

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Katedra organické chemie

**Příprava nových derivátů imidazopyridinu s potenciální CNS
aktivitou**

Diplomová práce

Autor:	Bc. Veronika Černínová
Studijní program:	Chemie
Studijní obor:	Bioorganická chemie
Typ studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	Ing. Petr Funk
Konzultant práce:	doc. RNDr. Miroslav Sural, Ph.D.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Souhlasím s tím, aby má práce byla zpřístupněna v knihovně Katedry organické chemie, Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci 11. 05. 2016

.....

Podpis

Poděkování:

Tímto bych chtěla poděkovat všem pracovníkům Katedry organické chemie PřF UP, především Ing. Petru Funkovi a doc. Miroslavu Suralovi, Ph.D. za odborné vedení, obětavou pomoc a cenné připomínky při řešení a zpracování daného úkolu. Také bych tímto chtěla poděkovat svým rodičům a přátelům za jejich podporu.

Tato závěrečná práce vznikla za podpory projektu studentské grantové soutěže na UP s reg. číslem IGA-PrF-2016-020.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Bc. Veronika Černínová
Název práce: Příprava nových derivátů imidazopyridinu
s potenciální CNS aktivitou
Typ práce: Diplomová
Pracoviště: Katedra Organické chemie, Přírodovědecká fakulta
Univerzity Palackého v Olomouci
Školitel: Ing. Petr Funk
Školitel – konzultant: doc. RNDr. Miroslav Soural, Ph.D.
Rok obhajoby práce: 2016

Abstrakt:

Diplomová práce je zaměřena na syntézu nových derivátů 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinů nesoucích v pozici 2 alkylový řetězec, v pozici 7 piperazin a v pozici 9 thiofenol. Cílová struktura byla navržena na základě nových poznatků o účincích [4,5-*b*] a [4,5-*c*] imidazopyridinů na CNS. Příprava cílových sloučenin byla vyvíjena pomocí klasické roztokové syntézy. Teoretická část se zabývá centrální nervovou soustavou, 5-HT receptory a již známými syntézami imidazo[4,5-*b*]pyridinů. V kapitole Výsledky a diskuze jsou probírány výsledky všech experimentů a v kapitole Experimentální část jsou popsány postupy pro přípravu modelových sloučenin a jejich charakterizace.

Klíčová slova: imidazo[4,5-*b*]pyridiny, 1-deazapuriny, vortioxetin, 5-HT receptory

Počet stran: 66

Počet příloh: 5

Jazyk: čeština

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Bc. Veronika Černínová
Title: Synthesis of new imidazopyridine derivatives with potential activity on the central nervous system
Type of thesis: Diploma
Department: Department of Organic Chemistry,
Faculty of Science, Palacký University Olomouc
Advisor: Ing. Petr Funk
Advisor – consultant: doc. RNDr. Miroslav Soural, Ph.D.
The year of presentation: 2016

Abstract:

The aim of Diploma thesis is development of synthesis path leading to new 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridines bearing an alkyl chain in position 2, a secondary amine in position 7 and a thiophenol in position 9. Targeted structure was proposed on the basis of new knowledge about imidazo[4,5-*b*] and [4,5-*c*]pyridines activities on CNS. Preparation of the targeted structures was realized in solution way. Theoretical part is focused on central nervous system, 5-HT receptors and already known synthetic strategies for preparation of imidazo[4,5-*b*]pyridines. Results and discussion chapter describes results of the all experiments, whereas procedures for preparation of the model compounds and their characterization are described in Experimental section.

Keywords: imidazo[4,5-*b*]pyridines, 1-deazapurines, vortioxetine, 5-HT receptors

Number of pages: 66

Number of appendixes: 5

Language: Czech

Seznam použitých zkratek:

- (±) binap - (±)-2,2'-Bis(difenyfosfin)-1,1'-binaftalen
(A-taphos)₂PdCl₂ - Bis(di-*terc*-butyl(4-dimethylaminofenyl)fosfine)) dichlorpaladnatý
5-HT - 5-Hydroxytyrosin
AcOH - Kyselina octová
ACN -Acetonitril
ADHD - Porucha pozornosti s hyperaktivitou
Boc - *t*-Butyloxykarbamoyl
BTTP - *t*-Butylimino-tri(pyrrolidin)fosforan
cAMP – Cyklický adenosinmonofosfát
Cu(OAc)₂ - Octan mědnatý
CuBr·SMe₂ - Komplex bromidu měďného a dimethylsulfidu
CNS - Centrální nervová soustava
DCM - Dichlormethan
DIEA - *N,N*-Diisopropylethylamin
DMF - Dimethylformamid
DME - Dimethoxyethan
KOAc - Octan draselný
NMP - *N*-Methyl-2-pyrrolidon
DMSO - Dimethylsulfoxid
DPEPhos - Bis[(2-difenyfosfin)fenyl]ether
Et₃N - Triethylamin
EtOH - Ethanol
FDA - Food and Drug Administration (úřad pro kontrolu potravin a léčiv, USA)
GDP - Gunoasindifosfát
GIT - Gastrointestinální trakt
GTP - Guanosintrifosfát
LDA - Lithium diisopropylamid
MAO - Monoamino oxidáza
MAP - Mitogen-activated protein
MeMCl - 2-Methoxyethoxymethyl chlorid
MeOH - Methanol
MW - Mikrovlnný reaktor

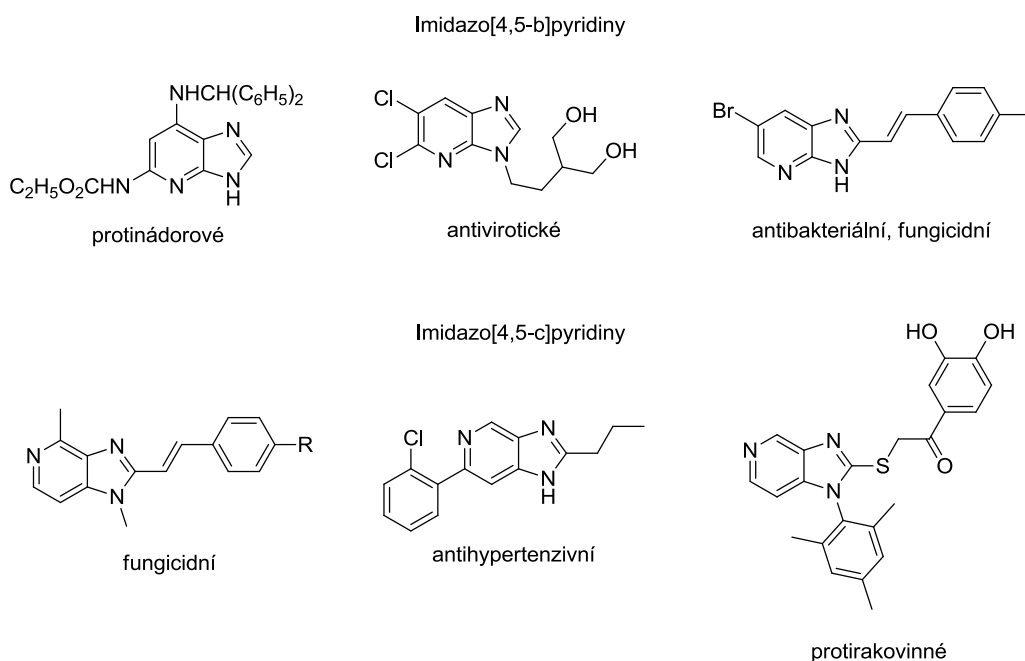
NMR - Nukleární magnetická rezonance
NS – Nervová soustava
Pd(dba)₂ - Bis(dibenzylidenaceton)paládium
Pd(OAc)₂ – Octan paladnatý
Pd₂(dba)₃·CHCl₃- Tris(dibenzylidenaceton)dipaládium - adukt s chloroformem
PDA - Detektor diodového pole
PPA - Polyfosforečná kyselina
RVO - Rotační vakuová odparka
SÚKL – Státní úřad pro kontrolu léčiv
TBAHS – Tetrabutylamonium hydrogensulfát
t-BuOH - *t*-Butanol
TFA –Trifluoroctová kyselina
THF - Tetrahydrofuran

Obsah:

1. ÚVOD A CÍL PRÁCE.....	9
2. TEORETICKÁ ČÁST	11
2.1. Centrální nervová soustava (CNS)	11
2.2. 5-HT receptory	14
2.3. Vortioxetin.....	16
2.4. Tedatioxetin.....	19
2.5. Metody přípravy derivátů imidazo[4,5-b]pyridinů.....	21
3. VÝSLEDKY A DISKUSE	29
3.1. Alternativní reakční cesta	31
3.2. Výsledná reakční cesta	33
3.3. Zvýšení diverzity připravovaných derivátů.....	36
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	40
4.1. Příprava 1-Boc-piperazinu (XVIII)	40
4.2. Příprava 2-amino-4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-brom-3-nitropyridinu (II).....	41
4.3. Příprava 2-amino-3-nitro-4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-(thioaryl)pyridinu (V)	42
4.4. Příprava 2,3-diamino-4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-(thioaryl)pyridinu (VI) ..	43
4.5. Příprava 2-alkyl-7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(thioaryl)-3H-imidazo[4,5-b]- pyridinu (VII).....	46
4.6. Příprava 7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(thioaryl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridinu (VII)	51
4.7. Příprava 7-(piperazin-1-yl)-6-(thioaryl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin hydrochloridu (VIII)	53
4.8. Příprava 2-alkyl-3-methyl-7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(thioaryl)-3H- imidazo[4,5-b]pyridinu (XII).....	60
4.9. Příprava 3-methyl-7-(piperazin-1-yl)-6-(thioaryl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin hydrochloridu (XXII).....	61
5. ZÁVĚR	62
6. ZDROJE	64

1. ÚVOD A CÍL PRÁCE

Imidazopyridiny představují velmi významnou a širokou skupinu dusíkatých heterocyklů. V rámci této skupiny *3H*-imidazo[4,5-*b*]pyridiny (označované též jako 1-deaza-9*H*-puriny) a *1H*-imidazo[4,5-*c*]pyridiny (označované též jako 3-deaza-9*H*-puriny) tvoří přednostní skupinu látek, která byla intenzivně studována pro jejich různorodé a značné farmakologické vlastnosti. U obou skupin totiž byla pozorována široká škála biologický účinků jako např. antivirotické, fungicidní, protinádorové a další (Obrázek č. 1).



Obrázek č. 1.: Příklady biologicky aktivních imidazopyridinů.

Teprve v nedávné době byl u *3H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinů a *1H*-imidazo[4,5-*c*]pyridinů objeven účinek na 5-hydroxytryrosinových receptorech v závislosti na substituci. Ve spolupráci s Farmaceutickou katedrou, Lékařské fakulty na Jagellonské univerzitě v Krakově byla navržena první generace imidazopyridinů ([4,5-*b*] a [4,5-*c*]). Jelikož, předběžné biologické testy přinesly velice zajímavé výsledky, byla navržena nová struktura těchto heterocyklů **3**. Tato struktura kombinuje již navržené 1-deaza-9*H*-puriny **1** s Vortioxetinem (**2**), která je známý pod obchodním názvem Brintellix a od roku 2013 je schválen FDA s SÚKL(em) pro léčbu deprese (Schéma č. 1).

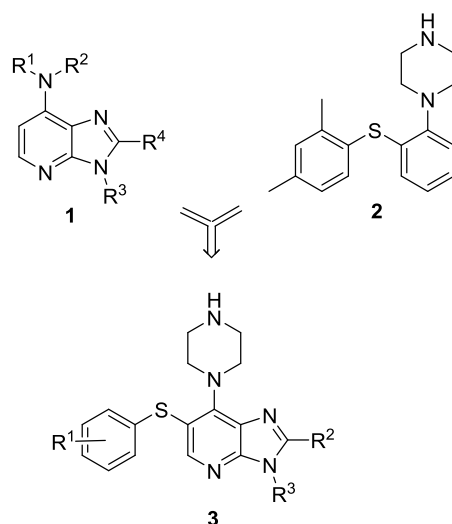
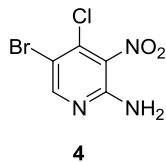


Schéma č. 1: Navržená struktura 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinů.

