znane jest też wiele metod polegających na przekształceniu istniejących pierścieni heterocyklicznych pod względem ich stopnia nasycenia. I tak, Micetich [57] 3-(2,5-dichlorofenylo)-4,5-dichloro- Δ^2 -izoksazolinę **26** otrzymaną w toku [3+2] cykloaddycji N-tlenku 2,5-dichlorobenzonitrylu **24** i osobno dwóch izomerów cis/trans-1,2-dichloroetyleny **25**, poddawał reakcji dehydrochlorowania za pomocą wodorotlenku sodu w metanolu, co prowadziło do tylko jednego izomeru 3-(2,5-dichlorofenylo)-4-chloro-izoksazolu **27** (Sch.10.).



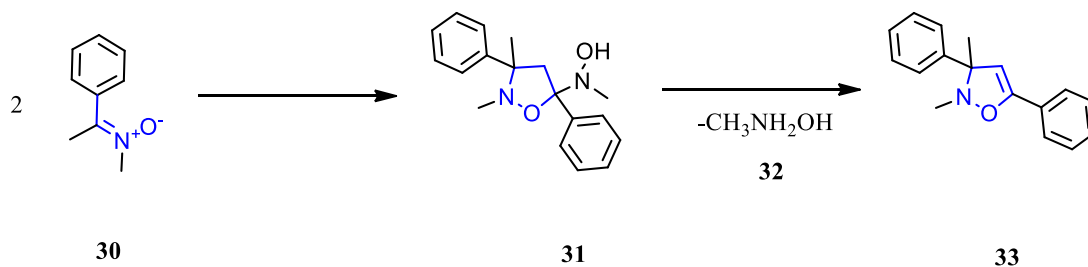
Sch.10. Reakcja otrzymywania 3-(2,5-dichlorofenyl)-4-chloro-izoksazolu 27 na drodze dehydrochlorowania 3-(2,5-dichlorofenyl)-4,5-dichloro- Δ^2 -izoksazoliny 26.

Sole izoksazolowe ulegają przekształceniu za pomocą borowodorku sodu, czy związków Grignarda dając odpowiednie izoksazoliny. I tak na przykład reakcja nadchloranu 2,5-difenylo-4-metylo-izoksazolu **28** z borowodorkiem sodu prowadzona w wodnym roztworze acetonitrylu w -5°C , daje możliwość otrzymania 4-metylo-2,5-difenylo-izoksazoliny **29** z wydajnością 97% [58] (Sch.11.).



Sch.11. Reakcja otrzymywania 4-metylo-2,5-difenylo-izoksazoliny 29 na drodze redukcji katalizowanej za pomocą NaBH_4 .

Stamm i in. opisali przypadek dimeryzacji C,N-dimetylo-C-fenylonitronu **30**, który prowadzi do 2,3-dimetylo-3,5-difenylo-5-metylohydroksyamino-izoksazolidyny **31** ulegającej spontanicznej reakcji eliminacji metylohydroksyaminy **32** dając 2,3-dimetylo-3,5-difenylo- Δ^4 -izoksazolinę **33** [59] (Sch.12.).



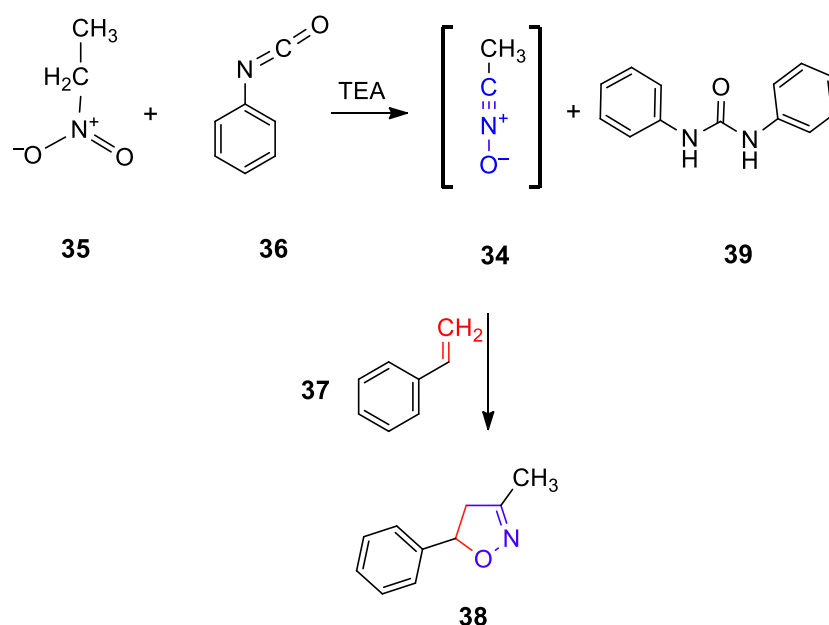
Sch.12. Reakcja przekształcenia pierścienia izoksazolidynowego w Δ^4 -izoksazolinowy w toku eliminacji metylohydroksyaminy.

Najbardziej uniwersalne podejście w syntezie pięcioczłonowych związków heterocyklicznych, w tym izoksazoli i jego analogów, stanowią reakcje [3+2] cykloaddycji.

Charakteryzują się one tym, że mogą w znakomitej większości przypadków, przebiegać w sposób bezkatalityczny, w łagodnych warunkach oraz z pełną ekonomią atomową [60]. Co więcej, reakcje [3+2] cykloaddycji mogą zachodzić nie tylko przy udziale alkenów czy alkinów, ale także wobec innych związków wykazujących charakter nienasycony, bądź aromatyczny. Fakt ten poszerzył horyzonty o możliwości syntezy układów heterocyklicznych, które dotychczas były prawie niedostępne.

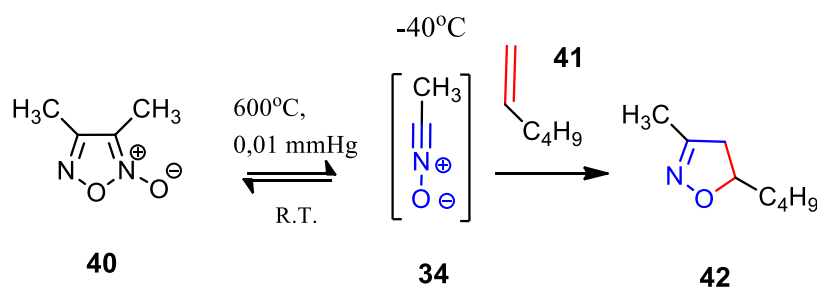
Jednymi z najczęściej stosowanych komponentów trójatomowych (ang. *Three Atom Component TAC*) w reakcjach [3+2] cykloaddycji prowadzących do izoksazolin są N-tlenki nitryli. Alifatyczne N-tlenki nitryli, a w szczególności N-tlenek acetonitrylu, charakteryzują się dużą reaktywnością, a co za tym idzie, także dużym powinowactwem do dimeryzacji oraz krótkim czasem stabilności wynoszącym mniej niż 1 min [14].

Pierwsze doniesienia o syntezie izoksazolin na drodze [3+2] cykloaddycji z zastosowaniem N-tlenku acetonitrylu **34** pojawiły się na początku drugiej połowy XX wieku. *Mukaiyama* i współpracownicy opisali metodę generowania alifatycznych N-tlenków nitryli **34** na drodze reakcji pierwszorzędowych nitroparafin – (nitroetanu i nitropropanu) **35**, z fenyloizocyjanianem **36** w obecności trietyloaminy (*Sch.13*). Związki te wprowadzano *in situ* w [3+2] reakcje cykloaddycji m.in. do styrenu **37**, akrylonitrylu, octanu winylu. Reakcje te realizują się w sposób selektywny, prowadząc do 3-metylo(etylo)-4,5-(R)-izoksazolin **38** [60]. Wadą opisywanego podejścia jest fakt, że w toku powstawania N-tlenku nitrylu, generują się znaczne ilości fenylomocznika **39**, który ciężko oddzielić od cykloadduktu. Wydajności reakcji otrzymywania izoksazolin tą metodą zawierają się w zakresie 10-79%.



Sch.13. Generowanie N-tlenku acetonitrylu **34** in situ reakcji, metodą Mukaiyama i reakcja cykloaddycji do styrenu dająca 3-metylo-5-(fenylo)- Δ^2 -izoksazolinę **38**.

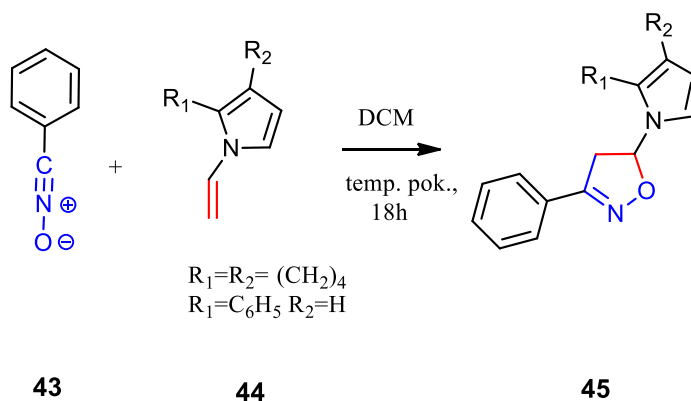
Z kolei zespół *Mitchell'a* [14] przedstawił zupełnie inną metodę prowadzącą do N-tlenku acetonitrylu **34** (Sch.14). Metoda ta polega na pirolizie dimetylofuroksanu **40** w temperaturze 600°C i pod ciśnieniem 0,01 mmHg. Produkt pirolizy wymrażano w temperaturze -40°C. Dla tak zsyntezowanego N-tlenku acetonitrylu **34** przeprowadzono następnie reakcję [3+2] cykloaddycji z heks-1-enem **41**. Reakcja ta realizuje się w sposób regiospecyficzny dając 5-butylo-3-metylo- Δ^2 -izoksazolinę **42**.



Sch.14. Schemat reakcji cykloaddycji heks-1-enu **41** do N-tlenku acetonitrylu **34**, otrzymanego w toku niskociśnieniowej pirolizy dimetylofuroksanu

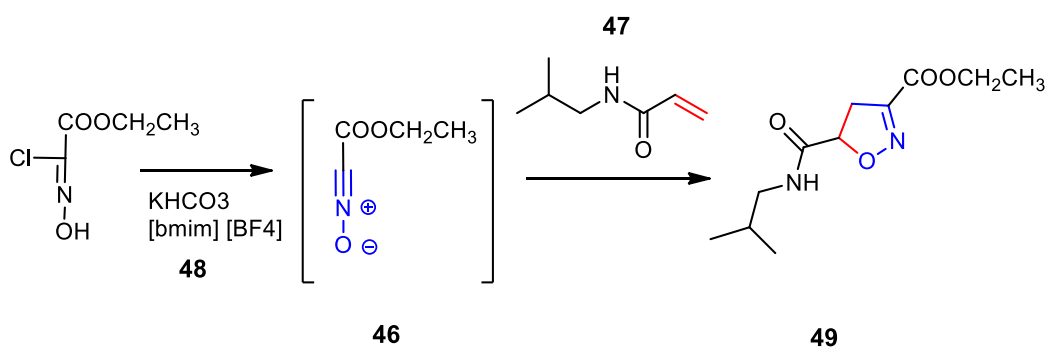
Ze względów na większą stabilność i mniejszą skłonność do dimeryzacji [62], N-tlenki aromatycznych nityli cieszą się większym zainteresowaniem wśród naukowców zajmujących się reakcjami cykloaddycji.

I tak, *Efremova* [63] opisała przypadek cykloaddycji różnych N-tlenków benzonitrylu **43** do serii podstawionych N-winylopiroli **44** (Sch.15.). Produktami tych reakcji był za każdym razem tylko jeden z dwóch teoretycznie możliwych regioizomerycznych cykloadduktów – odpowiednia 3-fenylo-5-piroyl- Δ^2 -izoksazolina **45**.



Sch.15. Schemat reakcji [3+2] cykloaddycji N-tlenku benzonitrylu do N-winylopiroli.

W literaturze opisano również reakcje cykloaddycji przy zastosowaniu jako środowiska reakcji cieczy jonowych. *Rodriguez* wraz z zespołem [64], przeprowadzili reakcję cykloaddycji tlenku karbetoksyformonitrylu **46** z izobutyloakrylamidem **47** przy zastosowaniu cieczy jonowej tetrafluoroboranu 1-butylo-3-metylo-imidazoliowego (BMIM BF₄) **48** i wodorowęglanu potasu KHCO₃. Wydajność otrzymywania izoksazoliny **49** w tym przypadku wyniosła 67% (Sch.16.).



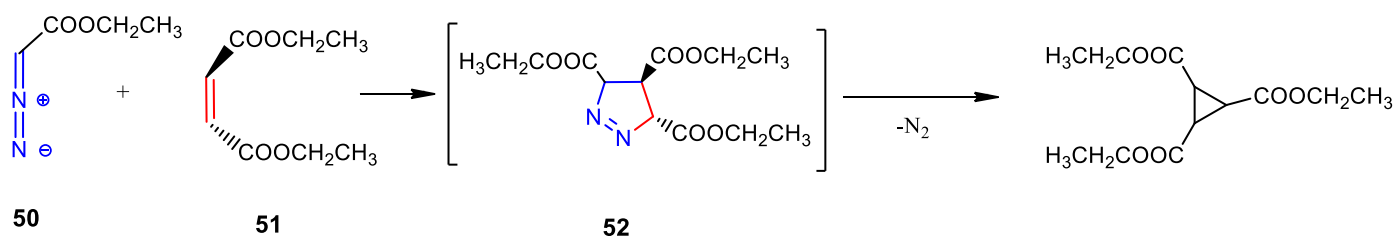
Sch.16. [3+2] cykloaddycja tlenku karbetoksyformonitrylu 46 z izobutyloakrylamidem 47 w środowisku tetrafluoroboranu *n*-butylo-metyloimidazoliowego

W dostępnej literaturze, opisane jest wiele reakcji [3+2] cykloaddycji z udziałem zarówno alifatycznych, jak i aromatycznych N-tlenków nitryli, umożliwiających syntezę izoskazolin. Na przykład:

- wysokostereoselektywne cykloaddycje N-tlenku benzonitrylu i N-tlenku fenyloglioksalu nitrylu z niesymetrycznie podstawionymi norbornenami [65],
- cykloaddycje N-tlenku acetonitrylu i α,β -nienasyconych β -metylo- δ -laktonów [66],
- cykloaddycja N-tlenku 4-chlorobenzonitrylu z cynamonianem metylu [67],
- cykloaddycja N-tlenku acetonitrylu i 2H-2,4-dimetylo-1-fosfa-2,3-diazolu [68],
- cykloaddycje N-tlenku benzonitrylu z α,β -nienasyconymi ketonami [69],
- cykloaddycje N-tlenków nitryli alifatycznych i aromatycznych do pochodnych cyjanoetylenu i metylokrotonianu [70],
- cykloaddycje pochodnych N-tlenku benzonitrylu do prop-2-en-1-olu [71],
- cykloaddycje N-tlenku acetonitrylu, propionitrylu, benzonitrylu do 1-acetyleno- β -karboliny [72],
- cykloaddycja N-tlenku benzonitrylu i bromku-cynku-prop-2-enu [73],
- cykloaddycja N-tlenku transheks-3-enonitrylu z 2-nitro-fenylacetylenem [74].

1.3. Mechanistyczne aspekty reakcji [3+2] cykloaddycji

Historycznie, jedno z pierwszych doniesień opisujące [3+2] cykloaddycję (32CA) pochodzi już z XIX wieku. W 1888 roku niemiecki chemik *Buchner* [75] przeprowadził pierwszą w historii reakcję 32CA karboetoksydiazometanu **50** z fumaranem dietylu **51**. Uczony nie potrafił wówczas zdiagnozować charakteru tej reakcji. Kontynuując badania, dowiódł, że prowadzi ona przez stadium niestabilnej 3,4,5-trikarboetoksypirazoliny **52**, ulegającej spontanicznie procesowi eliminacji cząsteczki azotu (Sch.17).



Sch.17. Pierwsza historycznie reakcja 32CA realizująca się między karboetoksydiazometanem i fumaranem dietylu.

Zainteresowanie nowym typem reakcji stale rosło. W 1890 roku *Beckmann* [76] badał zachowanie nitronów w obecności fenylizocyjanianu, gdzie zasugerował powstanie struktury cyklicznej, również nietrwałej. *Michael* [77] przeprowadził addycję azydku fenylu do estru metylowego kwasu acetylenodikarboksylowego, w toku której powstał pierścień triazolowy. Z kolei w 1938 roku *Smith* [78] zauważył pewną prawidłowość, opisując dokładnie zebrane przez lata doświadczenia naukowców w dziedzinie reakcji organicznych prowadzących do produktów cyklicznych. Zauważył on, że związki zawierające trójczłonowy układ, w którym na centralnym miejscu znajduje się atom azotu o hybrydyzacji sp² (alifatyczne związki diazowe, azydki, nitrony, czy tlenki nitryli) łatwo ulegają 1,3-addycjom do wiązań nienasyconych. Kolejnym przełomowym odkryciem w tej dziedzinie było zaprezentowanie reakcji cykloaddycji przez *Quilico i Fusco* [79]. Stwierdzili oni, że chlorek kwasu benzhydroksamowego reagując z solami sodowymi β-diketonów w obecności zasady, daje izoksazole. Później dowiedziono, że reakcja ta zachodzi poprzez stadium wytworzenia tlenku nitrylu pochodzącego z chlorku kwasu benzhydroksamowego [80].

Niewiele ponad pół wieku po pierwszych doniesieniach dotyczących reakcji 32CA, niemiecki chemik *Huisgen* zaproponował reguły charakteryzujące ten typ reakcji chemicznych [81]:

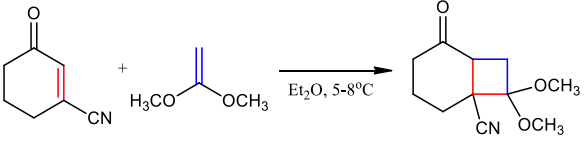
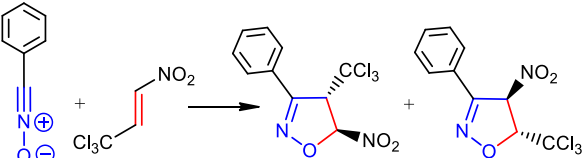
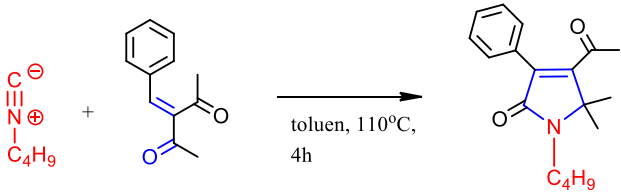
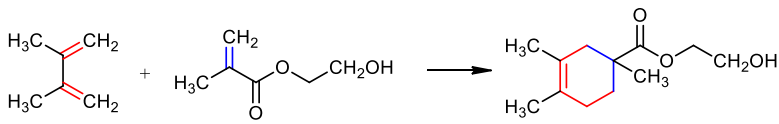
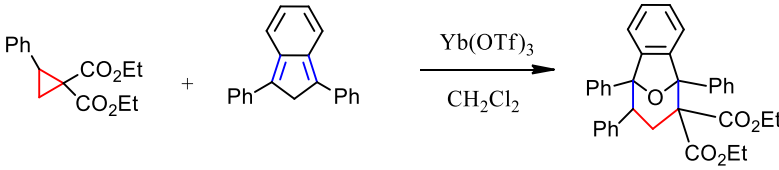
- I. Reakcja cykloaddycji polega na tworzeniu się produktu o strukturze pierścieniowej, a tworzenie się nowych wiązań σ produktu cykloaddycji, zawsze

wiąże się z destrukcją nienasyconych wiązań π substratów. Liczba wiązań σ w tym procesie zawsze rośnie.

- II. Produkt cykloaddycji zawsze stanowi sumę cząsteczek substratów, nie dochodzi do eliminacji żadnej cząsteczki, ani jonów.
- III. Podczas reakcji cykloaddycji, żadne wiązania σ nie zostają rozerwane.
- IV. Cykloaddycja może być procesem wewnątrzcząsteczkowym, gdy jeden ze substratów posiada odpowiednie grupy funkcyjne.
- V. Jeśli brany pod uwagę proces jest wieloetapowy, wówczas etap prowadzący do utworzenia pierścienia w strukturze produktu można nazwać cykloaddycją.

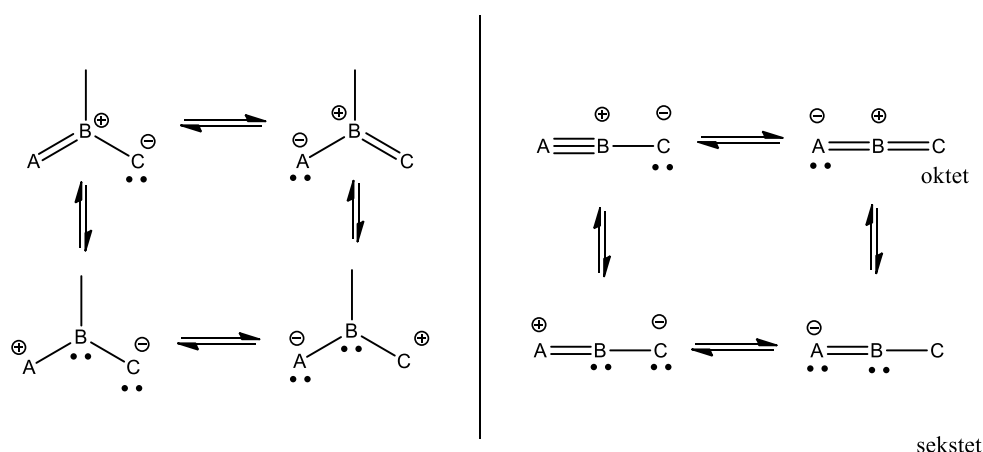
Huisgen zaproponował także metodę klasyfikacji reakcji cykloaddycji, biorąc pod uwagę liczbę atomów w powstałym pierścieniu cykloadduktu oraz ze względu na ilość elektronów ulegających reorganizacji w toku cykloaddycji [49], [81], [82]. *Tabela 3* zawiera przykłady reakcji cykloaddycji wraz z ich klasyfikacją.

Tab.3. Klasyfikacja reakcji cykloaddycji.

Klasyfikacja	Reakcja	Lit.
[2+2] 4 π		[83]
[3+2] 6 π		[84]
[4+1] 6 π		[85]
[4+2] 6 π		[86]
[4+3] 8 π		[87]

Wg zarysowanego ujęcia powszechnie przyjęto teorię wg której analizowane procesy nazwano „1,3-dipolarną cykloaddycją” ([3+2] cykloaddycja). Wg tej definicji jest to proces, w którym biorą udział 1,3-dipol i dipolarofil, a który prowadzi do pięcioczłonowego związku cyklicznego.

Według teorii *Huisgena* [81], [82], 1,3-dipol to związek z charakterystycznym segmentem molekularnym zbudowanym z trzech atomów w hybrydyzacji sp^2 lub sp w układzie **a-b-c**, gdzie atom **a** posiada sekstet elektronowy i dodatni ładunek, natomiast atom **c** posiada wolną parę elektronową i ma ujemny ładunek. Uznano, że 1,3-dipol jest związkiem, który posiada dwa centra o przeciwnym ładunku i można je przedstawić za pomocą poniżej przedstawionych struktur rezonansowych (*Rys.10*).



Rys.10. Struktury rezonansowe składników trójatomowych. („1,3-dipoli”) w ujęciu teorii *Huisgena*

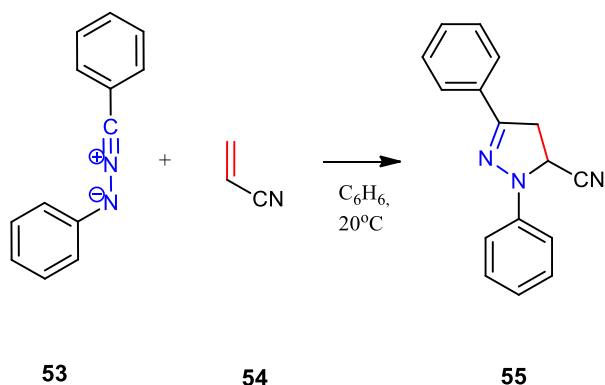
1,3-dipole, zostały przypisane do trzech głównych grup, ze względu na właściwości strukturalne i elektronowe. I tak, wyróżniamy: 1,3-dipole „ugięte” typu allilowego ze stabilizacją oktetową oraz bez stabilizacji oktetowej i 1,3-dipole „liniowe” typu allenowego ze stabilizacją oktetową [88][89]. Na *Rysunku 11* zaprezentowano najważniejszych przedstawicieli komponentów trójatomowych wraz z przypisaniem do odpowiedniej podgrupy.

„ugięte” typu allilowego		„liniowe” typu allenowego	
ze stabilizacją oktetową	bez stabilizacji oktetowej	ze stabilizacją oktetową	
Azometynoylidy 	Winylokarbeny 	Nitryloiminy 	
Azometynoiminy 	Winyloazeny 	Nitryloylidy 	
Nitrony (N-tlenki imin) 	Iminokarbeny 	N-tlenki nitryli 	
Karbonyloylidy 	Iminoazeny 	N-sulfidy nitryli 	
Nitrozotlenki 	Ketokarbeny 	Azydki 	

Rys.11. Historyczny podział składników trójątomowych. („1,3-dipoli”)

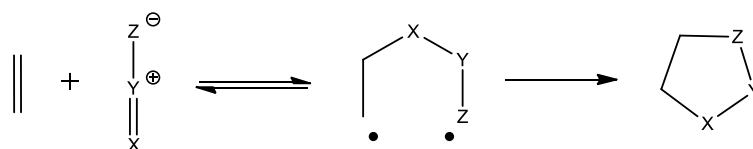
Z kolei dipolarofilem może być każdy związek zawierający w swojej strukturze wiązanie nienasycone podwójne lub potrójne. Najczęściej są nimi alkeny i alkiny.

Według *Huisgen*’a, cykloaddycja realizuje się w sposób „perycykliczny”, co oznacza, że jest procesem jednoetapowym, gdzie nowe wiązania powstają właściwie jednocześnie. Jako przykład takiej reakcji, *Huisgen* przywołał m.in. cykloaddycję difenylnitroiminy **53** i akrylonitrylu **54**. Reakcja prowadzona jest w benzenie, w temperaturze 20°C. W wyniku cykloaddycji powstaje 1,3-difenylo-5-cyjano- Δ^2 -pirazolina **55** z wydajnością 85% [90] (*Sch.18*).



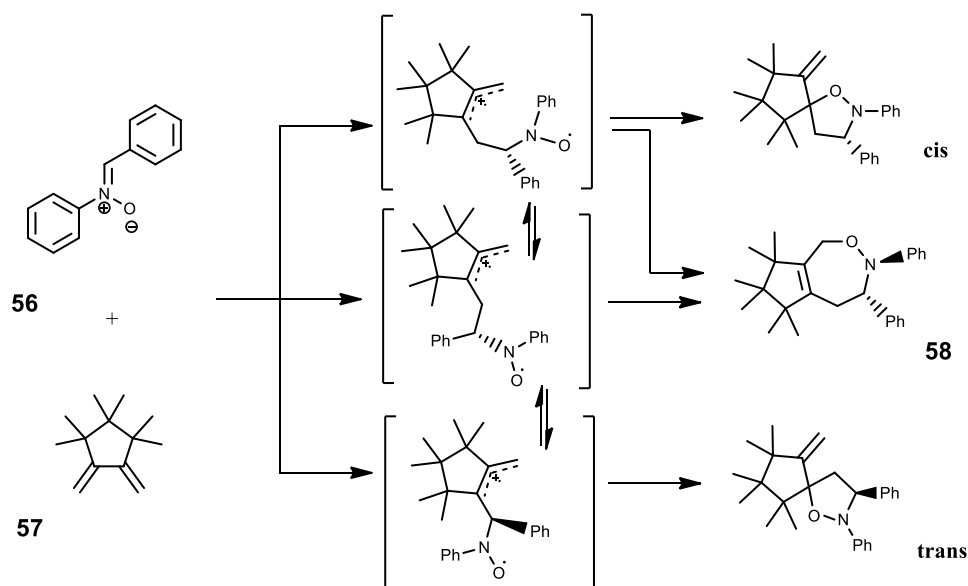
Sch.18. Reakcja otrzymywania 1,3-difenylo-5-cyjano- Δ^2 -pirazoliny **55**.

Kilka lat później, *Firestone* [91] zaproponował inny, dwuetapowy mechanizm reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji. Według postulatów Autora mechanizm miał przebiegać przez utworzenie stadium dirodnika (*Sch.19*). Mimo wieloletnich badań nie udało się jednak odnaleźć żadnego przypadku, który jednoznacznie potwierdzałby tę teorię.



Sch.19. Ścieżka reakcji 1,3-cykloaddycji zaproponowana przez *Firestone*'a.

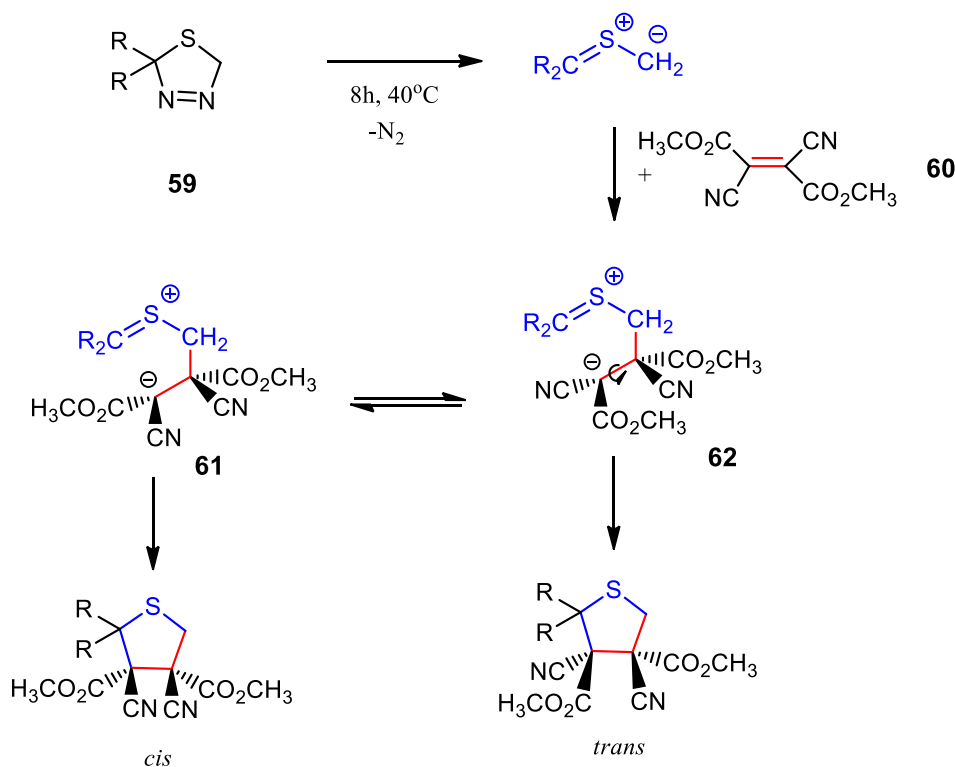
Wydawało się, że wg takiego mechanizmu przebiegać powinna cykloaddycja C,N-difenylnitronu **56** z 1,2-bismetyleno-3,3,4,4,5,5-heksametylocyklopentanem **57**. Świadczyć o tym miał fakt, że obok cykloadduktu [3+2] powstaje w tej reakcji addukt typu [3+4], którego uformowanie się na drodze reakcji jednoetapowej jest zabronione z uwagi na symetrię orbitali [92]. Niedawno dowiedziono jednak, że zidentyfikowany siedmioczłonowy system heterocykliczny **58** w istocie powstaje na drodze przegrupowania pierwotnie tworzącego się adduktu [3+2] [93].



Sch.20. Hipotetyczne ścieżki reakcji cykloaddycji C,N-difenylnitronu **56** z 1,2-bismetyleno-3,3,4,4,5,5-heksametylocyklopentanem **57**.

Teoria ta spotkała się z dezaprobatą ze strony *Huisgen*'a [94]. Długotrwały konflikt pomiędzy uczonymi zainicjował wiele badań doświadczalnych i teoretycznych, które pozwoliły w znacznym stopniu wyjaśnić mechanizmy reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji.

Prawie 20 lat później *Huisgen* obalił własną teorię dotyczącą 1,3-dipolarnej cykloaddycji, jako procesu jednoetapowego. W 1986 roku opublikowana została praca dotycząca reakcji cykloaddycji tiadiazolin **59** z 2,3-dicyjanofumaranem dimetylu **60**. Potwierdzono, że proces ten jest dwuetapowy i przebiega przez stadium utworzenia zwitterionów **61,62** (Sch.21.). Reakcja ta charakteryzowała się brakiem retencji pierwotnej konfiguracji alkenu, a ponadto wykazywała duży wpływ natury rozpuszczalnika na stereoselektywność [95][96].



Sch.21. Niestereoselektywne [3+2] cykloaddycje tiadiazolin z 2,3-dicyjanofumaranem dimetylu.

Kolejne lata przyniosły wiele odkryć w dziedzinie zwitterionowej natury reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji [97][98].

Postęp w zakresie stosowanej chemii kwantowej oraz budowa coraz doskonalszych komputerów o dużej mocy obliczeniowej pozwoliły na kolejne przełomowe odkrycie w dziedzinie mechanizmów reakcji cykloaddycji. W szczególności bazując na teorii molekularnej gęstości elektronowej (MEDT), *Domingo* obalił wiele obecnych do tej pory teorii dotyczących 1,3-dipolarnej cykloaddycji [89][99]. Domingo zauważył, że nie wszystkie związki określone przez *Huisgen* 'a, jako 1,3-dipole można opisać, jako związki o charakterze dipolarnym. Dotychczasowe „1,3-dipole” zostały zdefiniowane, jako Three Atom Components (TACs) i zostały przyporządkowane do różnych grup w zależności od ich struktury

elektronowej, która z kolei bezpośrednio determinuje typ reakcji jakiemu będą ulegały. Zmiana poglądu nt. natury związków określanych dotąd „1,3-dipolami” naturalną kolejną rzeczą wymusza nazywanie reakcji z ich udziałem nie „1,3-dipolarną cykloaddycją” lecz [3+2] cykloaddycją.

TAC

Ylid azometynu	Imina Azometynu	Nitron	Ylid nitrylu
STRUKTURA			
pseudodirodnikowy	pseudorodnikowy	zwitterionowy	karbenoidowy
TYP REAKCJI			
pdr	pmr	zw	cb

Rys.12. Podział TAC i charakterystyka ich reaktywności w procesach [3+2] cykloaddycji.

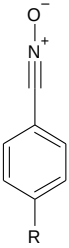
Reaktywność składników trójatomowych (TAC) względem etylenu maleje w kolejności pseudodirodnikowy > pseudorodnikowy $\approx$ karbenoidowy > zwitterionowy. [100]. W toku dalszych badań nad przebiegiem reakcji cykloaddycji, Domingo obalił także teorię dotyczącą perycyclicznego charakteru reakcji [3+2] cykloaddycji bazując na wynikach uzyskanych z pomocą technik BET (ang. *Bonding Evolution Theory*) i ELF (ang. *Electron Localisation Function*). Okazało się, że w przypadku żadnej z reakcji uważanych dotąd za „uzgodnione” reorganizacja gęstości elektronowej w obrębie stanu przejściowego nie dokonuje się w sposób „perykliczny” [101].

II. CZĘŚĆ BADAWCZA*

2.1. Cel i zakres pracy

Celem niniejszej pracy doktorskiej była kompleksowa analiza dwóch serii reakcji [3+2] cykloaddycji z udziałem aromatycznych N-tlenków nitryli i CX₃-funkcjonalizowanych nitroetenów oraz wykonanie szczegółowego opisu powstałych produktów. W szczególności, do badań, wytypowałam homogeniczną serię N-tlenków aromatycznych nitryli, różniących się naturą podstawnika w pierścieniu benzenowym (Tab.4.) oraz (E)-3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-en i (E)-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-en. Należy podkreślić, że w momencie zainicjowania moich badań, w literaturze nie opisano ani jednego przypadku reakcji [3+2] cykloaddycji z udziałem (E)-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enu, a całkowita liczba publikacji, w których związek ten w ogóle był wzmiankowany wynosiła zaledwie 2 [102],[103].

Tab.4. Zestawienie wytypowanych do badań N-tlenków nitryli oraz stałe charakteryzujące zawarte w nich podstawniki [104].

	Stale Hammeta podstawników R			
	R	σ	σ _I	σ _R
1a	-CH ₃ O	-0,27	0,33	-0,64
1b	-CH ₃	-0,17	-0,08	-0,05
1c	-F	0,06	0,56	-0,59
1d	-Cl	0,23	0,51	-0,36
1e	-NO ₂	0,78	0,70	0

Teoretycznie, analizowane reakcje mogą realizować się na dwóch izomerycznych ścieżkach wiodących do odpowiednich **3-arylo-4-nitro-5-CX₃-Δ²-isoksazolin** i/lub **3-arylo-4-CX₃-5-nitro- Δ²-isoksazolin** (Schemat nr 24). W ramach badań, postanowiłam:

- poszukać dogodnych warunków dla tych reakcji,

* W tej części pracy przyjąłam odrębną numerację związków.

- zidentyfikować produkty cykloaddycji,
- zdiagnozować molekularny mechanizm reakcji na gruncie obliczeń DFT,
- wykonać testy molekularnego dokowania celem uzyskania informacji nt. powinowactwa serii związków do wybranych białek.

Uznałam, że realizacja tak zarysowanego programu badań, z użyciem tak wytypowanych komponentów da mi możliwość formułowania wniosków o charakterze ogólnym.

2.2. Synteza komponentów [3+2] cykloaddycji i ich prekursorów

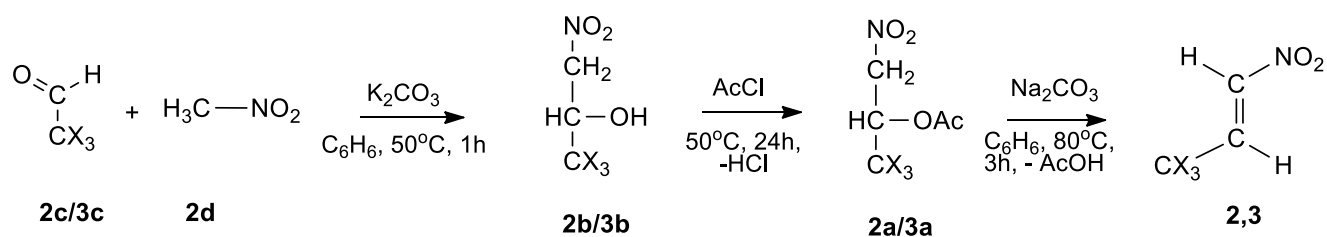
Synteza nitroalkenów

(E)-3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-en; (E)-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-en

Istnieje kilka metod syntezy nitroalkenów, polegających generalnie na bezpośrednim nitrowaniu alkenów [105] [106] lub utworzeniu wiązania podwójnego w nitrozwiązkach nasyconych [107]. W swoich badaniach zastosowałam to drugie podejście. Syntezę (E)-3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-enu (**2**) przeprowadziłam wg trzyetapowego protokołu, sugerując procedurami opisanymi w literaturze [108].