Cílem této práce byla syntéza vybraných modelových sloučenin s obecným vzorcem **3**, jakožto optimalizace jednotlivých kroků syntézy a plná charakterizace modelových sloučenin. Výchozí látkou pro tuto syntézu byl použit komerčně dostupný 2-amino-5-brom-4-chlor-3-nitropyridin (**4**).

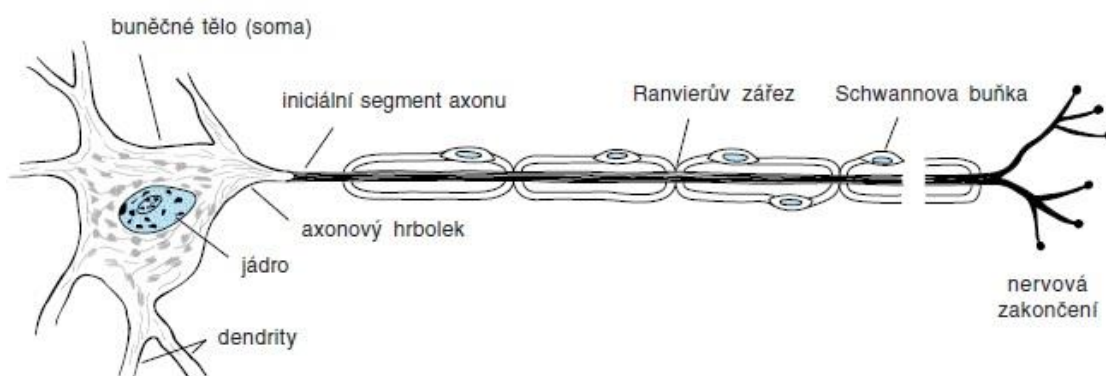


2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Centrální nervová soustava (CNS)

Nervová soustava je hlavním řídicím a jednotícím systémem organismu, jehož funkcí je přijmout, analyzovat a integrovat informace jak z vnitřního, tak vnějšího prostředí organismu a následně na tyto informace o změnách prostředí reagovat. Nervový systém je rozlišován na periferní a centrální. Periferní NS je tvořena nervovými vlákny, neurony v periferních gangliích (nervové uzliny) a nervech.¹

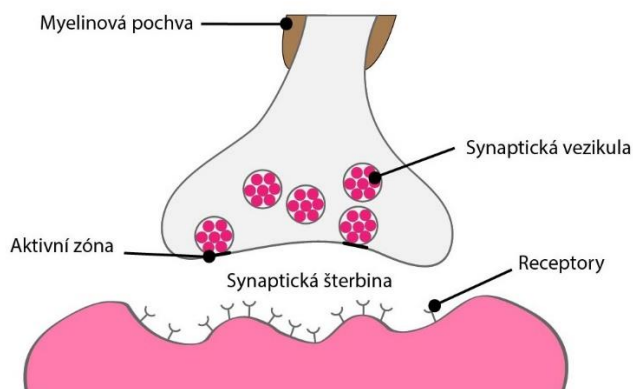
Centrální nervová soustava je tvořena mozkem, který je uložen v dutině lebeční a míchou, která se nachází v páteřním kanále. Základní funkční jednotkou nervové soustavy jsou neurony, což jsou specializované buňky pro příjem, zpracování a vedení signálů. Počet neuronů v CNS je přibližně 100 miliard, dále jsou součástí gliové buňky, kterých je několikanásobně více a mají množství rozmanitých funkcí (např. tvorba myelinu, tvorba těsných spojů na kapilárách, které tvoří hematoencefalickou bariéru, výživa neuronů). Neuron (Obrázek č. 3) je tvořen buněčným tělem, ze kterého vybíhá 5-7 dostředivých dendritů, a dále z něj vystupuje 1 axon, který vede signál od těla neuronu. Dendrity mají na povrchu synaptické kontakty, jejichž množství může být u některých neuronů ještě zvětšeno přítomností dendritických trnů.² Axon se dělí do terminálních větví, které mají na konci synaptické zakončení. Synaptické zakončení obsahuje váčky s přenašeči (neurotransmitery), které jsou neuronem vylučovány. Většina axonů bývá po celé délce, s výjimkou začátku axonu a tenkých větví terminálního větvení, obalena myelinovou pochvou, která se podílí na přenosu signálu. Myelinová pochva je přerušována Ranvierovými zářezy, což jsou pravidelně se opakující zaškrbení, které se významně podílejí na vedení vzruchu.^{1,3}



Obrázek č. 3.: Stavba neuronu.¹

Kontakt mezi jednotlivými neurony, který zajišťuje přenos vzruchu, se nazývá synapse. Synaptické zakončení axonu může být v kontaktu s dendritem, buněčným tělem nebo i s axonem jiného neuronu. Synapse se podle mechanismu přenosu vzruchu dělí na elektrické a chemické, kdy u vyšších obratlovců převažuje přenos vzruchu chemickými synapsí prostřednictvím neurotransmiterů.

Synapse (Obrázek č. 4) jsou tvořeny presynaptickým a postsynaptickým útvarem, které jsou odděleny synaptickou štěrbinou. Presynaptická oblast je na koncích terminálních větvení a obsahuje váčky s neuromediátory. Postsynaptický útvar je lokalizován na dendritech a těle neuronu, na něm jsou dále umístěny receptory pro vazbu neuromediátoru. Mediátor je do synaptické štěrbiny uvolněn působením akčního potenciálu, který vyvolává depolarizaci presynaptického zakončení. Mediátor pomocí difuze překonává synaptickou štěrbinu a váže se na specifické receptory na membráně postsynaptického útvaru, čímž se vyvolá změna permeability iontových kanálů.[3, 4]



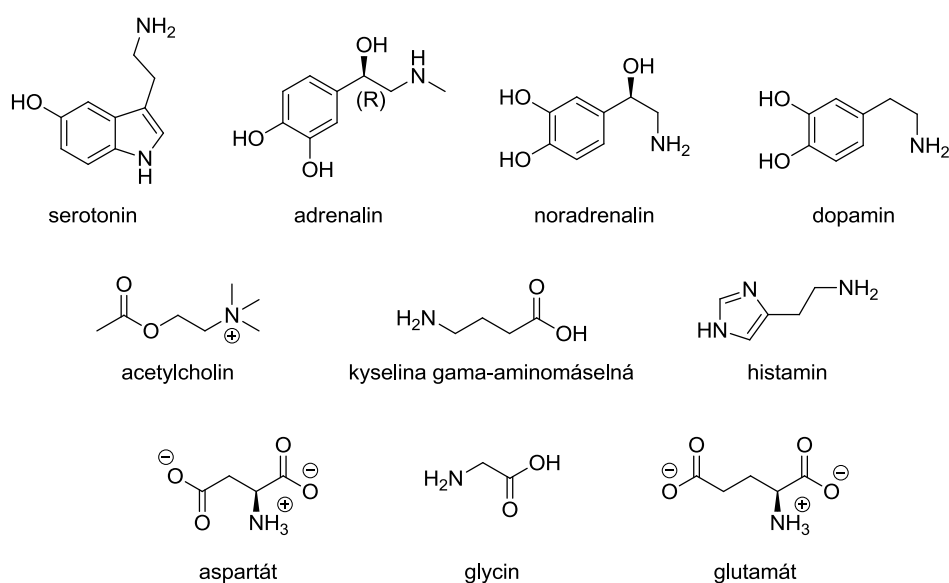
Obrázek č. 4.: Synapse⁴

Receptory jsou proteinové makromolekuly, nesoucí specifické vazebné místo pro určitý neurotransmitter, hormon, signální molekulu, či exogenní deriváty těchto látek. Po navázání dochází ke změně konformace a spouští se řada dějů vedoucích k biochemickým a fyziologickým změnám. Podle způsobu předávání informace receptorem se dělí na receptory – spřažené s enzymy, spřažené s G-proteiny a spřažené s iontovými kanály. Do skupiny receptorů spřažených s enzymy patří receptory pro inzulin a růstové faktory, jehož obsazením dojde k aktivaci tyrozin kinázy. Receptory spřažené s iontovým kanálem umožňují propouštění kationtů nebo aniontů. Do této skupiny se řadí nikotinový cholinergní receptor, nikotinový receptor, GABA_A receptor, glutamátový receptor a serotoninový receptor (subtyp 5-HT₃). Skupina receptorů

spřažených s G-proteinem zahrnuje až 70 % mediátorů a patří do ní receptory pro dopamin, adrenalin a noradrenalin, muskarinové receptory, opioidní receptory, histaminové a další.^{5,6}

G-protein je peptidová sekvence o délce asi 500 aminokyselin, složená ze tří podjednotek (α , β , γ), která váže guanosintrifosfát (GTP). V inaktivním stavu je G-protein asociován s receptorem a na α podjednotce je navázáno GDP. Při aktivaci dochází ke změně konformace receptoru a vzniku heterodimeru z podjednotek β a γ a monomeru α , který uvolňuje GDP a váže GTP. Oba produkty poté mohou interagovat s enzymy nesoucími vhodná vazebná místa, a tím ovlivnit řadu jevů jako je aktivace enzymů, či změna genové exprese.⁴

Neuromediátory jsou látky, jejichž působením na receptory dochází k převodu nervové aktivity humorální cestou. Za neuromediátory jsou považovány látky, které syntetizuje neuron, jsou uchovávány v presynaptickém zakončení a jejich vyplavením v dostatečném množství lze vyvolat změny v postsynaptickém neuronu. Rovněž mají tyto látky vyvinutý specifický mechanismus pro jejich inhibici, a pokud jsou podány exogenně, vyvolávají stejný účinek jako při uvolnění endogenním.^{5,6} Vazba neuromediátoru na receptor je časově omezená, a to od několika milisekund až po minuty. Účinek vazby neuromediátoru na receptor může být krátkodobý, několik vteřin či minut, ale může přetrvávat až dny či týdny. Příklady neuromediátorů CNS jsou acetylcholin, katecholaminy (dopamin, adrenalin a noradrenalin), kyselina γ -aminomáselná, histamin, glycin, glutamát, aspartát a serotonin (5-hydroxytryptamin, 5-HT) (Obrázek č. 5).⁴



Obrázek č. 5.: Struktury neuromediátorů.

Serotonin je syntetizován z tryptofanu a v největší koncentraci se vyskytuje mimo CNS (v gastrointestinálním traktu a krevních destičkách). Serotonin, který byl syntetizován v periférii, nemůže být využíván centrální nervovou soustavou, protože nepřechází přes hematoencefalickou bariéru. V menším množství se vyskytuje v mozku a sítnici. Po uvolnění ze serotogenních neuronů do synapse je zpětně aktivně vychytáván a inaktivován enzymem monoaminoxidázou (MAO). Serotoninový systém ovlivňuje řadu funkcí jako je spánek, útlum, úzkost, deprese a další.²

2.2. 5-HT receptory

Serotonin se uplatňuje jako neurotransmitter jak v CNS, tak i v periferním nervovém systému a mimo to zastává lokálně v některých tkáních funkci hormonu. Jeho široká škála působení rovněž předznamenává jeho roli ve vzniku mnoha onemocnění jako je deprese, úzkost, schizofrenie, obsedantně kompulzivní choroba a mnoho dalších. Tyto aktivity jej předurčují k podrobnému zkoumání jeho působení a vývoji mnoha účinných látek (antidepresiva, antipsychotika, antiemetika).⁷⁻⁹

Do dnes je známo 7 rodin 5-HT receptorů, které celkově obsahují 14 podtypů, které jsou kódovány 18 geny.⁷ Všechny tyto receptory, vyjma 5-HT₃ receptorů, patří do super rodiny receptorů spřažené s G-proteiny. 5-HT₃ receptory jsou spřaženy s iontovým kanálem. Přístupy molekulární genetiky dnes umožňují studovat různé podtypy 5-HT receptorů skrze transgenní linie myši s upravenou expresí genů kódujících tyto receptory.¹⁰

2.2.1. 5-HT₁ třída

Tato třída receptorů je široce distribuována v CNS a je tvořena 5 podtypy receptorů, a to 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E} a 5-HT_{1F}. Ve většině případů jsou spřaženy s G_i/G_o proteiny a inhibují enzym adenylátcyklázu, čímž snižují hladinu cAMP. Působením na tyto receptory může být modulována agresivita, úzkost, chuť k jídlu, sexualita, učení, vasokonstrikce a další.^{8,9}