Pierwszy etap obejmował tzw. kondensację Henry'ego przy zastosowaniu, dostępnych handlowo odczynników, aldehydu trichlorooctowego (**2c**) oraz nitrometanu (**2d**), w wyniku której otrzymałam 1,1,1-trichloro-3-nitropropan-2-ol (**2b**) z wydajnością ok. 61%. Następnie otrzymany nitroalkohol przeprowadziłam w octan α -trichlorometylo- β -nitroetylu (**2a**) na drodze reakcji z chlorkiem acetylu. Ta część syntezy przebiegła z wydajnością 80%. Ostatni etap obejmował termiczny rozkład estru (**2a**) katalizowany bezwodnym węglanem sodu, który pozwolił na otrzymanie (E)-3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-en (**2**) z wydajnością 57% (*Tab.5.*) (*Sch.22.*).

Syntezę (E)-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enu (**3**) przeprowadziłam w podobny sposób [102]. W stosunku do danych literaturowych, procedurę tę zmodyfikowałam istotnie na etapie izolowania produktu.



Sch.22. Ścieżka syntezy (E)-3,3,3-X₃-1-nitroprop-1-enów(2,3).

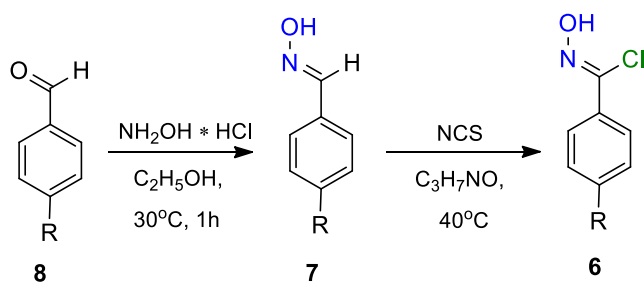
Tab.5. Synteza nitroalkenów i ich prekursorów.

Nazwa związku	Ilość [g]	Wydajność [%]	Temperatura Topnienia [°C]		
			Rz.	Lit.	
1,1,1-trichloro-3-nitropropan-2-ol	26,4	61,6	43-45	44-45	[108]
1,1,1-trichloro-3-nitro-2-acetoksypropan	27,2	86	59-60	58-60	[109]
1,1,1-tribromo-3-nitropropan-2-ol	21,2	74	75-77	78	
1,1,1-tribromo-3-nitro-2-acetoksypropan	19,7	93	66-68	66-67	[102]
(E)-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-en	12,7	65	48-49	48-49	
Nazwa związku	Ilość [g]	Wydajność [%]	Temperatura wrzenia [°C]		
			Rz.	Lit.	
(E)-3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-en	13,3	66	72-76/ 5 mmHg	88-89/ 16 mmHg	[109]

Synteza prekursorów N-tlenków aromatycznych nitryli - chlorków kwasów hydroksamowych

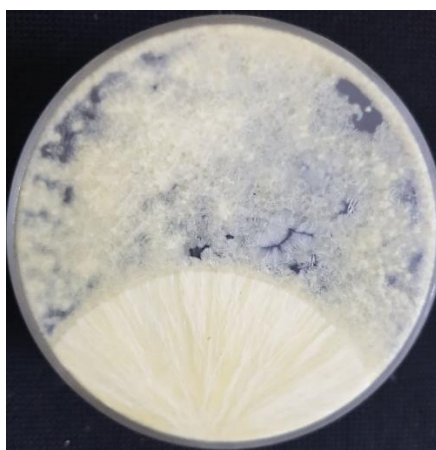
Syntezę chlorków kwasów hydroksamowych (**6a-e**) przeprowadziłam w toku dwuetapowych syntez [110]. Pierwszy etap obejmował syntezę aldoksymów (**8a-e**) z dostępnych handlowo analogów benzaldehydu (**7a-e**) w reakcji kondensacji z chlorowodorkiem hydroksyaminy. Surowe produkty tych reakcji oczyściłam na drodze krystalizacji. Oksymy aromatycznych aldehydów (**8a-e**) otrzymałam z wydajnościami w zakresie 78-90%. Drugim etapem było chlorowanie otrzymanych oksymów. W tym celu zastosowałam dostępny handlowo N-chloroimid kwasu bursztynowego (NCS), który dozowałam w odpowiedni sposób, tak aby temperatura reakcji nie przekraczała 40°C. Produkt reakcji oczyściłam na drodze ekstrakcji przy zastosowaniu eteru dietylowego (Sch.23.) (Tab.5-

6.). Ze względu na słabą stabilność chemiczną chlorków kwasów hydroksamowych (**6a-e**) oraz ich wrażliwość na wilgoć, stosowałam je w środowisku reakcji, do generowania tlenków nitryli bezpośrednio po otrzymaniu (Rys.13.).



R: a - 4-CH₃O; b - 4-CH₃; c - 4-F; d - 3-Cl; e - 4-NO₂

Sch.23. Ścieżka syntezy chlorków kwasów benzhydroksamowych (6a-e).



Rys.13. Chlorek kwasu 4-metylobenzaldoksymowego.

Tab.6. Zestawienie właściwości otrzymanych oksymów.

Nazwa związku	Rozpuszczalnik do krystalizacji	Ilość otrzymanego oksymu	Wydajność [%]	Temperatura Topnienia [°C]		
				Rz.	Lit.	
Oksym 4- metoksy benzaldehydu	50cm ³ cykloheksan	12,36 g	79,4	61-63	60-65	[111]
Oksym 4- metylo benzaldehyd	50cm ³ cykloheksan	10,7 g	66	69-70	54-68	[112]
Oksym 4- fluoro benzaldehyde	50 cm ³ cykloheksan	10,44 g	64,7	78-82	78-88	[113]
Oksym 3- chloro benzaldehydu	60 cm ³ cykloheksan	5,94	40	58-60	64-69	[112]

50 cm ³ metanol						
Oksym 4- nitro benzaldehydu	60 cm ³ etanol	8	50,8	124- 126	126-128	[111]

Tab.7. Zestawienie wyników syntez chlorków kwasów benzhydroksamowych.

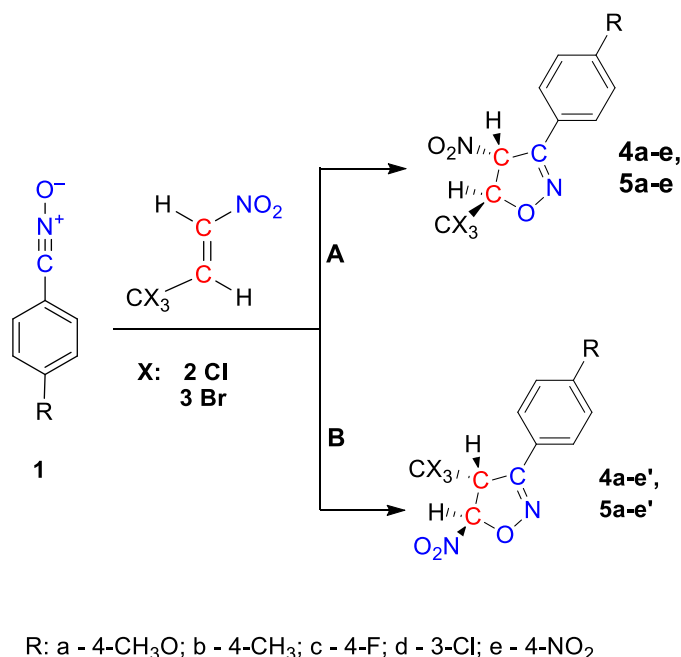
Nazwa związku	Ilość otrzymanego chlorku	Wydajność otrzymywania [%]
Chlorek kwasu 4- metoksy benzhydroksamowego	1,88 g	76,7
Chlorek kwasu 4- metrylo benzhydroksamowego	1,68 g	66,9
Chlorek kwasu 4- fluoro benzhydroksamowego	1,65 g	66,3
Chlorek kwasu 3- chloro benzhydroksamowego	1,47 g	60,2
Chlorek kwasu 4- nitro benzhydroksamowego	1,77 g	73,4

2.3. Kwantowo-chemiczne studia reakcji [3+2] cykloaddycji

W pierwszej kolejności, dla wytypowanych do badań reakcji wykonałam studia kwantowo-chemiczne, w toku których postanowiłam rzucić światło na możliwy przebieg tych procesów. Do tego celu zastosowałam dwa podejścia, różniące się poziomem zaawansowania teorii:

- analizę globalnych i lokalnych elektrofilowości/nukleofilowości – co powinno pozwolić zdiagnozować stopień polarności procesów oraz ich prawdopodobną regioselektywność,
- eksplorację profili reakcji z lokalizacją i weryfikacją wszystkich punktów krytycznych – co, z kolei, powinno pozwolić uzyskać informacje nt. mechanizmu reakcji oraz ich kinetycznych uwarunkowań.

Obliczenia kwantowo-chemiczne wykonałam na gruncie teorii funkcjonałów gęstości (DFT). Opis właściwości elektronowych wykonałam w ramach teorii molekularnej gęstości elektronowej (ang. *Molecular Electron Density Theory* - MEDT) [114]. Całość analiz przeprowadziłam dla teoretycznie możliwych ścieżek reakcji przedstawionych na Sch.24.



Sch. 24. Teoretyczne ścieżki [3+2] cykloaddycji 2,3 (E)-3,3,3-trihalo-1-nitroprop-1-enów z tlenkami nitryli 1a-e.

2.3.1. Ocena reaktywności komponentów reakcji na bazie teorii CDFT

Niezbędne do tego celu obliczenia kwantowochemiczne wykonałam przy pomocy infrastruktury obliczeniowej „Ares” Akademickiego Centrum Komputerowego **CYFRONET** w Krakowie. Obliczenia zostały wykonane w pakiecie *Gaussian 09*. Geometrie komponentów reakcji optymalizowałam wykorzystując, zgodnie z rekomendacją Domingo i Rios-Gutierrez [115], funkcjonal ω B97XD i bazę funkcyjną 6-311G(d,p) z zastosowaniem procedury *FOPT*. Dla tak uzyskanych geometrii wykonałam obliczenia pozwalające na uzyskanie wartości globalnych i lokalnych deskryptorów reaktywności I tak, wartości elektronowego potencjału chemicznego μ oraz chemicznej twardości η , obliczyłam za pomocą równań:

$$\begin{aligned} 1) \quad & \mu \approx (E_{\text{HOMO}} + E_{\text{LUMO}})/2 \\ 2) \quad & \eta \approx E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}} \end{aligned}$$

Tak uzyskane parametry, zastosowałam do obliczenia globalnej elektrofilowości ω , według równania:

$$3) \quad \omega = \mu^2 / 2\eta$$

Globalną wartość nukleofilowości N wyznaczyłam za pomocą równania:

$$4) \quad N = E_{\text{HOMO}} - E_{\text{HOMO}}(\text{TCE}),$$

gdzie $E_{\text{HOMO}}(\text{TCE})$ jest energią HOMO wyznaczoną dla tetracycjanoetyleny (TCE), wynoszącą -10.822 eV, dla zastosowanego poziomu teorii.

Następnie wyznaczyłam lokalne elektrofilowości ω_k , wykorzystując w tym celu wartości globalnej elektrofilowości i odpowiednich funkcji gęstości spinowej zaproponowanej przez Parr, (P_k^+, P_k^-) [116]:

$$5) \quad \omega_k = P_k^+ \cdot \omega$$

Podobny schemat, jak powyżej zastosowałam do obliczeń lokalnych wartości nukleofilowości N_k wg równania:

$$6) \quad N_k = P_k^- \cdot N$$

Dysponując pełnymi charakterystykami addentów mogłam spróbować rzucić światło na naturę interakcji między komponentami poszczególnych, zaplanowanych do wykonania cykloaddycji [116]. Okazało się, że wartości chemicznego potencjału dla N-tlenków benzonitryli **1a-e** zawierają się w zakresie -3,99 do -5,12 eV, z kolei dla trichloro- i tribromo-

nitropropenu **2,3** są to odpowiednio wartości -6,12 i -5,71 eV. Generalnie są one mniejsze od analogicznych dla N-tlenków **1a-e** (Tab.8.). I choć różnice w tych wartościach są niewielkie, to jeśli zaliczymy badane reakcje 32CA pomiędzy **1a-e** i **2,3**, do procesów polarnych, wówczas strumień gęstości elektronowej przemieszczał się będzie od **1a-e** do **2,3**, zgodnie z zasadą „Forward Electron Density Flux” (FEDF) [117].

Następnie przeanalizowałam dla badanych związków indeksy chemicznej twardości, która określa zdolność danego reagenta do zmiany swojej konfiguracji elektronowej [118]. Wszystkie analizowane związki charakteryzują się porównywalną wartością η , jednak najbardziej „miękkim” związkiem jest **1e**.

Tab.8. Globalne właściwości elektronowe reagentów **1a-e** i **2,3** wg obliczeń ω B97XD/6-311G(d,p).

Związek	μ [eV]	η [eV]	ω [eV]	N [eV]
1a	-4,02	8,84	0,91	2,39
1b	-3,99	8,82	0,90	2,43
1c	-4,09	8,91	0,94	2,28
1d	-4,35	8,81	1,07	2,07
1e	-5,12	7,78	1,69	1,81
2	-6,12	9,68	1,94	0,14
3	-5,71	8,89	1,83	0,67

Wartości indeksów globalnej elektrofilowości N-tlenków **1a-e** zawierają się w zakresie 0,90 do 1,69 eV. Związki **1a-c**, zgodnie ze skalą elektrofilowości, zaproponowaną przez Domingo [115], zaliczają się do średnich/umiarkowanych elektrofilów, podczas gdy **1d** i **1e** są odpowiednio silnym i bardzo silnym elektrofilem, a charakteryzujące je wartości ω są większe od 0,98 eV [115]. Globalna nukleofilowość N-tlenków nitryli **1a-e** zawiera się w zakresie 1,81 do 2,43 eV. Związki **1a-d** zaliczyć można do średnich/umiarkowanych nukleofilów, podczas gdy **1e** jest marginalnym nukleofilem charakteryzowanym przez $N = 1,81$ eV (najmniejsza wartość dla nukleofila w/w klasyfikacji Domingo to 1,91 eV). Analogi nitropropenu **2,3** zaliczają się do bardzo silnych elektrofilów, a wartości w ich przypadku ω to odpowiednio 1,94 i 1,83 eV. Natomiast stanowią one marginalne nukleofile, ponieważ charakteryzujące je wartości N wynoszą odpowiednio 0,14 i 0,67 eV. W uogólnieniu, analiza globalnych desktyptorów reaktywności nakazuje traktować rozpatrywane cykloaddycje, jako procesy polarne (Tab.7.).

Dla procesów tego rodzaju najkorzystniejszą ścieżką reakcji będzie ta wymuszona przez interakcję centrum najbardziej elektrofilowego zlokalizowanego w obrębie molekuly elektrofila i centrum najbardziej nukleofilowego zlokalizowanego w obrębie molekuly nukleofila.

Tab.9. Lokalne właściwości elektronowe reagentów **1a-e** i **2,3** wg obliczeń ω B97XD/6-311G(d,p).

Związek	ω_k -CX ₃ [eV]	ω_k -CNO ₂ [eV]	$N_{k-N-C-Ph}$ [eV]	N_{k-CNO} [eV]
1a			-0,05	1,14
1b			-0,04	1,11
1c			0,01	1,13
1d			0,05	1,03
1e			0,12	0,98
2	0,63	0,24		
3	0,52	0,25		

Analiza lokalnych indeksów (Tab.8.) wskazuje, że najbardziej elektrofilowe centrum reakcyjne w obrębie nitroalkenów **2,3**, znajduje się na β -atomie węgla fragmentu nitrowinyłowego i centrum to jest dwukrotnie silniej aktywowane niż konkurencyjne, znajdujące się na α -atomie. Z kolei najbardziej nukleofilowe centrum w przypadku N-tlenków **1a-e**, znajduje się na atomie tlenu fragmentu -CNO. Warto zauważyć, że najslabiej nukleofilowo aktywowanym lokalnie N-tlenkiem jest **1e** (co jest konsekwencją obecności elektronoakceptorowej grupy -NO₂), z kolei najsilniej nukleofilowo aktywowanym lokalnie N-tlenkiem jest **1a**.

Przyjmując, że przebieg badanych cykloaddycji zdeterminowany powinien być najkorzystniejszymi lokalnie oddziaływaniami elektrofil-nukleofil, należy uznać, że proces kontrolowany będzie przez atak nukleofilowego atomu tlenu fragmentu -CNO N-tlenku na elektrofilowy β -atom węgla fragmentu nitrowinyłowego nitroalkenu. Oddziaływania takie sprzyjać będą tworzeniu się 4-nitro- Δ^2 -izoksazolin **b**.

2.3.2. Struktura elektronowa reagentów - analiza ELF

Chcąc lepiej zrozumieć charakter elektronowe addentów **1a-e** oraz **2** i **3** postanowiłam dokonać ich precyzyjnego opisu za pomocą funkcji lokalizacji elektronów (ang. *Electron Localization Function* ELF). Analiza ta pozwala na stworzenie ilościowo opisanych struktur reagentów według teorii Lewisa. Do tego celu wykorzystałam dane uzyskane na drodze obliczeń na poziomie teorii ω B97XD/6-311G(d,p) za pomocą pakietu *TopMod*.

W toku analizy, okazało się, że wszystkie badane N-tlenki nitryli mają podobną strukturę elektronową. Wszystkie rozpatrywane struktury, posiadają dwa atraktory niewiążące, monosynaptyczne V(O1) i V'(O1) integrujące populacje elektronowe o wartościach mieszczących się w zakresie 5,67-5,70 e (*Tab.10.*).

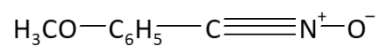
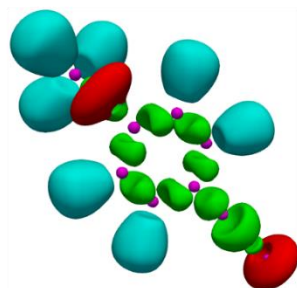
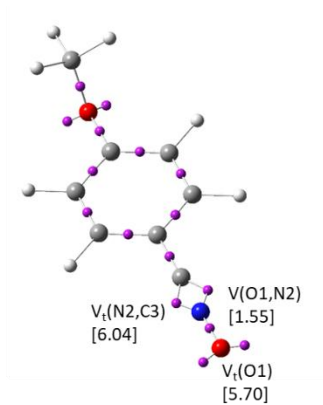
Tab.10. Populacje ELF najistotniejszych atomów dla **1a-e** i **2,3** wg obliczeń ω B97XD/6-311G(d,p). Wartości podane są jako średnia liczba elektronów (*e*)

	1a	1b	1c	1d	1e		2	3
V(O1,N2)	1,55	1,53	1,55	1,53	1,57	V(C4,C5)	1,79	1,78
V(N2,C3)	3,02	2,89	2,91	3,03	2,87	V'(C4,C5)	1,80	1,79
V'(N2,C3)	3,02	3,02	3,05	2,97	3,07			
V(O1)	2,85	2,97	2,98	2,94	2,96			
V'(O1)	2,85	2,80	2,81	2,75	2,71			

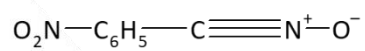
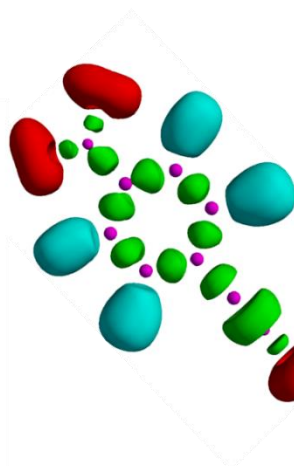
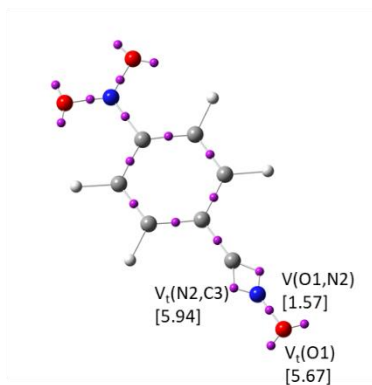
Ponadto struktury te posiadają także atraktor wiążący typu disynaptycznego V(O1,N2) o wartościach populacji 1,53-1,57 e, a także dwa atraktory wiążące typu disynaptycznego V(N2,C3) i V'(N2,C3) integrujące populacje elektronowe o łącznej wartości ponad 5,90 e.

Struktury Lewisa N-tlenków nitryli **1a-e** będą charakteryzowały się regionem niewiążącym przy atomie tlenu, występowaniem wiązania pojedynczego pomiędzy atomem tlenu i azotu oraz występowaniem wiązania potrójnego pomiędzy atomem azotu i węgla w charakterystycznym w ugrupowaniu nitrylowym (*Rys. 14*). W toku tej analizy nie stwierdzono obecności żadnego centrum pseudorodnikowego, czy karbenoidowego. Tak więc analizowane N-tlenki można przyporządkować do związków typu zwitterionowego (*zw-type*) [89].

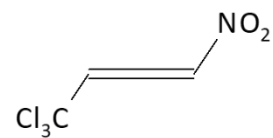
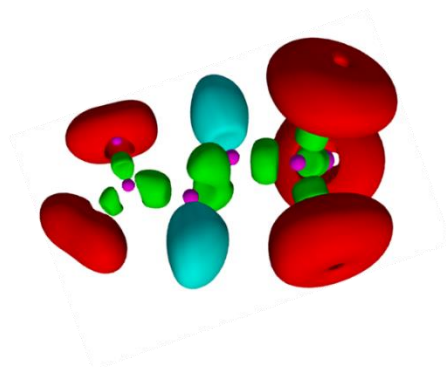
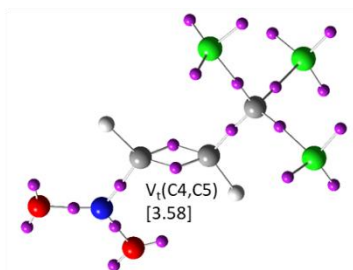
1a



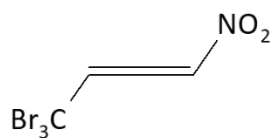
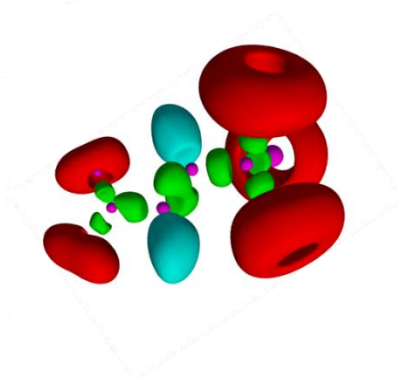
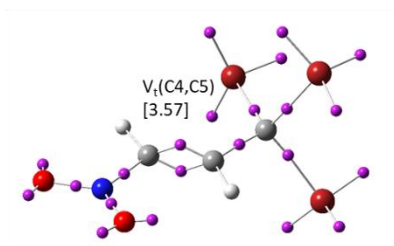
1e



2



3



Rys.14. Trójwymiarowe wizualizacje populacji ELF i zaproponowane struktury wg Lewisa wg obliczeń $\omega B97XD/6-311G(d,p)$. Wartości w nawiasach kwadratowych podane są jako elektrony (e).

Z kolei struktura elektronowa obu nitroalkenów **2** oraz **3** zawiera dwa atraktory wiążące typu disynaptycznego $V(C4,C5)$ i $V'(C4,C5)$ integrujące łącznie populacje elektronowe w zakresie około 3,50 e. Wskazuje to na występowanie pomiędzy atomami węgla C4 i C5 wiązania podwójnego (Rys.14).

2.3.3. Analiza profili energetycznych [3+2] cykloaddycji N-tlenków benzonitryli **1a-e** oraz nitroalkenów **2** i **3**

Analiza właściwości elektronowych addentów daje możliwość prognozowania regioselektywności cykloaddycji. Dostarcza również informacji pozwalających sklasyfikować reakcję bimolekularną, jako polarną, bądź niepolarną. Nie daje jednak wglądu w molekularny mechanizm reakcji. Do tego celu należy zrealizować proces lokalizacji, weryfikacji i identyfikacji struktur krytycznych na drodze konwersji substratów w produkty. Studia takie postanowiłam wykonać wykorzystując dane uzyskane na drodze obliczeń z użyciem funkcjonału ω B97XD oraz bazy funkcyjnej 6-311G(d,p). Podobny poziom teorii zastosowano w ostatnich latach do wyjaśnienia molekularnego mechanizmu reakcji N-metylo-azometyno ylidu ze styrenem [119], oceny reaktywności N-tlenku benzonitrylu i difenylnitryliminy w reakcji [3+2] cykloaddycji z *R*-2-metylo-5-(prop-1-en-2-yl)cykloheks-2-enonem (*R*-karwonem) [120], a także do opisu mechanizmu [3+2] cykloaddycji β -nitrostyrenów z nitronami [121] i katalizowanej kwasami Lewisa reakcji [3+2] cykloaddycji nitronów z 2,3-dihydrofuranem [122].

Obecność rozpuszczalnika uwzględniałam w tych obliczeniach stosując model PCM (z ang. *polarizable continuum model*) [123]. Zlokalizowane stany przejściowe reakcji (**TS**) scharakteryzowałam za pomocą analizy wibracyjnej stosując procedurę FREQ. Następnie wyznaczyłam wewnętrzne współrzędne reakcji IRC, w celu znalezienia minimów energetycznych wzdłuż ścieżki reakcji położonych w sąsiedztwie zweryfikowanego stanu przejściowego (**TS**). W ten sposób uzyskałam geometrie kompleksów pre-reakcyjnych oraz produktów (**MC**) oraz produktom (**P**). Globalny transfer gęstości elektronowej GEDT w obrębie struktur **MC** i **TS** obliczyłam za pomocą równania:

$$GEDT = -\sum q_A$$

Otrzymane wyniki zestawiałam w Tabeli 11 oraz Tabeli 12. Analizę poszczególnych profili energetycznych w pierwszej kolejności wykonałam dla modelowej reakcji pomiędzy N-

tlenkiem p-metoksybenzonitrylu (**1a**), a (E)-3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-enem (**2**) i (E)-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enem (**3**) (Rys.15.).

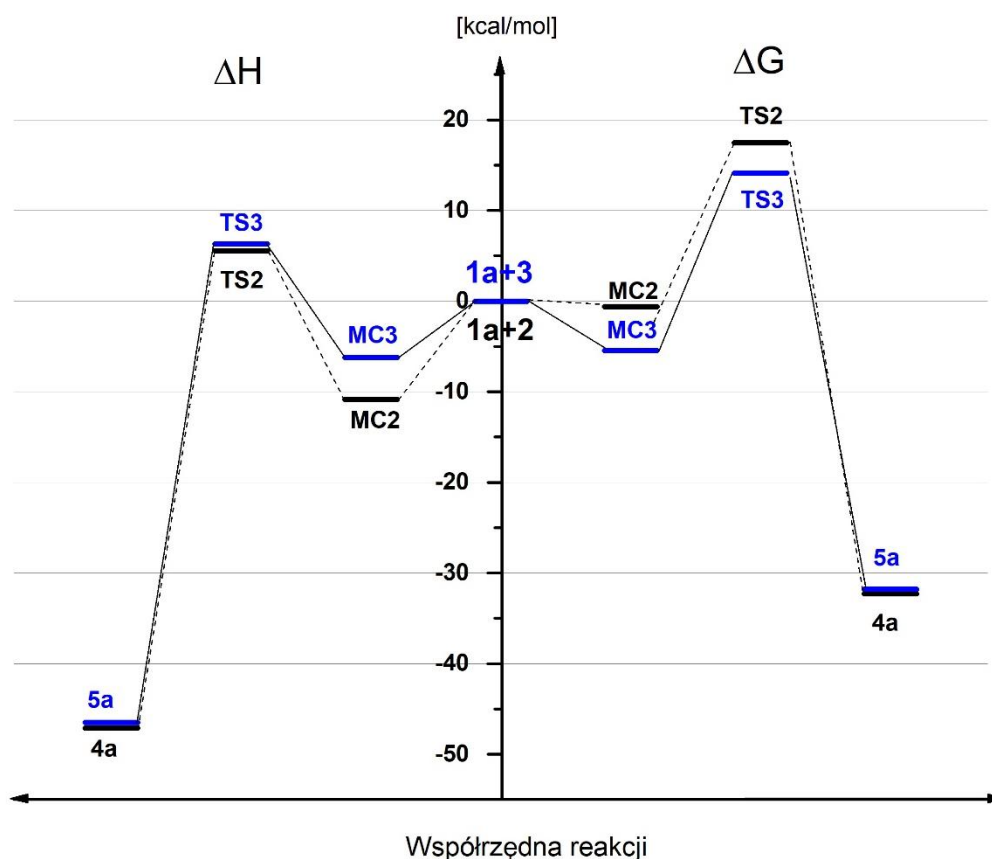
Tab.11. Parametry energetyczne reakcji 32CA 1a+2/3, w THF wg danych obliczeń ω B97XD/6-311G(d,p) (PCM), wartości ΔH i ΔG przedstawione są w kcal·mol⁻¹, natomiast ΔS cal·mol⁻¹

Reakcja	Stadium reakcji	THF ($\epsilon=7.58$)		
		ΔH	ΔS	ΔG
1a + 2	1a+2→ MC2	-10,86	-34,36	-0,62
	1a+2→ TS_A	5,55	-45,41	17,45
	1a+2→ TS_B	6,25	-54,31	19,09
	1a+2→ 4a	-47,14	-49,86	-32,28
	1a+2→ 4a'	-50,99	-57,60	-29,51
1a + 3	1a+3→ MC3	-6,22	-43,72	-2,93
	1a+3→ TS_A	6,33	-44,72	17,15
	1a+3→ TS_B	6,97	-52,51	19,66
	1a+3→ 5a	-46,49	-49,23	-31,81
	1a+3→ 5a'	-47,99	-50,88	-30,80

Okazało się, że profile energetyczne każdej rozpatrywanej reakcji mają podobny w sensie jakościowym charakter. W każdym przypadku zlokalizowałam cztery punkty krytyczne związane z istnieniem kolejno: doliny substratów, doliny kompleksu pre-reakcyjnego (**MC**), maksimum stanu przejściowego (**TS**) oraz odpowiedniego produktu. Należy jednak podkreślić, że ilościowy opis tych profili jest zasadniczo różny.

W początkowym etapie reakcji dochodzi do utworzenia kompleksu pre-reakcyjnego **MC**, wspólnego dla obu ścieżek reakcji, któremu towarzyszy niewielki spadek wartości entalpii ΔH (Tab.11). Formowanie się struktury **MC** nie wymaga przekroczenia bariery aktywacji. Transformacji tej towarzyszy zauważalny spadek wartości entropii. Kolejnym etapem transformacji jest utworzenie stanu przejściowego (odpowiednio **TS_A** i **TS_B**), co wiąże się ze wzrostem energii układu reakcyjnego. Na podstawie obliczonych wartości ΔH dla rozpatrywanych ścieżek, można określić kinetyczną preferencję układu. Wartości entalpii aktywacji dla ścieżek A w reakcjach **1a+2** oraz **1a+3** wynoszą odpowiednio **TS_{A2}** 5.55 i **TS_{A3}** 6.33 kcal·mol⁻¹ i są one wartościami niższymi, niż w przypadku ścieżki B, gdzie wynoszą odpowiednio **TS_{B2}** 6.25 i **TS_{B3}** 6.97 kcal·mol⁻¹. Oznacza to, że z kinetycznego punktu widzenia

faworyzowaną drogą konwersji addentów jest zawsze ścieżka wiodąca do odpowiednich 4-nitro- Δ^2 -izoksazolin. Dalszej konwersji reagującego układu, towarzyszy spadek entalpii oraz spadek energii swobodnej Gibbsa. Prowadzi do wejścia w energetyczne minimum związane z istnieniem produktów. Obie rozpatrywane reakcje charakteryzują się silnym efektem egzoergicznym i należy je interpretować jako procesy nieodwracalne.



Rys.15. Profile energetyczne ścieżek reakcji 1a+2, 1a+3 w THF wg. obliczeń ω B97XD/6-311G(d,p) (PCM).

Tab.12. Parametry energetyczne reakcji 32CA 1b-e+2/3, w THF wg danych obliczeń ω B97XD/6-311G(d,p) (PCM), wartości funkcji termodynamicznych ΔH i ΔG przedstawione są w $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, natomiast ΔS $\text{cal}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Reakcja	Stadium reakcji	THF ($\epsilon=7.58$)		
		ΔH	ΔS	ΔG
1b + 2	1b+2 $\rightarrow$ MC2	-6,81	-33,62	3,22
	1b+2 $\rightarrow$ TS2Ab	9,97	-40,72	22,11
	1b+2 $\rightarrow$ TS2Bb'	11,87	-42,07	24,41
	1b+2 $\rightarrow$ 4b	-43,20	-46,03	-29,47
	1b+2 $\rightarrow$ 4b'	-44,34	-52,65	-28,64
1b + 3	1b+3 $\rightarrow$ MC3	-8,19	-38,43	-2,41

	1b+3→ TS_A3b	10,63	-40,45	22,69
	1b+3→ TS_B3b'	13,10	-42,73	25,84
	1b+3→ 5b	-43,25	-45,79	-29,68
	1b+3→ 5b'	-44,29	-52,20	-27,64
1c + 2	1c+2→ MC2	-10,43	-33,51	-4,48
	1c+2→ TS_A2c	9,69	-45,68	23,31
	1c+2→ TS_B2c'	11,51	-46,42	25,35
	1c+2→ 4c	-43,84	-52,24	-28,27
	1c+2→ 4c'	-44,51	-52,63	-28,82
1c + 3	1c+3→ MC3	-4,97	-37,97	6,36
	1c+3→ TS_A3c	10,32	-46,06	24,06
	1c+3→ TS_B3c'	12,71	-47,96	27,01
	1c+3→ 5c	-43,07	-51,68	-27,57
	1c+3→ 5c'	-43,37	-52,19	-28,91
1d + 2	1d+2→ MC2	-4,99	-33,43	4,98
	1d+2→ TS_A2d	10,36	-46,95	24,36
	1d+2→ TS_B2d'	11,89	-47,48	26,04
	1d+2→ 4d	-42,95	-51,85	-28,49
	1d+2→ 4d'	-43,93	-52,47	-29,89
1d + 3	1d+3→ MC3	-1,62	-45,23	1,09
	1d+3→ TS_A3d	10,93	-47,24	25,01
	1d+3→ TS_B3d'	13,07	-47,75	27,32
	1d+3→ 5d	-42,51	-52,22	-27,95
	1d+3→ 5d'	-43,35	-57,21	-28,30
1e + 2	1e+2→ MC2	-4,85	-41,09	4,42
	1e+2→ TS_A2e	11,43	-47,38	25,56
	1e+2→ TS_B2e'	12,58	-47,71	26,80
	1e+2→ 4e	-43,80	-51,83	-28,34
	1e+2→ 4e'	-44,45	-52,66	-28,75
1e + 3	1e+3→ MC3	-4,38	-30,37	4,68

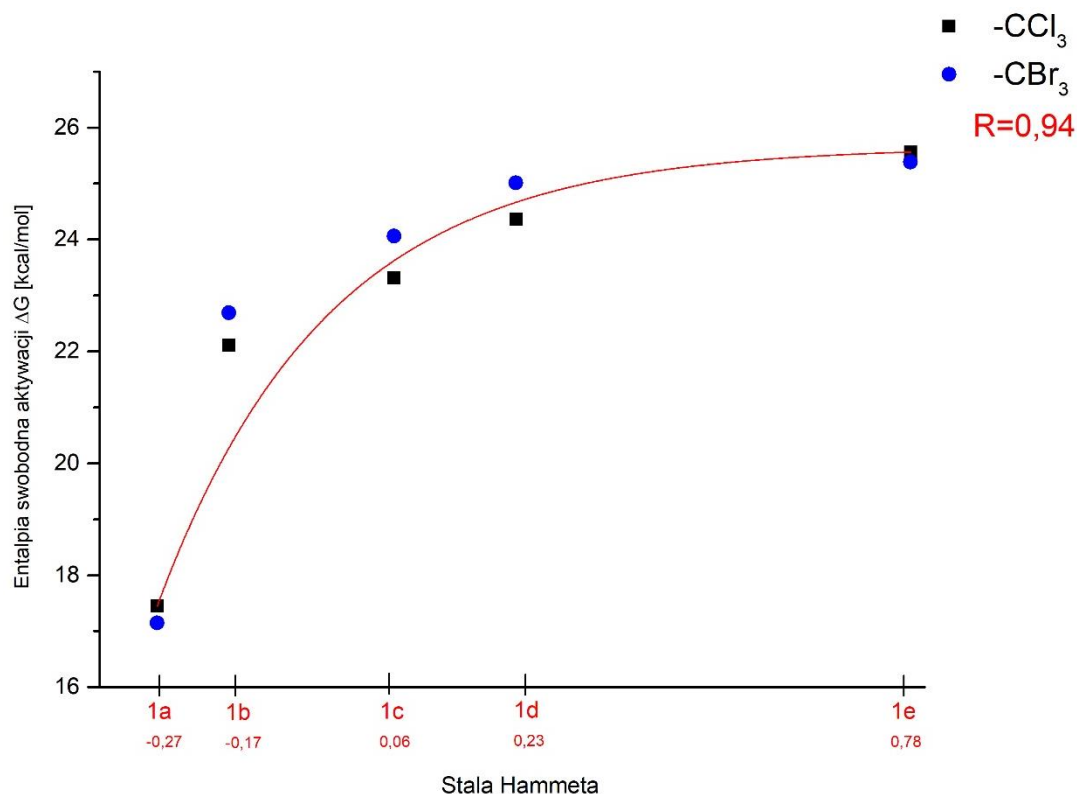
$1e+3 \rightarrow TS_{A3e}$	11,83	-45,43	25,38
$1e+3 \rightarrow TS_{B3e'}$	13,61	-47,13	27,67
$1e+3 \rightarrow 5e$	-43,43	-51,24	-28,15
$1e+3 \rightarrow 5e'$	-44,13	-52,40	-28,51

W podobny sposób analizowałam profile energetyczne pozostałych wytypowanych do badań reakcji. We wszystkich przypadkach zdiagnozowałam:

- (a) jednoetapowy mechanizm cykloadycji,
- (b) kinetyczną preferencję dla formowania się **4-nitro- Δ^2 -izoksazolin**.