2.2.2. 5-HT₂ třída

V této třídě jsou zastoupeny 3 subtypy receptorů a to 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} a 5-HT_{2C}, které jsou spřaženy s G_{q11} proteinem.[8, 9] Tento G protein aktivuje fosfolipázu C, A2 a zvyšuje koncentraci intracelulárních iontů Ca²⁺.¹¹ 5-HT_{2A,C} jsou rozšířeny v CNS,

kde hrají roli v regulaci neurotransmisních systémů. Tyto 2 podtypy mají vliv na úzkost, spanek, náladu a další aspekty chování. 5-HT_{2B} receptory mají v CNS omezenou expresi a hrají důležitou roli v embryogenezi a v periferním nervovém systému.¹²

2.2.3. 5-HT₃ třída

5-HT₃ receptory jsou jako jediné z 5-HT receptorů spřažené s iontovým kanálem. Existuje 5 podjednotek (A-E) těchto receptorů, kdy pro funkci je nutná alespoň jedna A podjednotka. Iontový kanál je selektivní pro kationty, a to především pro Ca²⁺, K⁺ a Na⁺. Tyto receptory jsou exprimovány jak v periferní nervové soustavě, tak v centrální, avšak v menším množství, než je tomu u ostatních tříd 5-HT receptorů. Jsou lokalizovány v oblastech, které ovlivňují náladu a dále ovlivňují regulaci neurotransmiterů (dopamin, GABA), které ovlivňují patofyziologii deprese. V klinické praxi jsou využívány antagonisté této třídy receptorů pro potlačení zvracení vyvolaného chemoterapií.¹³⁻¹⁵

2.2.4. 5-HT₄ třída

Tyto receptory jsou exprimovány jak v mozku, tak i ve vnitřních orgánech a v srdeční tkáni. Bylo identifikováno 7 typů 5-HT₄ receptorů, které jsou spřaženy s G_s proteinem, skrze který ovlivňují adenylátcyklázu. Tyto receptory v CNS upravují uvolňování neurotransmiterů a zlepšují synaptický přenos, čímž mohou příznivě ovlivnit zlepšení paměti a schopnost učení.⁷⁻⁹

2.2.5. 5-HT₅ třída

V této třídě jsou 2 subtypy receptorů 5-HT_A a 5-HT_B, kdy pouze 5-HT_A je exprimován v lidském mozku. Tato třída je nejméně probádána. Na základě lokalizace receptorů se spekuluje o účasti na motorické kontrole, depresi, učení a adaptivním chování.⁹

2.2.6. 5-HT₆ třída

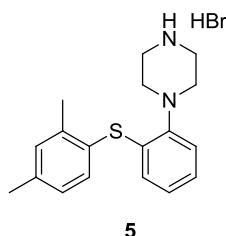
5-HT₆ třída je exprimována selektivně v CNS a dosud byly popsány 2 subtypy těchto receptorů. Jsou spřaženy s G_s proteinem, který aktivuje adenylátcyklázu. Přesný význam těchto receptorů není doposud znám.⁷⁻⁹

2.2.7. 5-HT₇ třída

Tato třída receptorů je hojně exprimována v mozku, cévách a GIT. Zvyšuje aktivitu adenylátcyklázy skrze G_s protein. Bylo popsáno 5 isoforem, které se liší v C-terminálním konci. Tyto receptory rovněž aktivují MAP kinázu. Vysokou afinitu k 5-HT₇ receptorům mají některá atypická antidepresiva a antipsychotika.⁷⁻⁹

2.3. Vortioxetin

Vortioxetin (Obrázek č. 2), se systematickým názvem 1-[2-(2,4-dimethyl-fenylsulfanyl)-fenyl]-piperazin, je nové léčivo schválené FDA a SÚKL v roce 2013 k léčbě deprese.^{16,17} Na trh bylo uvedeno firmami Lundbeck a Takeda.



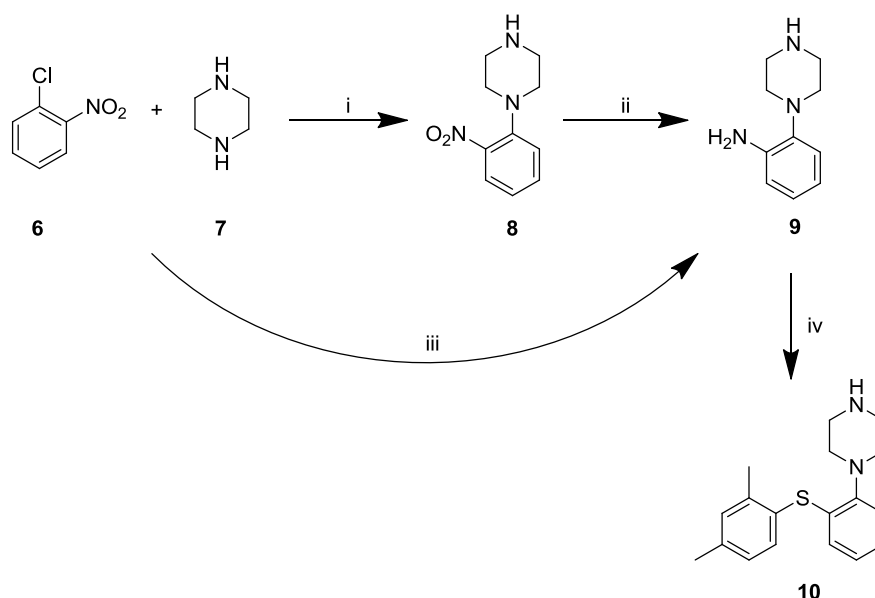
Obrázek č. 2.: Struktura Vortioxetinu

Vortioxetin, s obchodním názvem Brintellix, se vyznačuje nejen antidepresivním účinkem, ale rovněž i anxiolytickým účinkem. Mechanismus působení není ještě zcela prokázán, ale předpokládá se, že přímo moduluje aktivitu serotoninového receptoru a inhibuje přenašeče serotoninu. Studie na zvířatech ukázaly, že vortioxetin je agonista 5-HT_{1A} receptorů, částečný agonista 5-HT_{1B} receptorů a antagonist 5-HT_{1D}, 5-HT₃ a 5-HT₇ receptorů.¹⁸ Preklinické testy ukázaly, že antagonismus 5-HT₃, 5-HT₇ a 5-HT_{1A} receptorů je příčinou zlepšení kognitivních funkcí jako je např. učení a paměť. V porovnání s ostatními antidepresivy se vyznačuje lepším bezpečnostním profilem, nižším rizikem nárůstu váhy a sexuálních dysfunkcí. Nicméně oproti dalším antidepresivům je zde zvýšený výskyt nevolnosti.¹⁹

V odborné literatuře, především v patentech, je popsáno několik způsobů přípravy vortioxetinu. V první uvedené přípravě posloužil jako výchozí látka 2-chlornitrobenzen (6), který se substituuje piperazinem (7) za vzniku 1-(2-nitrofenyl)-piperazinu (8). V následujícím kroku se nitroskupina redukuje na aminoskupinu, která se v prostředí kyseliny octové diazotuje. Diazoniová sůl se „*in situ*“ za katalýzy Cu²⁺ solí substituuje 2,4-dimethylthiofenolem za vzniku požadovaného produktu 10 ve formě

volné báze. Krok substituce a redukce lze provést tzv. „one-pot“, bez izolace meziprojektu **8**, jak je zobrazeno ve **Schématu 1**.²⁰

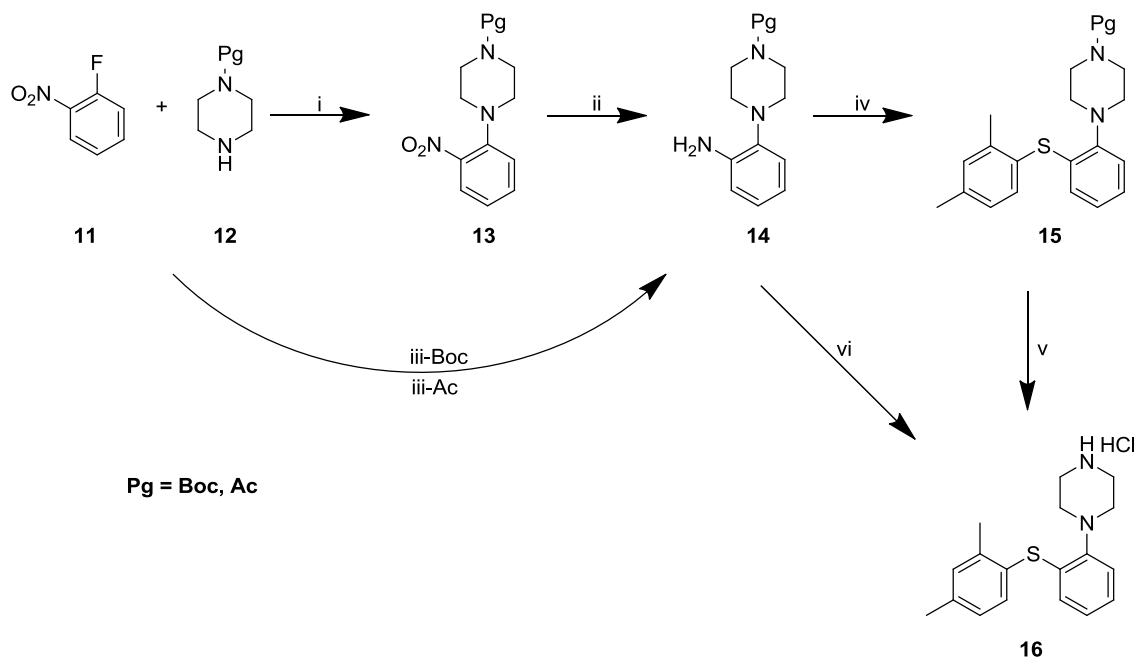
Schéma 1 – Reagenty a podmínky: (i) EtOH, H₂O, 70 °C; (ii) Pd/C, H₂, MeOH; (iii) a) EtOH, H₂O, 70 °C, b) dioxid thiomocoviny, K₂CO₃, 60 °C; (iv) AcOH, NaNO₂, Cu²⁺, 2,4-dimethylthiofenol, 80 °C.



Druhý popsaný postup syntézy je praktický totožný s prvním. Jako výchozí látka zde byl použit 2-fluornitrobenzen (**11**), který se substituoval chráněným piperazinem **12**. Tato záměna přináší hned dvě výhody. Nahrazením chloru za fluor ve výchozí látce **6** způsobuje vyšší reaktivitu, a pro substituci stačí mírnější podmínky v podobě nižší teploty. Další a to významnější změnu přináší chráněný piperazin **12**. Výhoda této změny spočívá v možnosti použití ekvivalentního množství piperazinu **12** na substituci, kdy při míchání reaktantů nezáleží na pořadí. V tomto případě je totiž zcela zamezena disubstituce poskytující 1,4-bis(2-nitrofenyl)piperazinu. Nevýhoda tohoto postupu spočívá v navýšení o jeden reakční krok, konkrétně o odchránění protektivní skupiny. Použije-li se pro diazotaci prostředí kyseliny chlorovodíkové na místo kyseliny octové, dojde k deprotekcí zároveň s tvorbou diazoniové soli (Schéma 2).²⁰

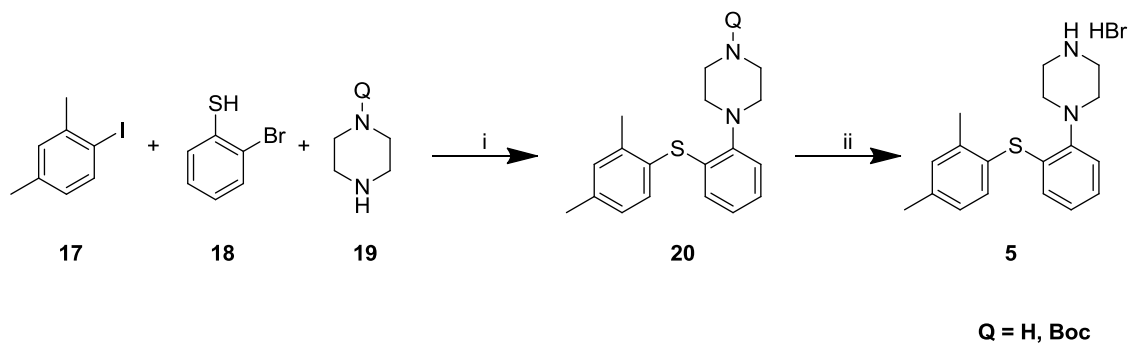
Schéma 2 – Reagenty a podmínky: (i) K₂CO₃, DMF, 50 °C; (ii) Pd/C, H₂, MeOH; (iii-Boc) a) EtOH, H₂O, 70 °C, b) dioxid thiomocoviny, K₂CO₃, 60 °C; (iii-Ac) a) K₂CO₃, DMF, 70 °C, b) Na₂S₂O₄, 60 °C; (iv) AcOH, NaNO₂, Cu²⁺, 0 °C,

2,4-dimethylthiofenol, 80 °C; (v) HCl/EtOH; (vi) HCl, NaNO₂, Cu²⁺, 0 °C, 2,4-dimethylbenzenthioi, 80 °C.