Ponadto należy zauważyć, że wysokość barier aktywacji zmienia się wraz z wartością stałej Hammetta podstawnika w porządku: **NO₂ > Cl > F > Me > MeO**. Analiza korelacyjna (Rys.16) wykazała, że zależność pomiędzy barierą aktywacji a stałą Hammeta podstawnika w cząsteczce N-tlenku daje się opisać za pomocą zależności:

$$y = -14,226x^2 + 13,541x + 23,333$$



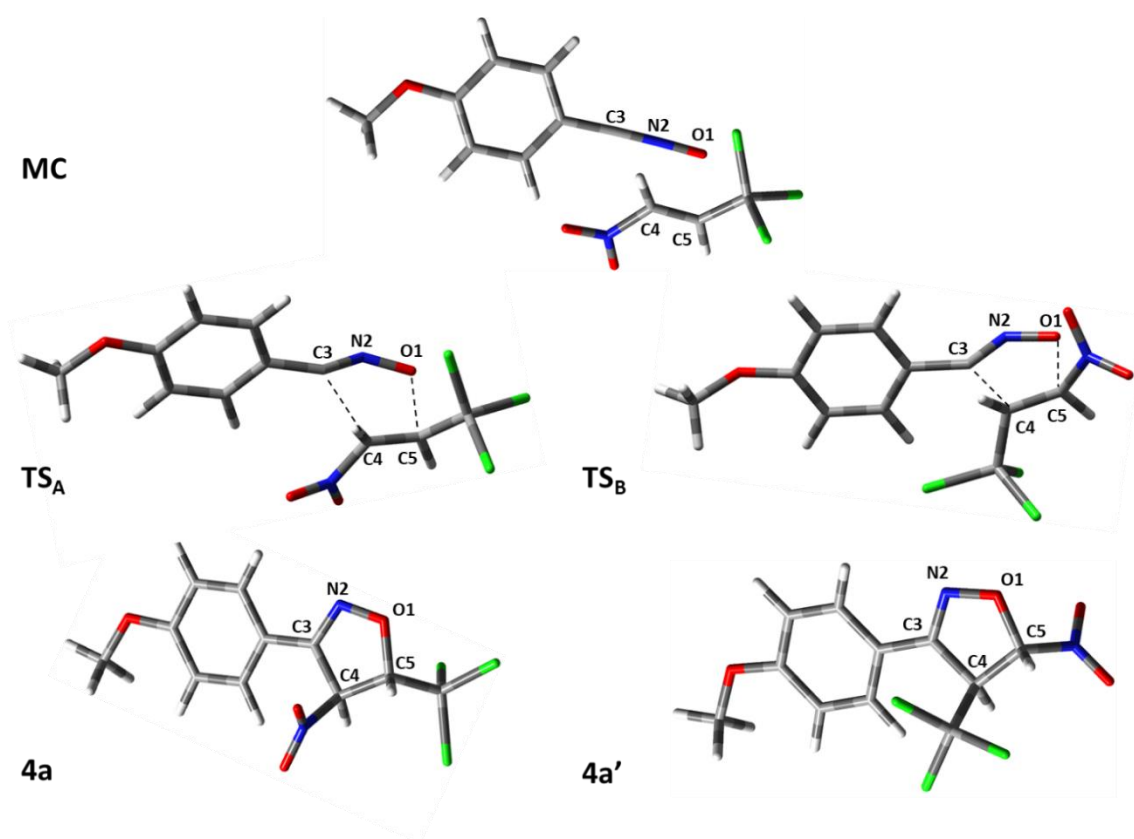
Rys.16. Zależność pomiędzy barierą aktywacji ΔG [kcal•mol⁻¹] w wartości stałej Hammeta, podstawnika w cząsteczce N-tlenku nitrylu

W celu pełnego opisu ścieżek badanych reakcji wykonałam także analizę struktur krytycznych. W pierwszej kolejności postanowiłam przeprowadzić analizę struktur krytycznych dla reakcji N-tlenku 4-metoksybenzonitrylu (**1a**) z (E)-3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-enem (**2**) oraz (E)-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enem (**3**). *Rysunek 16* przedstawia wizualizację tych struktur, natomiast w Tabelach 13 oraz 14 zestawiałam wybrane parametry takie jak dystanse międzyatomowe, stopnie zaawansowania kluczowych wiązań czy stopień asynchroniczności stanu przejściowego.

W szczególności, należy zauważyć, że w obrębie kompleksu pre-reakcyjnego **MC**, długości wiązań **O1-N2**, **N2-C3** oraz **C4-C5** są praktycznie takie same, jak te w przypadku indywidualnych reagentów (*Tab.13.*) (*Rys.17.*). Z kolei, dystanse międzyatomowe pomiędzy **C3-C4** oraz **C5-O1**, są zbyt duże, aby można było je zaliczyć do wiązań między tymi rodzajami atomów w stanach przejściowych. Ponadto, **MC** nie można traktować za determinanty selektywności reakcji, ze względu na to, że nie są one kompleksami orientacyjnymi [124]. Należy nadmienić, że **MC** nie mają natury kompleksów CT, o czym świadczy równa zero wartość indeksu **GEDT**.

Z kolei w obrębie zlokalizowanych stanów przejściowych **TS**, dystanse międzyatomowe **C3-C4** oraz **C5-O1** ulegają zauważalnemu skróceniu. W przypadku **TS_A** i **TS_B** dla reakcji **1a+2**, wartości stopnia zaawansowania wspomnianych wiązań wynoszą odpowiednio 56% i 51%, oraz 40% i 54%. **TS_A** tej reakcji, jest zatem bardziej synchroniczny niż **TS_B** (*Tab.13*). Zlokalizowane stany przejściowe wykazują polarną naturę (co sugerowała analiza indeksów reaktywności). Wskazują na to wartości indeksu **GEDT**.

W podobny sposób analizowałam struktury krytyczne pozostałych badanych reakcji (*Tab.13-14*) (*Rys.17-18*). Wszystkie zlokalizowane **TS**-y można odnieść do tej samej kategorii stanów przejściowych, co opisane wyżej struktury w reakcji **1a+2**. Znamiennym jest, że zgodnie z oczekiwaniami, polarna natura cykloaddycji staje się bardziej wyrazista w przypadku reakcji z udziałem **EDG**-(ang. *Electron Donating Groups*) podstawionych N-tlenków.



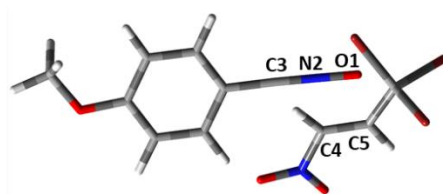
Rys.17. Wizualizacja struktur krytycznych reakcji **1a+2** w THF wg. obliczeń ω B97XD/6-311G(d,p) (PCM).

Tab.13. Wybrane parametry struktur krytycznych [3+2] cykloaddycji **1a-e+2** w THF wg. obliczeń ω B97XD/6-311G(d,p) (PCM).

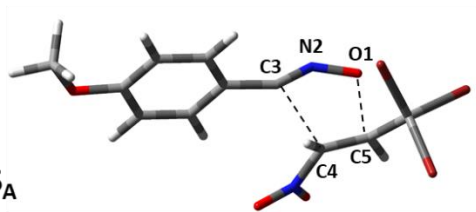
Reakcja	Struktura	Dystanse międzyatomowe [Å]					l_{C3-C4}	l_{C5-O1}	Δl	GEDT [e]
		O1-N2	N2-C3	C3-C4	C4-C5	C5-O1				
1a+2	MC	1,211	1,155	4,570	1,320	4,598				0,00
	TS_A	1,234	1,198	2,255	1,371	2,049	0,559	0,508	0,05	0,15
	4a	1,379	1,277	1,511	1,526	1,422				
	TS_B	1,241	1,205	2,250	1,527	2,123	0,404	0,535	0,13	0,15
	4a'	1,414	1,268	1,410	1,546	1,449				
1b+2	MC	1,209	1,155	4,624	1,320	4,761				0,00
	TS_A	1,232	1,197	2,240	1,371	2,067	0,548	0,517	0,03	0,15
	4b	1,376	1,277	1,511	1,526	1,424				
	TS_B	1,224	1,203	2,185	1,369	2,123	0,562	0,459	0,10	0,14
	4b'	1,404	1,277	1,519	1,526	1,378				
1c+2	MC	1,211	1,154	4,382	1,320	4,018				0,00
	TS_A	1,230	1,197	2,236	1,370	2,076	0,543	0,519	0,02	0,13
	4c	1,374	1,276	1,510	1,526	1,425				

	TS_B	1,222	1,203	2,185	1,369	2,131	0,561	0,455	0,11	0,13
	4c'	1,402	1,277	1,519	1,527	1,379				
	MC	1,207	1,156	4,760	1,321	4,199				0,00
	TS_A	1,227	1,196	2,224	1,370	2,095	0,520	0,527	0,01	0,14
1d+2	4d	1,371	1,276	1,510	1,526	1,416				
	TS_B	1,219	1,202	2,180	1,369	2,146	0,563	0,467	0,10	0,14
	4d'	1,395	1,273	1,518	1,526	1,400				
	MC	1,206	1,154	4,240	1,320	4,212				0,00
	TS_A	1,224	1,196	2,217	1,370	2,105	0,525	0,531	0,01	0,11
1e+2	4e	1,366	1,276	1,509	1,526	1,428				
	TS_B	1,217	1,202	2,177	1,368	2,157	0,565	0,440	0,13	0,11
	4e'	1,396	1,276	1,517	1,527	1,382				

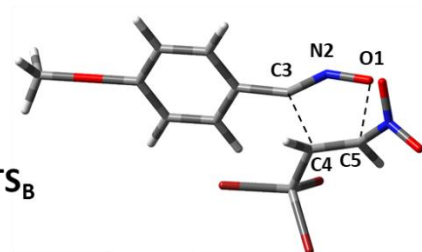
MC



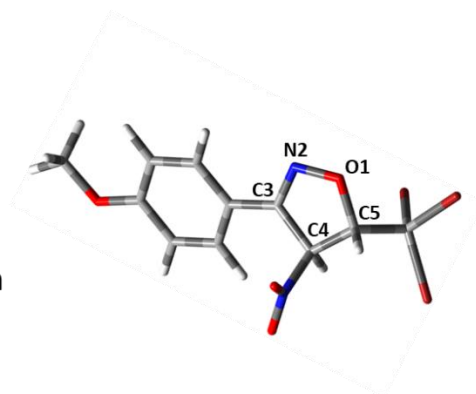
TS_A



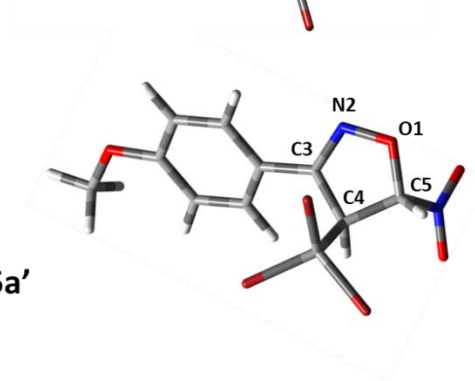
TS_B



5a



5a'



Rys.18. Wizualizacja struktur krytycznych reakcji 1a+3 w THF wg. obliczeń ω B97XD/6-311G(d,p) (PCM).

Tab.14. Wybrane parametry struktur krytycznych [3+2] cykloaddycji **1a-e+3** w THF wg. obliczeń ω B97XD/6-311G(d,p) (PCM).

Reakcja	Struktura	Dystanse międzyatomowe [Å]					l_{C3-C4}	l_{C5-O1}	Δl	GEDT [e]
		O1-N2	N2-C3	C3-C4	C4-C5	C5-O1				
1a+3	MC	1,211	1,155	3,179	1,323	3,033				0,00
	TS_A	1,234	1,198	2,246	1,372	2,067	0,550	0,513	0,04	0,13
	5a	1,377	1,277	1,510	1,528	1,426				
	TS_B	1,382	1,243	2,228	1,413	2,072	0,546	0,616	0,07	0,13
	5a'	1,405	1,277	1,532	1,529	1,497				
1b+3	MC	1,211	1,155	3,192	1,321	3,061				0,00
	TS_A	1,232	1,197	2,235	1,372	2,081	0,541	0,520	0,02	0,12
	5b	1,375	1,277	1,510	1,528	1,427				
	TS_B	1,225	1,204	2,191	1,371	2,113	0,560	0,466	0,09	0,12
	5b'	1,404	1,276	1,521	1,528	1,378				
1c+3	MC	1,212	1,154	3,236	1,321	3,051				0,00
	TS_A	1,229	1,197	2,230	1,372	2,093	0,534	0,523	0,01	0,11
	5c	1,373	1,276	1,510	1,528	1,428				
	TS_B	1,223	1,204	2,192	1,371	2,120	0,559	0,462	0,10	0,11
	5c'	1,402	1,276	1,521	1,529	1,378				
1d+3	MC	1,205	1,155	3,290	1,322	3,114				0,00
	TS_A	1,227	1,197	2,217	1,371	2,113	0,522	0,530	0,01	0,12
	5d	1,369	1,276	1,509	1,529	1,429				
	TS_B	1,221	1,203	2,187	1,370	2,135	0,560	0,475	0,09	0,11
	5d'	1,395	1,273	1,519	1,528	1,400				
1e+3	MC	1,206	1,155	3,360	1,323	3,012				0,00
	TS_A	1,224	1,196	2,207	1,371	2,127	0,514	0,537	0,02	0,10
	5e	1,365	1,276	1,509	1,528	1,431				
	TS_B	1,218	1,203	2,183	1,370	2,145	0,563	0,447	0,12	
	5e'	1,396	1,275	1,519	1,529	1,381				0,09

2.4. Regioselektywność [3+2] cykloaddycji N-tlenków nitryli z nitroalkenami

Dysponując nitroalkenami oraz prekursorami N-tlenków nitryli mogłam przystąpić do eksperymentalnych studiów nad przebiegiem cykloaddycji. Z kwantowo-chemicznego opisu reakcji N-tlenków benzonitryli **1a-e** z (E)-3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-enem **2** oraz (E)-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enem **3** wynika, że cykloaddycje te powinny realizować się w łagodnych warunkach oraz według jednoetapowego mechanizmu polarnego, co teoretycznie powinno determinować stereochemię cykloaddycji, z zachowaniem retencji pierwotnej konfiguracji podstawników wnoszonych z addentów [98].

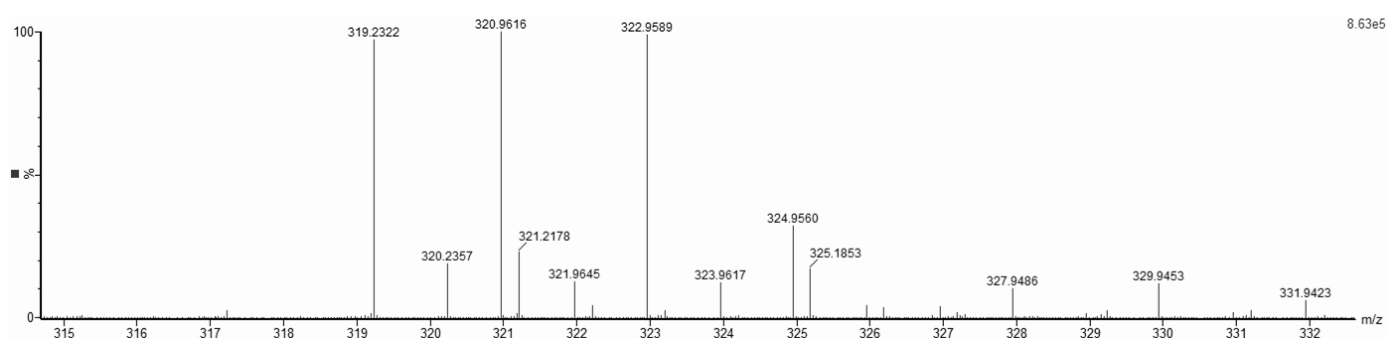
Znane są różne inne metody generacji N-tlenków nitryli z chlorków kwasów hydroksamowych, m.in. poprzez usunięcie HCl przy zastosowaniu: trietyloaminy (TEA) [125], glinu, fluorków metali alkalicznych [126], czy też wodorowęglanu potasu [127] i węglanu potasu [62]. W toku badań testowałam trzy odczynniki stymulujące proces dehydrochlorowania: KF, TEA oraz K₂CO₃. Fluorek potasu ze względu na swoją toksyczność, skłonność do szybszego niszczenia szkła i stosunkowo wolne działanie, został odrzucony w toku wstępnych badań. TEA jako środek dehydrochlorujący jest bardzo efektywny, nie mniej jednak jego obecność powoduje nie tylko dehydrochlorowanie otrzymanych chlorków kwasowych, ale także katalizuje inne uboczne reakcje (jak np. polimeryzacja nitroalkenów), co skutkuje otrzymaniem mieszaniny poreakcyjnej, bardzo trudnej do rozdzielania. Analizując powyższe aspekty, zdecydowałam o wyborze K₂CO₃.

Badania zainicjowałam od testowej reakcji z udziałem, N-tlenku 4-metylobenzonitrylu **1b**, która powinny dać możliwość otrzymania mieszaniny regioizomerycznych **3-(4-metylofenylo)-4(5)-nitro-5(4)-(trichlorometylo)-Δ²-izoksazolin** lub jednego z tych produktów. W tym celu wykonałam szereg testów, zmieniając temperaturę, stosunek molowy reagentów, a także czynnik dehydrochlorujący i czas reakcji (Tab.15). Okazało się, że najlepszymi warunkami syntezy jest temperatura pokojowa a także zastosowanie K₂CO₃, jako odczynnika dehydrochlorującego, przy stosunku molowego addentów (N-tlenek : nitroalken) 1:1,25. W tych warunkach, proces konwersji reagentów po upływie 24h jest zakończony.

Tab.15. Poszukiwanie dogodnych warunków dla reakcji (E)-3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-enu z analogami N-tlenku benzonitrylu

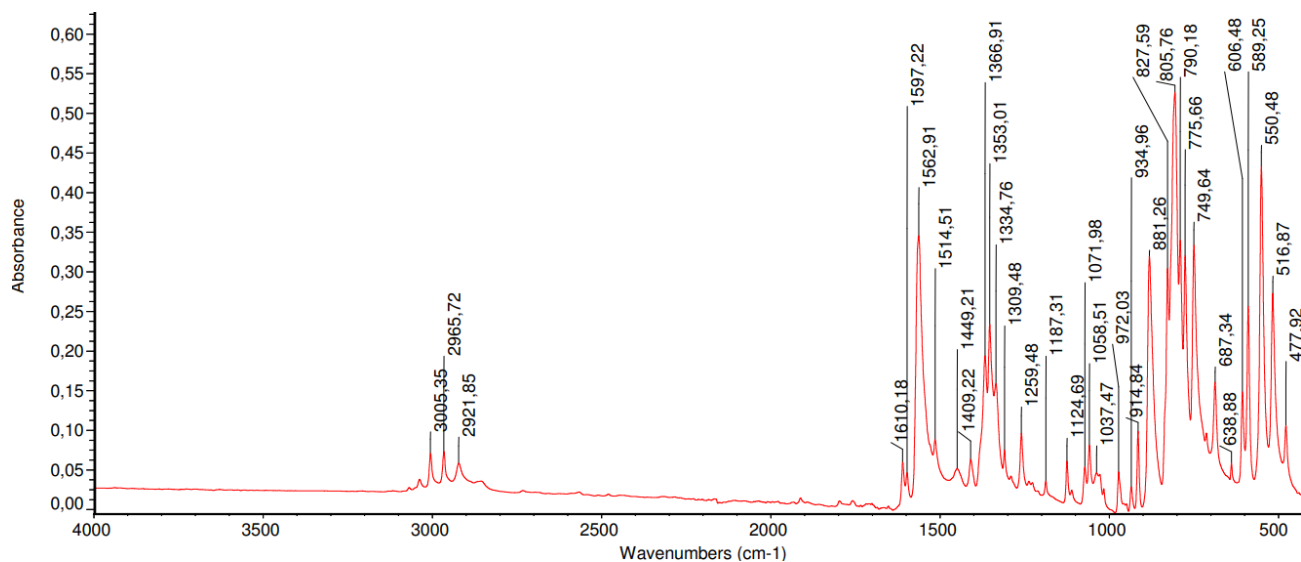
Lp.		Temp [°C]	Czas [h]	Stosunek molekowy (N-tlenek /nitroalken)	Wydajność [%]	
					izoksazolina	furoksan
1	K ₂ CO ₃	25	24	1:1,25	40	1
		66	6	1:1,25	40	8,1
2	TEA	25	24	1:1,25	44,4	0,9
		66	6	1:1,25	43,5	5
1	K ₂ CO ₃	25	24	1:2	9,8	0,8
		66	6	1:2	25,6	7,5
2	TEA	25	24	1:2	20,8	0,7
		66	6	1:2	47,6	10,6

Analizy HPLC i TLC wykazały, że w toku reakcji powstaje tylko jeden produkt cykloaddycji, obok niewielkich ilości furoksanu będącego produktem dimeryzacji TAC. Związek ten udało się wyizolować z masy poreakcyjnej za pomocą krystalizacji frakcyjnej. Jego identyfikacja została wykonana w oparciu o standardowy zestaw technik fizykochemicznych stosowanych w syntezie organicznej. I tak, na widmie HRMS (Rys.19) został odnaleziony sygnał pochodzący od jonu pseudo-molekularnego o wartości **320,9601** u, który odpowiada zaproponowanej strukturze **320,96005** u. Ponadto, należy nadmienić, że na widmie widoczny jest profil izotopowy, charakterystyczny dla atomu chloru znajdującego się w strukturze badanego związku. Fakt ten dodatkowo utwierdza w przekonaniu, że analizowana struktura odpowiada tej, którą zakładałam.



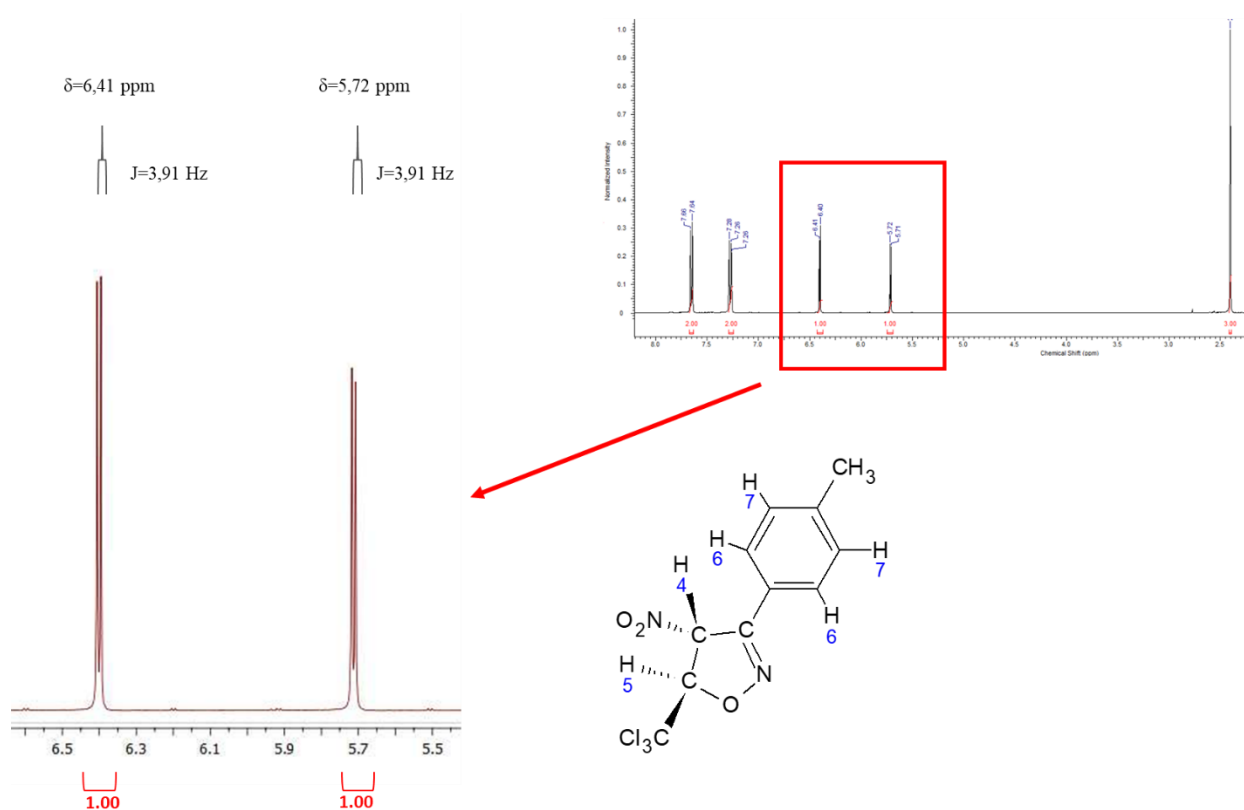
Rys.19. Widmo HRMS 4,5-trans-3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)-Δ²-izoksazolinylu.

Z kolei na widmie IR zsyntezowanego związku (Rys.20.) zidentyfikowałam pasma pochodzące od drgań grupy NO_2 (symetryczne rozciągające – 1353 cm^{-1} , asymetryczne rozciągające 1562 cm^{-1}), wiązania $\text{C}=\text{N}$ pierścienia heterocyklicznego (rozciągające 1610 cm^{-1}), a także dla wiązania $\text{C}-\text{Cl}$ (rozciągające 805 cm^{-1})[128].



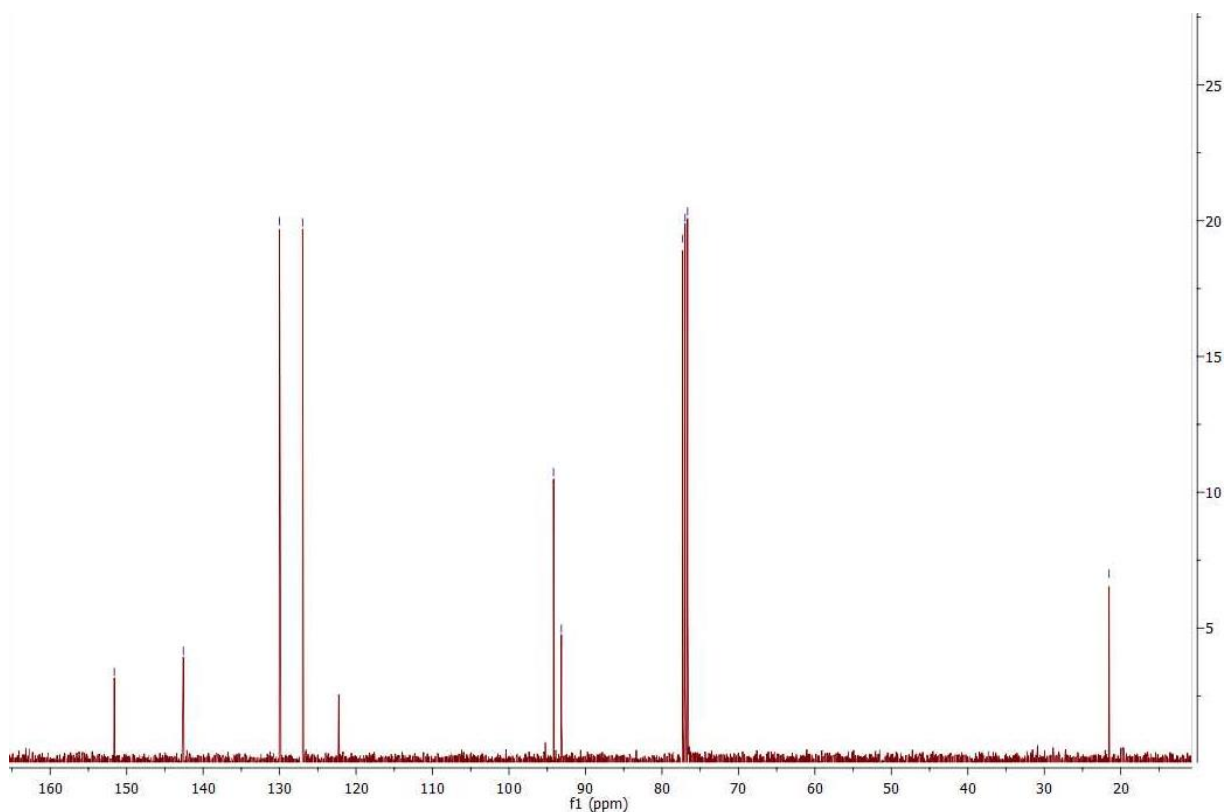
Rys.20. Widmo IR 4,5-trans-3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazolinu.

Na widmie $^1\text{H-NMR}$ (Rys.21.) wyizolowanego związku, znajdują dwa dublety o całce równej 1 przy 5.72 ppm i 6.41 ppm, które odpowiadają dwóm protonom przy pierścieniu izoksazolinowym. Protony związane z pierścieniem izoksazolinowym tworzą układ spinowy **AX**. Na widmie widoczne są również kolejne dwa dublety dubletów o całce równej 2 przy 7.27 ppm i 7.65 ppm, które odpowiadają czterem protonom zawartym w aromatycznym pierścieniu podstawnika pochodzącego strukturalnie z N-tlenku p-metylobenzonitrylu. Suma całek na widmie NMR wynosi **9**, co zgadza się z ilością protonów w strukturze badanego związku. Widmo $^1\text{H-NMR}$ pozwala także rzucić światło na stereochemię zsyntezowanego połączenia. W szczególności, stała sprzężenia pomiędzy protonami H4 i H5 wynosi **3,91 Hz**, co oznacza, protony w pozycjach 4 i 5 znajdują się po przeciwnych stronach umownej płaszczyzny pierścienia heterocyklicznego. To prowadzi do konkluzji, że podstawniki nitrowy i trichlorometylowy znajdują się względem siebie w konfiguracji **trans**.



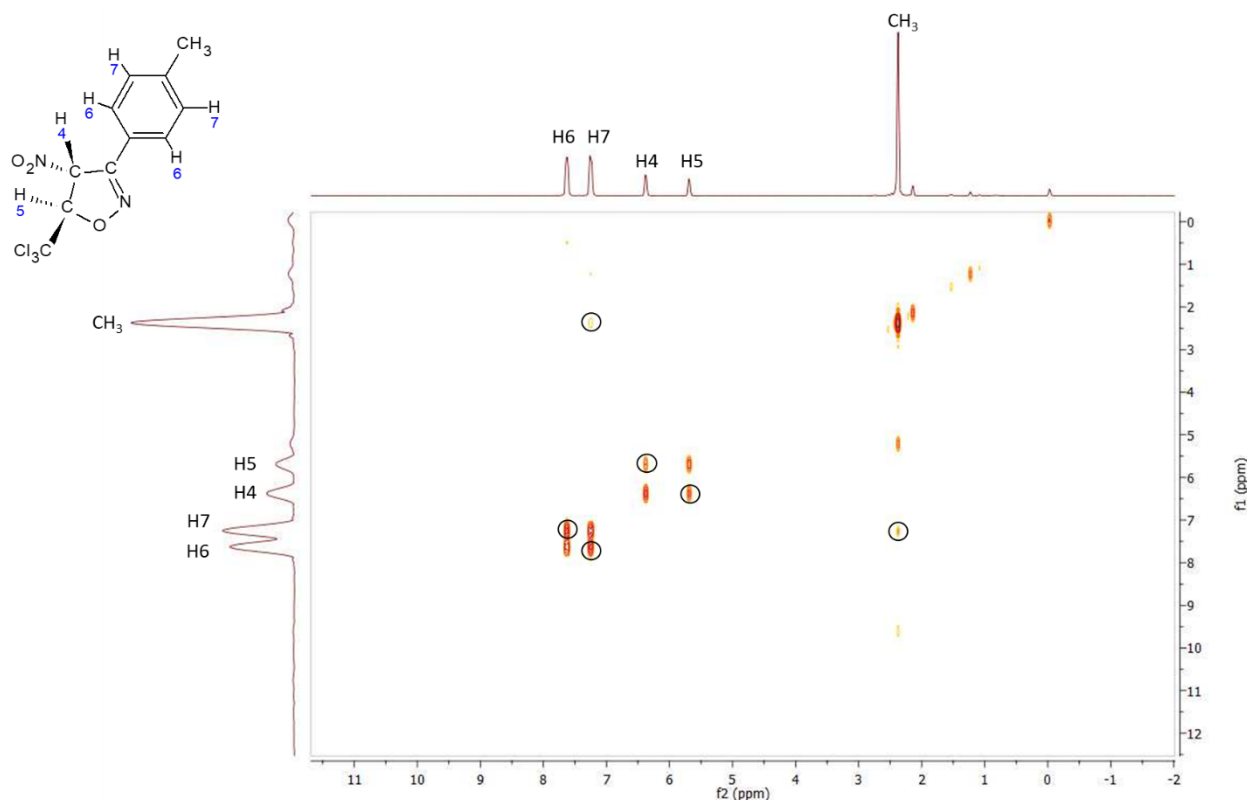
Rys.21. Widmo ^1H -NMR 4,5-trans-3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazolin.

Z kolei na widmie ^{13}C -NMR (Rys.22.) udało się zidentyfikować sygnały dające się powiązać z atomami węgla w pierścieniu izoksazolinowym, a także z atomami węgla pochodzącymi z pierścienia aromatycznego. Charakterystyczne sygnały dla atomów węgla pierścienia izoksazolinowego, w którym wszystkie atomy węgla są równocennej rzędowości, to $\delta=93.16$ ppm dla atomu **C4**, który w tym przypadku jest najsilniej ekranowany przez przyłączoną grupę nitrową; $\delta=94.18$ ppm dla węgla **C5** oraz $\delta=151.61$ ppm dla węgla **C3**, który jest najsłabiej ekranowany.



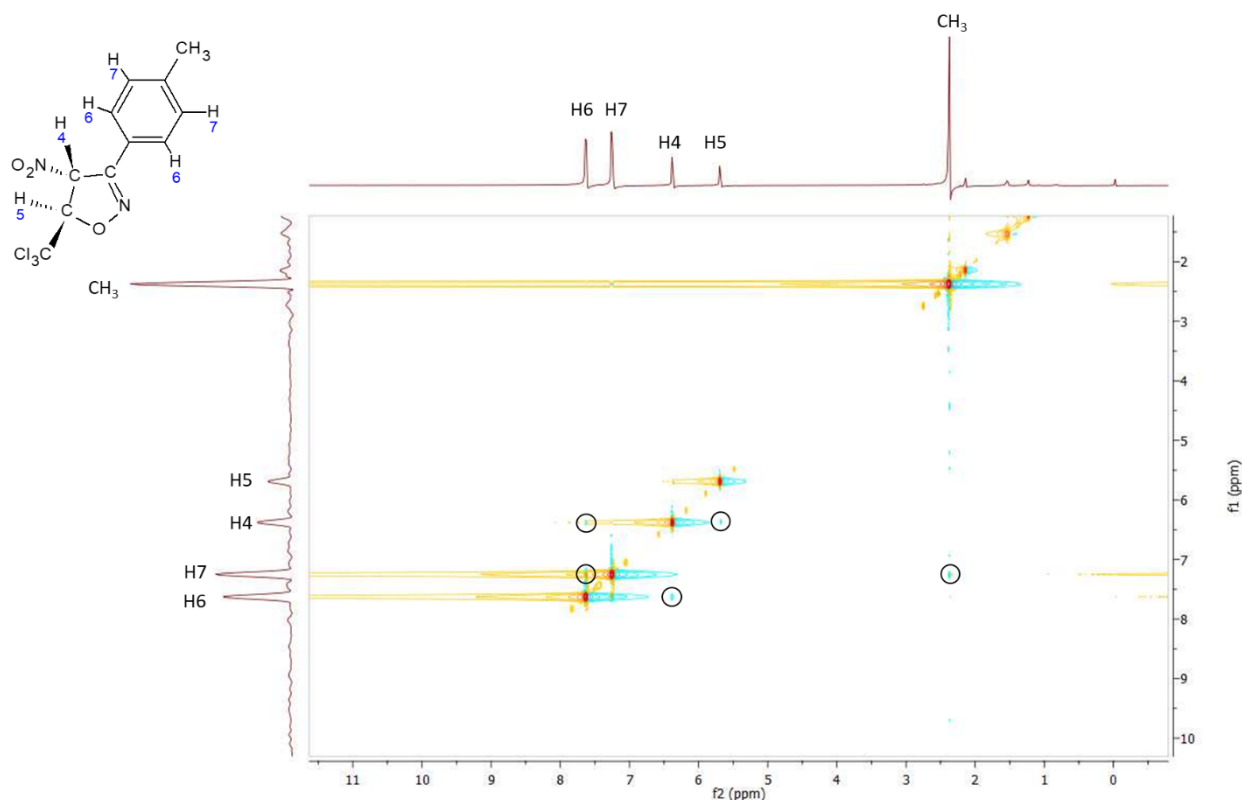
Rys.22. Fragment widma $^{13}\text{C-NMR}$ 4,5-trans-3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazoliny.

Ponadto wykonałam także widma korelacyjne tzw. 2D NMR: COSY, NOESY oraz HSQC, celem potwierdzenia wcześniejszego przyporządkowania sygnałów na widmach $^1\text{H-NMR}$ oraz $^{13}\text{C-NMR}$. Na widmie COSY zauważalne są oddziaływania między protonami leżącymi w najbliższym sąsiedztwie, nawet w odległości trzech wiązań lub więcej. Protony aromatyczne oddziałują z protonami pochodzącymi **H7** z podstawnika metylowego. Protony aromatyczne silnie oddziałują wzajemnie na siebie **H6,H7**, a protony pochodzące z pierścienia izoksazoliny **H4,H5** w tej analizie wykazują silne oddziaływanie względem siebie (Rys. 23.).



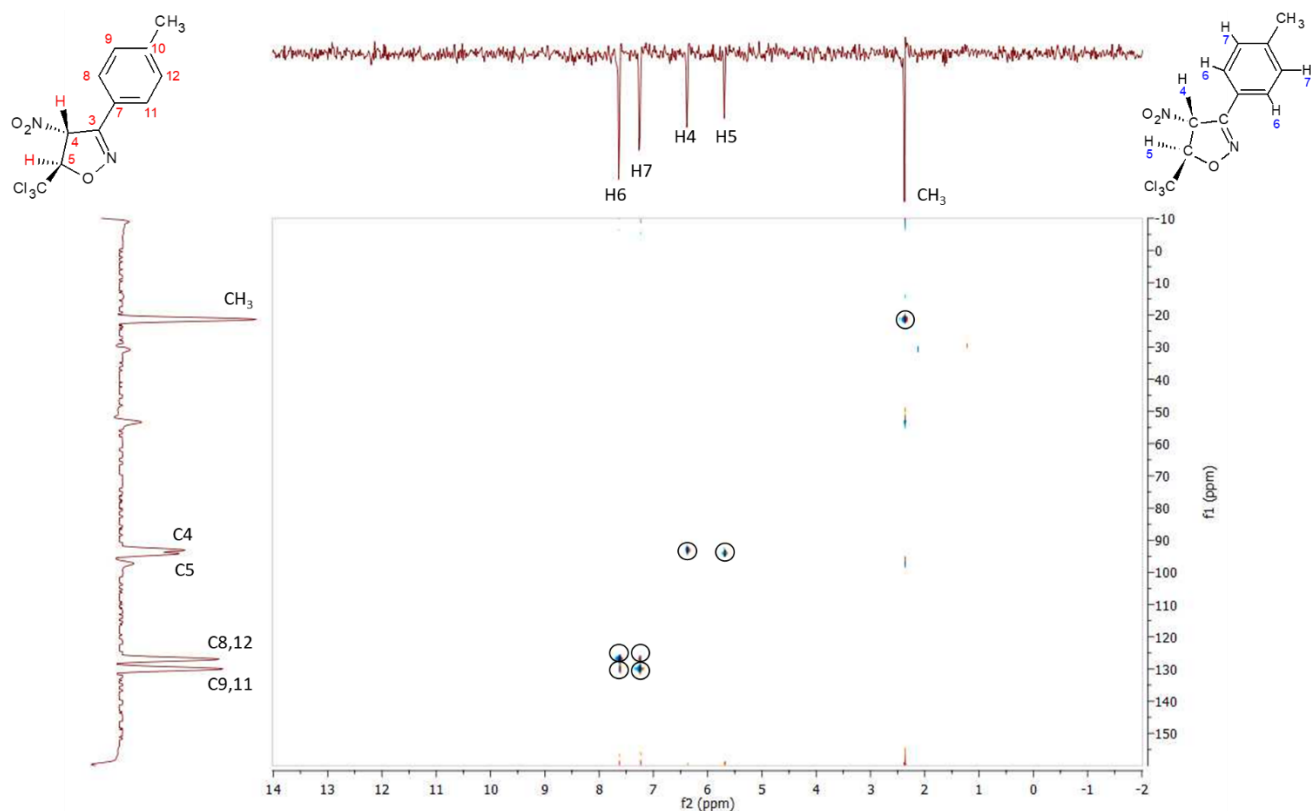
Rys.23. Analiza spektralna COSY 4,5-trans-3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazolin.

Na widmie NOESY przedstawione są bliskie oddziaływania protonów. Powstaje ono dzięki zjawisku NOE – Nuclear Overhauser Effect, polegającemu na oddziaływaniu dwóch magnetycznych momentów spinów jądrowych w przestrzeni. W toku analizy tego widma, zauważyłam wpływ protonu z pierścienia aromatycznego **H6** z protonem pierścienia izoksazolin **H4**, a także oddziaływania protonów grupy metylowej na dalsze protony **H6**, znajdujące się w pierścieniu aromatycznym (Rys.24.).



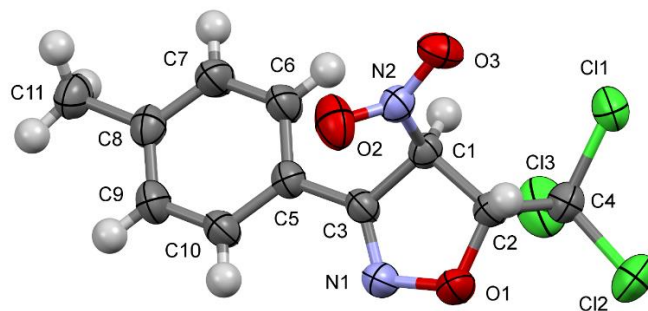
Rys.24. Analiza spektralna NOESY 4,5-trans-3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazoliny.

Widmo HSQC jest wzajemną korelacją widm ^1H NMR i ^{13}C NMR, a co za tym idzie daje możliwość przyporządkowania poszczególnych sygnałów protonów do sygnałów atomów węgla. Z tej analizy wnioskujemy, że sygnały dla protonów **H6** i **H7** pochodzą z pierścienia aromatycznego, ponieważ silnie oddziałują z atomami węgla przyporządkowanymi do aromatycznego podstawnika izoksazoliny, natomiast sygnały protonów **H4** i **H5** pochodzą z pierścienia izoksazoliny, gdyż widoczne jest ich silne oddziaływanie z atomami węgla **C4** i **C5** z pierścienia heterocyklicznego (Rys.25.).



Rys.25. Analiza spektralna HSQC 4,5-trans-3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazoliny

Na koniec, celem potwierdzenia struktury zsyntezowanego związku, wykonałam także analizę krystalograficzną metodą dyfrakcji rentgenowskiej XRD. Wizualizację struktury otrzymanej na drodze tej analizy przedstawia *Rysunek 26 i Tabela 15*. Celem pełnego scharakteryzowania związku wykonałam ponadto jego widmo UV. Okazało się, że zakresie podstawowego ultrafioletu zsyntezowana izoksazolina wykazuje absorpcje z maksimum przy 265nm. Najprawdopodobniej jest ona związana z przejściami elektronowymi pomiędzy orbitami obejmującymi skoniugowany układ π -elektronowy w obrębie pierścienia benzenowego.



Rys.26. Wizualizacja struktury molekularnej 4,5-trans-3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazoliny na podstawie pomiarów XRD.

Tab.16. Parametry pomiaru XRD dla 4,5-*trans*-3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazoliny.

Wzór empiryczny	C₁₁H₉Cl₃N₂O₃
Masa molowa	323,55 g/mol
Temperatura [K]	294,13
Układ krystalograficzny	trójskośny
Grupa przestrzenna	<i>P</i> -1
<i>a</i> [Å]	5,9745(3)
<i>b</i> [Å]	9,3795(4)
<i>c</i> [Å]	12,1947(5)
α [°]	95,047(4)
β [°]	94,403(4)
γ [°]	90,605(3)
<i>V</i> [Å ³]	678,60(5)
<i>Z</i>	2

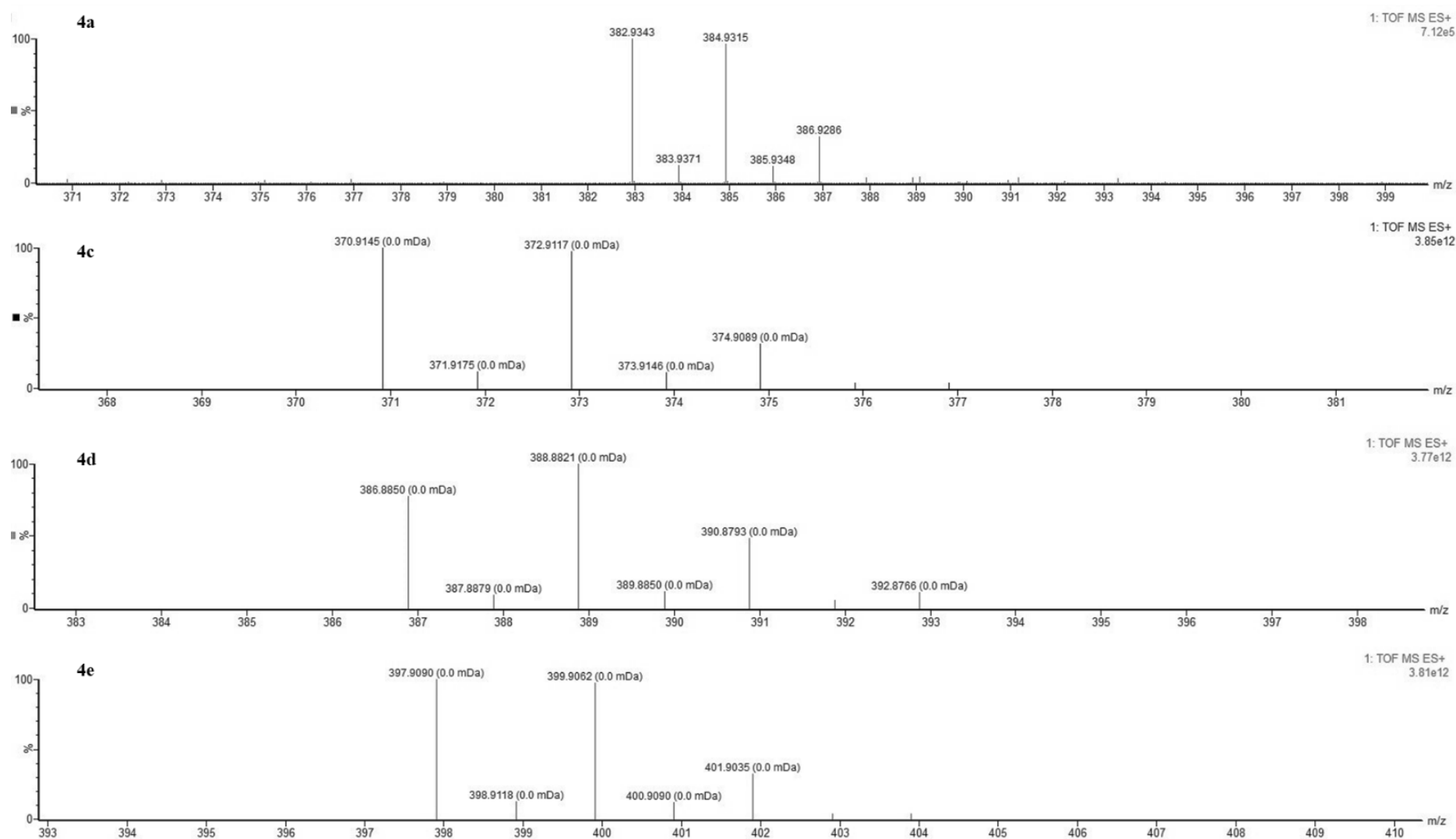
Podsumowując powyższe rozważania, można stwierdzić, że produktem reakcji N-tlenku 4-metylobenzonitrylu (**1b**) z 3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-enu (**2**) jest niewątpliwie 4,5-*trans*-3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazolina (Sch.24.).

W kolejnym kroku, przystąpiłam do syntezy serii kolejnych izoksazolin, różniących się rodzajem podstawnika w pierścieniu aromatycznym pochodzącym od N-tlenku benzonitrylu. Przyjęłam analogiczną metodologię pracy jak w przypadku cykloaddycji N-tlenku 4-metylobenzonitrylu z 3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-enu. Wyizolowaną w postaci chemicznych indywiduów serię związków scharakteryzowałam metodami spektralnymi (Tab.17.) (Rys. 25,26). Okazało się, że reakcje te realizują się w podobnych warunkach a ich produktami są zawsze odpowiednie 4,5-*trans*-3-arylo-4-nitro-5-trichlorometylo- Δ^2 -izoksazoliny.

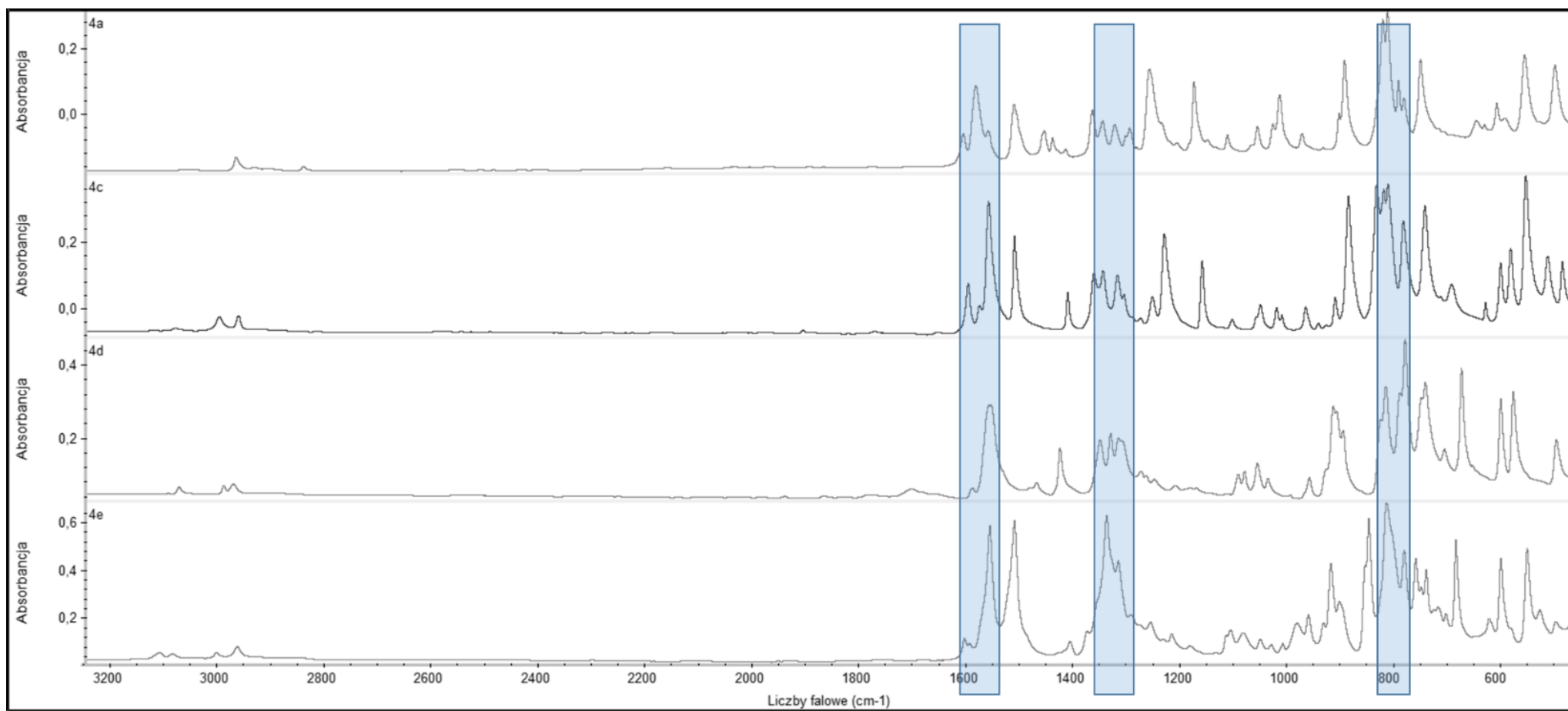
Reasumując, niezależnie od nukleofilowości N-tlenku determinowanej charakterem podstawnika w pierścieniu benzenowym, wszystkie analizowane reakcje realizują się z pełną regioselektywnością oraz retencją stereokonfiguracji wnoszonej z nitroalkenów.

Tab. 17. Charakterystyki fizyczne 4,5-trans-3-arylo-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazolin

Nazwa związku	^1H NMR δ [ppm]	^{13}C NMR δ [ppm]	^{19}F NMR δ [ppm]	HRMS [u]	UV/Vis [nm]	tt [°C]	Wydajność [%]
4,5-trans-3-(4-metoksyfenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)-Δ^2-izoksazolina (4a)	3.86 (s, 3H), 5.71 (d, 1H, J=3.91Hz) 6.39 (d, 1H, J=3.91Hz) 6.97 (d, 2H, J=9.00Hz) 7.71 (d, 2H, J=9.00Hz)	160.55 92.24 149.31 91.46 126.91 53.65 112.93	-	EI+ Obliczono 382,93450 Znaleziono 382,9345	277	63,6-66,2	43,07
4,5-trans-3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)-Δ^2-izoksazolina (4b)	2.40 (s, 3H) 5.72 (d, 1H, J=3.91Hz) 6.41 (d, 1H, J=3.91Hz) 7.27 (d, 2H, J=8.61Hz) 7.65 (d, 2H, J=8.61Hz)	151.61 94.18 142.59 93.16 130.01 21.53 126.99	-	EI- Obliczono 320,96005 Znaleziono 320,9616	265	78-80	68,85
4,5-trans-3-(4-fluorofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)-Δ^2-izoksazolina (4c)	5.74 (d, 1H, J=3.91Hz) 6.37 (d, 1H, J=3.91Hz) 7.16 (t, 2H, J=8.61Hz) 7.75-7.78 (dd, 2H, J=5.09Hz)	163.45 116.81 150.71 94.38 129.36 92.95 129.27	-106.24, (h, 1F)	EI+ Obliczono 370,91452 Znaleziono 370,9145	258	104-106	70
4,5-trans-3-(3-chlorofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)-Δ^2-izoksazolina (4d)	5.77 (d, 1H, J=3.91Hz) 6.38 (d, 1H, J=3.91Hz) 7.49-7.51 (dd, 1H, J=1.17Hz) 7.62-7.64 (dd, 1H, J=1.17Hz) 7.79 (t, 1H, J=1.96H)	150.67 126.87 131.91 94.45 130.55 92.51 127.03	-	EI+ Obliczono 386,88497 Znaleziono 386,8850	258	58-61	40
4,5-trans-3-(4-nitrofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)-Δ^2-izoksazolina (4e)	5.86 (d, 1H, J=3.91Hz) 6.44 (d, 1H, J=3.91Hz) 7.97-7.99 (m, 2H, J=1.96Hz) 8.32-8.34 (m, 2H, J=1.96Hz)	150.3 124.5 131.05 94.79 128.4 92.02 128.1	-	EI+ Obliczono 397,9090 Znaleziono 397,9090	283	115-120	40



Rys.27. Widma HRMS otrzymanych izoksazolin **4a-e**.

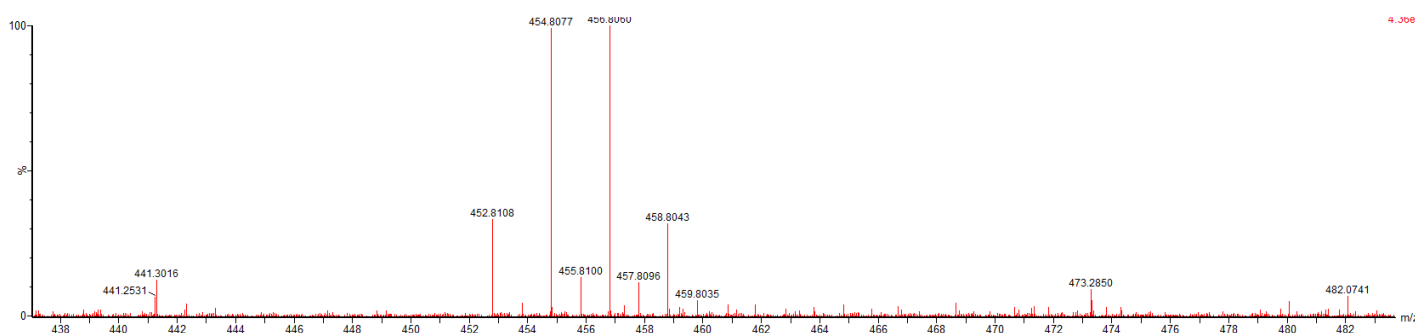


Rys.28. Widma FT-IR otrzymanych izoksazolin **4a-e** z zaznaczonymi charakterystycznymi pasmami.

Syntezę kolejnej serii izoksazolin w drodze [3+2] cykloaddycji z udziałem (E)-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enu rozpoczęłam od pilotowej reakcji z N-tlenkiem p-metylobenzonitrylu. Zastosowałam podobną metodologię pracy jak w przypadku reakcji z udziałem 3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-enu.

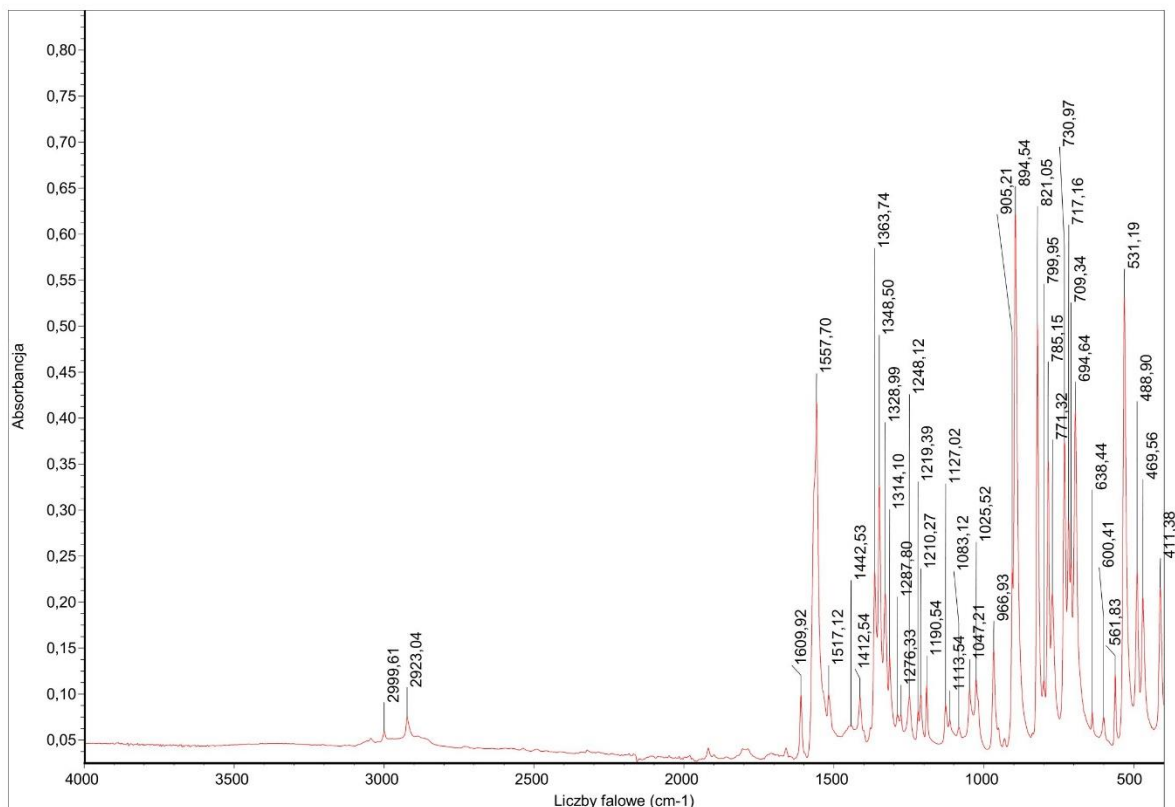
Analiza chromatograficzna masy poreakcyjnej wykazała, że także w tym przypadku, w toku tej reakcji, powstaje tylko jeden produkt cykloaddycji. Okazało się, że wcześniej opracowana metoda wyizolowania produktu z mieszaniny nie znajduje w tym przypadku zastosowania. Podczas poszukiwań odpowiedniej metody wyizolowania produktu reakcji, próbowałam krystalizacji frakcyjnej tzw. „na zimno”, stosując mieszaninę eteru dietylowego oraz cyklopentanu, próbkę zanurzałam dodatkowo w ciekłym azocie. Jednak czynności te nie dały oczekiwanego rezultatu. Masę poreakcyjną pilotowej reakcji należało oczyścić w drodze rozdzielu na kolumnie chromatograficznej wypełnionej SiO₂ stosując eluent o składzie: heksan : octan etylu 9:1. Otrzymaną frakcję odparowałam do sucha a powstały semisolid poddałam krystalizacji frakcyjnej z etanolu. Strukturę uzyskanego produktu zdiagnozowałam metodami spektralnymi.

Po uzyskaniu produktu w formie chemicznego indywiduum, jego konstytucję ustaliłam metodami spektralnymi. I tak, na jego widmie HRMS (Rys.29.) został odnaleziony sygnał od jonu pseudo-molekularnego o wartości **452,8108** u, który odpowiada zaproponowanej strukturze o **452,8085** u. Ponadto, na widmie odnalazłam także charakterystyczny zespół sygnałów izotopowych pochodzących od atomu bromu znajdującego się w strukturze związku.



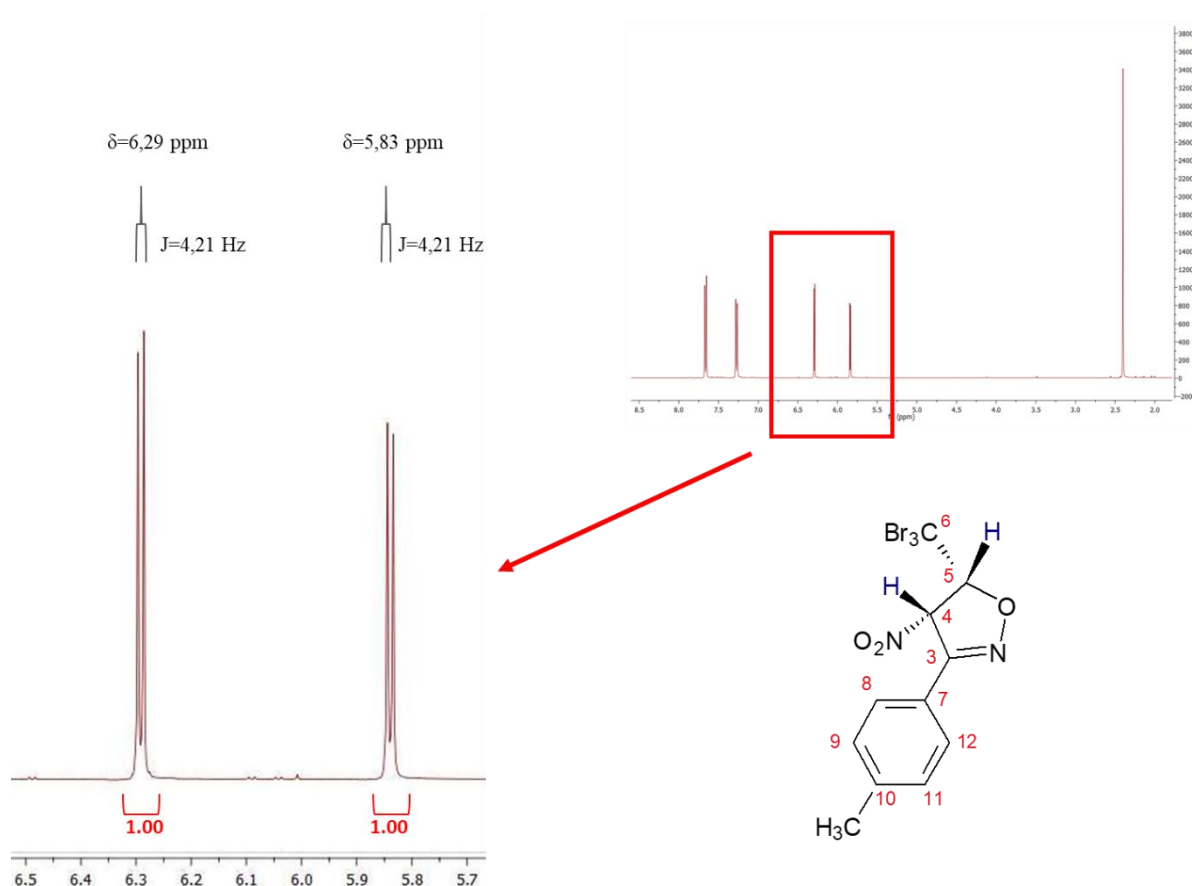
Rys.29. Widmo HRMS 4,5-trans-3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny.

Na widmie IR, zsyntezowanego związku (Rys.30.), zidentyfikowałam pasma pochodzące od drgań grupy NO₂ (symetryczne rozciągające – **1365 cm⁻¹**, asymetryczne rozciągające **1580 cm⁻¹**), dla wiązania C=N pierścienia heterocyklicznego (rozciągające **1606 cm⁻¹**), a także dla wiązania C-Br (rozciągające **821 cm⁻¹**) [128].



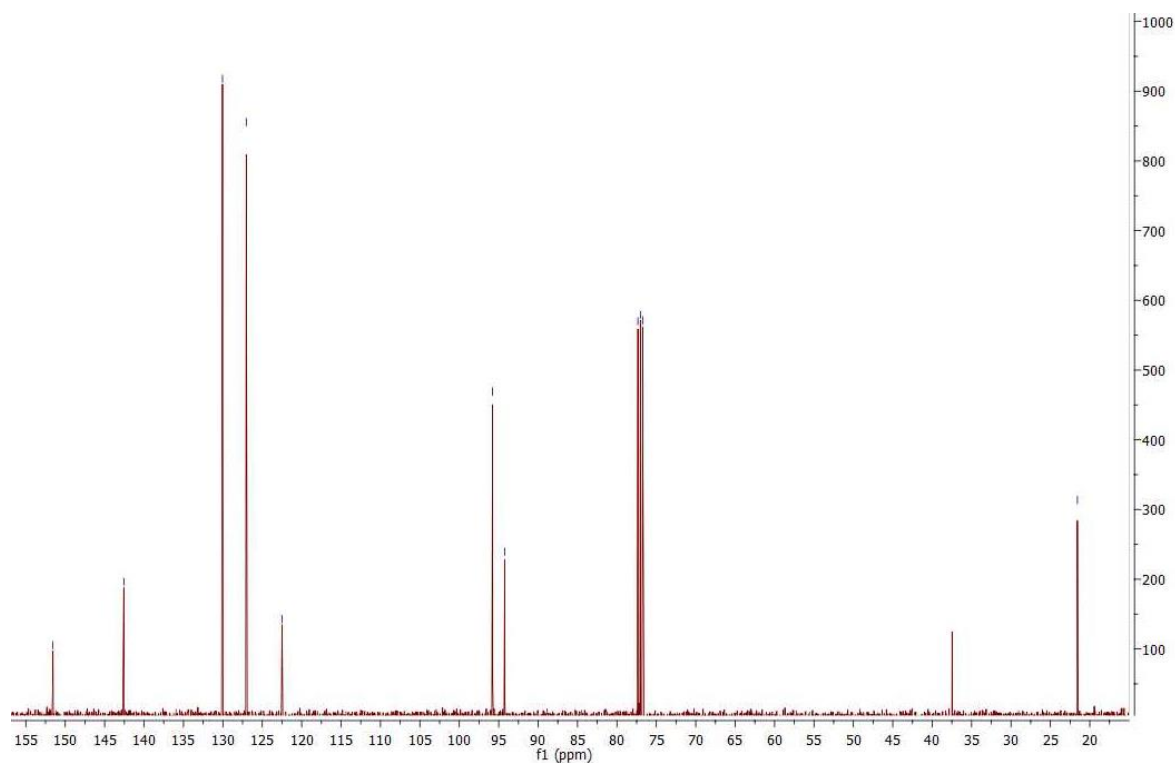
Rys.30. Widmo FT-IR 4,5-trans-3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazolinu.

Na widmie $^1\text{H-NMR}$ (Rys.31.) wyizolowanego związku, znajdują się dwa dublety o całce równej 1 przy 5.83 ppm i 6.29 ppm, które odpowiadają dwóm protonom w pierścieniu izoksazolinowym. Protony związane z pierścieniem izoksazolinowym tworzą układ spinowy **AX**. Na widmie, widoczne są także kolejne dwa dublety o całce równej 2 przy 7.27 ppm i 7.65 ppm, które z kolei, odpowiadają czterem protonom aromatycznego pierścienia podstawnika pochodzącego z N-tlenku p-metylobenzonitrylu. Suma całek na widmie NMR wynosi 9, co zgadza się z ilością protonów w strukturze badanego związku. Podobnie jak poprzednio, stała sprzężenia pomiędzy protonami H4 i H5 wynosi 3,91 Hz, co oznacza, że podstawniki nitrowy i tribromometylowy znajdują się względem siebie w konfiguracji trans.



Rys.31. Widmo ^1H -NMR 4,5-trans-3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny.

Z kolei widmo ^{13}C -NMR pozwoliło mi na zidentyfikowanie sygnałów pochodzących od atomów węgla w pierścieniu izoksazolinowym (Rys.32.), a także tych pochodzących z pierścienia aromatycznego. Charakterystyczne sygnały dla atomów węgla pierścienia izoksazolinowego, w którym wszystkie atomy węgla są równocennej rzędowości, to $\delta=94,23$ ppm dla atomu **C4**, który w tym przypadku jest najsilniej ekranowany przez przyłączoną grupę nitrową; $\delta=95,78$ ppm dla węgla **C5** oraz $\delta=151.16$ ppm dla węgla **C3**, który jest najsłabiej ekranowany.



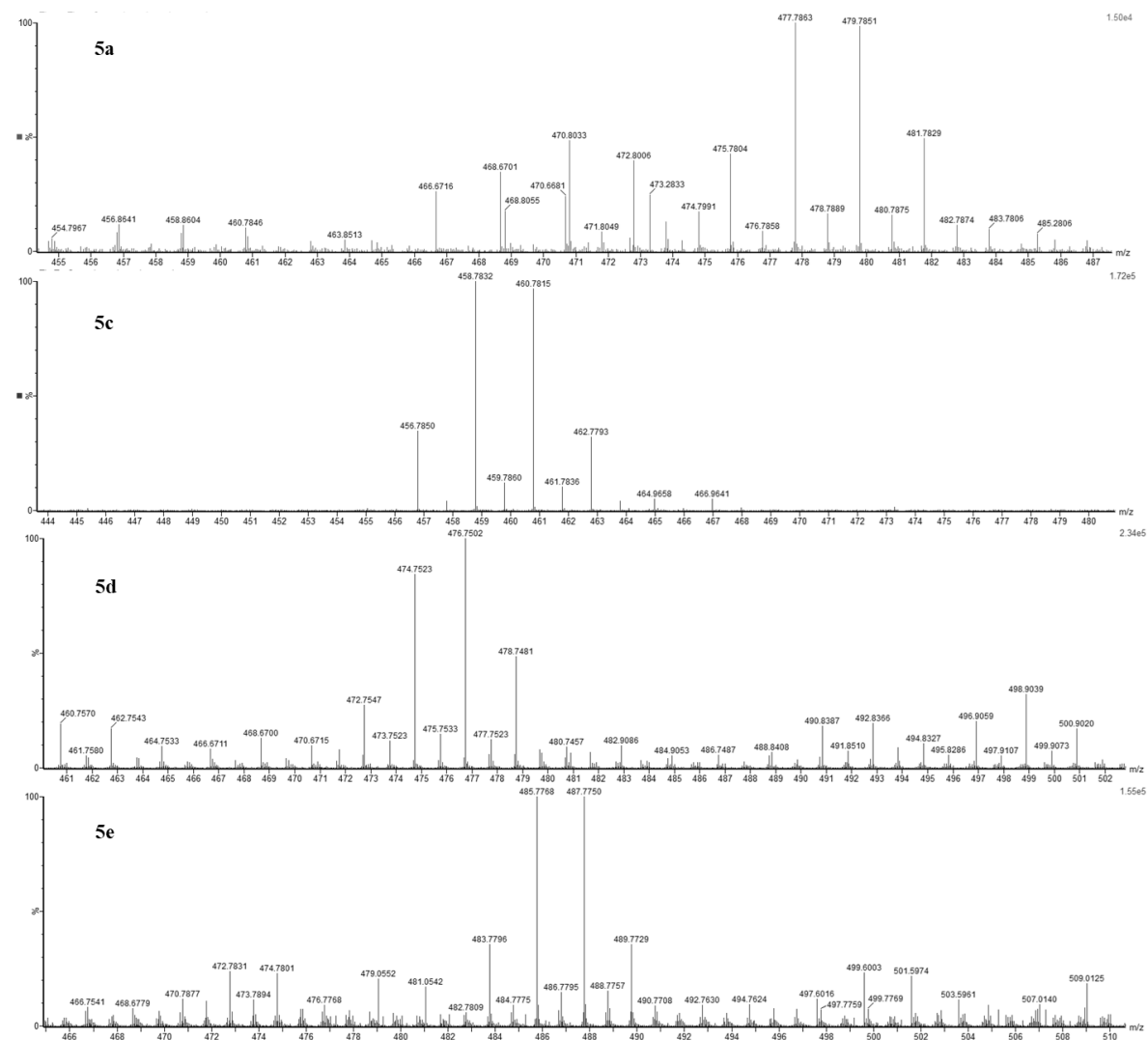
Rys.32. Widmo ^{13}C -NMR 4,5-*trans*-3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny.

W toku dalszych prac badawczych, podjęłam analogiczne studia nad reakcjami z udziałem pozostałych tlenków nitryli 3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enem. Okazało się, że reakcje te realizują się w podobnych warunkach, a ich produktami są zawsze odpowiednie **4,5-*trans*-3-arylo-4-nitro-5-tribromometylo- Δ^2 -izoksazoliny**.

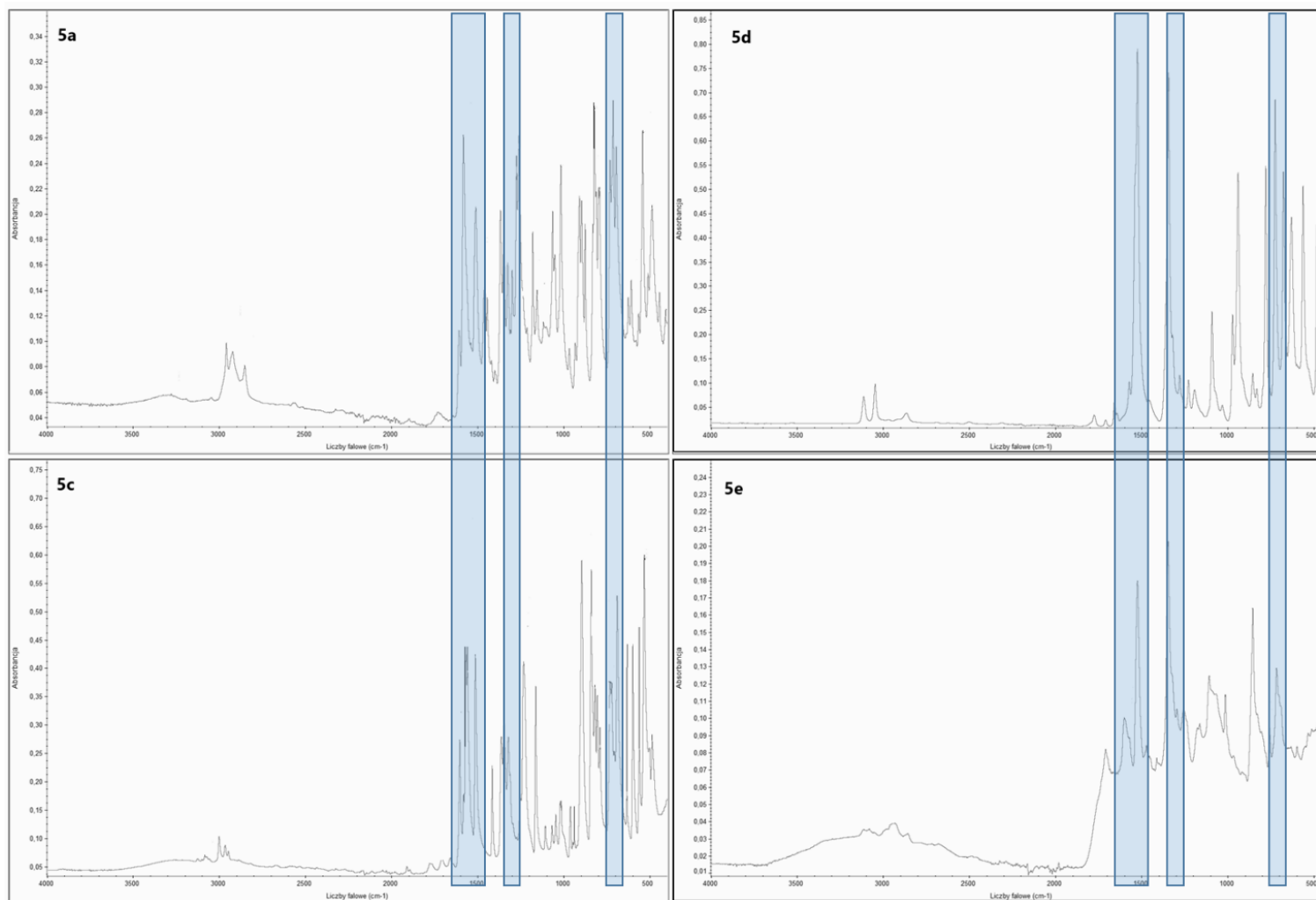
Charakterystyki zsyntezowanych połączeń zawiera *Tabela 18* oraz *Rysunki 33 i 34*

Tab. 18. Charakterystyki fizyczne 4,5-trans-3-arylo-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazolin

Nazwa związku	^1H NMR δ [ppm]	^{13}C NMR δ [ppm]	^{19}F NMR δ [ppm]	HRMS [u]	UV/Vis [nm]	tt [°C]	Wydajność [%]
4,5-trans-3-(4-metoksyfenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)-Δ^2-izoksazolina (5a)	3.86 (s, 3H)	160.55	92.24	EI+			
	5.71 (d, 1H, J=3.91Hz)	149.31	91.46				
	6.39 (d, 1H, J=3.91Hz)	126.91	53.65	-	268	111,8-112,4	45
	6.97 (d, 2H, J=9.00Hz)	112.93		Obliczono 468,8034			
	7.71 (d, 2H, J=9.00Hz)			Znaleziono 468,8055			
4,5-trans-3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)-Δ^2-izoksazolina (5b)	2.40 (s, 3H)	151.56	95.78	EI-			
	5.83 (d, 1H, J=4.24Hz)	142.57	94.23				
	6.29 (d, 1H, J=4.21Hz)	130.05	21.58	-	265	85-86,5	41
	7.26 (d, 2H, J=8.31Hz)	127.05		Obliczono 452,8085			
	7.65 (d, 2H, J=8.31Hz)			Znaleziono 452,8108			
4,5-trans-3-(4-fluorofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)-Δ^2-izoksazolina (5c)	5.77 (d, 1H, J=3.91Hz)	150.67	116.81	EI+			
	6.38 (d, 1H, J=3.91Hz)	131.91	94.38				
	7.49-7.51 (dd, 1H, J=1.17Hz)	129.36	92.95	-106.24, (h, 1F)	258	111-113	45
	7.62-7.64 (dd, 1H, J=1.17Hz)	129.27		Obliczono 456,7834			
	7.79 (t, 1H, J=1.96Hz)			Znaleziono 456,7850			
4,5-trans-3-(3-chlorofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)-Δ^2-izoksazolina (5d)	5.86 (d, 1H, J=3,91Hz)	150.67	126.87	EI+			
	6.44 (d, 1H, J=3.91Hz)	131.91	94.45				
	7.97-7.99 (m, 2H, J=1.96Hz)	130.55	92.51	-	-	-	59
	8.32-8.34 (m, 2H, J=1.96Hz)	127.03		Obliczono 472,7539			
4,5-trans-3-(4-nitrofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)-Δ^2-izoksazolina (5e)				Znaleziono 472,7547			
	5.74 (d, 1H, J=3.91Hz)	150.3	124.5	EI+			
	6.37 (d, 1H, J=3.91Hz)	131.0	94.79				
	7.16 (t, 2H, J=8.61Hz)	128.4	92.02	-	-	-	40
	7.75-7.78 (dd, 2H, J=5.09Hz)	128.1		Obliczono 483,7779			
				Znaleziono 483,7796			



Rys.33. Widma HRMS otrzymanych izoksazolin **5a-e**.