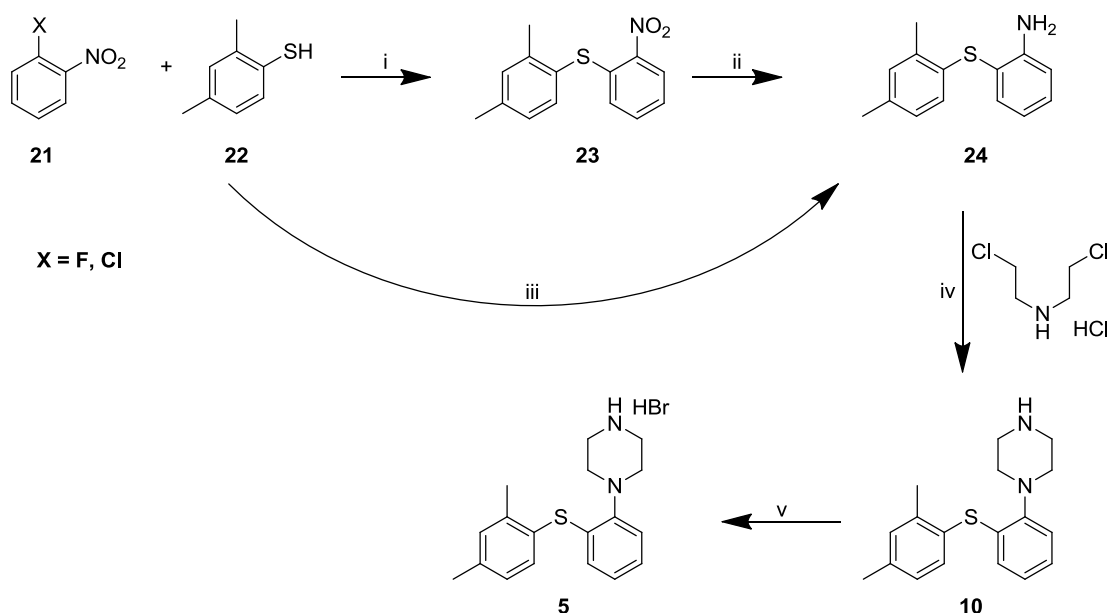
V následující syntéze se využívá multikomponentové kaplingové reakce katalyzované paládiem. Z výchozího 1-jod-2,4-dimethylbenzenu (**17**), 2-bromthiofenolu (**18**) a piperazinu **19** se v jednom reakčním stupni poskládá molekula Vortioxetinu (**20**). Působením kyseliny bromovodíkové je produkt získán ve formě soli **5**. Při použití chráněného piperazinu **19**, dochází v tomto kroku současně i k deprotekcí. (Schéma 3).²¹

Schéma 3 – Reagenty a podmínky: (i) Pd(dba)₂/ Pd(OAc)₂ (II), (±) binap, *t*-BuONa, toluen, 100 °C, N₂ atmosféra.; (ii) HBr, 60-25 °C



Poslední popsaná příprava Vortioxetinu vychází opět z 2-halogennitrobenzenu **21**, který je tentokrát substituován 2,4-dimethylthiofenolem (**22**). Vzniklý nitroderivát **23** se v následujícím kroku redukuje železem v prostředí kyseliny octové na příslušný aminoderivát **24**, který dále reaguje s bis(2-chlorethyl)aminem a poskytuje piperazinový cyklus **10**. Reakcí s kyselinou bromovodíkovou vzniká sůl hydrobromidu (**5**) (Schéma 4).²²

Schéma 4 – Reagenty a podmínky: (i) K_2CO_3 , DMF nebo MeOH, 25 °C; (ii) AcOH, Fe, 30 °C; (iii) a) K_2CO_3 , DMF nebo MeOH, b) dioxid thiomocoviny, 60 °C; (iv) 2-(2-metoxyetoxy)ethanol, 130 °C, 2-methyltetrahydrofuran, NaOH, 25 °C; (v) isopropylacetát, 48 % HBr, 25 °C

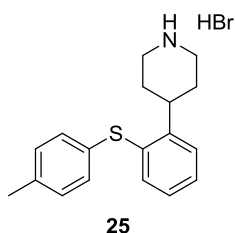


2.4. Tedatioxetin

Provedeme-li hlubší studiu ohledně Vortioxetinu (**5**) (Obrázek č. 2) určitě si povšimneme strukturně velice podobné látky s analogickým názvem.

Tedatioxetin (Obrázek č. 6), jehož systematický název je 4-[2-(4-methylfenylsulfanyl)fenyl]piperidin, je rovněž látka vyvíjena k léčbě poruchy pozornosti s hyperaktivitou (ADHD), deprese a jejích symptomů. Tato látka je inhibítozem zpětného vychytávání serotoninu a noradrenalinu, antagonistou serotoninových receptorů podtříd 5-HT_{2C} a 5-HT₃.²³ Tedatioxetin prošel 2. fází klinického testování,

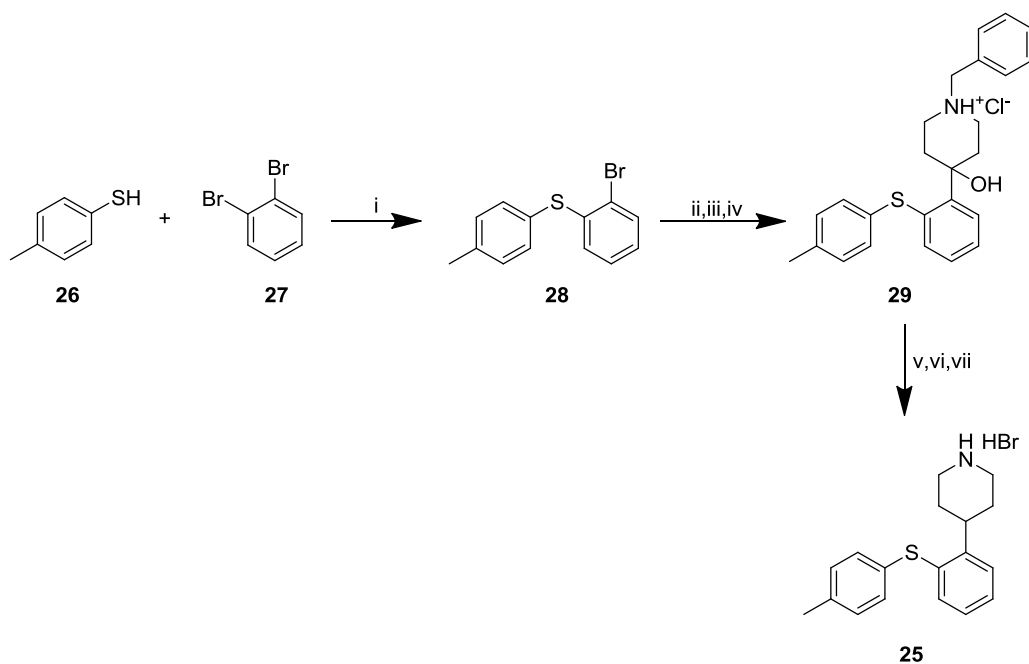
nicméně vzhledem k velikému úspěchu Vortiotexinu (**5**), jakožto produktu téže firmy, bylo od dalšího testování upuštěno.



Obrázek č. 6.: Struktura Tedatioxetinu

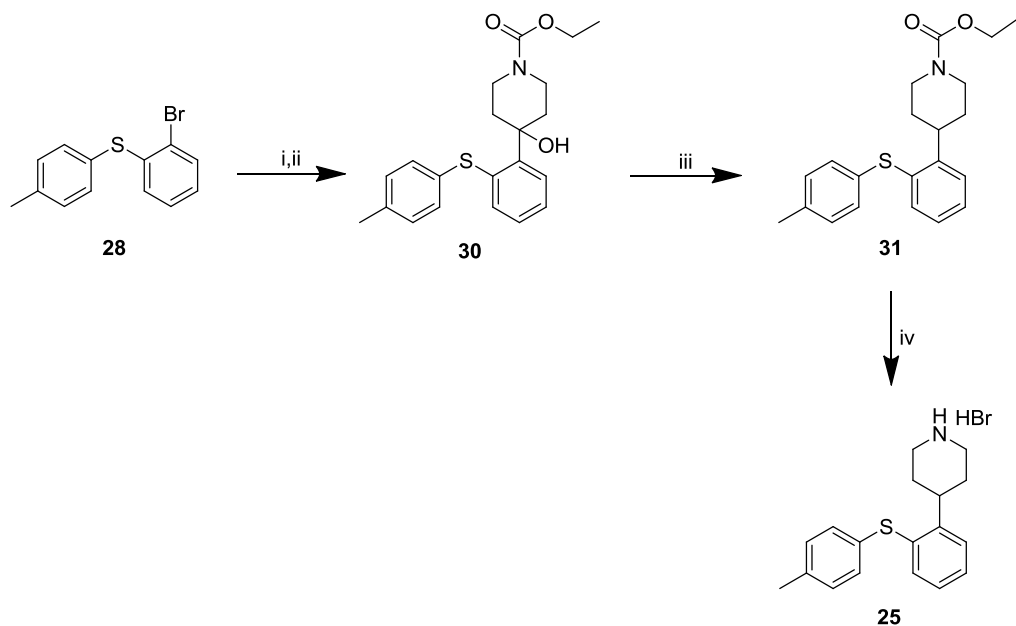
Tedatioxetin lze připravit reakcí *p*-methylthiofenolu (**26**) s 1,2-dibrombenzenem (**27**). V následujícím kroku se provede lithiace. Vzniklá aryllithná sůl se „*in situ*“ aduje na 1-benzylpiperidin-4-on. V posledním kroku přípravy vznikne působením ethylchloroformiátu na meziprodukt **29** v bazické prostředí karbonát, který se redukuje triethylsilyhydridem za vzniku produktu **25** (Schéma 5).²⁴

Schéma 5 – reagenty a podmínky: (i) *t*-BuOK, NMP, 100 °C; (ii) *n*-BuLi, heptan, THF suchý, N₂ atmosféra, 0 až -15 °C; (iii) NMP, THF suchý, -15 °C; (iv) plynný HCl; (v) Na₂CO₃, ClCOOEt, aceton; (vi) Et₃SiH, TFA, toluen, -15 °C; (vii) HBr v AcOH, 80 °C.