Rys.34. Widma FT-IR otrzymanych izoksazolin **5a-e** z zaznaczonymi charakterystycznymi pasmami.

Niestety nie udało się opracować uniwersalnej metody izolowania produktu dla całej serii związków. Poniżej (Tab.19) przedstawiłam sposoby oczyszczania, rozpuszczalniki oraz uzyskaną postać związku wykazującego prawidłowe widma spektroskopowe.

Tab.19. Metody oczyszczania związków trzymanyh na drodze cykloaddycji analogów N-tlenków benzonitrylu (1a-e) z 3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enem (3).

Nazwa związku	Metoda oczyszczania	Eluent	Rozpuszczalnik	Postać	Wydajność
4,5-trans-3-(4-metoksyfenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)-izoksazolina 5a	1) Rozdział na kolumnie preparatywnej 2) Krystalizacja z ciekłym azotem	9:1 Heksan: octan etylu	Eter dietylowy Cyklopentan	Białe kryształy	45%
4,5-trans-3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)-izoksazolina 5b	1) Rozdział na kolumnie preparatywnej 2) Krystalizacja	9:1 Heksan: octan etylu	Etanol Woda	Białe kryształy	41%
4,5-trans-3-(4-fluorofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)-izoksazolina 5c	Krystalizacja	-	Metanol	Żółte kryształy	45%
4,5-trans-3-(3-chlorofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)-izoksazolina 5d	Rozdział na kolumnie preparatywnej	Chloroform	-	Żółto-zielony semisolid	59%
4,5-trans-3-(4-nitrofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)-izoksazolina 5e	Rozdział na kolumnie preparatywnej	8:2 Chloroform Aceton	-	Pomarańczowy olej	40%



Rys.35. Otrzymane związki po etapie oczyszczania, dające wyraźne i niezanieczyszczone widma ^1H NMR i ^{13}C NMR.

Podsumowując, reakcje (E)-3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-enu i (E)-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enu z serią N-tlenków benzonitrylu, prowadzą do jednego tylko z dwóch, teoretycznie możliwych regioizomerów izoksazoliny, o stereokonfiguracji grup NO_2 i CX_3 tożsamej z konfiguracją tychże podstawników w wyjściowym nitroalkenie. Produktami tych reakcji cykloaddycji zawsze są odpowiednio **4,5-trans-3-(4-R-fenilo)-4-nitro-5- CX_3 - Δ^2 -izoksazoliny**.

2.6. Charakterystyka procesu formowania się wiązań w toku analizy BET

Teoria ewolucji wiązań (ang. *Bond Evolution Theory* BET) łączy ze sobą analizę ELF z teorią katastrof [129] i pozwala na scharakteryzowanie zmiany gęstości elektronowej wzdłuż ścieżki reakcji podczas rozrywania i tworzenia się nowych wiązań [130][131]. Technika tą zdiagnozowano m.in. molekularny mechanizm reakcji termicznej eliminacji kwasów karboksylowych z estrów nitroalkoholi [132], kilkustopniowej reakcji [4+3] cykloaddycji Z-C-arylo-N-metylonitronów i E-2-arylo-1-cyjano-1-nitroetenów [133], [3+2] cykloaddycji nitronów i ketenów [134], przegrupowania wewnątrz molekularnego estru nitronowego w nitronorbornen [135].

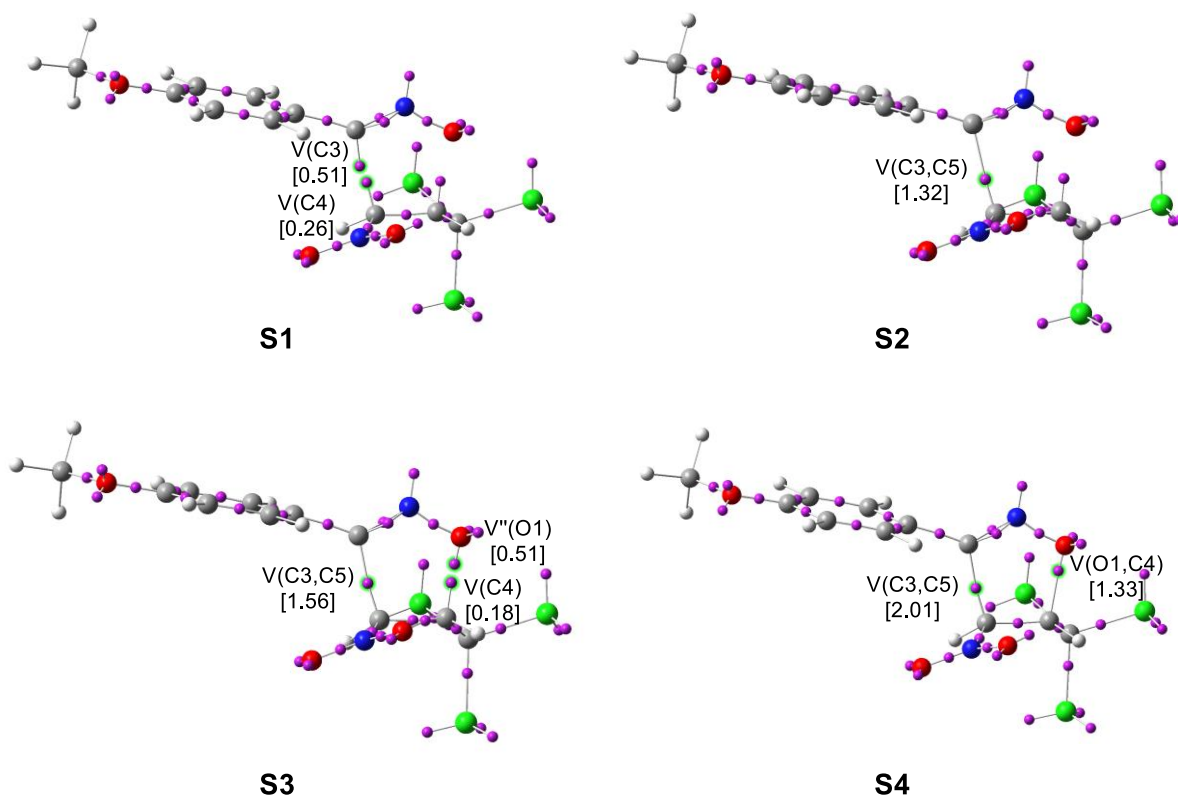
Analizy BET wykonałam dla realizujących się w praktyce ścieżek reakcji pomiędzy N-tlenkiem 4-metoksybenzonitrylu **1a**, a (E)-3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-enem **2** i (E)-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enem **3** (odpowiednio **1a** + **2** oraz **1a** + **3**). Otrzymane wyniki przedstawiłam w Tabeli 20 oraz na Rysunku 35. Ze względu na analogie występujące w badanych reakcjach krótki opis teoretyczny zawarłam jedynie dla ścieżki **1a** + **2**.

Na samym początku analizie poddałam **TS_{2a}**. Dla tej struktury nie zaobserwowałam utworzenia żadnego pseudorodnikowego centrum. Dalsze transformacje elektronowe **TS_{2a}**, powodują utworzenie centrów pseudorodnikowych na trzech atomach węgla biorących udział w tworzeniu wiązań. W fazie S1 dwie monosynapsy o centrach pseudorodnikowych C3 i C5 osiągają populacje odpowiednio 0,51 i 0,79 e, tuż przed integracją, która następuje w fazie S2. W fazie S2 mamy do czynienia już z utworzeniem pierwszego pojedynczego wiązania C3-C5, o długości wynoszącej około 1,97 Å, co jest związane z występowaniem populacji elektronów 1,32 e. W fazie S3, tuż przed utworzeniem drugiego wiązania pojedynczego O1-C4, nieintegrujące się jeszcze monosynapsy, zlokalizowane zarówno na atomie tlenu O1, jak i na atomie węgla C4 osiągają populacje odpowiednio 0,51 i 0,18 e. W fazie S4 odbywa się ich integracja, a w konsekwencji utworzenie drugiego pojedynczego wiązania O1-C4 o długości około 1,76 Å. Nowe wiązanie O1-C4 charakteryzuje się wartością populacji elektronowej 0,8 e. Bezpośrednio z fazy S4 utworzony zostaje produkt **4a**, a nowe wiązania O1-C4 i C3-C5 osiągają populację elektronową odpowiednio 1,33 i 2,01 e. Ponieważ tworzenie drugiego pojedynczego wiązania O1-C4 następuje, gdy pierwsze utworzone wiązanie C3-C5 osiągnęło już 78% swojej końcowej populacji, można uznać, że te reakcje typu zwitterionowego przebiegają zgodnie z dwustopniowym mechanizmem jednoetapowym. Ewolucja tworzących się wiązań jest w znacznym stopniu synchroniczna.

Analogicznie przeprowadziłam analizę BET dla reakcji **1a** + **3**. Wyniki zestawiałam w *Tabeli 21* oraz na *Rysunku 36*.

Tab.20. Populacja elektronów wybranych struktur krytycznych **TS_{2a}**, **4a** oraz **S1-S4**, wraz z odległościami formujących się w toku reakcji wiązań O1-C4 i C3-C5. Populacje podano w średniej liczbie elektronów, e, zaś dystanse między atomowe w Angstrmach, Å.

	TS_{A2}	S1	S2	S3	S4	4a
d(O1-C4)	2.051	1.865	1.856	1.760	1.751	1.428
d(C3-C5)	2.253	1.999	1.988	1.862	1.850	1.512
V(O1,N2)	1.40	1.31	1.30	1.23	1.23	1.07
V(N2)	2.09	2.44	2.46	2.58	2.60	2.80
V(N2,C3)	2.17	1.81	1.80	1.75	1.74	1.67
V'(N2,C3)	2.12	1.90	1.89	1.81	1.81	1.60
V(C4,C5)	3.45	2.47	2.45	2.29	2.27	2.03
V(O1)	2.83	2.73	2.72	2.65	2.62	2.47
V'(O1)	2.82	2.89	2.89	2.59	2.56	2.42
V''(O1)				0.51		
V(C4)		0.26	0.27	0.18		
V(C3)		0.51				
V(C5)		0.79				
V(C3,C5)			1.32	1.56	1.57	2.01
V(O1,C4)					0.79	1.33

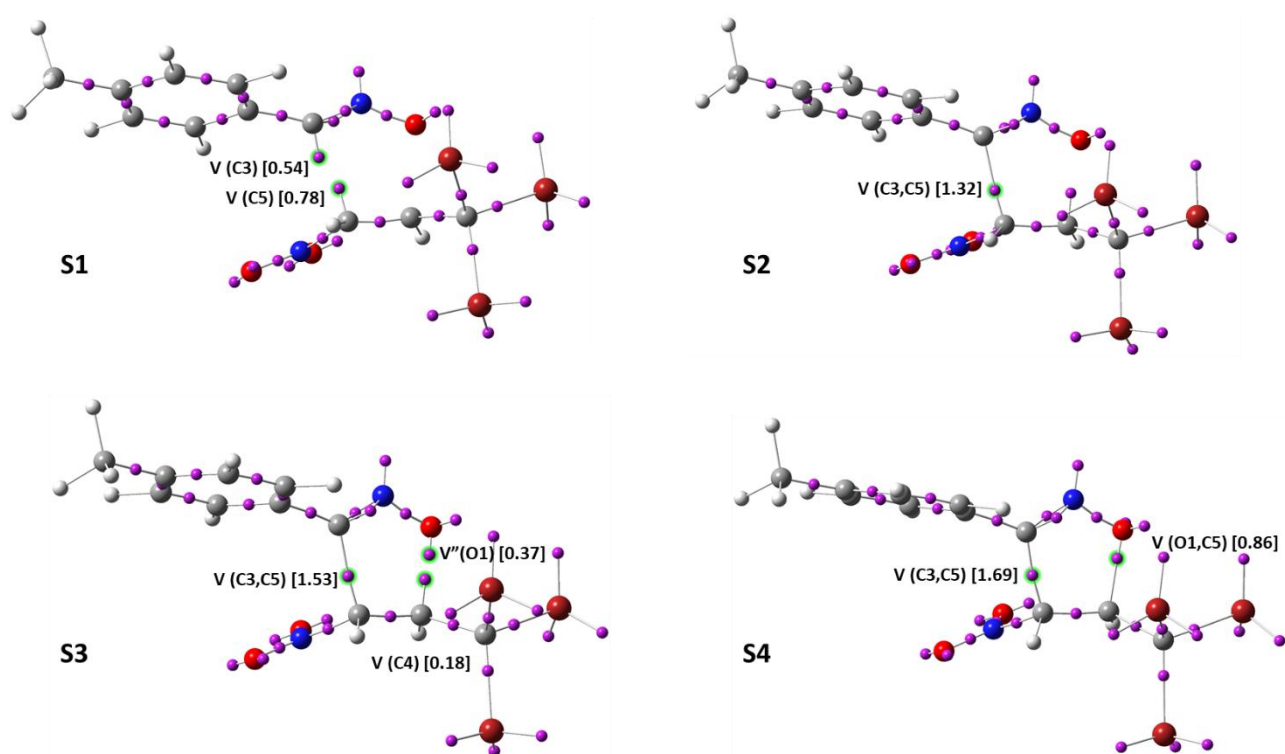


Rys.36. Pozycje atraktorów ELF wybranych struktur krytycznych biorących udział w tworzeniu pojedynczych wiązań O1-C4 i C3-C5 wzdłuż regioizomerycznej ścieżki A reakcji 1a+2. Populacja elektronów, w średniej liczbie elektronów, e podano w nawiasach.

Tab.21. Populacja elektronów najbardziej wybranych struktur krytycznych oraz odległości O1-C4 i C3-C5 dla TS_A2, izoksazoliny 5a oraz struktur S1-S4 biorących udział w tworzeniu wiązań pojedynczych O1-C4 i C4-C5 wzdłuż korzystniejszej ścieżki regioizomerycznej A reakcji 1a+3. Populacje podano w średniej liczbie elektronów, $\bar{e}$, a odległościach w angstromach, Å.

	TS _A 3	S1	S2	S3	S4	5a
d(O1-C4)	2.08	2.039	1.912	1.817	1.725	1.43
d(C3-C5)	2.234	2.177	1.995	1.868	1.759	1.511
V(O1,N2)	1.42	1.4	1.32	1.26	1.21	1.08
V(N2)	2.06	2.16	2.4	2.54	2.64	2.79
V(N2,C3)	2.21	2.01	1.83	1.77	1.72	1.66
V'(N2,C3)	2.13	2.07	1.91	1.83	1.77	1.61
V(C4,C5)	3.44	2.96	2.5	2.31	2.21	2.04
V(O1)	2.83	2.81	2.85	2.57	2.53	2.38
V'(O1)	2.83	2.81	2.85	2.57	2.53	2.38
V''(O1)				0.37		
V(C4)		0.23	0.32	0.18		

V(C3)	0.54			
V(C5)	0.78			
V(C3,C5)	1.32	1.53	1.69	2.02
V(O1,C4)			0.86	1.34



Rys.37. Pozycje atraktorów ELF wybranych struktur krytycznych biorących udział w tworzeniu pojedynczych wiązań O1-C4 i C3-C5 wzdłuż regioizomerycznej ścieżki A reakcji 1a+3. Populacja elektronów, w średniej liczbie elektronów, e podano w nawiasach.

Wyniki analizy BET mogą świadczyć, że sugerowane mechanizmy reakcji stanowią uniwersalną metodę [3+2] cykloaddycji z udziałem N-tlenków benzonitryli i nitroalkenów.

2.7. Badanie potencjalnej aktywności biologicznej otrzymanych Δ^2 -izoksazolin na drodze dokowania molekularnego

W toku prac obliczeniowych dokonałam także analizy aktywności biologicznej otrzymanych Δ^2 -izoksazolin na podstawie dokowania molekularnego, gdzie określiłam szacunkową siłę powinowactwa danych związków do wybranych białek.

Geometrię wszystkich ligandów (przez ligand należy rozumieć struktury badanych serii izoksazolin, zawartych na Schemacie 23, otrzymałam w pakiecie oprogramowania *Gaussian 09*. Do optymalizacji tych struktur zastosowałam funkcjonal B3LYP-GD3 z bazą funkcyjną 6-31+G(d), gdzie GD3 oznacza poprawkę *Grimme* na oddziaływania dyspersyjne [136]. Następnie, przeprowadziłam analizę wibracyjną, aby upewnić się, że otrzymane struktury przedstawiają lokalne minima (współczynnik skalowania 0,98) [137]. Kolejno, obliczyłam ładunki cząstkowe za pomocą procedury *Merza-Singha-Kollmana* [138]. W ten sposób zoptymalizowane struktury posłużyły mi jako pliki wsadowe do procesu dokowania molekularnego.

Dokowanie molekularne wykonałam za pomocą oprogramowania *Gnina*, będącego pochodną *Autodock Vina* [139] [140]. Zastosowałam elastyczny tryb dokowania o promieniu 5 (łańcuchy białka oddalone o 5 Å). Miejscem centrowania była zawsze pozycja natywnego ligandu, obecnego już w strukturze pobranej z bazy białek RSCB PDB (*Tab. 22*). Obliczenia wsparte zostały natywną dla *Gniny* zoptymalizowaną siecią neuronową (słowo-klucz: --cnn crossdock_default2018).

Tab.22. Zestawienie nazw oraz funkcji białek pobranych z bazy RSCB PDB .

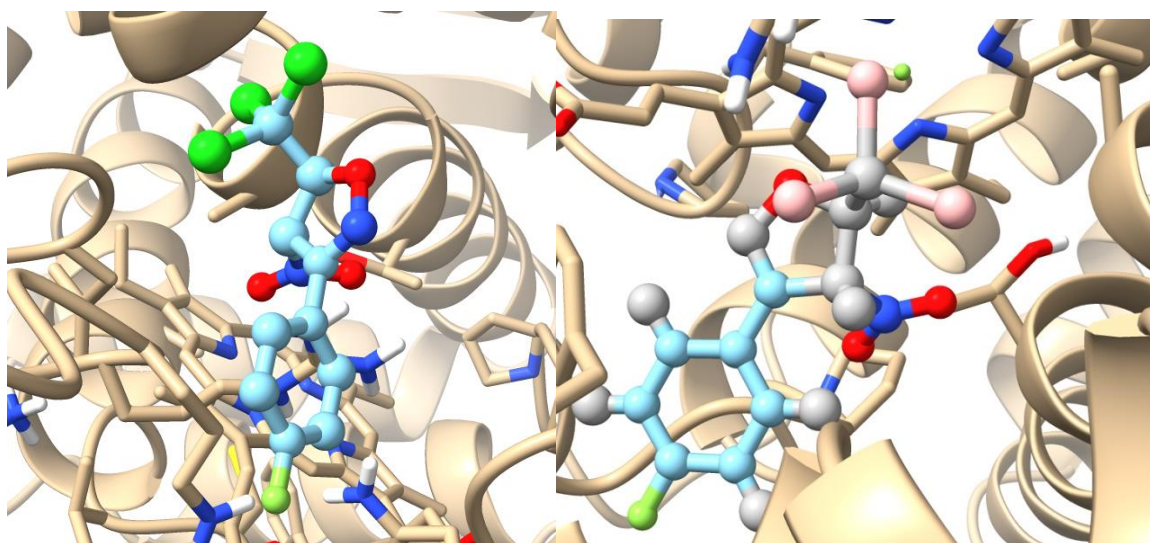
Symbol białka w bazie RSCB	Nazwa białka	Symbol białka	Funkcja białka	Przewidywana funkcja ligandu w tym białku
1EA1	Cytochrom P ₄₅₀ 14 α sterolu demetylazy	CYP51	Istotny element w biosyntezie steroli	Działanie przeciwgrzybicze [141]
4ZVT	Kaspaza-7	-	Najsilniejszy czynnik wzmagający apoptozę komórek	Działanie przeciwwzapalne [142]
4XCT	Żelatynaza B	MMP-9	Czynnik regulujący aktywności cytokin i chemokin	Działanie przeciwnowotworowe [143]
3KK6	Cyklooksygenaza	COX-1		Działanie

	(konstytutywna forma)			przeciwzapalne,
	Cyklooksygenaza		Stanowią podstawowy	przeciwbólowe,
5KIR	(indukowana forma)	COX-2	enzym w procesie syntezy prostanoidów	przeciwgorączkowe [144], [145]

Na początek oszacowałam powinowactwo badanych serii związków do białka CYP51. Zmierzone wartości ΔG dla obu serii mieszczą się w zakresie -9,55 do -10,57 kcal/mol (Tab. 23). Na podstawie otrzymanych wartości można stwierdzić, że obie serie otrzymanych Δ^2 -izoksazolin wykazują znaczne powinowactwo do testowanego białka. To z kolei wskazuje na ich potencjalne działanie przeciwgrzybicze. Największe powinowactwo odnotowałam dla Δ^2 -izoksazolin **4c** oraz **5a**, zaś najgorsze wyniki w obu seriach wykazują związki **4d** oraz **5e**. W toku analizy wyników dokowania molekularnego, najbardziej istotnym czynnikiem jest wartość ΔG oznaczająca siłę powinowactwa białka do ligandu, ale znaczenie posiada także wartość indeksu *Pose Score*. Jest to parametr otrzymywany za pomocą zaimplementowanej w *Gninie*, sieci neuronowej, który stanowi wskaźnik opisujący prawdopodobieństwo wystąpienia danego ułożenia (konformacji) ligandu podczas jego przebywania w obrębie miejsca aktywnego białka. Po przeanalizowaniu wyników można stwierdzić, że największe prawdopodobieństwo wystąpienia obliczonej konformacji mają struktury **4c** oraz **5a**. Warto także wspomnieć, że wszystkie otrzymane tribromometylowane Δ^2 -izoksazoliny **5a-e** cechują się największym prawdopodobieństwem wystąpienia wyznaczonej konformacji, ponieważ ich *Pose Score* jest w większości przypadków prawie równy 1. Niemniej jednak, wartości parametru *Pose Score*, nawet bliskie 1, nie są gwarantem, przyjmowania pożądanej konformacji ligandu w obrębie miejsca aktywnego ze 100% pewnością. Porównując otrzymane wyniki z rezultatami uzyskanymi przez zespół *Bano* [141], można stwierdzić, że obie serie zsyntezowanych przeze mnie Δ^2 -izoksazolin **4a-c** oraz **5a-c** wykazują lepsze powinowactwo do CYP51 niż związki przez nich syntetyzowane. Warto wspomnieć, że *Bano* i współpracownicy w swojej pracy testowali powszechnie stosowany lek na infekcje grzybicze (*Flukonazol*), uzyskując ΔG równe -5,63 kcal/mol. Wartość ta pokazuje, że badane przeze mnie związki mogą wiązać się lepiej z CYP51, a tym samym być silniejszymi środkami przeciwgrzybiczymi niż testowany lek. Należy tu stwierdzić, że wprowadzenie do struktury grupy – CBr₃ znacząco zwiększa powinowactwo ligandu do tego białka.

Tab.23. Swobodne entalpie dokowania do białka CYP51 i serii związków **4a-e**, **5a-e**.

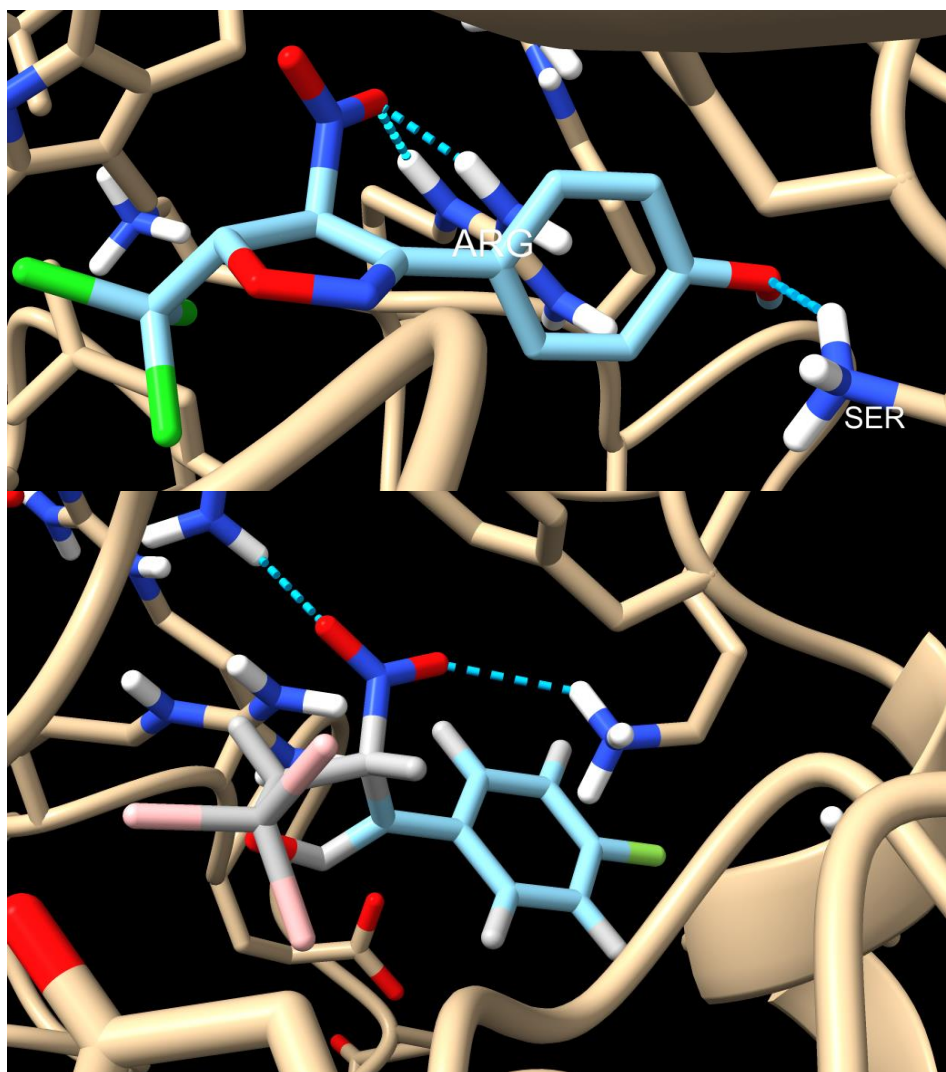
Struktura ligandu	ΔG (kcal/mol)	Indeks pose score
4a	-9.55	0.6098
4b	-10.00	0.6516
4c	-10.57	0.9359
4d	-9.59	0.7277
4e	-9.69	0.8245
5a	-12.86	0.9916
5b	-12.53	0.9864
5c	-10.17	0.9704
5d	-11.21	0.9810
5e	-10.02	0.9211



Rys.38. Najkorzystniejsza niekowalencyjna pozycja wiązania **4c** i **5c** do białka CYP51.

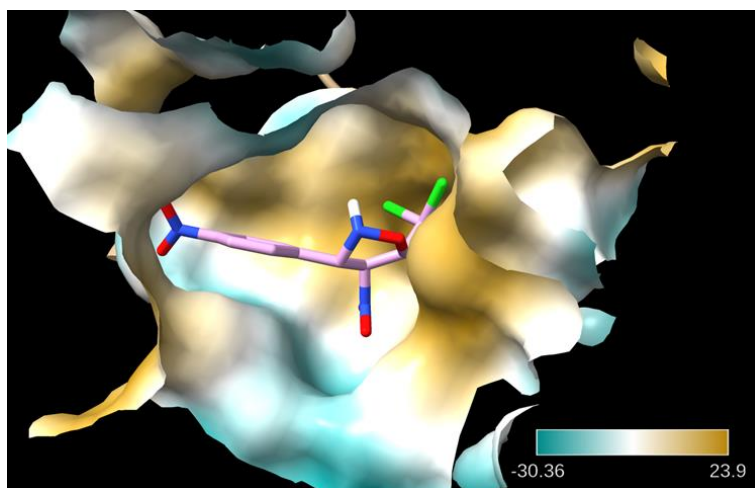
Ponadto, wykonałam także analizę ilości wiązań wodorowych zawartych pomiędzy obiema zsyntezowanymi przeze mnie seriami Δ^2 -izoksazolin **4a-e** oraz **5a-e**, a białkiem CYP51 (Rys. 39). Obecność wiązań wodorowych w takich kompleksach powinna wpłynąć na obniżenie wartości ΔG . Analizowane związki tworzą wielokrotne wiązania wodorowe. Niemniej jednak, ilość wiązań wodorowych nie koreluje bezpośrednio z wartościami ΔG . Może to być spowodowane niedokładnościami wynikającymi z wyboru narzędzia (między innymi programu *Gnina*), które nie bierze pod uwagę ilości wiązań wodorowych bezpośrednio, a obliczenia

wspiera wartościami pochodzących z zaimplementowanej przez twórców biblioteki danych (sieci neuronowej CNN) [140]. Dlatego w tym przypadku posłużyłam się, dodatkowo, analizą elektrostatycznych oraz hydrofilowych/hydrofobowych oddziaływań w kompleksie białka i ligandu, którą łatwo można odnieść do zróżnicowanej budowy ligandu oraz charakteru chemicznego podstawników.



Rys.39. Wizualizacja wiązań wodorowych w kompleksie 4c i 5c CYP51.

Z analizy oddziaływań elektrostatycznych, hydrofilowych i hydrofobowych wynika, że ligand umieszczony jest w kieszeni białkowej o korzystnej dla niego budowie, a jej potencjały elektrostatyczne i hydrofobowo-hydrofilowe są praktycznie zgodne z rozkładem przestrzennym części hydrofobowej i hydrofilowej liganda (Rys. 40).



Rys. 40. Przykładowa wizualizacja potencjału hydrofobowego (złoty) i hydrofilowego (turkusowy) dla **4e** wewnątrz kieszeni białkowej CYP51

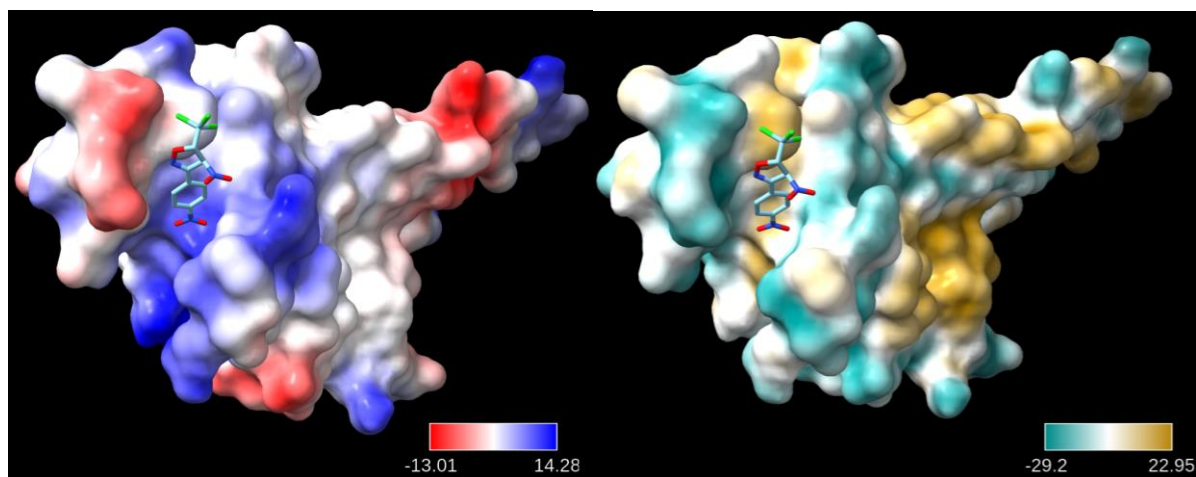
Kolejne analizy dokowania molekularnego przeprowadziłam w analogiczny sposób. Wartości molekularnego dokowania obu serii zsyntezowanych przeze mnie Δ^2 -izoksazolin **4a-c** oraz **5a-c** do Kaspazy-7 również wykazały znaczne powinowactwo ligandu do białka (Tab.24).

Tab.24. Swobodne entalpie dokowania do białka Kaspaza-7 i serii związków **4a-e**, **5a-e**.

Struktura ligandu	ΔG (kcal/mol)	Indeks pose score
4a	-7.20	0.9187
4b	-6.90	0.7414
4c	-7.17	0.7796
4d	-6.15	0.7644
4e	-7.44	0.7603
5a	-13.11	0.9951
5b	-12.70	0.9952
5c	-9.54	0.9940
5d	-9.11	0.9898
5e	-10.52	0.9423

Powyższe wyniki obliczeń potwierdziły znaczne powinowactwo ligandów do wybranego białka. Oubella wraz ze współpracownikami [146] mierzył powinowactwo hybrydowych związków zawierających w swojej strukturze pierścienie izoksazolinowe i

izoksazolidynowe, do Kaspazy-7, których ΔG mieści się w przedziale -3,30 do -4,40 kcal/mol. Porównując dane z przeprowadzonego przez nich badania z otrzymanymi przeze mnie wynikami można wywnioskować, że potencjalnie lepsze powinowactwo będą posiadać zsyntezowane przeze mnie Δ^2 -izoksazoliny **4a-c** oraz **5a-c**, niż te opisane przez zespół *Oubell*'i. Jest to związane z faktem, iż wartości wyznaczonych przeze mnie ΔG dla obu serii mieszczą się w zakresie -6,15 do nawet -13,11 kcal/mol. Analiza potencjału elektrostatycznego i hydrofobowo-hydrofilowego (Rys. 41) przedstawia przestrzenną zgodność ligandu i białka.



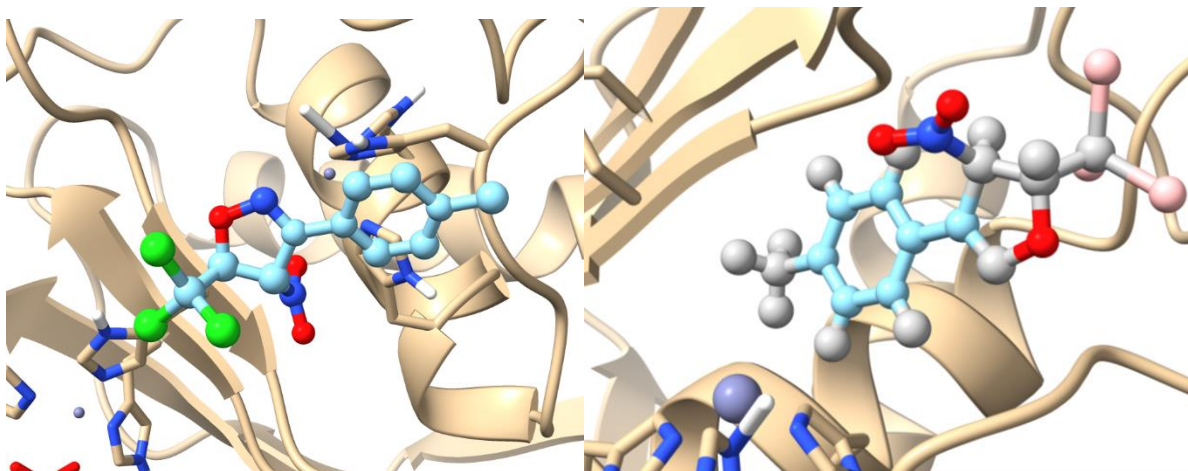
Rys.40. Przykład wizualizacji potencjału elektrostatycznego (czerwono-biało-niebieskie) i hydrofobowego (żółte)/hydrofilowego (turkusowe) dla **4e** wewnątrz kieszeni białka Kaspazy-7.

Kolejno, oszacowałam powinowactwo Żelatynazy-B do obu serii zsyntezowanych przeze mnie Δ^2 -izoksazolin **4a-c** oraz **5a-c**. Otrzymane wartości ΔG mieszczą się w przedziale -9,07 do -11,13 kcal/mol (Tab.25).

Tab.25. Swobodne entalpie dokowania do białka MMP-9 i serii związków **4a-e**, **5a-e**.

Struktura ligandu	ΔG (kcal/mol)	Indeks pose score
4a	-9.20	0.8239
4b	-9.46	0.8223
4c	-9.17	0.8338
4d	-9.21	0.6667
4e	-9.07	0.7599
5a	-9.67	0.9730
5b	-11.13	0.9704
5c	-8.11	0.9813
5d	-8.25	0.9849

5e	-8.65	0.9495
----	-------	--------



Rys.42. Najkorzystniejsza niekowalencyjna pozycja wiązania **4b** i **5b** do MMP-9.

Zespół Hawash'a [147] przeprowadził modelowanie molekularne powinowactwa hybrydowych związków izoksazolinowo-karboksyamidowych do różnych cyklooksogenaz (COX-1 oraz COX-2). Równocześnie Autorzy przeprowadzili modelowanie molekularne dla dostępnych na rynku preparatów *Ketopromem* oraz *Celecoxibem*. Wartości ΔG dla związków izoksazolinowo-karboksyamidowych mieściły się w przedziale od -6,12 do -9,76 kcal/mol. Z kolei, dla dostępnych handlowo preparatów wartości ΔG wynosiły od -8,18 do -11,69 kcal/mol.

Wartości ΔG dla obie serii zsyntezowanych przeze mnie Δ^2 -izoksazolin **4a-c** oraz **5a-c** są jeszcze niższe i zawierają się w zakresie -9,18 do -12,90 kcal/mol (*Tab. 26* oraz *Tab. 27*). Na podstawie otrzymanych wyników, można stwierdzić, że otrzymane przeze mnie związki można wstępnie scharakteryzować jako potencjalne środki przeciwzapalne, mogące działać lepiej niż *Ketopromem* czy *Celecoxibem*, gdyż wykazują lepsze powinowactwo do cyklooksogenaz.

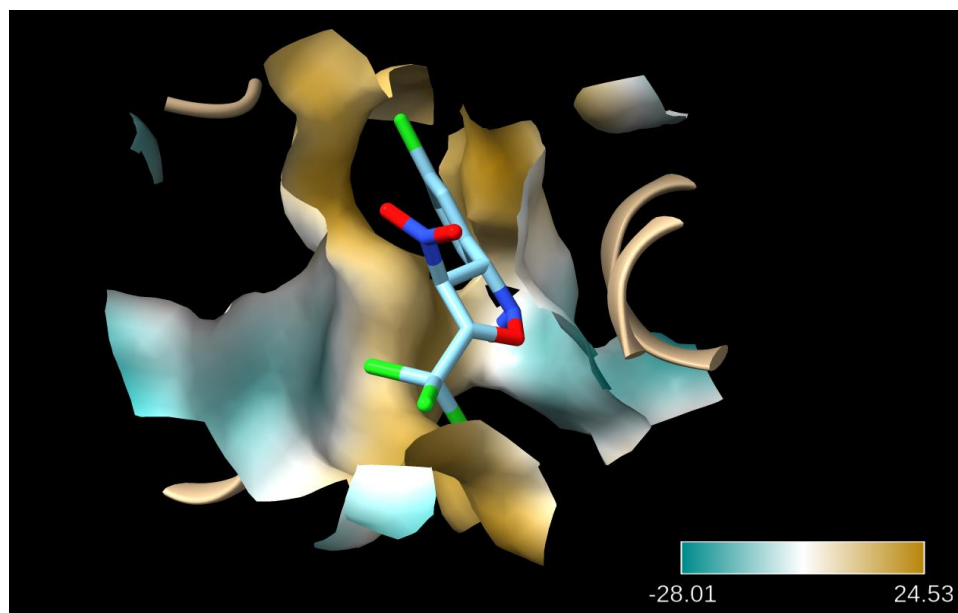
Tab.26 Swobodne entalpie dokowania do białka COX-1 i serii związków **4a-e**, **5a-e**.

Struktura ligandu	ΔG (kcal/mol)	Indeks Pose score
4a	-9.18	0.7202
4b	-9.48	0.8880
4c	-10.12	0.8198
4d	-9.44	0.8636
4e	-9.50	0.8031
5a	-12.02	0.9643

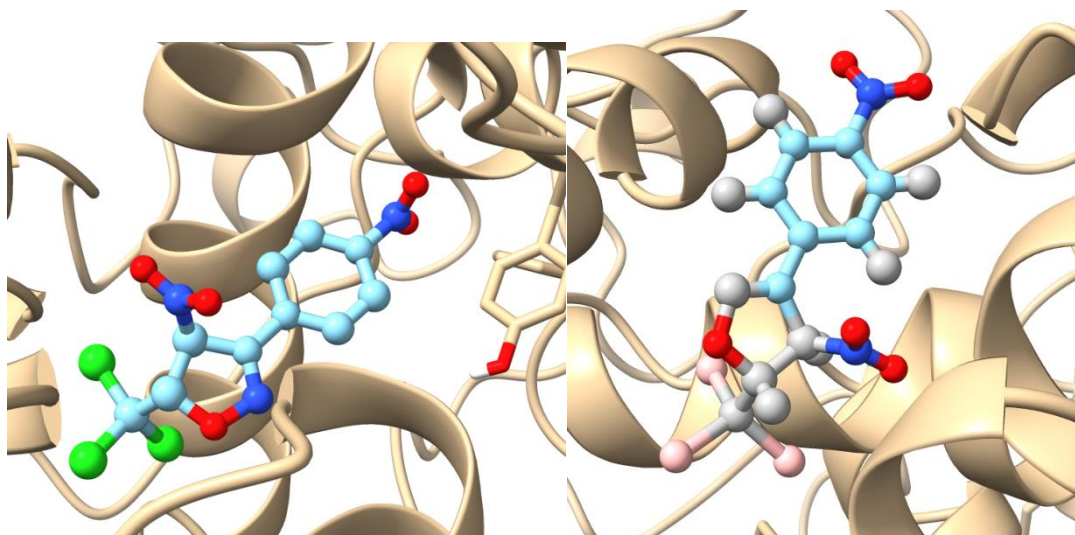
5b	-10.47	0.9772
5c	-10.91	0.9893
5d	-11.28	0.9683
5e	-10.86	0.8446

Tab.27. Wartości molekularnego dokowania do białka COX-1 i serii związków **4a-e**, **5a-e**.

Struktura ligandu	ΔG (kcal/mol)	Pose score
4a	-9.28	0.8417
4b	-9.89	0.8667
4c	-9.84	0.8095
4d	-9.51	0.8673
4e	-10.58	0.9731
5a	-12.28	0.9923
5b	-12.90	0.9844
5c	-10.76	0.9596
5d	-10.47	0.9826
5e	-12.22	0.9716

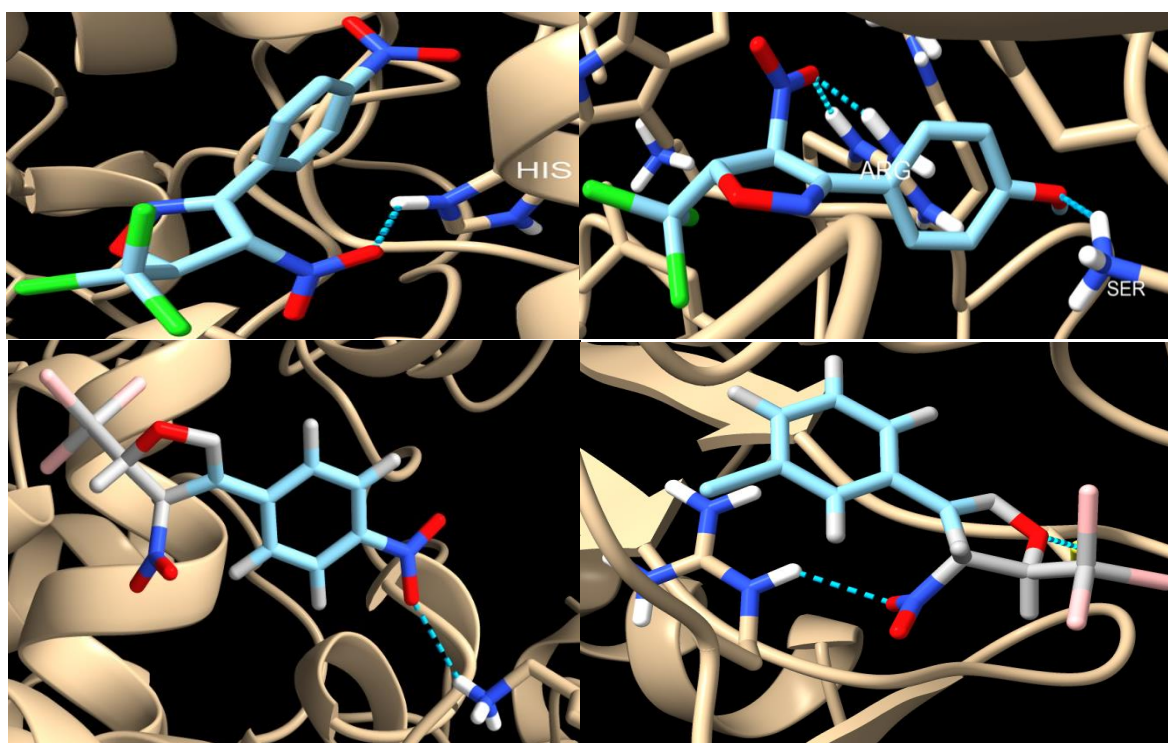


Rys.43. Przykładowa wizualizacja potencjału hydrofobowego (żółty) i hydrofilowego (turkusowy) dla **4d** wewnątrz kieszeni białkowej COX-1.



Rys.44. Najkorzystniejsza niekowalencyjna pozycja wiązania **4e** i **5e** do białka COX-2.

Podsumowując, wyniki dokowania molekularnego z udziałem zsyntezowanych przeze mnie Δ^2 -izoksazoliny **4a-c** oraz **5a-c** jako ligandów wykazują znaczne powinowactwo do badanych białek. Na tej podstawie można stwierdzić, że związki te stanowią potencjalnie biologiczną aktywność. Ponadto warto zaznaczyć, że wiązania wodorowe tworzące się w większości przypadków występują na atomach tlenu należących do grupy nitrowej w pierścieniu izoksazoliny (Rys. 45). Wyniki te można potraktować, jako argument na korzyść twierdzenia, że wprowadzenie grupy nitrowej do struktury związków organicznych zwiększa powinowactwo do białek [148].



Rys.45. Wizualizacja wiązań wodorowych w przykładowych kompleksach białkowych.

III. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

3.1. Aparatura i techniki analityczne

Wysokosprawna spektrometria masowa sprzężona z chromatografią cieczową (HR-LCMS)

Pomiary wykonałam za pomocą spektrometru masowego sprzężonego z chromatografem cieczowym *Waters Xevo G2 QToF* z jonizacją *ESI*. Kolumna *Waters Acquity UPLC BEH Shield RP18* 1,7 mm 2.1x100 mm. Eluent: acetonitryl:woda (90:10) o przepływie 0.2 mL/min. Widma masowe analizowałam za pomocą programu *Formula Predictor*.

Wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC)

Pomiary wykonałam przy użyciu chromatografu cieczowego *KNAUER* (kolumna *LiChrospher 100-5 RP18* (4 x 250) z prekolumną, pompa *Beckman 110B* o zakresie ciśnienia 0,1-40MPa oraz przepływie 1,5ml/min). Otrzymane chromatogramy analizowałam za pomocą programu *CHROMAX 2010A*.

Dyfrakcja rentgenowska (XRD, X-Ray Diffraction)

Pomiary intensywności dyfrakcji mierzyłam w temperaturze pokojowej za pomocą dyfraktometru rentgenowskiego *SuperNova* z detektorem *CCD Atlas S2* wykorzystującym lustro-monochromatyzowane promieniowanie $CuK\alpha$ ($\lambda = 1,54184 \text{ \AA}$).

Spektroskopia Magnetycznego Rezonansu Jądrowego (NMR)

Pomiary wykonałam za pomocą spektrometru NMR *Agilent 400 MHz*. Pomiar 1H NMR wykonałam stosując częstość roboczą 400 MHz, natomiast pomiar ^{13}C NMR – 100 MHz. Jako rozpuszczalnik deuterowany stosowany był chloroform ($CDCl_3$), a za wzorzec posłużył mi tetrametylosilan (TMS). Widma 1H NMR oraz ^{13}C NMR analizowałam za pomocą programu *MestReNova*.

Spektroskopia w podczerwieni (IR)

Pomiary wykonałam za pomocą spektrometru *Thermo Scientific Nicolet IS5* wyposażonego w przystawkę *ID7 ATR*. Próbkę do analizy dozowałam w postaci stałej. Rejestrację widm prowadziłam dla zakresu $500-4000 \text{ cm}^{-1}$. Otrzymane widma analizowałam przy pomocy programu *OMNIC Spectra 8.2*.

Spektroskopia z zakresu bliskiego nadfioletu i światła widzialnego (UV-Vis)

Pomiary wykonałam za pomocą spektrofotometru *UV-5100 BIOSENS*. Próbki analizowałam w postaci 0,01% etanolowych roztworów. Rejestrację widm prowadziłam dla zakresu 100-400nm. Widma analizowałam przy pomocy programu *MetaSpecPro 2.2.0*.

Pomiar temperatury topnienia

Temperatury topnienia oznaczyłam przy użyciu aparatu *BOETIUS PHMK-05*.

3.2. Spis użytych odczynników

4-chlorobenzaldehyd	CAS: (104-88-1)	Cz.d.a	Sigma Aldrich
4-fluorobenzaldehyd	CAS: (459-57-4)	Cz.d.a	Sigma Aldrich
4-metoksybenzaldehyd	CAS: (123-11-5)	Cz.d.a	Sigma Aldrich
4-metylobenzaldehyd	CAS: (104-87-0)	Cz.d.a	Sigma Aldrich
4-nitrobenzaldehyd	CAS: (555-16-8)	Cz.d.a	Sigma Aldrich
Benzen	CAS: (71-43-2)	Cz.	Sigma Aldrich
Bromal	CAS: (115-17-3)	Cz.	Sigma Aldrich
Chloral	CAS: (75-87-6)	Cz.	Sigma Aldrich
Chlorek wapnia, bezwodny	CAS: (10043-52-4)	Cz.	Chempur
Chloroform	CAS: (67-66-3)	Cz.	POCH
Chloroform-D	CAS: (865-49-6)	Cz.d.a.	Sigma Aldrich
Chlorowodorek hydroksyloaminy	CAS: (5470-11-1)	Cz.d.a.	Chempur
Cyklopentan	CAS: (287-92-3)	Cz.	Merck
Etanol 99,6%	CAS: (64-17-5)	Cz.d.a.	P.P.H. STANLAB
Eter dietylowy	CAS: (60-29-7)	Cz.	POCH
Eter naftowy	CAS: (8032-32-4)	Cz.	Warchem.
Etylu octan	CAS: (141-78-6)	Cz.d.a.	Chempur
Heksan	CAS: (110-54-3)	Cz.d.a.	Merck

Kwas solny 36%	CAS: (7647-01-0)	Cz.d.a.	POCh
Metanol	CAS: (67-56-1)	Cz.d.a.	P.P.H. STANLAB
N-chlorosuksynoimid	CAS: (128-09-6)	Cz.	Merck
Nitrometan	CAS: (75-52-5)	Cz.	POCh
Siarczan(VI) magnezu, bezwodny	CAS: (74-87-88-9)	Cz.	POCh
Silica gel 0,035-0,070 mm, 60A	CAS: (7631-86-9)	Cz.	Acros Organics
Tetrahydrofuran	CAS: (109-99-9)	Cz.d.a.	Chempur
Trietyloamina	CAS: (1121-44-8)	Cz.	POCh
Węglan potasu bezwodny	CAS: (584-08-7)	Cz.	POCh
Węglan sodu, bezwodny	CAS: (497-19-8)	Cz.	Warchem
Wodorotlenek sodu	CAS: (1310-73-2)	Cz.d.a.	Chempur

3.3. Synteza obiektów badań

3.3.1. Synteza aromatycznych oksymów

3.3.1.1. Synteza 4-metylobenzaldoksydu

Do dwuszyjnej kolby okrągłodennej o pojemności 500 cm³, zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne oraz termometr, umieszczonej w łaźni lodowej, dodałam kolejno 14,4 g (0,12 mol) 4-metylobenzaldehydu, 7,9 g (0,11 mol) chlorowodoru hydroksyloaminy 25 cm³ etanolu oraz 30 cm³ wody destylowanej. Następnie, za pomocą wkraplacza, dozowałam roztwór uzyskany poprzez zmieszanie 10,3 g (0,26 mol) NaOH w 10 cm³ wody destylowanej. Roztwór wodorotlenku sodu podaje się do środowiska reakcji tak, aby temperatura nie wzrosła powyżej 40°C. Po zakończeniu dozowania całość mieszałam intensywnie przez godzinę w temperaturze pokojowej. Po tym czasie odczyn otrzymanej mieszaniny reakcyjnej doprowadziłam do wartości pH równej 6 za pomocą 0,3 M kwasu solnego. Następnie, całość ekstrahowałam kilkoma porcjami eteru dietylowego, aż do odbarwienia roztworu (około 5 porcji po 20 cm³). Warstwę organiczną o delikatnym żółtawym zabarwieniu wysuszyłam się siarczanem (VI) magnezu, przefiltrowałam za pomocą sączka karbowanego i odparowałam rozpuszczalnik na wyparce próżniowej. Surowy produkt oczyściłam na drodze krystalizacji z cykloheksanu. Uzyskany produkt reakcji suszyłam na powietrzu.

Otrzymałam 10,7 g (66%) 4-metylobenzaldoksydu o $t_t=69-70^{\circ}\text{C}$ (t_t lit. $=54-68^{\circ}\text{C}$ [111]). $R_t=1.88$ min (CH₃OH:H₂O 8:2 v/v)

3.3.1.2. Synteza 4-metoksybenzaloksydu

Syntezowałam analogicznie, jak 4-metylobenzaldoksyd, wychodząc z 14,4 g (0,12 mol) 4-metoksybenzaldehydu, 7,9 g (0,11 mol) chlorowodoru hydroksyloaminy, 25 cm³ etanolu oraz 30 cm³ wody destylowanej. Krystalizację produktu prowadziłam przy użyciu cykloheksanu.

Otrzymałam 12,36 g (79,4%) 4-metoksybenzaloksydu o $t_t=61-63^{\circ}\text{C}$ (t_t Lit. $=60-65^{\circ}\text{C}$ [112]). $R_t=2.07$ min (CH₃OH:H₂O 8:2 v/v)

3.3.1.3. Synteza 4-fluorobenzaldoksymu

Syntezowałam analogicznie, jak 4-metylobenzaldoksym, wychodząc z 14,4 g (0,12 mol) 4-fluorobenzaldehydu, 7,9 g (0,11 mol) chlorowodoru hydroksyloaminy, 25 cm³ etanolu oraz 30 cm³ wody destylowanej. Krystalizację produktu prowadziłam przy użyciu cykloheksanu. Otrzymałam 10,44 g (64,7%) 4-fluorobenzaldoksymu o $t_t=78-82^{\circ}\text{C}$ (t_t Lit. $=78-88^{\circ}\text{C}$ [113]). $R_t=1.81$ min (CH₃OH:H₂O 8:2 v/v)

3.3.1.4. Synteza 3-chlorobenzaldoksymu

Syntezowałam analogicznie, jak 4-metylobenzaldoksym, wychodząc z 14,4 g (0,12 mol) 4-fluorobenzaldehydu, 7,9 g (0,11 mol) chlorowodoru hydroksyloaminy, 25 cm³ etanolu oraz 30 cm³ wody destylowanej. Krystalizację produktu prowadziłam przy użyciu mieszaniny cykloheksan : metanol 1:1 v/v.

Otrzymałam 5,94 g (40%) 3-chlorobenzaldoksymu o $t_t=58-60^{\circ}\text{C}$ (t_t Lit. $=64-69^{\circ}\text{C}$ [112]). $R_t=1.94$ min (CH₃OH:H₂O 8:2 v/v)

3.3.1.5. Synteza 4-nitrobenzaldoksymu

Syntezowałam analogicznie, jak 4-metylobenzaldoksym, wychodząc z 14,4 g (0,12 mol) 4-fluorobenzaldehydu, 7,9 g (0,11 mol) chlorowodoru hydroksyloaminy, 25 cm³ etanolu oraz 30 cm³ wody destylowanej. Krystalizację produktu prowadziłam przy użyciu etanolu. Otrzymałam 8 g (50,8%) 4-nitrobenzaldoksymu o $t_t=124-126^{\circ}\text{C}$ (t_t Lit. $=126-128^{\circ}\text{C}$ [111]). $R_t=1.81$ min (CH₃OH:H₂O 8:2 v/v)

3.3.2. Synteza chlorków kwasów hydroksamowych

3.3.2.1. Synteza chlorku kwasu 4-metoksybenzhydroksamowego

W kolbie stożkowej o pojemności 50 cm³, zaopatrzonej w termometr i mieszadło magnetyczne, umieściłam 20 cm³ DMF, 2 g 4-metoksybenzaldoksymu i całość poddałam intensywnemu mieszaniu, aż do rozpuszczenia się kryształów oksymu. Następnie do środowiska reakcji dozowałam 4 g NCS w kilku porcjach, ciągle sprawdzając temperaturę, tak, aby nie dopuścić do przegrzania mieszaniny powyżej 50°C. Po zadozowaniu ok. połowy NCS, gdy nie nastąpił skok temperatury, należy wprowadzić do środowiska reakcji opary HCl za pomocą pipety Pasteura i zamknąć szczelnie korkiem, aż do zaabsorbowania przez mieszaninę gazowego HCl. Jeśli nadal nie nastąpił charakterystyczny skok temperatury, należy rozpocząć

ponownie dozowanie pozostałych porcji NCS, na zmianę z gazowym HCl. Po zadozowaniu całości NCS oraz wystąpieniu wyraźnego skoku temperatury, mieszaninę pozostawiłam do ochłodzenia się do temperatury pokojowej ciągle mieszając, na ok 3 h lub do sprawdzenia przebiegu reakcji za pomocą papierka jodoskrobiowego (brak zabarwienia oznacza koniec reakcji). Tak otrzymaną mieszaninę poddałam ekstrakcji za pomocą kilku porcji eteru dietylowego. Ekstrakt osuszyłam przy pomocy siarczanu (VI) magnezu, a następnie przefiltrowałam za pomocą sącza karbowanego i odparowałam rozpuszczalnik (najlepiej na powietrzu). Gotowy produkt należy zużyć jak najszybciej i przechowywać w eksykatorze w (-18) - (-20°C) (w zamrażarce). Otrzymałam 1,88 g (76,7%) chlorku kwasu 4-metoksybenzhydroksamowego. $R_t = 2.79$ min (CH₃OH:H₂O 8:2 v/v)

3.3.2.2. Synteza chlorku kwasu 4-metylobenzhydroksamowego

Synteżowałam analogicznie, jak chlorek kwasu 4-metoksybenzhydroksamowego, wychodząc z 2 g 4-metylobenzaldoksydu i 4g NCS. Otrzymałam 1,68 g (66,9%) chlorku kwasu 4-metylobenzhydroksamowego. $R_t = 2.61$ min (CH₃OH:H₂O 8:2 v/v)

3.3.2.3. Synteza chlorku kwasu 4-fluorobenzhydroksamowego

Synteżowałam analogicznie, jak chlorek kwasu 4-metoksybenzhydroksamowego, wychodząc z 2 g 4-fluorobenzaldoksydu i 4g NCS. Otrzymałam 1,65 g (66,3%) chlorku kwasu 4-fluorobenzhydroksamowego. $R_t = 2.15$ min (CH₃OH:H₂O 8:2 v/v)

3.3.2.4. Synteza chlorku kwasu 3-chlorobenzhydroksamowego

Synteżowałam analogicznie, jak chlorek kwasu 4-metoksybenzhydroksamowego, wychodząc z 2 g 3-chlorobenzaldoksydu i 4g NCS. Otrzymałam 1,47 g (60,2%) chlorku kwasu 3-chlorobenzhydroksamowego. $R_t = 2.65$ min (CH₃OH:H₂O 8:2 v/v)

3.3.2.5. Synteza chlorku kwasu 4-nitrobenzhydroksamowego

Synteżowałam analogicznie, jak chlorek kwasu 4-metoksybenzhydroksamowego, wychodząc z 2 g 4-nitrobenzaldoksydu i 4g NCS. Otrzymałam 1,77 g (73,4%) chlorku kwasu 4-nitrobenzhydroksamowego. $R_t = 2.15$ min (CH₃OH:H₂O 8:2 v/v)

3.3.3. Synteza (E)-3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-enu

1,1,1-trichloro-3-nitropropan-2-ol

Do trójszyjnej kolby okrągłodennej o pojemności 250 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną, termometr oraz mieszadło magnetyczne, umieszczonej w łaźni wodnej, wprowadziłam 40 g (0,24 mol) monohydratu aldehydu trichlorooctowego oraz 15,5 cm³ (0,29 mol) nitrometanu. Tak otrzymany roztwór poddałam intensywnemu mieszaniu i ogrzewałam do temperatury 50°C. Następnie, utrzymując stałą temperaturę 50°C, do reakcji dozowałam małymi porcjami 1,25 g bezwodnego węgla potasu, wcześniej rozdrobnionego w moździerzu. Po zakończeniu dozowania soli, kontynuowałam intensywne mieszanie zawartość kolby, równocześnie dając samoczynnie ochłodzić się, aż do osiągnięcia temperatury pokojowej. Kolejno, całość mieszaniny przemyłam roztworem 1,2 cm³ stężonego kwasu solnego w 200 cm³ wody destylowanej, a powstałe fazy rozdzieliłam. Fazę organiczną rozpuściłam w 100,0 cm³ chlorku metylenu i uzyskany roztwór osuszyłam przy pomocy bezwodnego siarczanu (VI) magnezu. Następnie całość przefiltrowałam na sączku karbowanym, a rozpuszczalnik usunęłam na wyparce próżniowej. Otrzymaną oleistą substancję roztarłam z eterem naftowym, a powstały krystaliczny produkt odsączyłam i wysuszyłam. Otrzymałam 26,44 g (wydajność: 61,6 %) jasno-żółtych kryształów 1,1,1-trichloro-3-nitropropan-2-olu o temperaturze topnienia 43-45°C. (tt lit. = 44-45°C [108]).

1,1,1-trichloro-3-nitro-2-acetoksypropan

Do trójszyjnej kolby okrągłodennej o pojemności 250 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną, termometr oraz mieszadło magnetyczne, umieszczonej w łaźni wodnej, wprowadziłam 26,44 g (0,13 mol) 1,1,1-trichloro-3-nitropropan-2-olu i dodałam 45cm³ (0,65 mol) chlorku acetylu. Następnie, zamknęłam wylot chłodnicy suszką zawierającą bezwodny chlorek wapnia. Obserwowałam intensywne pienie się mieszaniny, którą następnie pozostawiłam w temperaturze pokojowej, aż do ustania pienia się. Kolejno, całość ogrzewałam na łaźni wodnej do osiągnięcia przez układ temperatury 50°C, po czym odstawiłam łaźnię wodną i pozostawiłam do samoczynnego osiągnięcia temperatury pokojowej ciągle mieszając. Od tego czasu, całość inkubowałam w temperaturze pokojowej przez 24h. Następnie, odparowałam rozpuszczalnik, a powstałą fazę krystaliczną przemyłam dwiema porcjami eteru naftowego po 10,0 cm³. Otrzymałam 27,23 g (wydajność: 86%) białych kryształów 1,1,1-trichloro-3-nitro-2-acetoksypropanu o temperaturze topnienia 59-60°C (tt lit. = 58-60°C [108]).

(E)-3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-en

Do trójszyjnej kolby okrągłodennej o pojemności 250 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną zamkniętą od góry suszką zawierającą bezwodny chlorek wapnia, termometr oraz mieszadło magnetyczne, umieszczonej w płaszczu grzewczym, wprowadziłam 27,23 g (0,11 mol) 1,1,1-trichloro-3-nitro-2-acetoksypropanu, 180 cm³ benzenu oraz 15,84 g bezwodnego węgla sodu. Mieszaninę doprowadziłam do wrzenia i ogrzewałam przez ok. 3 h. Następnie, zawartość kolby przesączyłam na gorąco, a nadmiar rozpuszczalnika usunęłam na wyparce próżniowej. Produkt poddałam oczyszczaniu na drodze destylacji pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymałam 13,30 g (wydajność: 66%) (E)-3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-enu oleistej żółto-zielonej cieczy o charakterystycznym ostrym zapachu o temperaturze wrzenia 72-76°C pod ciśnieniem 5mmHg (tw. lit. = 88-89°C/16mmHg [109]).

3.3.4. Synteza (E)-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enu

1,1,1-tribromo-3-nitropropan-2-ol

Do kolby trójszyjnej okrągłodennej o pojemności 250 cm³, zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne, termometr i chłodnicę zwrotną, umieszczonej w płaszczu grzewczym, zadozowałam roztwór otrzymany przez zmieszanie 0,084 mola (25 g) bromalu i 40 cm³ wody. Do roztworu dodałam 0,125 mola (6,75 cm³) nitrometanu ciągle mieszając. Po zadozowaniu całości nitrometanu, mieszaninę reakcyjną ogrzewałam do 45-50°C. W tym czasie do mieszaniny reakcyjnej dodawałam porcjami 1,05 g K₂CO₃. Gdy temperatura osiągnęła 50°C, całość dalej mieszałam przez kolejne 30 minut, utrzymując stałą temperaturę. Następnie mieszaninę reakcyjną zobojętniłam rozcieńczonym HCl. Otrzymany nitroalkohol ekstrahowałam chloroformem (6 x 25 ml). Następnie, otrzymany ekstrakt wysuszyłam za pomocą CaCl₂, a chloroform odparowałam za pomocą wyparki próżniowej. W ten sposób otrzymałam bezbarwny olej, który natychmiast krystalizował. Otrzymałam 21,2 g (wydajność: 74%) żółtych kryształów nitroalkoholu o charakterystycznym, lecz przyjemnym słodkawym zapachu, o temperaturze topnienia 75–77°C. (tt. lit.=78°C [102])

1,1,1-tribromo-3-nitro-2-acetoksypropan

Do kolby trójszyjnej okrągłodennej o pojemności 250 cm³, zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne, termometr i chłodnicę zwrotną, umieszczonej w łaźni wodnej, zadozowałam 0,068 mol (21,2 g) 1,1,1-tribromo-3-nitropropan-2-olu i dodałam 0,124 mola (8,85 ml) chlorku acetylu. Mieszaninę reakcyjną ogrzewałam do 77°C, aż do rozpuszczenia nitroalkoholu, a następnie inkubowałam przez 12 h w temperaturze pokojowej ciągle mieszając. Nadmiar

chlorku acetylu oddestylowałam za pomocą wyparki próżniowej. Otrzymałam jasno-żółte kryształy 19,72 g (wydajność: 93%) 1,1,1-tribromo-3-nitro-2-acetoksypropanu, o temperaturze topnienia 66–68°C. (tt. lit.=66-67°C [102])

E-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-en

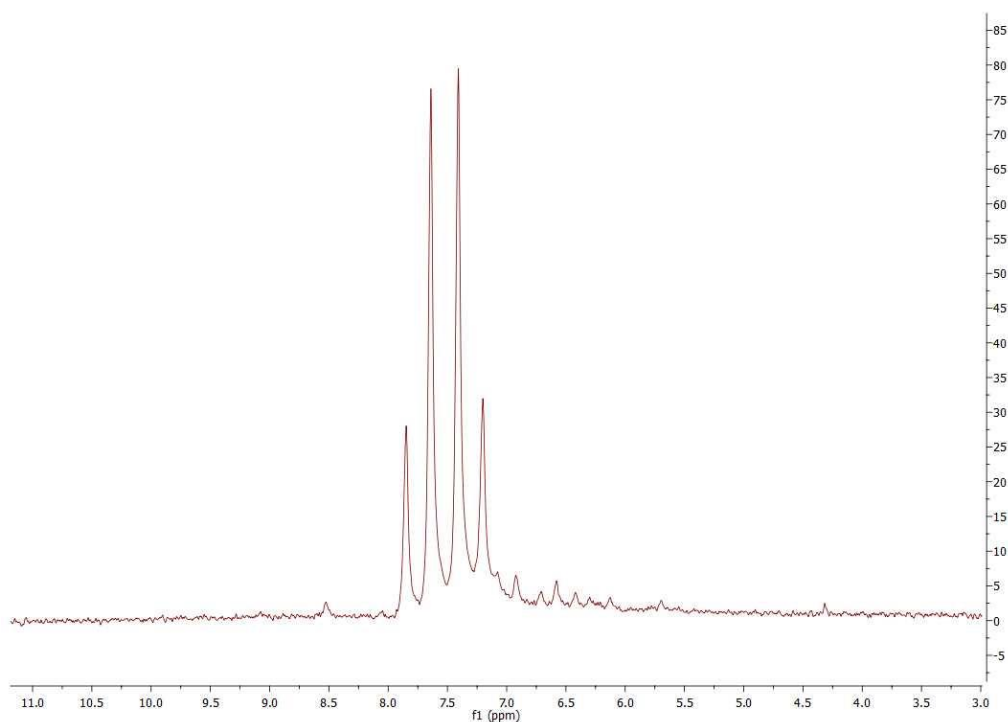
Do kolby trójszyjnej okrągłodennej o pojemności 250 cm³, zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne, termometr i chłodnicę zwrotną, umieszczonej w płaszczu grzewczym, wprowadziłam 19,72 g (0,051 mola) 1,1,1-tribromo-3-nitro-2-acetoksypropanu i 40 ml benzenu, a następnie dodałam porcjami 6 g (0,057 mola) węglanu sodu. Całość ogrzewałam do temperatury wrzenia i inkubowałam przez 4,5 godziny. Otrzymany osad przefiltrowałam na sączku karbowanym, a pozostałość przemyłam eterem dietylowym (4 x 25 ml). Otrzymane ekstrakty osuszyłam za pomocą CaCl₂ i poddałam destylacji próżniowej w celu usunięcia rozpuszczalnika. Ciemnopomarańczowy olej stanowiący mieszaninę izomerów poddałam kolejno rozdzielowi na kolumnie preparatywnej w eluencie n-heksan:chloroform 0,622:0,375. Otrzymane frakcje zebrałam i odparowałam rozpuszczalnik. Otrzymałam 12,68 g (wydajność: 65%) żółtawo-pomarańczowych kryształów nitroalkenu, o temperaturze topnienia 48–49°C i charakterystycznym słodkawym zapachu. (tt.lit.=48-49°C [102]) $R_f=0,46$ (C₆H₁₄:CHCl₃ 62,2:37,5 v/v)



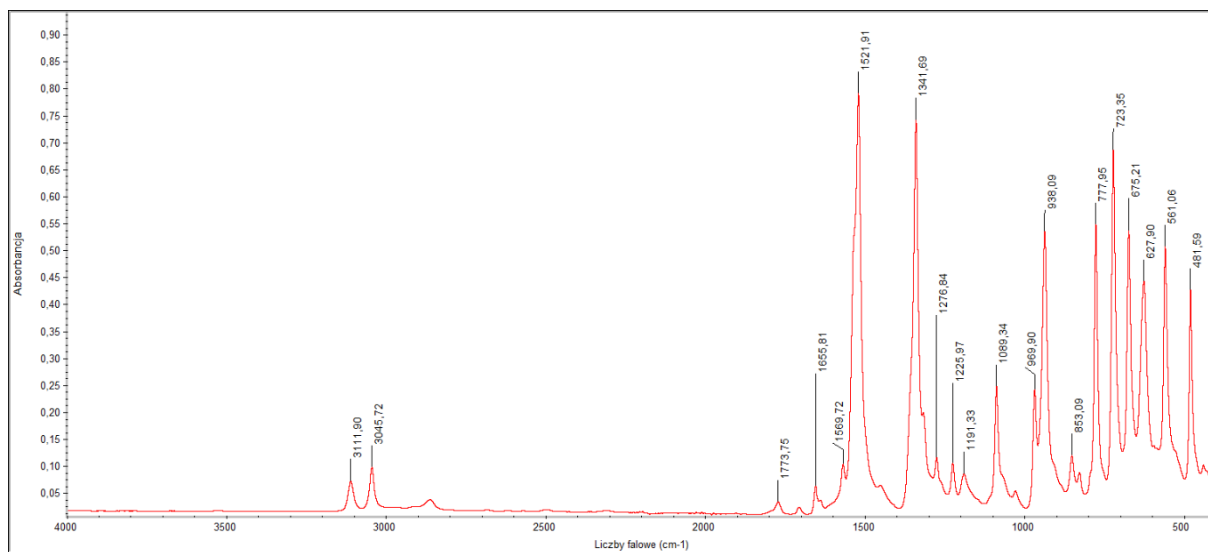
tt.: 48–49°C

IR: $\nu = 1521$ i 1341 (NO₂); 1665 (C=C); 3045 – 3111 (C-H) cm⁻¹

¹HNMR: 7.74 (d, 1H, J=12.6 Hz) 7.30 (d, 1H, J=12.6 Hz)



Rys.46. Fragment widma $^1\text{H NMR}$ E-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enu.



Rys.47. Widmo FTIR E-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enu.

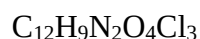
3.3.5. Synteza 3-(R-fenilo)- 4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazolin

3.3.5.1. Synteza 3-(4-metoksyfenilo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazolin

W kolbie stożkowej zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne, umieszczonej w łaźni lodowej, umieściłam 10 cm³ THF, 0,5 g E-3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-enu oraz 0,4 g chlorku kwasu 4-metoksybenzhydroksamowego. Całość mieszałam przez ok. 10 min. Węglan potasu* w ilości 0,183 g, do środowiska reakcji dozowałam małymi porcjami. Po zadozowaniu pierwszej porcji

K₂CO₃ usunęłam łaźnię lodową i kontynuowałam dodawanie węglanu. Całość mieszałam przez ok 17-24 h. Kolejno zawartość kolby przeniosłam do parownicy i odparowałam rozpuszczalnik. Następnie produkt odmyłam z osadu przy użyciu eteru dietylowego. Ekstrakt przefiltrowałam na sączku karbowanym z pozostałości nieorganicznych chlorków. Tak otrzymany przesącz poddałam usuwaniu rozpuszczalnika za pomocą wyparki próżniowej, aż do całkowitego odparowania eteru. Pozostałość poddałam delikatnej krystalizacji z alkoholu etylowego. Krystaliczny produkt przesączyłam pod próżnią na lejku ze spiekem kwarcowym o porowatości S4 i osuszyłam na powietrzu. Otrzymałam 0,26 g (wydajność 43,07%) krystalicznego jasnożółtego ciała stałego 3-(4-metoksyfenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazoliny **4a** o tt. = 62,2-63,6°C.

*Węglan potasu należy wcześniej ogrzewać przez ok 5 min w tyglu ceramicznym w czaszy grzewczej w celu pozbycia się wilgoci.



IR: ν = 1563 and 1349 (NO₂), 1262 (-C-O-N-), 1609 (-C=N-), 815 (C(Cl₂)-Cl) cm⁻¹;

UV: 277 nm;

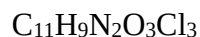
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.71 (d, 2H, J=9.00Hz); 6.97 (d, 2H, J=9.00Hz); 6.39 (d, 1H, J=3.91Hz); 5.71 (d, 1H, J=3.91Hz); 3.86 (s, 3H),

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 160.55; 149.31; 126.91; 112.93; 92.24; 91.46; 53.6;

HR-MS (ESI+): obliczono C₁₂H₉N₂O₄Cl₃ [M+H]⁺ = 382.9345, znaleziono 382.9343;

3.3.5.2. Synteza 3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazoliny

Związek syntezowałam per analogia do 3-(4-metoksyfenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazoliny wychodząc z 0,5 g E-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enu oraz 0,26 g chlorku kwasu 4-metylobenzhydroksamowego. Otrzymałam 0,29 g (wydajność 68,85%) krystalicznego białego ciała stałego 3-(4-fluorofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny o tt. = 78,80 °C.



IR: ν = 1563 i 1366 (NO₂), 1259 (-C-O-N-), 1610 (-C=N-), 805 (C(Cl₂)-Cl) cm⁻¹;

UV 265 nm;

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.7 (d, 2H, J=8.61Hz); 7.3 (d, 2H, J=8.61Hz); 6.4 (d, 1H, J=3.91Hz); 5.7 (d, 1H, J=3.91Hz); 2.4 (s, 3H);

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 151.6; 142.6; 130; 126.9; 94.2; 93.2; 21.5;

HR-MS (ESI-): obliczono C₁₁H₉N₂O₃Cl₃ [M-H]⁻ = 320.96005, znaleziono 320.9601;

3.3.5.3. Synteza 3-(4-fluorofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazoliny

Związek syntezowałam per analogia do 3-(4-metoksyfenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazoliny wychodząc z 0,5 g E-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enu oraz 0,25 g chlorku kwasu 4-fluorobenzhydroksamowego. Otrzymałam 0,48 g (wydajność 70%) krystalicznego jasno-żółtego ciała stałego 3-(4-fluorofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazoliny o tt. = 104-107 °C.