Další možnost přípravy kopíruje předešlý postup. Jedinou a podstatnou změnu je použití jiné chránicí skupiny na použitém piperidin-4-on, jak je patrné ze struktury meziprojektu **30** (Schéma 6).²⁴

Schéma 6 – reagenty a podmínky: (i) *n*-BuLi, heptan, N₂ atmosféra, 25 °C; (ii) 1-ethoxycarbonyl-piperidin-4on, THF, -40°C; (iii) Et₃NSiH, TFA, 60 °C; (iv) HBr, AcOH, 80 °C

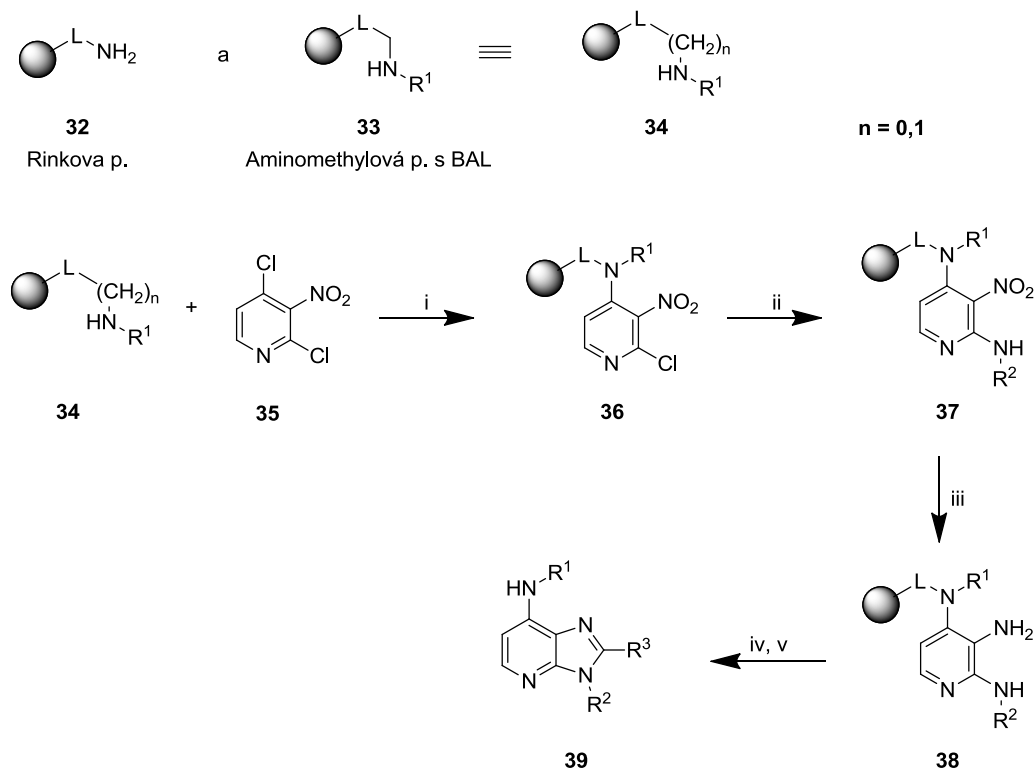


2.5. Metody přípravy derivátů imidazo[4,5-b]pyridinů

Jak už bylo uvedeno v úvodu, 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridiny, nebo též 1-deaza-9*H*-puriny, jsou zejména kvůli svým rozsáhlým biologickým účinkům velice hojně připravovanými heterocykly. Příprava těchto látek je v odborné literatuře popsána především v roztoku. Na katedře Organické chemie, Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci byla pro syntézu 1-deazapurinů vypracována metodika na pevné fázi. Metoda přípravy s použitím pevné fáze byla popsána pro Rinkovu amidovou pryskyřici s kysele labilním linkerem a aminomethylovou pryskyřici s BAL linkerem, který je rovněž kysele labilní. Aminomethylová pryskyřice je používána pro zvýšení diverzity finálních produktů ve smyslu vzniku sekundárních aminů v poloze *C7*. Rinková/aminomethylová pryskyřice (**23**) je nejprve arylována 2,4-dichlor-3-nitropyridinem (**24**) a následně se chlor v pozici 2 substituuje primárním aminem. Po

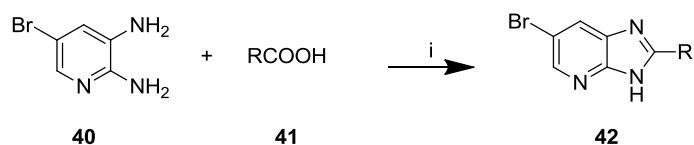
redukci nitroskupiny, vzniklý diaminopyridin **27** je cyklizován pomocí aldehydů za vzniku imidazopyridinového skeletu, který je následně pomocí TFA uvolněn z pryskyřice za vzniku produktu **28** (Schéma 7).²⁵

Schéma 7 – Reagenty a podmínky: (i) DIEA, DMSO, 25 °C; (ii) primární amin, DMSO, 25 °C pro Rinkovu p., 80 °C pro aminomethylovou p.; (iii) Na₂S₂O₄, K₂CO₃, TBHAS, DCM/H₂O, 25 °C; (iv) aldehyd, DMSO, 80 °C; (v) 50% TFA v DCM, 25 °C.



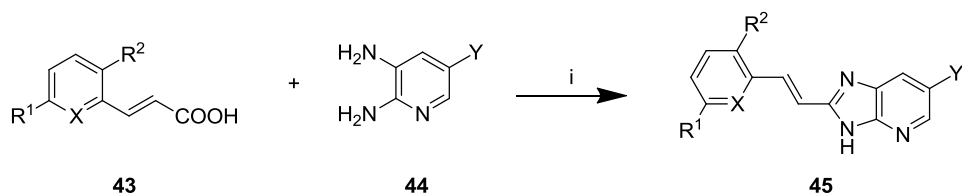
Jedou z nejběžnějších metod přípravy 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinů je cyklizace diaminopyridinu **40** s karboxylovými kyselinami **41** katalyzované oxidem fosforečným a methansulfonovou kyselinou. Touto cestou byly připraveny deriváty substituované v poloze 2 arylem v závislosti na použité karboxylové kyselině (Schéma 8). Takto substituované imidazopyridiny vykazují biologickou aktivitu na gram pozitivních i negativních bakteriích a také antifungicidní účinky.²⁶

Schéma 8 – Reagenty a podmínky: (i) P₂O₅, CH₃SO₃H, toluen, 100 °C.



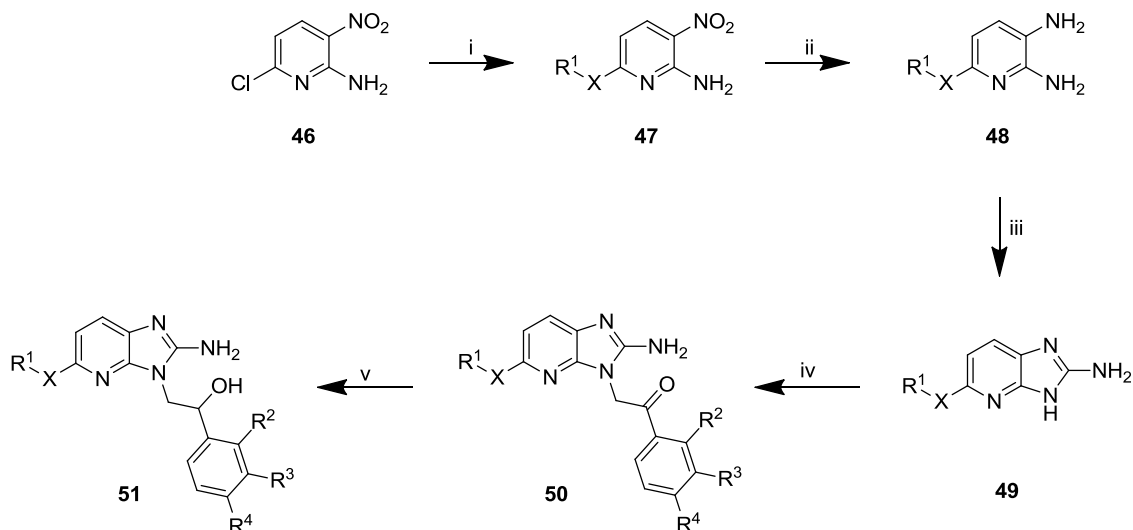
Uzavírání imizadolového cyklu pomocí karboxylový kyselin **43**, v prostředí kyseliny polyfosforečné, využil i pan Hranjec, který tak připravil E-2-styryl substituované imidazo[4,5-b]pyridiny **45** (Schéma 9).²⁷

Schéma 9 - Reagenty a podmínky: (i) PPA, 180 °C.



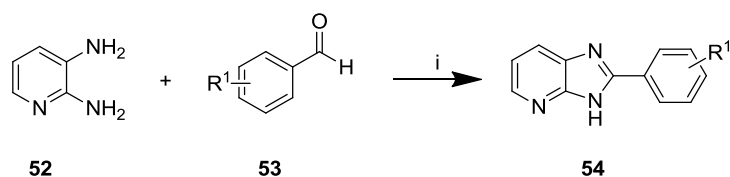
Zajímavou alternativou uzavírání imidazopyridinového cyklu z diaminu s použitím bromkyanu popsal výzkumný tým z Lékařské fakulty na indické univerzitě v Astrazenece. V tomto popsaném postupu vycházeli z 6-chlor-3-nitropyridin-2-aminu (**46**), kde nejprve substituovali chlor za alkohol či amin. Následně byla nitroskupina redukována za vzniku diaminu **48**, který poté reagoval s již zmíněným bromkyanem. Vzniklý intermediát **49** byl dále alkylován na dusíku a redukován tetrahydridboritanem sodným za vzniku alkoholu **51** (Schéma 10). Tyto deriváty jsou potencionální antimalarika.²⁸

Schéma 10 – Reagenty a podmínky: (i) R-XH (X = O, NH), NaH, THF, 25 °C; (ii) Pd/C, H₂, 25 °C; (iii) CNBr, MeOH/H₂O, 90 °C; (iv) 2-bromacetofenon, K₂CO₃, DMF, 25 °C; (v) NaBH₄, MeOH, 25 °C.



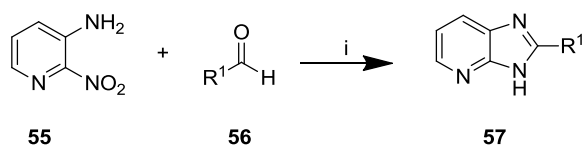
Asi nejběžnější způsob vybudování imidazolového skeletu spočívá v reakci mezi diaminem a aldehydem. Pan Kale a kol. v roce 2009 publikovali novou ekologickou cestu, kdy připravili sérii 2-substituovaných imidazo[4,5-b]pyridinů **54** ve vodě bez použití dalších katalyzátorů či oxidačních činidel (Schéma 11).²⁹

Schéma 11 - Reagenty a podmínky: (i) H₂O, 100 °C.



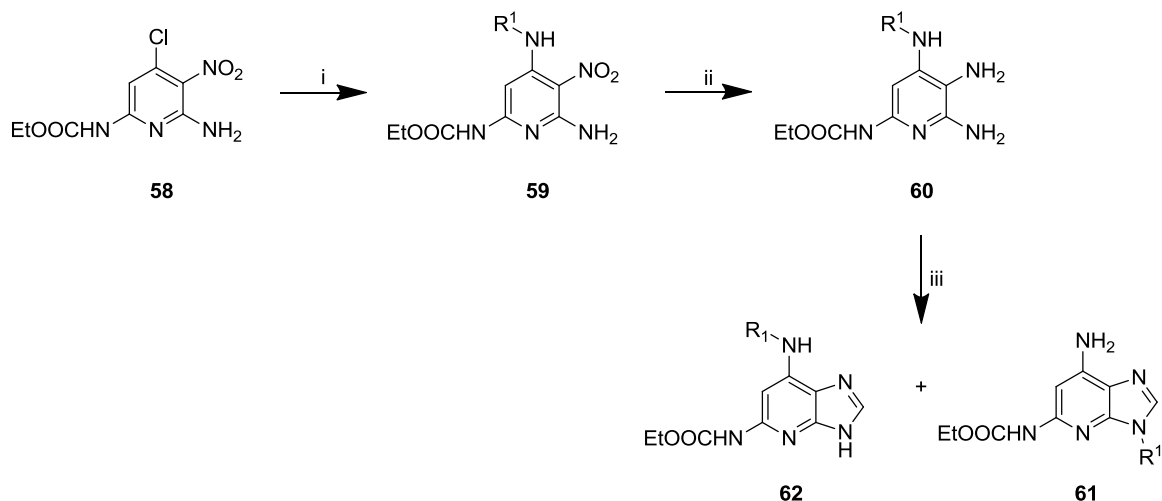
Jednoduchou a efektivní metodou je tzv. „one-pot“ syntéza, kdy výchozí 3-amino-2-nitropyridin (**55**) je ve směsi aldehydu **56** a dithioničitanu sodného, který slouží na redukci nitroskupiny (Schéma 12). Deriváty s touto strukturou vykazují antituberkulotickou aktivitu.³⁰

Schéma 12 - Reagenty a podmínky: (i) DMF, Na₂S₂O₄/H₂O, 60 °C.



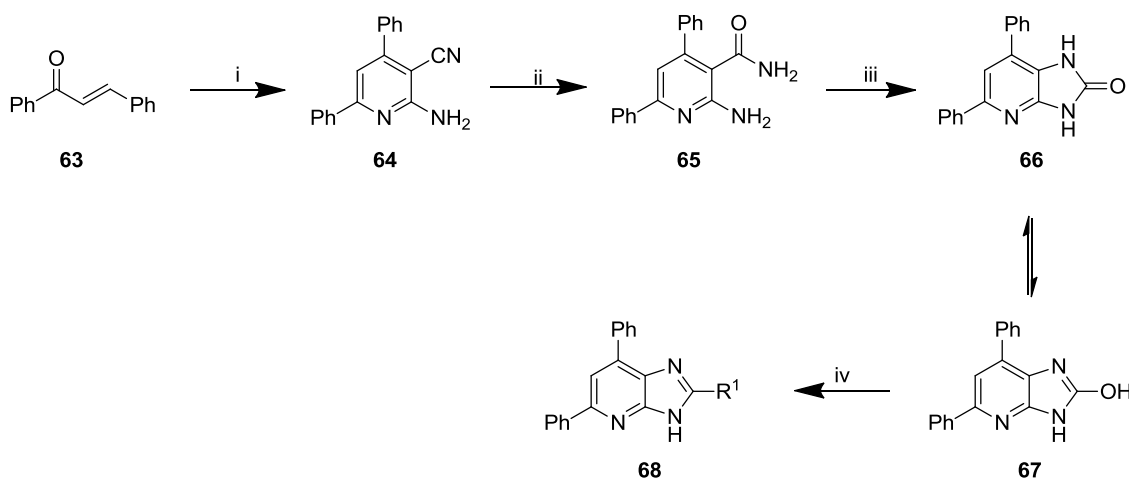
Třetí nejpoužívanější metoda uzavírání imidazolového heterocyklu využívá reakci mezi diaminopyridinem **60** a orthomravenčanem. Touto strategií byly připraveny ethyl-(7-amino)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)karbamáty (**61**, **62**), kdy přednostně vznikal izomer **62**. Látky s touto substitucí mají potencionální anti-nádorovým účinek (Schéma 13).³¹

Schéma 13 - Reagenty a podmínky: (i) EtOH, Et₃N, reflux, N₂ atm.; (ii) H₂, Ra-Ni, EtOH, 25 °C; (iii) orthomravenčan triethylnatý, 2M-HCl, N₂ atm., 25 °C.



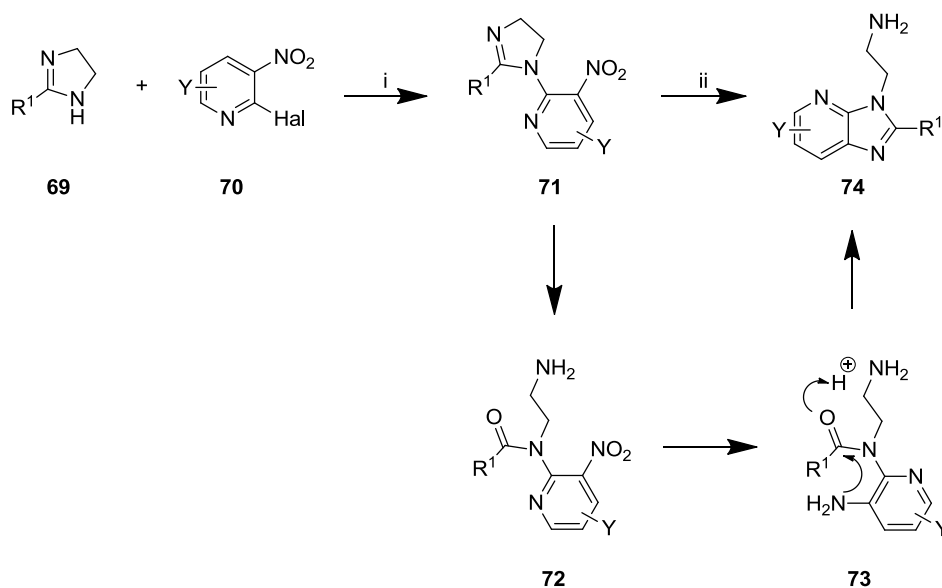
Jako neobvyklou metodu pro přípravu 1-deazapurinů lze považovat využití Hoffmanova přesmyku u 2-aminonikotinamidu **65** za vzniku isokyanátu, který reaguje s sousedící aminoskupinou na 1,3-dihydro-2*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-on **66**. Pomocí tautomerní rovnováhy vznikne 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-ol **67**.³² Následně se substituuje hydroxyskupina v přítomnosti kyseliny, odpovídajícího anhydridu a chloridu manganatého.³³ Aromatické substituenty v pozici 2 a 6 na pyridinovém cyklu snižují reaktivitu, což zpomaluje substituci OH skupiny, proto tato reakce byla provedena v mikrovlnném reaktoru (Schéma 14). Takto substituované deriváty **68** mají vysokou afinitu k A₁ adenosinovým receptorům a zprostředkovávají opačný efekt než agonisté tohoto receptoru (Schéma 14).³²

Schéma 14 - Reagenty a podmínky: (i) $\text{CH}_2(\text{CN})_2$, octan amonný, EtOH, reflux; (ii) 20% $\text{KOH}/\text{H}_2\text{O}$, EtOH, reflux; (iii) KOH/MeOH , (diacetoxyiod)benzen, $-5\text{ }^\circ\text{C}$; (iv) alkytkarboxylová kyselina, anhydrid odpovídající kyseliny, MgCl_2 , MW, $180\text{ }^\circ\text{C}$.



V roce 2013 byla publikována práce, která popisuje dvou krokovou syntézu substituovaných imidazopyridinů **74**. Klíčovým meziproduktem je 2-(1*H*-imidazol)-3-nitropyridin **71**, který byl připraven coupligovou reakcí 1*H*-imidazolu **69** s 2-halogen-3-nitropyridinem **70** za katalýzy paládia. Ve druhém kroku za podmínek Bechampovy redukce dochází současně k redukci nitroskupiny a otevření 1*H*-imidazolového kruhu s následnou cyklizací za vzniku 1-deazapurinu **74** (Schéma 15).³⁴

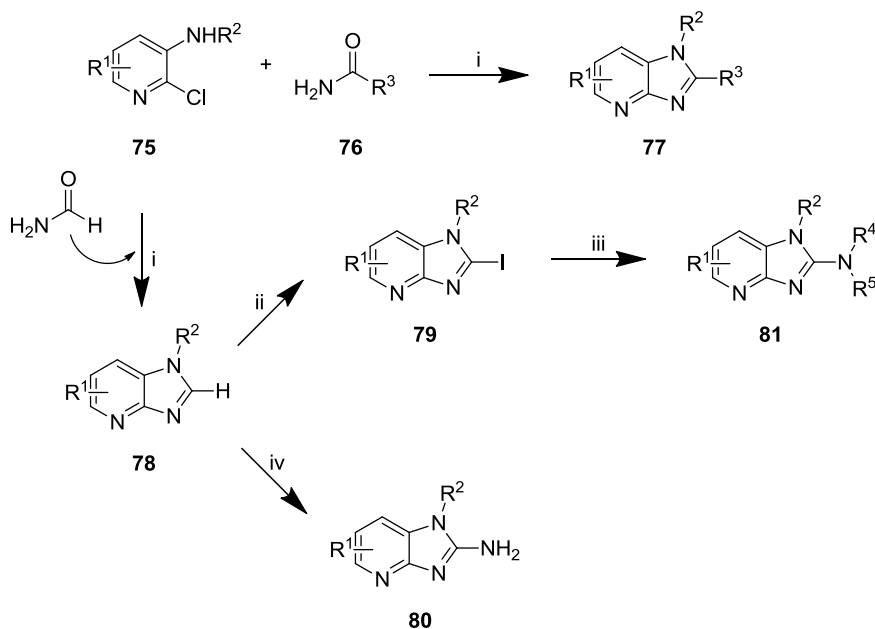
Schéma 15 - Reagenty a podmínky: (i) $\text{Pd}(\text{OAc})_2/\text{BINAP}$, Cs_2CO_3 , toluen, $100\text{ }^\circ\text{C}$; (ii) Fe , NH_4Cl , $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$, $70\text{ }^\circ\text{C}$.



Paládiem katalyzované amidace 2-chloro-3-aminopyridinů **75** poskytly „*in situ*“ vhodné intermediáty, které při $100\text{ }^\circ\text{C}$ cyklizovali za vzniku imidazo[4,5-*b*]-pyridinů **77**

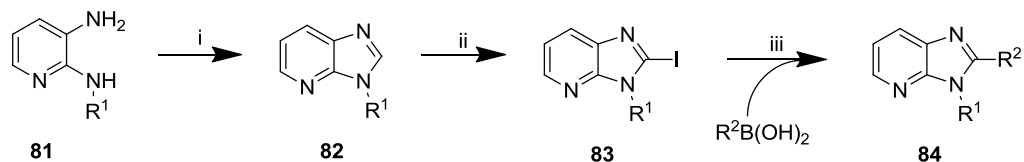
s alkyl nebo aryl skupinami v pozici *N1*. Pokud se pro coupling s výchozí sloučeninou **75** použije formamid, vzniknou imidazopyridiny **78**, které nesou v poloze 2 atom vodíku, jako tomu bylo při použití orthoesteru (Schéma 13). Aby zůstala zachována diverzita a možnost přípravy dalších látek, byla do této polohy provedena jodace v prostředí silné báze (LDA). Vzniklý jodderivát **79** byl následně substituován primárními či sekundárními aminy. Pro získání volné aminoskupiny **80** bylo zase využito tzv. Chichibanovy reakce s amidem sodným (Schéma 16).³⁵

Schéma 16 - Reagenty a podmínky: (i) Pd₂(dba)₃·CHCl₃, fosfinový ligand, K₃PO₄, *t*-BuOH, 100 °C; (ii) LDA, I₂, THF, -78 °C; (iii) amin, Na₂CO₃, EtOH, reflux; (iv) NaNH₂, *m*-xylen, 130 °C



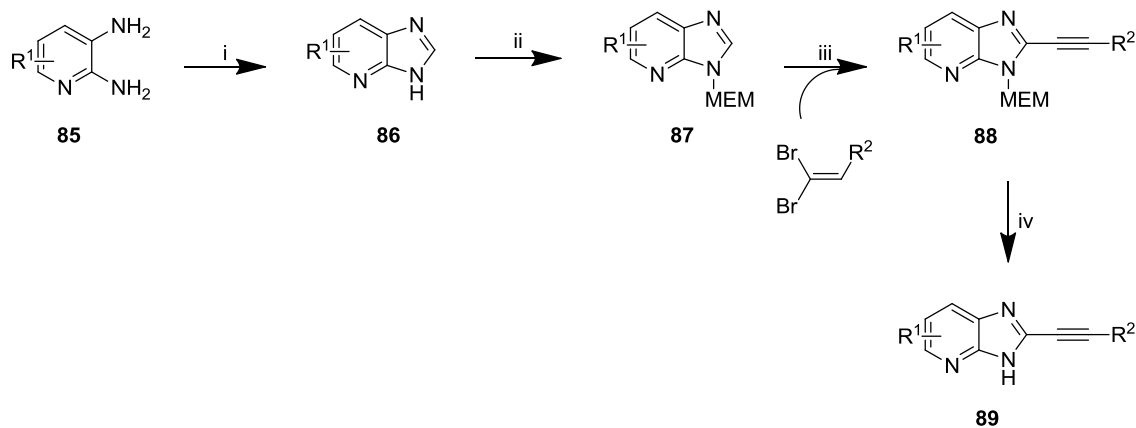
O tom, že karboxylové kyseliny kondenzací s diaminopyridiny byla již zmínka (Schéma 8 a Schéma 9). Použije-li se kyselina mravenčí, získá se 1-deazapurin **82** s vodíkem v poloze 2. Za obdobných podmínek jako u předchozího příkladu byla provedena jodace. Tento meziprodukt **83** je následně podroben Suzuki couplingu s boronovými kyselinami za přítomnosti paládia jako katalyzátoru. (Schéma 17).³⁶

Schéma 17 - Reagenty a podmínky: (i) HCOOH, reflux; (ii) *t*-butyllithium, THF, *N*-iodosukcinimid, -78 °C; (iii) (A-taphos)₂PdCl₂, DME/MEOH, N₂, CsF, MW, 110 °C