$C_{10}H_6N_2O_3Cl_3F$

IR: ν = 1563 i 1365 (NO_2), 1256 (-C-O-N-), 1600 (-C=N-), 815 (C(Cl_2)-Cl) cm^{-1} ;

UV: 258 nm;

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7.75-7.78 (dd, 2H, $J=5.09Hz$); 7.16 (t, 2H, $J=8.61Hz$); 6.37 (d, 1H, $J=3.91Hz$); 5.74 (d, 1H, $J=3.91Hz$);

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 165.98 163.45 (d, $J=253Hz$); 150.71; 129.36; 129.27;

116.81; 94.38; 92.95; ^{19}F NMR (376 MHz): δ -106.24, (m, 1F);

HR-MS (ESI+): obliczono $C_{10}H_6N_2O_3Cl_3F$ $[M+H]^+$ = 370.9145, znaleziono 370.9145

3.3.5.4. Synteza 3-(3-chlorofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazoliny

Związek syntezowałam per analogia do 3-(4-metoksyfenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazoliny wychodząc z 0,5 g E-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enu oraz 0,25 g chlorku kwasu 3-chlorobenzhydroksamowego. Otrzymałam 0,28 g (wydajność 40%) krystalicznego jasnożółtego ciała stałego 3-(3-chlorofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazoliny o tt. = 58-61 °C.

$C_{10}H_6N_2O_3Cl_4$

IR: ν = 1557 i 1354 (NO_2), 1252 (-C-O-N-), 1591 (-C=N-), 819 (C(Cl_2)-Cl) cm^{-1} ;

UV: 258 nm;

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.79 (t, 1H, $J=1.96Hz$); 7.62-7.64 (dd, 1H, $J=1.17Hz$); 7.49-7.51 (dd, 1H, $J=1.17Hz$); 7.42 (d, 1H); 6.38 (d, 1H, $J=3.91Hz$); 5.77 (d, 1H, $J=3.91Hz$);

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 150.67; 131.91; 130.55; 127.03; 126.87; 94.45; 92.51;

HR-MS (ESI+): obliczono $C_{10}H_6N_2O_3Cl_4$ $[M+H]^+$ = 386.8850, znaleziono 386.8850;

3.3.5.5. Synteza 3-(4-nitrofenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazoliny

Związek syntezowałam per analogia do 3-(4-metoksyfenylo)-4-nitro-5-(trichlorometylo)- Δ^2 -izoksazoliny wychodząc z 0,5 g E-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enu oraz 0,30 g chlorku kwasu 4-nitrobenzhydroksamowego. Otrzymałam 0,25 g (wydajność 40%) krystalicznego białego ciała stałego 3-(4-fluorofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny o tt. = 115-120 °C.

$C_{10}H_6N_3O_5Cl_3$

IR: $\nu = 1560$ i 1341 (NO_2), 1259 ($-C-O-N-$), 1607 ($-C=N-$), 817 ($C(Cl_2)-Cl$) cm^{-1} ;

UV: 283 nm;

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ $8.32-8.34$ (m, 2H, $J=1.96$ Hz); $7.97-7.99$ (m, 2H, $J=1.96$ Hz); 6.44 (d, 1H, $J=3.91$ Hz); 5.86 (d, 1H, $J=3.91$ Hz),

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 150.3 ; 131.05 ; 128.4 ; 128.1 ; 124.5 ; 94.79 ; 92.02 ;

HR-MS (ESI+): obliczono $C_{10}H_6N_3O_5Cl_3$ $[M+H]^+ = 397.9090$, znaleziono 397.9090 ;

3.3.6. Synteza 3-(R-fenilo)- 4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazolin

3.3.6.1. Synteza 3-(4-metoksyfenilo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny

W kolbie stożkowej zaopatrzonej w mieszkadło magnetyczne, umieszczonej w łaźni lodowej, umieściłam 10 cm^3 THF, $0,5\text{ g}$ E-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enu oraz $0,3\text{ g}$ mol chlorku kwasu 4-metoksybenzhydroksamowego. Całość mieszałam przez ok. 10 min . Węglan potasu* w ilości $0,12\text{ g}$, do środowiska reakcji dozowałam małymi porcjami. Po zadozowaniu pierwszej porcji K_2CO_3 usunęłam łaźnię lodową i kontynuowałam dozowanie węglanu potasu. Całość mieszałam jeszcze przez ok $17-24\text{ h}$. Kolejną zawartość kolby przenieśliśmy do parownicy i odparowałam rozpuszczalnik. Następnie produkt odmyłam z osadu przy użyciu eteru dietylowego. Ekstrakt przefiltrowałam na sączku karbowanym z pozostałości nieorganicznych chlorków. Tak otrzymany przesącz poddałam usuwaniu rozpuszczalnika na wyparce próżniowej. Pozostałość poddałam rozdzielowi na kolumnie preparatywnej, przy zastosowaniu eluentu $9:1$ heksan:octan etylu, a zebrane frakcje, odparowałam i poddałam krystalizacji „na zimno” w mieszaninie rozpuszczalników eter dietylowy:cyklopentan. Mieszaninę rozpuszczalników do krystalizacji przygotowałam w trakcie prowadzenia procesu, dodając kroplami do mrożonego ciekłym azotem eteru dietylowego, cyklopentanu, aż do wytrącenia się osadu. Krystaliczny produkt odsączyłam pod próżnią na lejku ze spiekami kwarcowym o porowatości S4 i osuszyłam na powietrzu. Otrzymałam $0,38\text{ g}$ (wydajność 45%) krystalicznego białego ciała stałego 3-(4-metoksyfenilo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny o $tt. = 111,8-112,4\text{ }^\circ C$. $R_f=0,59$ (SiO_2 ; $9:1\text{ } C_6H_{14}: C_4H_8O_2\text{ v/v}$)

*Węglan potasu należy wcześniej ogrzewać przez ok 5 min w tyglu ceramicznym w czaszy grzewczej w celu pozbycia się wilgoci.

$C_{12}H_9N_2O_4Br_3$

IR: $\nu = 1580$ i 1365 (NO_2), 1258 ($-C-O-N-$), 1606 ($-C=N-$), 821 ($C(Br_2)-Br$) cm^{-1} ;

UV: 268 nm;

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,71 (d, 2H, $J=9,00\text{Hz}$); 6,97 (d, 2H, $J=9,00\text{Hz}$); 6,39 (d, 1H, $J=3,91\text{Hz}$); 5,71 (d, 1H, $J=3,91\text{Hz}$); 3.86 (s, 3H),

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 151; 142; 130; 127; 122; 95.78; 94; 21.58

HR-MS (ESI+): obliczono $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_4\text{Br}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 468.8034$, znaleziono 468.8055;

3.3.6.2. Synteza 3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny

Związek syntezowałam per analogia do 3-(4-metoksyfenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny wychodząc z 0,5 g E-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enu oraz 0,20 g mol chlorku kwasu 4-metylobenzhydroksamowego. Proces oczyszczania dla tego związku obejmował także rozdział na kolumnie preparatywnej z eluentem 9:1 heksan: octan etylu. Otrzymane frakcje poddałam krystalizacji z etanolu. Do gorącego roztworu z etanolem, dodawałam kroplami wodę, aż do wytrącenia się osadu. Produkt przesączyłam pod próżnią na lejku ze spiekem kwarcowym o porowatości S4 i wysuszyłam. Otrzymałam 0,31 g (wydajność 41%) krystalicznego białego ciała stałego 3-(4-metylofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny o tt. = 85-86,5 °C. $R_f=0,47$ (SiO_2 ; 9:1 C_6H_{14} : $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ v/v)

$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_3\text{Br}_3$

IR: $\nu = 1578$ i 1366 (NO_2), 1259 (-C-O-N-), 1605 (-C=N-), 819 ($\text{C}(\text{Br}_2)\text{-Br}$) cm^{-1} ;

UV: 265 nm;

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7.65 (d, 2H, $J=8,31\text{Hz}$); 7,26 (d, 2H, $J=8,31\text{Hz}$); 6,29 (d, 1H, $J=4,21\text{Hz}$); 5,83 (d, 1H, $J=4,21\text{Hz}$); 2,40 (s, 3H),

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 151; 142; 130; 127; 122; 95.8; 94; 21.6

HR-MS (ESI-): obliczono $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_3\text{Br}_3$ $[\text{M-H}]^- = 452.8085$, znaleziono 452.8108;

3.3.6.3. Synteza 3-(4-fluorofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny

Związek syntezowałam per analogia do 3-(4-metoksyfenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny wychodząc z 0,5 g E-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enu oraz 0,30 g chlorku kwasu 4-fluorobenzhydroksamowego. Proces oczyszczania dla tego związku obejmował krystalizację z metanolu. Produkt przesączyłam pod próżnią na lejku ze spiekem kwarcowym o porowatości S4 i suszy. Otrzymałam 0,35 g (wydajność 45%) krystalicznego białego ciała stałego 3-(4-fluorofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny o tt. = 111-113 °C. $R_f=0,46$ (SiO_2 ; 9:1 C_6H_{14} : $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ v/v)

$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_3\text{Br}_3\text{F}$

IR: $\nu = 1566$ i 1361 (NO_2), 1249 (-C-O-N-), 1601 (-C=N-), 819 ($\text{C}(\text{Br}_2)\text{-Br}$) cm^{-1} ;

UV: 258 nm;

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 7.79 (t, 1H, $J=1.17\text{Hz}$); 7.62-7.64 (dd, 1H, $J=1.17\text{Hz}$); 7.49-7.51 (dd; 1H; $J=1.17\text{Hz}$); 7.42 (m, 1H, $J=1.17\text{Hz}$); 6.38 (d, 1H, $J=3.91\text{Hz}$); 5.77 (d, 1H, $J=3.91\text{Hz}$);

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 150.7 (d, $J=253\text{Hz}$); 131.9; 130.6; 127.03; 126.9; 94.5; 92.5;

^{19}F NMR (376 MHz): δ -106.24, (m, 1F);

HR-MS (ESI+): obliczono $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_3\text{Br}_3\text{F}$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 456.7834$, znaleziono 456.7850;

3.3.6.4. Synteza 3-(3-chlorofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny

Związek syntezowałam per analogia do 3-(4-metoksyfenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny wychodząc z 0,5 g E-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enu oraz 0,20 g mol chlorku kwasu 3-chlorobenzhydroksamowego. Proces oczyszczania dla tego związku obejmował także rozdział na kolumnie preparatywnej z chloroformem. Otrzymane frakcje rozcierałam z eterem naftowym, aż do otrzymania semisolidu o barwie żółto-zielonej. Otrzymałam 0,4 g (wydajność 59%) żółto-zielonego semisolidu 3-(3-chlorofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny. $R_f=0,5$ (SiO_2 ; 9:1 C_6H_{14} : $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ v/v)

$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_3\text{Br}_3\text{Cl}$

IR: $\nu = 1557$ i 1354 (NO_2), 1252 ($-\text{C}-\text{O}-\text{N}-$), 1591 ($-\text{C}=\text{N}-$), 819 ($\text{C}(\text{Br}_2)-\text{Br}$) cm^{-1} ;

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8.32-8.34 (dd, 2H, $J=1.96\text{Hz}$); 7.97-7.99 (t, 2H, $J=1.96\text{Hz}$); 6.44 (d, 1H, $J=3.91\text{Hz}$); 5.86 (d, 1H, $J=3.91\text{Hz}$);

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 150.3; 131; 128.4; 128.1; 124.5; 94.8; 92;

HR-MS (ESI+): obliczono $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_3\text{Br}_3\text{Cl}$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 472.7539$, znaleziono 472.7547;

3.3.6.5. Synteza 3-(4-nitrofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny

Związek syntezowałam per analogia do 3-(4-metoksyfenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny wychodząc z 0,5 g E-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enu oraz 0,30 g mol chlorku kwasu 4-nitrobenzhydroksamowego. Proces oczyszczania dla tego związku obejmował także rozdział na kolumnie preparatywnej z eluentem 8:2 chloroform:aceton. Otrzymane frakcje odparowałam próżniowo. Otrzymałam 0,35 g (wydajność 40%) pomarańczowego oleju 3-(4-nitrofenylo)-4-nitro-5-(tribromometylo)- Δ^2 -izoksazoliny o $T_t = 111,8$ - $112,4$ $^\circ\text{C}$. $R_f=0,4$ (SiO_2 ; 9:1 C_6H_{14} : $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ v/v)

$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{N}_3\text{O}_5\text{Br}_3$

IR: $\nu = 1552$ i 1344 (NO_2), 1253 ($-\text{C}-\text{O}-\text{N}-$), 1598 ($-\text{C}=\text{N}-$), 850 ($\text{C}(\text{Br}_2)-\text{Br}$) cm^{-1} ;

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7.75-7.78 (dd, 2H, $J=5.09\text{Hz}$); 7.16 (t, 2H, $J=8.61\text{Hz}$); 6.37 (d, 1H, $J=3.91\text{Hz}$); 5.74 (d, 1H, $J=3.91\text{Hz}$),
 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 163.5; 150.7; 129.4; 129.3; 116.8; 94.4; 92.9;
HR-MS (ESI+): obliczono $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{N}_3\text{O}_5\text{Br}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 483.7779$, znaleziono 483.7796;

IV. WNIOSKI

1. Opis globalnych właściwości elektronowych [3+2] cykloaddycji (E)-3,3,3-trichloro-1-nitro-1-prop-1-enu i (E)-3,3,3-tribromo-1-nitro-1-prop-1-enu z analogami N-tlenku benzonitrylu wskazuje, że N-tlenek będzie w reakcjach pełnił rolę donora elektronów, natomiast sprzężone nitroalkeny będą pełnić rolę akceptorów elektronów.
2. Analiza lokalnych charakterystyk elektronowych komponentów reakcji wskazuje, że regioselektywność cykloaddycji N-tlenków aromatycznych nitryli z nitroalkenami powinna być zdeterminowana atakiem nukleofilowego atomu tlenu fragmentu -CNO na elektrofilowy atom węgla nitroalkenu. Powinno to sprzyjać tworzeniu odpowiednich **3-arylo-4-nitro-5-CX₃-Δ²-isoksazolin**.
3. Analiza struktury elektronowej reagentów techniką ELF pozwala zdiagnozować naturę wiązań chemicznych w obrębie reaktywnych fragmentów komponentów reakcji.
4. Analiza profili energetycznych badanych [3+2] cykloaddycji wskazuje, że badane reakcje są procesami polarnymi, ale jednoetapowymi, realizującymi się bez udziału zwitterionowych intermediatów.
5. Obliczenia kwantowo-chemiczne wykazały również, że reaktywność N-tlenków nitryli zmienia się w zależności od natury podstawnika w pierścieniu benzenowym. Istnieje korelacja pomiędzy swobodną energią aktywacji a stałymi Hammeta poszczególnych podstawników w pierścieniu aromatycznym analogów N-tlenku benzonitrylu.
6. Badania eksperymentalne dowiodły, że prognozowana regioselektywność reakcji [3+2] cykloaddycji (E)-3,3,3-trichloro-1-nitro-1-prop-1-enu i (E)-3,3,3-tribromo-1-nitro-1-prop-1-enu z analogami N-tlenku benzonitrylu ma pokrycie w praktyce. Reakcje te realizują się z pełną regioselektywnością, dając odpowiednio tylko jeden z dwóch możliwych regioizomerycznych cykloadduktów.
7. Otrzymane heterocykliczne połączenia są związkami trwałymi i dają się w pełni scharakteryzować metodami spektralnymi.
8. Analiza wykonana techniką BET wskazuje, że mechanizm reakcji obejmuje 4 stadia tworzenia się wiązań. W pierwszej kolejności tworzy się wiązanie pojedyncze, pomiędzy atomem węgla C3 pochodzącego od N-tlenku benzonitrylu i atomu węgla C4 związanego z grupą NO₂ pochodzącego od nitroalkenu, a w ostatniej fazie reakcji dochodzi do zamknięcia pierścienia heterocyklicznego.

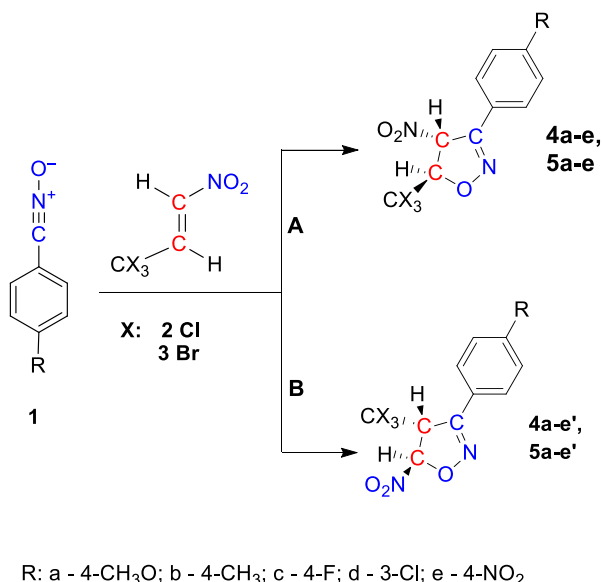
9. Analiza dokowania molekularnego wykazała, że obecność heteroatomów w pierścieniu, i grupy nitrowej, wpływa na zwiększenie ilości wiązań wodorowych, a tym samym powinowactwa tych związków do wybranych białek.
10. Wyniki analizy dokowania molekularnego wskazują, że otrzymane izoksazoliny będą najprawdopodobniej związkami biologicznie aktywnymi.

V. STRESZCZENIE

Tematem niniejszej rozprawy doktorskiej są reakcje [3+2] cykloaddycji pomiędzy wybranymi N-tlenkami benzonitrylu, jako komponentami trójatomowymi (z ang. *Three Atom Components* –TACs) oraz dwoma nitroalkenami: (*E*)-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-enem i (*E*)-3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-enem, oraz wstępna analiza bioaktywności uzyskanych cykloadduktów (Sch.25).

W jej ramach wykonano zarówno kwantowochemiczne, jak i eksperymentalne studia w obszarze regiochemii reakcji oraz jej molekularnego mechanizmu. Okazało się, że badane cykloaddycje przebiegają się w pełni regioselektywnie, z retencją pierwotnej stereokonfiguracji nitroalkenu. Ponadto, obliczenia DFT wykazały, że procesy te mają naturę polarną, ale realizują się wg mechanizmu jednoetapowego, bez udziału jonowych intermediatów. Zastosowane metody preparatywne oraz zdiagnozowany mechanizm molekularny w świetle zgromadzonego materiału badawczego można uznać za uogólniony dla szerszej grupy reakcji. Szczegółowy opis redystrybucji gęstości elektronowej wzdłuż ścieżki reakcji umożliwi studia techniką ELF.

W uzupełnieniu tych badań wykonano testy dokowania molekularnego do wybranych białek.



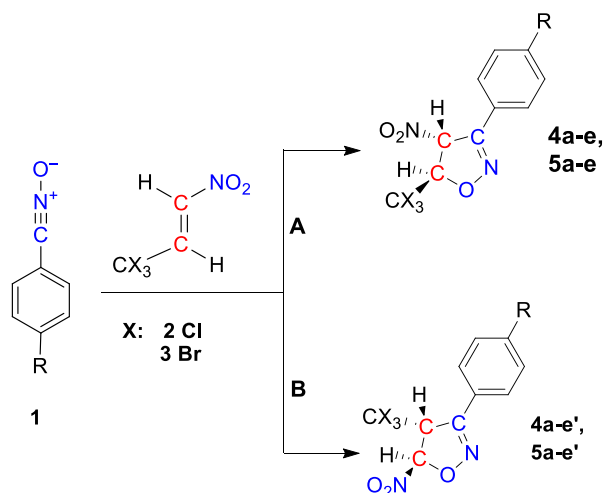
Sch.25. Teoretyczne ścieżki [3+2] cykloaddycji 2,3 (*E*)-3,3,3-trihalogeno-1-nitroprop-1-enu z analogami N-tlenku benzonitrylu 1a-e.

VI. ABSTRACT

The purpose of this doctoral dissertation was to investigate the course of [3+2] cycloaddition reactions between selected benzonitrile N-oxides as Three Atom Components (TACs) and two nitroalkenes: (E)-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-ene and (E)-3,3,3-trichloro-1-nitroprop-1-ene, as well as a preliminary analysis of the bioactivity of the obtained cycloadducts (Sch.25).

As part of it, both quantum-chemical and experimental studies were carried out in the area of regiochemistry and molecular mechanism of 32CA. It turned out that the studied cycloadditions proceed fully regioselectively, with the retention of the original stereoconfiguration of the nitroalkene. In addition, DFT calculations showed that these processes are polar and are carried out according to a one-step mechanism, without the participation of zwitterionic intermediates. Methods of preparation and general analysis could be considered as generalized to many similar processes. A detailed description of the redistribution of electron density along the reaction path will enable studies using the ELF technique.

In addition to these studies, molecular docking tests for selected proteins were performed.



R: a - 4-CH₃O; b - 4-CH₃; c - 4-F; d - 3-Cl; e - 4-NO₂

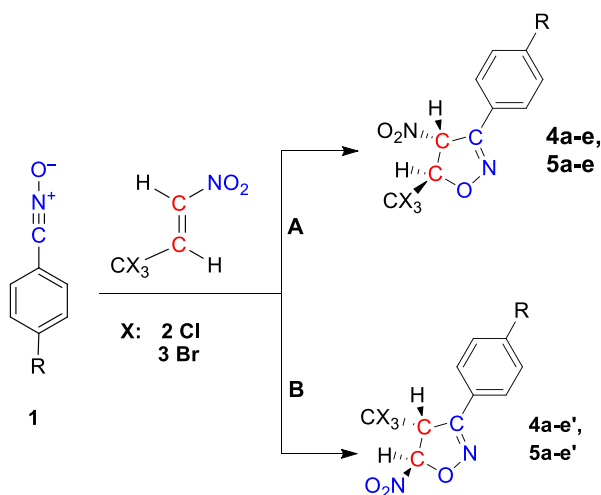
Sch.25. Theoretical [3+2] cycloaddition pathways of 2,3(E)-3,3,3-trihalo-1-nitroprop-1-ene with benzonitrile-N-oxide analogs **1a-e**.

VII. ABSTRACTO

El tema de esta tesis doctoral son [3+2] reacciones de cicloadición entre N-óxidos de benzonitrilo seleccionados como Componentes de Tres Átomos (TAC) y dos nitroalquenos: (E)-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1-eno y (E)-3,3,3-tricloro-1-nitroprop-1-eno, y un análisis preliminar de la bioactividad de los cicloaductos obtenidos (Sch.25).

Como parte del mismo, se realizaron estudios tanto de química cuántica como experimentales en el área de la regioquímica de reacción y su mecanismo molecular. Resultó que las cicloadiciones estudiadas proceden completamente regioselectivamente, con la retención de la estereoconfiguración original del nitroalqueno. Además, los cálculos DFT mostraron que estos procesos son de naturaleza polar, pero se llevan a cabo de acuerdo con un mecanismo de un solo paso, sin la participación de intermediarios iónicos. Los métodos preparativos utilizados y el mecanismo molecular diagnosticado a la luz del material de investigación pueden considerarse generalizados para un grupo más amplio de reacciones. Una descripción detallada de la redistribución de la densidad de electrones a lo largo del camino de la reacción permitirá realizar estudios utilizando la técnica ELF.

Además de estos estudios, se realizaron pruebas de acoplamiento molecular para proteínas seleccionadas.



Sch.25. Vías de cicloadición [3+2] teóricas de 2,3(E)-3,3,3-trihalo-1-nitroprop-1-eno con análogos de benzonitrilo-N-óxido **1a-e**.

VIII. PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A. Jacobs, "The Effect Of Heteroatoms," In *Understanding Organic Reaction Mechanisms*, 2012. DOI: 10.1017/Cbo9781139170796.006.
- [2] A. R. Katritzky, C. A. Ramsden, J. A. Joule, And V. V. Zhdankin, "Overview," In *Handbook Of Heterocyclic Chemistry*, 2010. DOI: 10.1016/B978-0-08-095843-9.00002-1.
- [3] Y. W. Chin, M. J. Balunas, H. B. Chai, And A. D. Kinghorn, "Drug Discovery From Natural Sources," *Aaps Journal*. 2006. DOI: 10.1208/Aapsj080228.
- [4] F. E. Koehn And G. T. Carter, "The Evolving Role Of Natural Products In Drug Discovery," *Nature Reviews Drug Discovery*. 2005. DOI: 10.1038/Nrd1657.
- [5] G. A. Cordell, M. Lou Quinn-Beattie, And N. R. Farnsworth, "The Potential Of Alkaloids In Drug Discovery," *Phytotherapy Research*. 2001. DOI: 10.1002/Ptr.890.
- [6] W. Q. Fan And A. R. Katritzky, "1,2,3-Triazoles," In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II: A Review Of The Literature 1982-1995*, 1996. DOI: 10.1016/B978-008096518-5.00079-4.
- [7] M. Kocivar, M. Tisler, And B. Stanovik, "Cheminform Abstract: New Synthetic Approach For Pyrazolo(3,4-B) Pyrazines And Isoxazolo(4,5-B) Pyrazines," *Chem. Informationsd.*, 1982, DOI: 10.1002/Chin.198232239.
- [8] B. J. Wakefield And D. J. Wright, "Isoxazole Chemistry Since 1963," *Adv. Heterocycl. Chem.*, 1980, DOI: 10.1016/S0065-2725(08)60692-3.
- [9] M. Zimecki, U. Bachor, And M. Maczyński, "Isoxazole Derivatives As Regulators Of Immune Functions," *Molecules*. 2018. DOI: 10.3390/Molecules23102724.
- [10] N. Agrawal And P. Mishra, "The Synthetic And Therapeutic Expedition Of Isoxazole And Its Analogs," *Medicinal Chemistry Research*. 2018. DOI: 10.1007/S00044-018-2152-6.
- [11] T. Morita, S. Yugandar, S. Fuse, And H. Nakamura, "Recent Progresses In The Synthesis Of Functionalized Isoxazoles," *Tetrahedron Letters*. 2018. DOI: 10.1016/J.Tetlet.2018.02.020.
- [12] I. N. N. Namboothiri And N. Rastogi, "Isoxazolines From Nitro Compounds: Synthesis And Applications," In *Synthesis Of Heterocycles Via Cycloadditions I*, 2008. DOI: 10.1007/7081_2007_101.
- [13] R. Jasiński, *Reakcje 1,3-Dipolarnej Cykloaddycji: Aspekty Mechanistyczne I Zastosowanie W Syntezie Organicznej*. Radom: Rtn Radom, 2015.
- [14] W. R. Mitchell And R. M. Paton, "Isolation Of Nitrile Oxides From The Thermal Fragmentation Of Furazan N-Oxides," *Tetrahedron Lett.*, 1979, DOI: 10.1016/S0040-4039(01)86315-2.
- [15] K. Kaur, V. Kumar, A. K. Sharma, And G. K. Gupta, "Isoxazoline Containing Natural Products As Anticancer Agents: A Review," *European Journal Of Medicinal Chemistry*. 2014. DOI: 10.1016/J.Ejmech.2014.02.063.
- [16] K. A. Kumar, M. Govindaraju, N. Renuka, And G. Vasanth Kumar, "Isoxazolines: An Insight To Their Synthesis And Diverse Applications," *J. Chem. Pharm. Res.*, 2015.

- [17] Y. K. Zhang, J. J. Plattner, Y. Zhou, M. Xu, J. Cao, And Q. Wu, "Novel Synthesis Of Isoxazoline Indolizine Amides For Potential Application To Tropical Diseases," *Tetrahedron Lett.*, 2014, DOI: 10.1016/J.Tetlet.2014.02.003.
- [18] E. Fox Kleinman, "US005716967a," 5,716,967, 1995
- [19] Y. Al-Abed, "US7662843B2," 2004
- [20] G. J. Barbachyn, Michael Robert, Thomas, Richard Charles, Cleek, "US5990136," 1999
- [21] Y. Garvey, David S., Carrera, George M., Arneric, Stephen P., Shue, Youe-Kong, He, "WO1992021339A1"
- [22] I. E. Leppik, "Zonisamide: Chemistry, Mechanism Of Action, And Pharmacokinetics," *Seizure*, 2004, DOI: 10.1016/J.Seizure.2004.04.016.
- [23] M. Murata, "Novel Therapeutic Effects Of The Anti-Convulsant, Zonisamide, On Parkinsons Disease," *Curr. Pharm. Des.*, 2005, DOI: 10.2174/1381612043453180.
- [24] "Cycloserine Capsules," *Who Drug Inf.*, 2008.
- [25] H. G. Crofts, "Flucloxacillin (Floxapen) In The Treatment Of Skin And Upper Respiratory Tract Infections," *N. Z. Med. J.*, 1978.
- [26] O. S. I. Fayomi, O. A. Bamgboye, B. M. Durodola, W. A. Inam, And A. A. Daniyan, "Adsorption And Corrosion Inhibition Properties Of Floxapen Compound On The Electrochemical Characteristics Of Type-A5-Series Aluminium In Sodium Chloride Solution," *Int. J. Microstruct. Mater. Prop.*, 2017, DOI: 10.1504/Ijmmp.2017.092165.
- [27] M. Nakatani, Y. Yamaji, H. Honda, And Y. Uchida, "Development Of The Novel Pre-Emergence Herbicide Pyroxasulfone," *J. Pestic. Sci.*, 2016, DOI: 10.1584/Jpestics.J16-05.
- [28] M. Lahm, George Philip, Long, Jeffrey Keith, Xu, "USOO841 O153B2," 2008
- [29] M. Lee, Shy-Fuh, Gliedt, "Us7998983b2," 2008
- [30] T. Heckerroth, Anja Regina, Lutz, Jurgen, Mertens Christina, Williams, Heike, Zoller, Harmut, Mita, "US2011/0059988A1," 2011
- [31] C. W. Sheng *Et Al.*, "Insecticidal Spectrum Of Fluralaner To Agricultural And Sanitary Pests," *J. Asia. Pac. Entomol.*, 2017, DOI: 10.1016/J.Aspen.2017.08.021.
- [32] "Efficacy Of Fluralaner In Drinking Water In Controlling Mite And Improving Welfare In Laying Hens," *J. Agric. Dev.*, 2021, DOI: 10.52997/Jad.5.01.2021.
- [33] H. Kohler-Aanesen *Et Al.*, "Efficacy Of Fluralaner (Bravecto™ Chewable Tablets) For The Treatment Of Naturally Acquired Linognathus Setosus Infestations On Dogs," *Parasites And Vectors*, 2017, DOI: 10.1186/S13071-017-2344-9.
- [34] X. Zhou, A. E. Hohman, And W. H. Hsu, "Current Review Of Isoxazoline Ectoparasitocides Used In Veterinary Medicine," *Journal Of Veterinary Pharmacology And Therapeutics*. 2022. DOI: 10.1111/Jvp.12959.
- [35] M. A. Machado *Et Al.*, "Efficacy Of Afoxolaner In The Flea Control In Experimentally Infested Cats," *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 2019, DOI: 10.1590/S1984-29612019064.
- [36] T. Paarlberg, D. Karadzovska, And R. Helbig, "Efficacy Of Lotilaner (Credelio™) Against Experimentally Induced Infestations Of The Adult Cat Flea, Ctenocephalides Felis, And Flea Eggs Following Oral Administration To Cats," *Parasites And Vectors*,

2021, DOI: 10.1186/S13071-021-04660-2.

- [37] R. H. Six *Et Al.*, “Evaluation Of The Speed Of Kill Of Sarolaner (Simparicatm) Against Induced Infestations Of Three Species Of Ticks (*Amblyomma Maculatum*, *Ixodes Scapularis*, *Ixodes Ricinus*) On Dogs,” *Vet. Parasitol.*, 2016, DOI: 10.1016/J.Vetpar.2016.02.014.
- [38] M. Fujinami, Y. Takahashi, Y. Tanetani, M. And Ito, And M. Nasu, “Development Of A Rice Herbicide, Fenoxasulfone,” *J. Pestic. Sci.*, 2019, DOI: 10.1584/Jpestics.J19-04.
- [39] T. H. In, R. K. Hyung, J. J. Dong, S. H. Kyung, H. S. Jong, And Y. C. Kwang, “5-(2,6-Difluorobenzyl)Oxymethyl-5-Methyl-3-(3-Methylthiophen-2-Yl)-1, 2-Isoxazoline As A Useful Rice Herbicide,” *J. Agric. Food Chem.*, 2005, DOI: 10.1021/Jf051284f.
- [40] S. J. Koo *Et Al.*, “Methiozolin[5-(2,6-Difluorobenzyl)Oxymethyl-5-Methyl-3,3(3-Methylthiophen-2-Yl)-1,2-Isoxazoline], A New Annual Bluegrass (*Poa Annua* L.) Herbicide For Turfgrasses,” *Pest Manag. Sci.*, 2014, DOI: 10.1002/Ps.3541.
- [41] S. K. Singh, P. Saha, S. Dey, And S. Nandi, “Novel Class Of Isoxazole-Based Gelators For The Separation Of Bisphenol A From Water And Cleanup Of Oil Spills,” *Acs Omega*, 2020, DOI: 10.1021/Acsomega.0c00004.
- [42] J. A. Passo, G. D. Vilela, P. H. Schneider, O. M. S. Ritter, And A. A. Merlo, “Disubstituted 3,5-Isoxazolines. An Easy Route To Polymer Liquid Crystal Materials,” *Liq. Cryst.*, 2008, DOI: 10.1080/02678290802227250.
- [43] H. Uceta *Et Al.*, “Cycloaddition Of Nitrile Oxides To Graphene: A Theoretical And Experimental Approach,” *Chem. - A Eur. J.*, 2019, DOI: 10.1002/Chem.201903105.
- [44] S. X. L. Luo, R. Y. Liu, S. Lee, And T. M. Swager, “Electrocatalytic Isoxazoline-Nanocarbon Metal Complexes,” *J. Am. Chem. Soc.*, 2021, DOI: 10.1021/Jacs.1c05439.
- [45] M. T. Alhaffar, S. A. Umoren, I. B. Obot, And S. A. Ali, “Isoxazolidine Derivatives As Corrosion Inhibitors For Low Carbon Steel In Hcl Solution: Experimental, Theoretical And Effect Of Ki Studies,” *Rsc Adv.*, 2018, DOI: 10.1039/C7ra11549k.
- [46] V. Saraswat, M. Yadav, And I. B. Obot, “Investigations On Eco-Friendly Corrosion Inhibitors For Mild Steel In Acid Environment: Electrochemical, Dft And Monte Carlo Simulation Approach,” *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, 2020, DOI: 10.1016/J.Colsurfa.2020.124881.
- [47] N. Anusuya, J. Saranya, F. Benhiba, I. Warad, A. Zarrouk, And S. Chitra, “Isoxazoline Derivatives As Inhibitors For Mild Steel Corrosion In 1m H2so4: Computational And Experimental Investigations,” *J. Mater. Eng. Perform.*, 2022, DOI: 10.1007/S11665-022-06761-0.
- [48] D. P. Curran, “Reduction Of A2-Isoxazolines. 3.1 Raney-Nickel Catalyzed Formation Of B-Hydroxy Ketones,” *J. Am. Chem. Soc.*, 1983, DOI: 10.1021/Ja00356a021.
- [49] R. Huisgen And M. Christl, “1,3-Dipolare Cycloadditionen Der Knallsäure,” *Angew. Chemie*, 1967, DOI: 10.1002/Ang.19670791009.
- [50] K. B. G. Torrsell, A. C. Hazell, And R. G. Hazell, “Silyl Nitronates And Nitrile Oxides In Organic Synthesis. A Novel Route To D,L-Deoxysugars. Use Of Aluminum Oxide As Solid Phase Base For Generation Of,” *Tetrahedron*, 1985, DOI: 10.1016/S0040-4020(01)91358-4.
- [51] F. Chen, X. L. Yang, Z. W. Wu, And B. Han, “Synthesis Of Isoxazoline/Cyclic Nitron-Featured Methylenes Using Unsaturated Ketoximes: A Dual Role Of Tempo,”

- J. Org. Chem.*, 2016, DOI: 10.1021/Acs.Joc.6b00180.
- [52] D. B. Jiang, T. Rajale, W. Wever, P. D. S.-J. Tu, And P. D. G. Li, "Multicomponent Reactions For The Synthesis Of Heterocycles," *Chem. - An Asian J.*, Vol. 5, No. 11, Pp. 2318–2353, 2010, DOI: 10.1002/Asia.201000310.
- [53] B. Maleki, M. Chahkandi, R. Tayebaei, S. Kahrobaei, H. Alinezhad, And S. Hemmati, "Synthesis And Characterization Of Nanocrystalline Hydroxyapatite And Its Catalytic Behavior Towards Synthesis Of 3,4-Disubstituted Isoxazole-5(4h)-Ones In Water," *Appl. Organomet. Chem.*, 2019, DOI: 10.1002/Aoc.5118.
- [54] Knight, David, Proctor, Anthony, And J. Clough, "New Regiospecific Catalytic Approaches To 4,5-Dihydroisoxazoles And 2,5-Dihydroisoxazoles From O-Propargylic Hydroxylamines," *Synlett*, Vol. 4, Pp. 628–632, 2010, DOI: 10.1055/S-0029-1219365.
- [55] N. V. Galenko, A. V., Khlebnikov, A. F., Novikov, M. S., Pakalnis, V. V., & Rostovskii, "Recent Advances In Isoxazole Chemistry," *Russ. Chem. Rev.*, Vol. 84, No. 4, Pp. 335–377, 2015.
- [56] M. A. A. Radwan And Abbas Eman M. H., "Synthesis Of Some Pyridine, Thiopyrimidine, And Isoxazoline Derivatives Based On The Pyrrole Moiety," *Monatshefte Für Chemie - Chem. Mon.*, Vol. 140, Pp. 229–233, 2009, DOI: 10.1007/S00706-008-0061-Y.
- [57] R. G. Micetic, "Studies In Isoxazole Chemistry. Iv. Isoxazoles Via Isoxazolines," *Can. J. Chem.*, Vol. 48, Pp. 3753–3755, 1970, DOI: 10.1139/V70-629.
- [58] I. Adachi, M. R., And H. Kano, "Isoxazoles. Xxiii. Synthesis Of N-Substituted 4-Isoxazolines And Their Conversion Into 2-Acylaziridines," *Chem. Pharm. Bull.*, Vol. 22, No. 1, Pp. 70–77, 1974, DOI: 10.1248/Cpb.22.70.
- [59] Helmut Stamm And H. Steudle, "Ein Isoxazolin Durch Dimerisation Eines C-Methylnitrons," *Arch. Der Pharm.*, Vol. 309, No. 12, Pp. 1014–1016, 1976, DOI: 10.1002/Ardp.19763091214.
- [60] H. Wieland, "Zur Kenntnis Der Nitriloxyde," *Berichte Der Dtsch. Chem. Gesellschaft*, 1907, DOI: 10.1002/Cber.19070400263.
- [61] T. Mukaiyama And T. Hoshino, "The Reactions Of Primary Nitroparaffins With Isocyanates," *J. Am. Chem. Soc.*, 1960, DOI: 10.1021/Ja01505a017.
- [62] V. Jaeger And P. A. Colinas, "Nitrile Oxides," *Cheminform*, 2003, DOI: 10.1002/Chin.200311246.
- [63] M. M. Efremova, A. P. Molchanov, A. V. Stepakov, R. R. Kostikov, V. S. Shcherbakova, And A. V. Ivanov, "A Highly Efficient [3+2] Cycloaddition Of Nitrile Oxides And Azomethine Imines To N-Vinylpyrroles," *Tetrahedron*, 2015, DOI: 10.1016/J.Tet.2015.02.058.
- [64] M. Rodriguez, A. Segal, And M. Taddei, "Ionic Liquid As A Suitable Phase For Multistep Parallel Synthesis Of An Array Of Isoxazolines," *Org. Lett.*, 2003, DOI: 10.1021/Ol035399l.
- [65] P. Mayo, T. Hecnar, And W. Tam, "1,3-Dipolar Cycloaddition Of Nitrile Oxides With Unsymmetrically Substituted Norbornenes," *Tetrahedron*, 2001, DOI: 10.1016/S0040-4020(01)00573-7.
- [66] I. V. Mineyeva, "A,B-Unsaturated B-Methyl-Δ-Lactones In Nitrile Oxide