Další alternativou jak substituovat vodík v poloze 2 již zcyklizovaného imidazo[4,5b]-pyridinu **87** je přímá reakce s 1,1-dibrom-1-alkeny. Tento coupling je katalyzován solemi mědi (Cu^+ , Cu^{2+}) v přítomnosti trifenylfosfinového ligandu za vzniku alkylnyl-3*H*-imidazo[4,5-b]pyridinových derivátů **89** (Schéma 18).³⁷

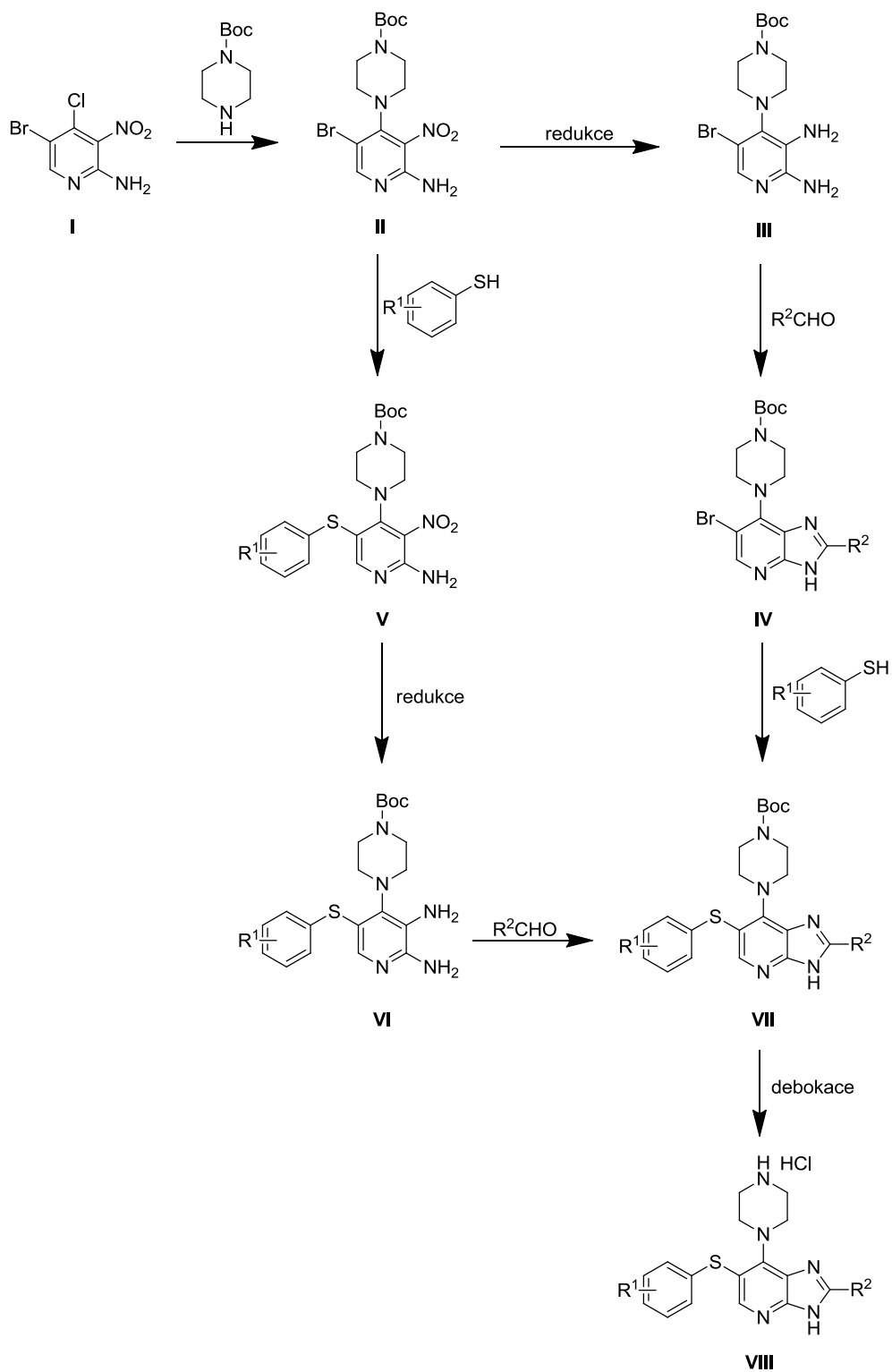
Schéma 18 - Reagenty a podmínky: (i) orthomravenčan trimethylnatý, HCl, 25 °C; (ii) toluen, Et₃N, 10°C, MeMCl, 110 °C; (iii) CuBr·SMe₂/Cu(OAc)₂, DPEPhos, Argon, LiOtBu, 1,4-dioxan, 110 °C; (iv) H₂SO₄, THF, 0 °C



3. VÝSLEDKY A DISKUSE

Jak už bylo uvedeno v kapitole 1, cílem práce byla syntéza navržených modelových sloučenin imidazo[4,5-b]pyridinů z 5-brom-4-chlor-3-nitropyridin-2-aminu jako výchozí látky. Navržený postup pro syntézu vybraných látek se mohl ubírat dvěma směry v závislosti na reaktivitě meziproductů (Schéma 19).

Schéma 19 - Navržené postupy přípravy cílových látek.



3.1. Alternativní reakční cesta

3.1.1. Protekce piperazinu

Prvním krokem syntézy bylo ochránění piperazinu Boc-protektivní skupinou, aby se co nejvíce potlačil vznik 1,4-diboc-piperazinu, byla reakce prováděna za chladu v nadbytku piperazinu.³⁸

3.1.2. Substituce 2-amino-5-brom-4-chlor-3-nitropyridinu (I)

V následujícím kroku byl chráněný piperazin substituován za chlor v pozici 4 na výchozí látce **I**. Jako rozpouštědlo byl v této reakci použit DMSO, jakožto polární rozpouštědlo usnadňující nukleofilní substituce. Jako báze pro neutralizaci vznikajícího chlorovodíku bylo původně zamýšleno použití nadbytku chráněného piperazinu, ale díky jeho pracné přípravě, byl použit diisopropylethylamin (DIEA). Optimalizovanými podmínkami byl získán požadovaný meziprodukt **II** s vysokou čistotou 99 % LCMS a výtěžkem 98 %.³⁹

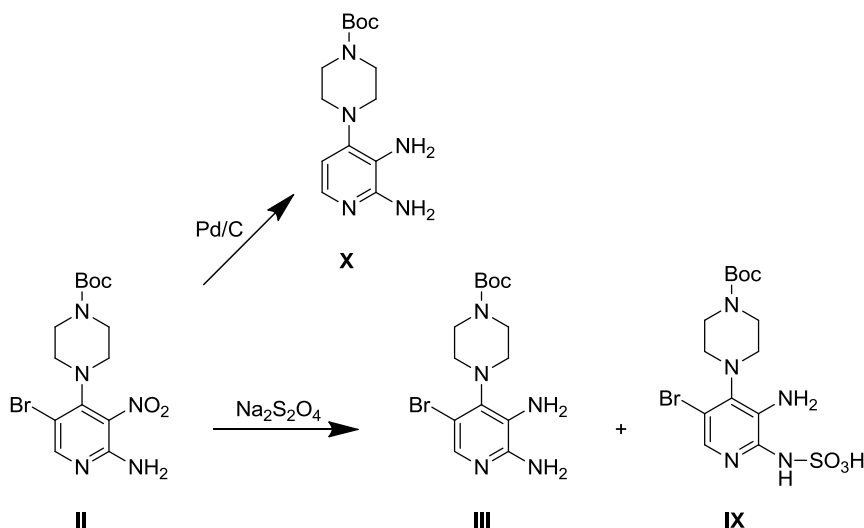
3.1.3. Redukce nitroskupiny

Dalším krokem byla redukce nitroskupiny. Tato redukce byla nejprve provedena za podmínek katalytické hydrogenace, kdy jako katalyzátor byl použit Pd/C za tlaku 3 atm. v MeOH. Nicméně při této reakci došlo mimo redukcí nitroskupiny, i k eliminaci bromu (Schéma 20). Byla vyzkoušena i redukce chloridem cínatým v bezvodém DMF, kdy tato reakce probíhala kvantitativně za laboratorní teploty, nicméně proces odstranění solí cínu, které při redukcí vznikají, byl velice časově náročný a docházelo ke značným ztrátám produktu. Navíc zde hrozilo riziko deprotektce boc skupiny neboť přidáním vody do reakční směsi, chloridy solí cínu uvolňovaly chlorovodík. Z těchto důvodů byla zkoušena další metoda redukce, a to pomocí dithioničitanu sodného.

Toto redukční činidlo bylo nejprve vyzkoušeno v prostředí DCM a vody s katalyzátorem fázového přenosu TBA-HS.⁴⁰ Nevýhodou této metody bylo vytvoření dvoufázového rozhraní s nutností použití TBA-SH a vznik vedlejšího produktu **IX** v poměru téměř 1:1. Redukce dithioničitanem byla dále optimalizována, a to změnou rozpouštědla, kdy byl DCM nahrazen nejprve DMF a posléze ethanolem. V reakcích s použitím DMF, a to jak při 70 °C, tak i při teplotě laboratorní, docházelo ke kvantitativní reakci během 30 min.⁴¹ Tato reakce, byla navíc doprovázena barevnou změnou (ze světle žluté na bezbarvou), takže bylo jednoduché indikovat konec reakce.

Nicméně i v těchto podmínkách docházelo ke vzniku stejného vedlejšího produktu **IX**, ve stejném poměru, jako v případě použití DCM. Přestože byla reakce kvantitativní, rychlá a doprovázená barevnou změnou, kvůli vysokému množství vzniku vedlejšího produktu bylo od těchto podmínek upuštěno. Zásadní změnu přinesl až ethnaol.⁴² Použití směsi rozpouštědel voda-ethanol (1:1) při teplotě 55-60 °C se ukázalo jako vhodná cesta. Vedlejší produkt **IX** sice stále vznikal, ale již v menší míře – řádově okolo 10 – 15 %. Reakce probíhala obvykle okolo 4 hodin, a pokud nedošlo ke kvantitativní redukci, byla do reakční směsi přidána samostatně redukční směs v množství odpovídajícím 20 % počátečního množství (Schéma 20).

Schéma 20 - Obecné schéma zkoušených redukčních reakcí.



Na základě znalostí retenčního času z kapalinové chromatografie, hodnoty $[\text{M}+\text{H}]^+$, rozpustnosti a podmínek reakce, při které vedlejší produkt vznikal, je jeho domnělá struktura **IX** zobrazena na **Schématu č. 20**.

3.1.4. Cyklizační reakce

Jako poslední reakční krok alternativní syntetické cesty, byla provedena reakce diaminopyridinu **III** s aldehydem v DMSO.²⁵ Průběh této cyklizace byl monitorován pomocí LC-MS při různých teplotách. Ke kvantitativní reakci došlo po 3 dnech až při 110 °C, kdy byl pomocí MS identifikován produkt **IV**.

Další pokusy na optimalizaci této cyklizace nebyly provedeny z důvodů nalezení vhodných reakčních podmínek u druhé syntetické cesty (Schéma 19), kterou byl připraven finální produkt.

3.2. Výsledná reakční cesta

Prvním reakčním krokem bylo ochránění piperazinu s jeho následnou substitucí na 2-amino-5-brom-4-chlor-3-nitropyridin-2-amin (**I**), jak už bylo popsáno v kapitole 3.1. (Schéma 19).

3.2.1. Nukleofilní substituce

Při navrhování řešení, jak připravit finální látky **VIII** bylo „alternativní“ cestě přisuzována větší pravděpodobnost úspěchu. Předpokládalo se, že substituce Br v poloze 6 u 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu **IV** půjde snadněji než u 2-amino-5-brompyridinu **II** (Schéma 19). Nakonec se ukázalo, že substituci lze provést za celkem běžných podmínek.

Jako rozpouštědlo byl při S_N použit DMSO, a jako nejvhodnější báze se osvědčil najejno nadrcený NaOH. Vzhledem k rychlému „starnutí“ nadrceného hydroxidu, z důvodu reakce se vzdušným CO₂ za vzniku Na₂CO₃ bylo nezbytné kontrolovat pH reakční směsi pomocí lakmusového papírku. Reakční teplota byla optimalizována pro 3 různé thiofenoly. Ideální teplota pro 4-methylthiofenol a nesubstituovaný thiofenol byla 120-125 °C. Pro 4-fluorthiofenol byla reakční teplota optimalizována na 80 °C, neboť při vyšších teplotách docházelo ke vzniku vedlejších produktů, které byly špatně odstranitelné.