- Cycloaddition Reactions. Synthesis Of Saturated Lactones And Lactams,” *Russ. J. Org. Chem.*, Vol. 58, Pp. 765–779, 2022, DOI: 10.1134/S1070428022060033.
- [67] M. A. Weidner-Wells, S. A. Fraga, And J. P. Demers, “Control Of Regioselectivity In Nitrile Oxide Cycloadditions To Cinnamic Acid Derivatives,” *Tetrahedron Lett.*, 1994, DOI: 10.1016/S0040-4039(00)78249-9.
- [68] A. Ko, Y. Y. C. Y. L., Tonnard, F., Carrié, R., De Sarlo, F., & Brandi, “Cycloaddition D’oxydes De Nitrile A Des Diazaphospholes Et Des Composés Apparentés. Réactivité Comparée Des Doubles Liaisons N • C, P • C Et As • C.,” *Tetrahedron*, Vol. 39, No. 9, Pp. 1507–1514, 1983, DOI: 10.1016/S0040-4020(01)88555-0.
- [69] G. Bianchi, C. De Micheli, R. Gandolfi, P. Grünanger, P. V. Finzi, And O. V. De Pava, “Isoxazoline Derivatives. Part Vi. Regioselectivity In The 1,3-Dipolar Cycloaddition Of Nitrile Oxides To α -Unsaturated Ketones,” *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1973, DOI: 10.1039/P19730001148.
- [70] J. Lasri, S. Mukhopadhyay, And M. A. J. Charmier, “Efficient Regioselective Synthesis Of 4- And 5-Substituted Isoxazoles Under Thermal And Microwave Conditions,” *J. Heterocycl. Chem.*, Vol. 45, Pp. 1385–1389, 2008, DOI: 10.1002/Jhet.5570450521.
- [71] B. . Jayashankar, N. . Lokanath Rai, K. M.; Baskaran, And H. S. Sathish, “Synthesis And Pharmacological Evaluation Of 1,3,4-Oxadiazole Bearing Bis(Heterocycle) Derivatives As Anti-Inflammatory And Analgesic Agents.,” *Eur. J. Med. Chem.*, Vol. 44, Pp. 3989–3902, 2009.
- [72] F. B. Tim Tremmel, “New Approaches To The Synthesis Of Canthin-4-One Alkaloids And Synthetic Analogues,” *Tetrahedron*, Vol. 71, No. 28, Pp. 4640–4646, 2015, DOI: 10.1016/J.Tet.2015.05.002.
- [73] P. Faita, G.; Paio, A.; Quadrelli, P.; Rancati, F.; Seneci, “Solid Supported Chiral Auxiliaries In Asymmetric Synthesis. Part 2: Catalysis Of 1,3-Dipolar Cycloadditions By Mg(Ii) Cation,” *Tetrahedron*, Vol. 57, Pp. 8313–8322, 2001.
- [74] F. B. Bernhard Lohrer, “Novel Access To 2-Substituted Quinolin-4-Ones By Nickel Boride-Mediated Reductive Ring Transformation Of 5-(2-Nitrophenyl)Isoxazoles,” *Tetrahedron Lett.*, Vol. 60, No. 51, 2019, DOI: 10.1016/J.Tetlet.2019.151327.
- [75] E. Buchner, “Einwirkung Von Diazoessigäther Auf Die Aether Ungesättigter Säuren,” *Berichte Der Dtsch. Chem. Gesellschaft*, 1888, DOI: 10.1002/Cber.18880210283.
- [76] E. Beckmann, “Zur Kenntniss Der Aldoxime. Vii,” *Berichte Der Dtsch. Chem. Gesellschaft*, 1890, DOI: 10.1002/Cber.189002302295.
- [77] A. Michael, “Ueber Die Einwirkung Von Diazobenzolimid Auf Acetylendicarbonsäuremethylester,” *J. Für Prakt. Chemie*, 1893, DOI: 10.1002/Prac.18930480114.
- [78] L. I. Smith, “Aliphatic Diazo Compounds, Nitrones, And Structurally Analogous Compounds: Systems Capable Of Undergoing 1,3-Additions,” *Chem. Rev.*, 1938, DOI: 10.1021/Cr60075a001.
- [79] A. Quilico, “Isoxazolines,” 2008. DOI: 10.1002/9780470186787.Ch2.
- [80] C. Grundmann, “Synthesis Of Heterocyclic Compounds With The Aid Of Nitrile Oxides,” *Synth.*, 1970, DOI: 10.1055/S-1970-21611.
- [81] R. Huisgen, “Kinetics And Mechanism Of 1,3-Dipolr Cycloadditions,” *Angew. Chemie*

- Int. Ed. English*, 1963, DOI: 10.1002/Anie.196306331.
- [82] R. Huisgen, "1,3-Dipolar Cycloadditions. Past And Future," *Angew. Chemie Int. Ed. English*, 1963, DOI: 10.1002/Anie.196305651.
- [83] D. Sarkar, N. Bera, And S. Ghosh, "[2+2] Photochemical Cycloaddition In Organic Synthesis," *European Journal Of Organic Chemistry*. 2020. DOI: 10.1002/Ejoc.201901143.
- [84] K. Zawadzińska *Et Al.*, "The Participation Of 3,3,3-Trichloro-1-Nitroprop-1-Ene In The [3 + 2] Cycloaddition Reaction With Selected Nitrile N-Oxides In The Light Of The Experimental And Medt Quantum Chemical Study," *Molecules*, 2021, DOI: 10.3390/Molecules26226774.
- [85] M. Adib, M. Mahdavi, S. Ansari, F. Malihi, L.-G. Zhu, And H. R. Bijanzadeh, "Reaction Between Isocyanides And Nitrostyrenes In Water: A Novel And Efficient Synthesis Of 5-(Alkylamino)-4-Aryl-3-Isoxazolecarboxamides," *Tetrahedron Lett.*, Vol. 50, No. 52, Pp. 7246–7248, 2009, DOI: 10.1016/J.Tetlet.2009.09.069.
- [86] I. Kostiv, O. Marshalok, G. Marshalok, And I. Pyrig, "Effect Of The Reactants Molar Ratio On The Kinetics Of The Reaction To Obtain 2-Hydroxyethyl-1,3,4 Trimethyl-Cyclohex-3-Encarboxylate," *Chem. Chem. Technol.*, 2015, DOI: 10.23939/Chcht09.03.277.
- [87] O. A. Ivanova, E. M. Budynina, Y. K. Grishin, I. V. Trushkov, And P. V. Verteletskii, "Donor–Acceptor Cyclopropanes As Three-Carbon Components In A [4+3] Cycloaddition Reaction With 1,3-Diphenylisobenzofuran," *Angew. Chemie*, Vol. 120, No. 6, Pp. 1123–1126, 2008, DOI: 10.1002/Ange.200704438.
- [88] A. Barański And E. Cholewka, "Solvent Effect On The Cycloaddition Of Benzonitrile N-Oxide With Nitroethene," *React. Kinet. Catal. Lett.*, 1991, DOI: 10.1007/Bf02064687.
- [89] L. R. Domingo, "Molecular Electron Density Theory: A Modern View Of Reactivity In Organic Chemistry," *Molecules*, 2016, DOI: 10.3390/Molecules21101319.
- [90] R. Huisgen, M. Seidel, G. Wallbillich, And H. Knupfer, "Diphenyl-Nitrilimin Und Seine 1.3-Dipolaren Additionen An Alkene Und Alkine," *Tetrahedron*, 1962, DOI: 10.1016/S0040-4020(01)99001-5.
- [91] R. A. Firestone, "On The Mechanism Of 1,3-Dipolar Cycloadditions," *J. Org. Chem.*, 1968, DOI: 10.1021/Jo01270a023.
- [92] Ralph G. Pearson, "Orbital Symmetry Rules And The Mechanism Of Inorganic Reactions," In *New Concepts I. Topics In Current Chemistry Fortschritte Der Chemischen Forschung*, Berlin: Springer, 1973. DOI: 10.1007/3-540-06333-1_19.
- [93] R. Jasiński, "A New Insight On The Molecular Mechanism Of The Reaction Between (Z)-C,N-Diphenylnitrone And 1,2-Bismethylene-3,3,4,4,5,5-Hexamethylcyclopentane," *J. Mol. Graph. Model.*, Vol. 94, P. 107461, 2020, DOI: 10.1016/J.Jmgn.2019.107461.
- [94] R. Huisgen, "On The Mechanism Of 1,3-Dipolar Cycloadditions. A Reply," *J. Org. Chem.*, 1968, DOI: 10.1021/Jo01270a024.
- [95] R. Huisgen, G. Mloston, And E. Langhals, "First Two-Step 1,3-Dipolar Cycloadditions: Nonstereospecificity," *J. Am. Chem. Soc.*, 1986, DOI: 10.1021/Ja00280a053.

- [96] R. Huisgen, G. Mloston, And E. Langhals, "Cheminform Abstract: The First Two-Step 1,3-Dipolar Cycloadditions: Interception Of An Intermediate.," *Cheminform*, 1987, DOI: 10.1002/Chin.198716101.
- [97] T. Böhm, A. Weber, And J. Sauer, "Nonstereospecific 1,3-Dipolar Cycloadditions Of Azomethine Ylides And Enamines," *Tetrahedron*, 1999, DOI: 10.1016/S0040-4020(99)00517-7.
- [98] R. Jasiński, "On The Question Of Zwitterionic Intermediates In The [3+2] Cycloaddition Reactions: A Critical Review," *Organics*, Vol. 1, Pp. 49–69, 2020, DOI: 10.3390/Org1010005.
- [99] P. Beltrame, P. Sartirana, And C. Vintani, "Relative Rates Of The Concurrent Reactions In The Addition Of A Substituted Benzonitrile Oxide To Arylacetylenes," *J. Chem. Soc. B Phys. Org.*, 1971, DOI: 10.1039/J29710000814.
- [100] M. Ríos-Gutiérrez And L. R. Domingo, "Unravelling The Mysteries Of The [3+2] Cycloaddition Reactions," *European Journal Of Organic Chemistry*. 2019. DOI: 10.1002/Ejoc.201800916.
- [101] D. Lr, "State Of The Art Of The Bonding Changes Along The Diels-Alder Reaction Between Butadiene And Ethylene: Refuting The Pericyclic Mechanism," *Org. Chem. Curr. Res.*, 2013, DOI: 10.4172/2161-0401.1000120.
- [102] N. A. Anisimova, E. K. Slobodchikova, A. A. Kuzhaeva, T. V. Rybalova, E. V. Stukan', And V. M. Berestovitskaya, "3,3,3-Tribromo-1-Nitropropene: Synthesis And Structure," *Russ. J. Gen. Chem.*, 2014, DOI: 10.1134/S1070363214050089.
- [103] A. Y. Barkov And V. Y. S. Nikolay S. Zimnitskiy, Vladislav Yu. Korotaev, Igor B. Kutyashev, Vladimir S. Moshkin, "Highly Regio- And Stereoselective 1,3-Dipolar Cycloaddition Of Stabilised Azomethine Ylides To 3,3,3-Trihalogeno-1-Nitropropenes: Synthesis Of Trihalomethylated Spiro[Indoline-3,2'-Pyrrolidin]-2-Ones And Spiro[Indoline-3,3'-Pyrrolizin]-2-Ones," *Tetrahedron*, Vol. 72, No. 43, Pp. 6825–6836, 2016, DOI: 10.1016/J.Tet.2016.09.017 Get Rights And Content.
- [104] W. Pritzkow, "Kinetische Methoden Zur Untersuchung Von Reaktionsmechanismen Von K. Schwetlick; Veb Deutscher Verlag Der Wissenschaften, Berlin 1971. 340 Seiten Mit Zahlreichen Bildern Und Tabellen, Kldr. 54,- M," *Zeitschrift Für Chemie*, 2010, DOI: 10.1002/Zfch.19720120826.
- [105] A. G. M. Barrett, "Heterosubstituted Nitroalkenes In Synthesis," *Chem. Soc. Rev.*, Vol. 20, Pp. 95–127, 1991, DOI: 10.1039/Cs9912000095.
- [106] K. Zawadzińska, G. K. Gaurav, And R. Jasiński, "Preparation Of Conjugated Nitroalkenes: Short Review," *Sci. Radices*, 2022.
- [107] G. K. . J. R. Zawadzińska, K.; Gaurav, "Preparation Of Conjugated Nitroalkenes: Short Review," *Sci. Radices*, Vol. 1, Pp. 69–83, 2022, Doi: DOI: 10.58332/V22i1a05.
- [108] G. B. Bachman, T. J. Logan, K. R. Hill, And N. W. Standish, "Nitration Studies. Xii. Nitrohalogenation Of Negatively Substituted Olefins With Mixtures Of Dinitrogen Tetroxide And Halogens," *J. Org. Chem.*, 1960, DOI: 10.1021/Jo01078a008.
- [109] "Nitroalkenes: Conjugate Nitro Compounds (Perekalin, V. V.; Lipina, E. S.; Berestovitskaya, V. M.; Efremov, D. A.)," *J. Chem. Educ.*, 1995, DOI: 10.1021/Ed072pa93.1.
- [110] B. R. Shelton, R. Howe, And K. C. Liu, "A Particularly Convenient Preparation Of

- Benzohydroximinoyl Chlorides (Nitrile Oxide Precursors),” *J. Org. Chem.*, 1980, DOI: 10.1021/Jo01307a039.
- [111] S. Askari, M. Jafarzadeh, D. B. Christensen, And S. Kegnaes, “A Synergic Activity Of Urea/Butyl Imidazolium Ionic Liquid Supported On UiO-66-Nh₂ Metal–Organic Framework For Synthesis Of Oximes,” *Catal. Letters*, 2020, DOI: 10.1007/S10562-020-03203-1.
- [112] C. F. Da Costa *Et Al.*, “Synthesis And Sar Study Of Simple Aryl Oximes And Nitrofuranyl Derivatives With Potent Activity Against Mycobacterium Tuberculosis,” *Lett. Drug Des. Discov.*, 2018, DOI: 10.2174/1570180816666181227115738.
- [113] S. Ke *Et Al.*, “Oxime Carbamates As Potential Insecticidal Agents: Design, Synthesis And Biological Evaluation,” *Lett. Drug Des. Discov.*, 2015, DOI: 10.2174/1570180812666150429234510.
- [114] Y. Walunj, P. Mhaske, And P. Kulkarni, “Application, Reactivity And Synthesis Of Isoxazole Derivatives,” *Mini. Rev. Org. Chem.*, 2020, DOI: 10.2174/1570193x17999200511131621.
- [115] M. Ríos-Gutiérrez, A. S. Sousa, And L. R. Domingo, “Electrophilicity And Nucleophilicity Scales At Different Dft Computational Levels,” *J. Phys. Org. Chem.*, 2023, DOI: 10.1002/Poc.4503.
- [116] R. G. Parr And R. G. Pearson, “Absolute Hardness: Companion Parameter To Absolute Electronegativity,” *J. Am. Chem. Soc.*, 1983, DOI: 10.1021/Ja00364a005.
- [117] L. R. Domingo, M. Ríos-Gutiérrez, And P. Pérez, “A Molecular Electron Density Theory Study Of The Participation Of Tetrazines In Aza-Diels-Alder Reactions,” *Rsc Adv.*, 2020, DOI: 10.1039/D0ra01548b.
- [118] G. Makov, “Chemical Hardness In Density Functional Theory,” *J. Phys. Chem.*, 1995, DOI: 10.1021/J100023a006.
- [119] M. Ríos-Gutiérrez, R. Jasiński, And L. R. Domingo, “Unveiling The High Reactivity Of Experimental Pseudodiradical Azomethine Ylides Within Molecular Electron Density Theory,” *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2022.
- [120] M. Ríos-Gutiérrez, L. R. Domingo, M. Esseffar, A. Oubella, And Y. A. Itto, “Unveiling The Different Chemical Reactivity Of Diphenyl Nitrilimine And Phenyl Nitrile Oxide In [3+2] Cycloaddition Reactions With (R)-Carvone Through The Molecular Electron Density Theory,” *Molecules*, Vol. 25, P. 1085, 2020, DOI: 10.3390/Molecules25051085.
- [121] M. Ríos-Gutiérrez, L. R. Domingo, And R. Jasiński, “Understanding The Different Reactivity Of (Z)- And (E)-B-Nitrostyrenes In [3+2] Cycloaddition Reactions. An Medt Study,” *Rsc Adv.*, Vol. 11, Pp. 9698–9708, 2021, DOI: 10.1039/D1ra00891a.
- [122] P. D. L. R. Domingo, D. M. Ríos-Gutiérrez, And A. Dr. Nivedita, “A Molecular Electron Density Theory Study Of The Lewis Acid Catalyzed [3+2] Cycloaddition Reactions Of Nitrones With Nucleophilic Ethylenes,” *European J. Org. Chem.*, 2022.
- [123] L. Domingo, P. Pérez, And J. A. Sáez, “Understanding The Local Reactivity In Polar Organic Reactions Through Electrophilic And Nucleophilic Parr Functions,” *Rsc Adv.*, No. 5, Pp. 1486–1494, 2013, DOI: 10.1039/C2ra22886f.
- [124] L. R. Domingo, “A New C–C Bond Formation Model Based On The Quantum Chemical Topology Of Electron Density,” *Rsc Adv.*, Vol. 4, Pp. 32415–32428, 2014,

DOI: 10.1039/C4ra04280h.

- [125] C. Escolano And S. Vázquez, “N-Substituted Nitriles And Other Heteroanalogs Of Nitriles Of The Type Rcz,” In *Comprehensive Organic Functional Group Transformations II*, 2004. DOI: 10.1016/B0-08-044705-8/00175-8.
- [126] A. V. Dubrovskiy And R. C. Larock, “Synthesis Of Benzisoxazoles By The [3 + 2] Cycloaddition Of In Situ Generated Nitrile Oxides And Arynes,” *Org. Lett.*, 2010, DOI: 10.1021/OL902921s.
- [127] D. Chiarino, M. Napoletano, And A. Sala, “Cheminform Abstract: A Convenient Synthesis Of Muscimol By A 1,3-Dipolar Cycloaddition Reaction.,” *Chem. Informationsd.*, 1986, DOI: 10.1002/Chin.198648203.
- [128] R. W. Silverstein And G. C. Bassler, “Spectrometric Identification Of Organic Compounds,” *J. Chem. Educ.*, 1962, DOI: 10.1021/Ed039p546.
- [129] And B. S. Xénophon Krokidis, Stéphane Noury, “Characterization Of Elementary Chemical Processes By Catastrophe Theory,” *J. Phys. Chem. A*, Vol. 101, No. 39, Pp. 7277–7282, 1997, DOI: 10.1021/Jp9711508.
- [130] And B. S. Victor Polo*†, Juan Andres*†, Slawomir Berski†‡, Luis R. Domingo§, “No Title,” *J. Phys. Chem. A*, Vol. 112, No. 31, Pp. 7128–7136, 2008, DOI: 10.1021/Jp801429m.
- [131] L. R. D. Slawomir Berski, Juan Andrés, Bernard Silvi, “The Joint Use Of Catastrophe Theory And Electron Localization Function To Characterize Molecular Mechanisms. A Density Functional Study Of The Diels–Alder Reaction Between Ethylene And 1,3-Butadiene,” *J. Phys. Chem. A*, Vol. 107, No. 31, Pp. 6014–6024, 2003, DOI: 10.1021/Jp030272z.
- [132] R. A. A. Kącka, A. B.; Jasiński, “A Density Functional Theory Mechanistic Study Of Thermal Decomposition Reactions Of Nitroethyl Carboxylates: Undermine Of ‘Pericyclic’ Insight.,” *Heteroat. Chem*, Vol. 27, No. 5, Pp. 279–289, 2016, DOI: 10.1002/Hc.21326.
- [133] A. Kącka-Zych And R. Jasiński, “Mechanistic Aspects Of The Synthesis Of Seven-Membered Internal Nitronates Via Stepwise [4 + 3] Cycloaddition Involving Conjugated Nitroalkenes: Molecular Electron Density Theory Computational Study,” *J. Comput. Chem.*, Vol. 43, No. 18, Pp. 1221–1228, 2022, DOI: 10.1002/Jcc.26885.
- [134] M. Ríos-Gutiérrez, A. Darù, T. Tejero, L. R. Domingo, And P. Merino, “A Molecular Electron Density Theory Study Of The [3 + 2] Cycloaddition Reaction Of Nitrones With Ketenes,” *Org. Biomol. Chem.*, Vol. 15, Pp. 1618–1627, 2017, DOI: 10.1039/C6ob02768g.
- [135] A. Kącka-Zych, “Understanding The Molecular Mechanism Of The Rearrangement Of Internal Nitronic Ester Into Nitronorbornene In Light Of The Medt Study,” *Molecules*, Vol. 24, No. 3, P. 462, 2019, DOI: 10.3390/Molecules24030462.
- [136] S. E. S. Grimme, J. Antony And H. Krieg, “A Consistent And Accurate Ab Initio Parameterization Of Density Functional Dispersion Correction (Dft-D) For The 94 Elements H-Pu,” *J. Chem. Phys.*, Vol. 132, P. 154104, 2010, DOI: 10.1063/1.3382344.
- [137] A. D. Becke, “Density-Functional Thermochemistry. Iii. The Role Of Exact Exchange,” *J. Chem. Phys.*, 1993, DOI: 10.1063/1.464913.
- [138] U. C. Singh And P. A. Kollman, “An Approach To Computing Electrostatic Charges

- For Molecules,” *J. Comput. Chem.*, 1984, DOI: 10.1002/Jcc.540050204.
- [139] O. Trott And A. J. Olson, “Autodock Vina: Improving The Speed And Accuracy Of Docking With A New Scoring Function, Efficient Optimization, And Multithreading,” *J. Comput. Chem.*, 2009, DOI: 10.1002/Jcc.21334.
- [140] A. T. Mcnutt *Et Al.*, “Gnina 1.0: Molecular Docking With Deep Learning,” *J. Cheminform.*, 2021, DOI: 10.1186/S13321-021-00522-2.
- [141] A. . Bano, S.; Alam, M.S.; Javed, K.; Dudeja, M.; Das, A.K.; Dhulap, “Synthesis, Biological Evaluation And Molecular Docking Of Some Substituted Pyrazolines And Isoxazolines As Potential Antimicrobial Agents,” *Eur. J. Med. Chem.*, Vol. 95, Pp. 96–103, 2015, DOI: 10.1016/J.Ejmech.2015.03.031.
- [142] M. Lamkanfi And T. D. Kanneganti, “Caspase-7: A Protease Involved In Apoptosis And Inflammation,” *International Journal Of Biochemistry And Cell Biology*. 2010. DOI: 10.1016/J.Biocel.2009.09.013.
- [143] E. Nuti *Et Al.*, “N-O-Isopropyl Sulfonamido-Based Hydroxamates As Matrix Metalloproteinase Inhibitors: Hit Selection And In Vivo Antiangiogenic Activity,” *J. Med. Chem.*, 2015, DOI: 10.1021/Acs.Jmedchem.5b00367.
- [144] W. L. Smith, Y. Urade, And P. J. Jakobsson, “Enzymes Of The Cyclooxygenase Pathways Of Prostanoid Biosynthesis,” *Chemical Reviews*. 2011. DOI: 10.1021/Cr2002992.
- [145] R. G. Kurumbail *Et Al.*, “Structural Basis For Selective Inhibition Of Cyclooxygenase-2 By Anti-Inflammatory Agents,” *Nature*, 1996, DOI: 10.1038/384644a0.
- [146] A. Oubella *Et Al.*, “Cytotoxic And Apoptotic Effects Of Some (R)-Carvone-Isoxazoline Derivatives On Human Fibrosarcoma And Carcinoma Cells: Experimental Evaluation For Cytotoxicity, Molecular Docking And Molecular Dynamics Studies,” *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 2023, DOI: 10.1080/07391102.2022.2025903.
- [147] M. Hawash *Et Al.*, “Molecular Docking Studies And Biological Evaluation Of Isoxazole-Carboxamide Derivatives As Cox Inhibitors And Antimicrobial Agents,” *3 Biotech*, 2022, DOI: 10.1007/S13205-022-03408-8.
- [148] N. Kerru, L. Gummidi, S. Maddila, K. K. Gangu, And S. B. Jonnalagadda, “A Review On Recent Advances In Nitrogen-Containing Molecules And Their Biological Applications,” *Molecules*. 2020. DOI: 10.3390/Molecules25081909.

V. WYKAZ DOROBKU NAUKOWEGO

5.1. Artykuły w czasopismach naukowych indeksowanych przez JCR

1. M. Kurańska, A. Prociak, S. Michałowski, **K. Zawadzińska**,
„The influence of blowing agents type on foaming process and properties of rigid polyurethane foams”, **Polimery**, 2018, 63, nr 10, s 672-678,
DOI:dx.doi.org/10.14314/polimery.2018.10.2, IF:1.121
2. **K. Zawadzińska**, M. Rios-Gutierrez, K. Kula, P. Woliński, B. Mirosław, T. Krawczyk, R. Jasiński,
„The Participation of 3,3,3-Trichloro-1-Nitroprop-1-Ene in the [3 + 2] Cycloaddition Reaction with Selected Nitrile N-oxides in the Light of the Experimental and MEDT Quantum Chemical Study, **Molecules**, 2021, 26(22):6774,
DOI: 10.3390/molecules26226774 IF: 4.148
3. **K. Zawadzińska**, Z. Gadocha, K. Pabian, A. Wróblewska, E. Wielgus, R. Jasiński,
„The First Examples of [3+2] Cycloadditions with the Participation of (E)-3,3,3-Tribromo-1-Nitroprop-1-ene” **Materials**, 2022, 15(21), 7584,
DOI: 10.3390/ma15217584, IF:3.748
4. K. Kula, A. Łapczuk, M. Sadowski, J. Kras, **K. Zawadzińska**, O.M. Demchuk, G.K.Gaurav, A. Wróblewska, R. Jasiński,
„On the Question of the Formation of Nitro-Functionalized 2,4-Pyrazole Analogs on the Basis of Nitrylimine Molecular Systems and 3,3,3-Trichloro-1-Nitroprop-1-ene” **Molecules**, 2022, 27(23), 8409. DOI: 10.3390/molecules27238409 IF: 4.148

Liczba cytowań: 42 (wg Scopus), 93 (wg GoogleScholar)

Index H: 4 (wg Scopus), 6 (wg GoogleScholar)

ORCID: 0000-0001-8601-278X

5.2. Artykuły w czasopismach naukowych nieindeksowane przez JCR

1. K. Kula, **K. Zawadzińska**
“Local nucleophile-electrophile interactions in [3+2] cycloaddition reactions between benzonitrile N-oxide and selected conjugated nitroalkenes in the light of MEDT computational study”
Current Chemistry Letters, 2020, 10, 9-16. DOI:10.5267/j.ccl.2020.4.003
2. **K. Zawadzińska**, K. Kula
„Application of β -Phosphorylated Nitroethenes in [3+2] Cycloaddition Reactions Involving Benzonitrile N-Oxide in the Light of a DFT Computational Study”

Organics, 2021,2, 26–37. DOI: doi.org/10.3390/org2010003

3. A. Fryźlewicz, A. Olszewska, **K. Zawadzińska**, P. Woliński, K. Kula, A. Kaćka-Zych, A. Łapczuk-Krygier, R. Jasiński,
„*On the Mechanism of the Synthesis of Nitrofunctionalised Δ^2 -Pyrazolines via [3+2] Cycloaddition Reactions between α -EWG-Activated Nitroethenes and Nitrylimine TAC Systems*” **Organics**, 2022, 3(1), 59-76, DOI: 10.3390/org3010004
4. **K. Zawadzińska**, G.K. Gaurav, R. Jasiński,
„*Preparation of conjugated nitroalkenes: short review*”
Scientiae Radices, 1, (1), 69-83 DOI: 10.58332/v22i1a05
5. **K. Zawadzińska**, B. Gostyński,
„*Nitrosubstituted analogs of isoxazolines and isoxazolidines: a surprising estimation of their biological activity via molecular docking*”
Scientiae Radices, 2, (1), 25-46. DOI: 10.58332/scirad2023v2i1a02

5.3. Rozdział w monografii:

1. **K. Zawadzińska**, K. Kula
„*Application of the molecular electron density theory to describe the reactivity of nitrile N-oxides and selectivity of their reactions with selected pi-deficient unsaturated components*”
Promovendi Foundation Publishing, 2021, ISBN: 978-83-961157-8-2

5.4. Konferencje naukowe

Wystąpienia ustne

1. Komunikat w języku angielskim: **K. Zawadzińska** „Participation of acetonitrile N-oxide in 1,3-dipolar cycloaddition leading to five membered heterocyclic systems”, Międzynarodowa konferencja naukowa w Czerniowcach, Czerniowce 2020,
2. Komunikat w języku angielskim: **K. Zawadzińska** „Influence of nitrile group on the reactivity of nitrovinyl molecular system in the light of Molecular Electron Density Theory”, Międzynarodowa konferencja naukowa w Czerniowcach, Czerniowce 2021,
3. Komunikat w języku polskim: **K. Zawadzińska** „N-tlenek acetonitrylu w reakcjach ze sprzężzonymi nitroalkenami.”, III Pomorskie Studenckie Sympozjum Chemiczne, Gdańsk 2021, (online)
4. Komunikat w języku angielskim: **K. Zawadzińska** „Application of the molecular electron density theory to describe the reactivity of nitrile N-oxides and selectivity of their reactions with selected pi- deficient unsaturated components” Ogólnopolska

Konferencja Naukowa "e-Factory of Science" VI edycja, Łódź 2021, (online)

5. Komunikat w języku polskim: **K. Zawadzińska** „Zastosowanie indeksów lokalnej i globalnej elektrofilowości do prognozowania regiochemii [3+2] cykloaddycji liniowych TAC” IV Pomorskie Studenckie Sympozjum Chemiczne, Gdańsk 2022, (online)
6. Komunikat w języku angielskim: **K. Zawadzińska** „Acetonitrile N-oxide versus benzonitrile N-oxide as TAC in [3+2] cycloaddition with conjugated nitroalkenes.” Ogólnopolska Konferencja Naukowa "Trzecia, letnia szkoła naukowa on-line" Promovendi, Łódź 2022, (online)
7. Komunikat w języku polskim: **K. Zawadzińska** „Trichloromethylated analogs of 2-izoxasoline – preparation and mechanism of the formation.” Sympozjum Młodych Naukowców Wydziału Fizyki, Warszawa 2022,
8. Komunikat w języku angielskim: **K. Zawadzińska** „Theoretical aspects of the [3+2] cycloaddition leading to nitrofunctionalized five membered heterocyclic compound and determination „in silico” of their biological activity.” X Łódzkie Sympozjum Doktorantów Chemii, Łódź 2023.

Prezentacje posterowe

1. Poster w języku polskim: M.Kurańska, **K. Zawadzińska**, A.Prociak, XIII Konferencja Naukowo-Techniczna pt. Kierunki Modyfikacji i Zastosowań Tworzyw Polimerowych w Rydzynie, 15-17.05.2017, I miejsce w konkursie na najlepszy poster w sesji plakatowej.
2. Poster w języku polskim: M. Kurańska, **K. Zawadzińska**, A. Prociak, Konferencja Naukowo-Techniczna POLIURETANY 2017 - Materiały Przyjazne dla Człowieka i Środowiska, 8-11.10.2018 Ustroń,
3. Poster w języku angielskim: K.Kula, **K. Zawadzińska**, R. Jasiński, „MEDT analysis of local nucleophile-electrophile interactions in [3+2] cycloaddition reactions between nitrile N-oxides and selected conjugated nitroalkenes”, Konferencja naukowa „XX International Symposium on „Advances in Chemistry of Heteroorganic Compounds” Łódź 2019
4. Poster w języku polskim: **K. Zawadzińska**, K.Kula, „Badanie reakcji [3+2] cykloaddycji pomiędzy N-tlenkiem benzonitrylu, a wybranymi analogami β-nitrostyrenu w świetle badań obliczeniowych MEDT.” , Ogólnopolska konferencja: I Pomorskie Studenckie Sympozjum Chemiczne, Gdańsk 2020,
5. Poster w języku polskim: J. Utnicka, A. Wójtowicz, **K. Zawadzińska**, K. Kula, „Nitryliminy w reakcjach [3+2] cykloaddycji.”, Ogólnopolska konferencja: I Pomorskie Studenckie Sympozjum Chemiczne, Gdańsk 2020,

6. Poster w języku polskim: **K. Zawadzińska**, K. Kula „Nitrofosforylowane alkeny, jako komponenty reakcji [3+2] cykloaddycji” IX Łódzkie Sympozjum Doktorantów Chemii, Łódź 2022,
7. Poster w języku angielskim: **K. Zawadzińska**, Z. Gadocha, K. Pabian, A. Wróblewska, E. Wielgus, R. Jasiński „On the participation of E-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1ene in cycloaddition reactions” XXIII International Symposium Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds, Łódź 2022,
8. Poster w języku angielskim: **K. Zawadzińska**, Z. Gadocha, K. Pabian, A. Wróblewska, E. Wielgus, R. Jasiński „On the participation of E-3,3,3-tribromo-1-nitroprop-1ene in cycloaddition reactions” Ogólnopolskie Sympozjum BioOrg 2022, Poznań

5.5. Pozostałe osiągnięcia

Udział w projektach badawczych:

1. Projekt nr. POWR.03.01.00-00-T117/18 (Projekt Narodowego Centrum Badań i Rozwoju) „Jestem ZA wiedzą” – w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój 2014-2020 współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego, dla osób z Zespołem Aspergera, 2019-2021,

Projekt badawczy w ramach subwencji MEiN na działalność naukową służącą rozwojowi młodych pracowników naukowych i doktorantów Politechniki Krakowskiej

1. Fosforylowane związki heterocykliczne o wysokim potencjale aplikacyjnym.
2. Porównanie wpływu podstawników tribromo- oraz trichloro- w dwuatomowych komponentach, na mechanizm [3+2] cykloaddycji i aktywność biologiczną otrzymanych produktów.

Propagowanie nauki:

1. Małopolska Noc Naukowców 2016 – obsługa techniczna oraz wykonywanie doświadczeń i prezentacji zjawisk, 30 wrzesień 2016,
2. Pokazy chemiczne Koła Naukowego Chemików dla Samorządowego Przedszkola Nr 67 w Krakowie — wykonywanie doświadczeń i prezentacji zjawisk, 2015,
3. Pokazy chemiczne na Pogórzańskie Atrakcje Naukowe Łużna – wykonywanie doświadczeń i prezentacji zjawisk, 2016,
4. Akademicki Związek Sportowy sekcja A siatkówki kobiet, 2016-2018,
5. Reprezentacja Pocztu Sztandarowego Akademickiego Związku Sportowego – Inauguracja Roku Akademickiego 2016/2017,

6. Przygotowanie i przeprowadzenie pokazu chemicznego na Dniach Wydziałów, 2015,
7. Małopolska Noc Naukowców 2019 – obsługa techniczna oraz wykonywanie doświadczeń i prezentacji zjawisk, 27 września 2019,
8. Udział w sesji popularnonaukowej „Bliskie Spotkania z Chemią” w Zespole Szkół Technicznych im. Ignacego Mościckiego w Tarnowie – prezentacja tematu: „Inżynieria i technologia chemiczna, szansą na zrównoważony rozwój.”, 28.02.2023

Nagrody:

1. Wyróżnienie na Uczelnianej Sesji Studenckich Kół Naukowych za pracę pod tytułem: „Zastosowanie odpadów z przemysłu spożywczego do syntezy poliuretanów”, 2016,
2. II miejsce na Uczelnianej Sesji Studenckich Kół Naukowych za pracę pod tytułem: „Wpływ wybranych porofoforów fizycznych na właściwości sztywnych pianek poliuretanowych, 2017,
3. I miejsce w sesji plakatowej XIII Konferencji Naukowo-Technicznej pt. Kierunki Modyfikacji i Zastosowań Tworzyw Polimerowych, 15-17.05.2017 Rydzyna: „Materiały termoizolacyjne przyjazne dla środowiska”
4. Wyróżnienie w plebiscycie pt:
Wybory Najlepszego Dydaktyka za semestr letni roku akademickiego 2021/2022 Wydziału Inżynierii i Technologii Chemicznej Politechniki Krakowskiej dla kierunku Technologia Chemiczna.
5. Nagroda Rektora za 2022 rok w kategorii:
Najmłodszy pierwszy autor publikacji naukowej w czasopiśmie wskazanym w aktualnym wykazie MEiN czasopism naukowych i recenzowanych materiałów konferencyjnych.

Certyfikaty:

1. Certyfikat potwierdzający odbycie szkolenia z zakresu badań palności i emisji dymu sztywnych pianek poliizocyjanurowych. Zasady działania i obsługa kalorymetru stożkowego oraz komory dymotwórczej. Pracownia Bezpieczeństwa Chemicznego Centralnego Instytutu Ochrony Pracy – Państwowego Instytutu Badawczego, (CIOP-BIP Warszawa), 2018,

Programy:

1. „Technologia jako nośnik biznesu” organizowane i prowadzone przez Grupę Azoty SA, 2019,
2. „Ambasador Marki Grupy Azoty S.A. – edycja VI” – Grupa Azoty S.A. 2022/2023

Staże i praktyka zawodowa:

Dolina Nidy Sp. z o.o. Leszcze 15, Pińczów,	Wydział Kontroli Jakości,	Praktyka Zawodowa	07-08.2016
Ruukki Polska Sp. z o. o. Oborniki Wielkopolskie,	Wydział Badań i Rozwoju Płyt Warstwowych,	Praktyka Zawodowa	07-09.2018
Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi	Samodzielna Pracownia Modelowania Komputerowego	Staż Naukowy	04.2022
Biprotech Sp. z o.o. Kraków	Dział Branży Technologicznej	Asystent Projektanta Branży Technologicznej	07-09.2022
Universitat de Valencia	Unidad de Investigacion Quimica Organica Teorica	International Internship	01-02.2023
Scientiae Radices	Scientific Journal	<u>Managing Editor</u>	01.01.2023- obecnie