3.2.2. Redukce nitroskupiny

Následujícím krokem byla redukce nitroskupiny, která byla prováděna za již zmíněných a optimalizovaných podmínek v kapitole 3.1.3., za vzniku diaminu **VI**.

Výhodou této metody redukce byla i snadná izolace produktu **VI**. Jelikož vznikající produkt **VI** byl nerozpustný ve vodě, ale rozpustný v EtOH, tak se z reakční směsi odestiloval za sníženého tlaku pomocí rotační vakuové odparky, přibližně v takovém objemu jaký byl do reakce dodán. Odpařením většiny EtOH, došlo k vyloučení produktu a naopak rozpuštění anorganických solí, které byly v reakci použity jako redukční směs (Na₂S₂O₄ a K₂CO₃). Ve vodě se rovněž rozpustil i vedlejší produkt. Požadovaný, zredukovaný, produkt **V** byl následně zfiltrován a promyt vodou.

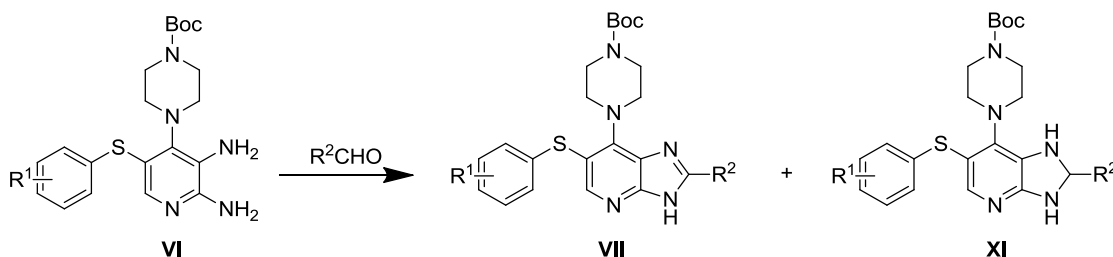
3.2.3. Cyklizační reakce

Předposledním krokem syntézy byla cyklizace diaminu s několika alifatickými aldehydy. Reakce byly prováděny v DMSO s 3 ekvivalenty aldehydu při optimalizované teplotě 55-60 °C. Zkušební cyklizační reakce, kde se množství výchozí látky pohybovalo kolem 20 mg v 1 ml rozpouštědla, běžely kvantitativně a zároveň vznikalo minimum vedlejších produktů. Při větších navážkách (stovky mg) byly roztoky více koncentrované a v průběhu standardní reakční doby (přes noc) docházelo ke vzniku většího množství vedlejších produktů. Z tohoto důvodu, aby nevznikalo nežádoucí množství nečistot, byly používány 2% (w/w) roztoky výchozí látky, čímž došlo k eliminaci vzniku většiny vedlejších produktů.

Produkty **VII** byly izolovány z dobře ochlazené reakční směsi, neboť vyloučení krystalů produktu **VII**, za postupného přidávání vody, bylo doprovázeno silným uvolňováním tepla. Voda byla přidávána po kapkách ve stejném množství jako použitého rozpouštědla v reakční směsi.

V některých případech u těchto cyklizací docházelo vedle vzniku požadovaného aromatického kruhu **XII**, i ke vzniku dihydroderivátu **XI**, čili nezaromatizovaného produktu (Schéma 21). Tento jev byl převážně pozorován u produktů se substituovaným 4-fluorthiofenolem, kde tyto dihydroimidazoly **XI** vznikaly až v poměru 1:1. Přestože je tento jev celkem obvyklý a odborná literatura nabízí spoustu oxidačních činidel např.: O₂, MnO₂, DDQ nebo Fe(NO₃)₂,⁴³⁻⁴⁵ postačilo směs míchat při laboratorní teplotě v methanolu za přístupu vzdušného kyslíku 1 - 3 dny.

Schéma 21 - Cyklizace diaminů s aldehydy za vzniku nedooxidovaného produktu.



3.2.4. Deprotekce

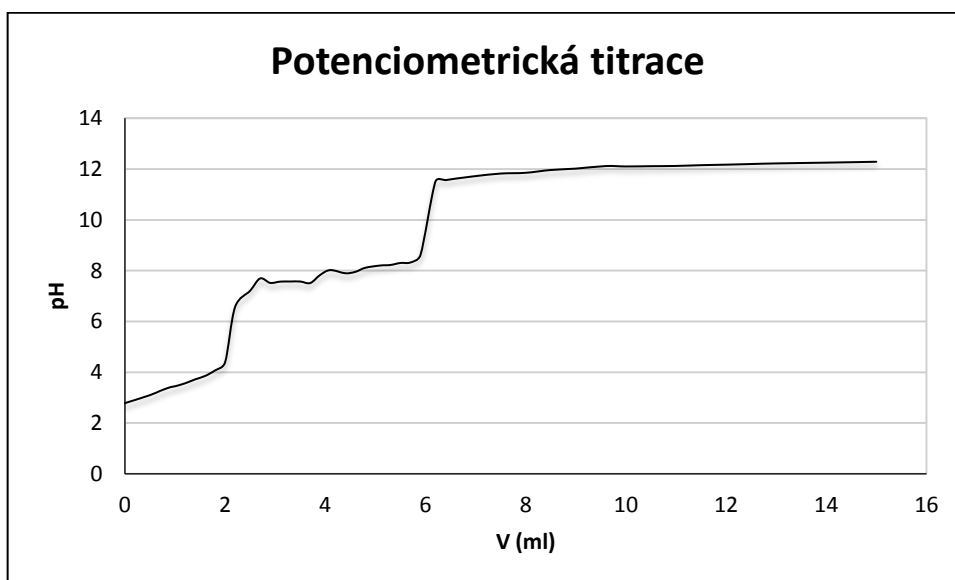
Posledním reakčním krokem byla deprotekce boc skupiny za vzniku finálních 1-deazapurinů **VIII**, které byly izolovány ve formě hydrochloridu. Deprotekce byla prováděna při laboratorní teplotě pomocí roztoku plynného chlorovodíku v ethanolu.⁴⁶

Reakce byla ponechávána přes noc, kdy ve většině případů došlo k vyloučení sraženiny finální látky.

Vyloučené sraženiny byly izolovány pomocí filtrace. Pokud nedošlo k vysrážení produktu, byla celá reakční směs odpařena na RVO. Vzhledem k tomu, že produkty rychle vážaly vzdušnou vlhkost, byly ihned po filtraci rozpouštěny ve vodě, zmrazeny a lyofilizovány. Finální látky byly po lyofilizaci na vzduchu stálé.

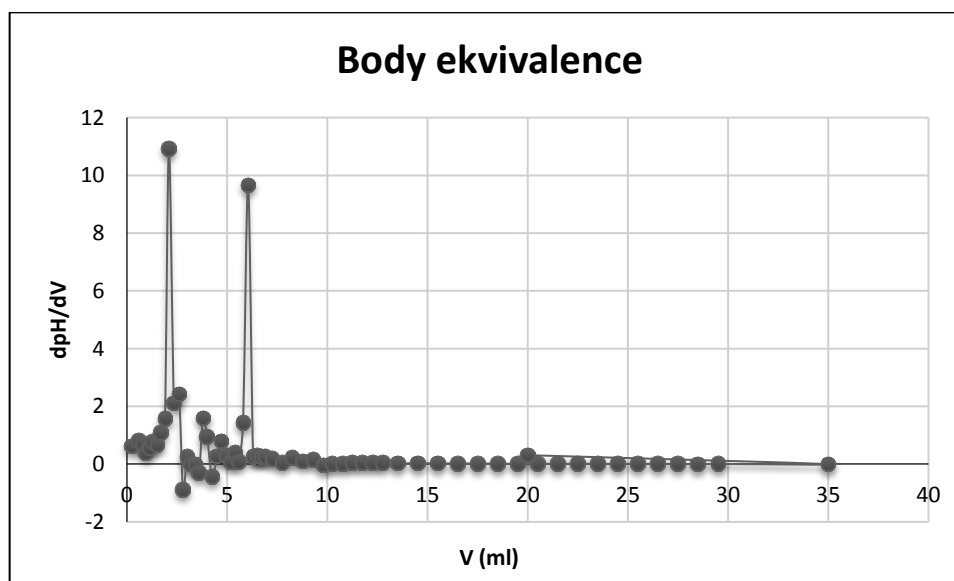
Jak už bylo řečeno, produkty **VIII** byly získávány ve formě hydrochloridu. Pro zjištění množství chlorovodíku v molekule byly vybrané produkty titrovány roztokem NaOH o koncentraci 0,0026 mol/l. Koncentrace titrovaného produktu byla 0,0099 mol/l. Průběh titrace byl sledován potenciometricky na základě měření pH (Graf č. 1).

Graf č. 1. - Titrační křivka.



Body ekvivalence byly určeny numericky pomocí 1. derivace titrační křivky dpH/dV , která náleží největšímu sklonu titrační křivky, který je největší v bodu ekvivalence. Bod ekvivalence odpovídá objemu **V** (na ose x) a maximu hodnoty dpH/dV (na ose y).⁴⁷ Touto metodou byly indikovány 2 body (**Graf č. 2**), což dokazuje, že připravené látky jsou ve formě dihydrochloridu.

Graf č. 2. - Derivace křivky Grafu č. 1., maxima značí body ekvivalence.



3.3. Zvýšení diverzity připravovaných derivátů

Mimo navržené schéma syntézy proběhly pokusy o N-alkylaci a N-acylaci na dusíku v poloze 3 připravených imidazopyridinů. Pro tyto pokusy byl vybrán vhodný meziprodukt 2-isopropyl-7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(fenylthio)-3H-imidazo[4,5-b]-pyridin (**VII(a,C)**). Protože primární cíl se podařilo splnit, byla další snaha nahradit thiofenol za benzylamin a tím připravit nový typ látek. Tato záměna by potenciálně mohla nasměrovat další rozvoj těchto 1-deazapurinů.

3.3.1. N-Alkylace

Jako první alkylační činidlo byl použit methyliodid za různých reakčních podmínek (báze, rozpouštědlo).^{48,49} Podmínky reakcí jsou shrnuty v **Tabulce č. 1**.

Tabulka č. 1. - Přehled reagentů a podmínek alkylace

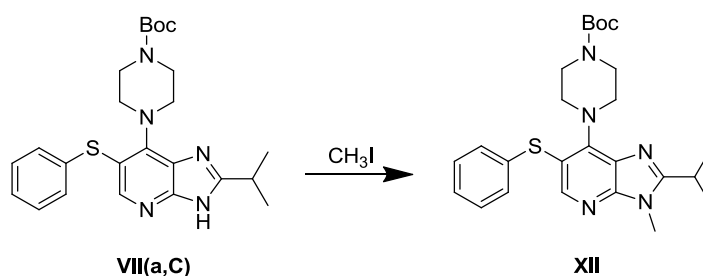
Označení	Rozpouštědlo	Báze	Produkt
A	ACN	BTTP	vznikal
B	ACN	Et ₃ N	nevznikal
C	ACN	KOH	vznikal
D	ACN	K ₂ CO ₃	vznikal
E	DMSO	BTTP	vznikal
F	DMSO	Et ₃ N	vznikal

G	DMSO	KOH	vznikal
H	DMSO	K ₂ CO ₃	vznikal

Přesto, že ve většině reakcí produkt vznikal, byly mezi analýzami jednotlivých reakcí značné rozdíly. Reakce za podmínek **A** a **E** byly po 2 hodinách reagování ukončeny, protože v reakční směsi nebyla přítomna výchozí látka. V reakci za podmínek **B** nedocházelo ke vzniku produktu vůbec, ani po zvýšení reakční teploty na 50 °C. Reakce **C** probíhala o něco pomaleji než **A** a **E** za vzniku požadovaného produktu. V průběhu reakce **D** došlo ke vzniku velmi malého množství produktu, ale ani po zvýšení reakční teploty na 50 °C nedošlo k výraznější konverzi. Při reakci **F** došlo si ke vzniku produktu s konverzí cca 50 %, nicméně po zvýšení reakční teploty konverze zůstala prakticky stejná. Podmínky reakce **G** vedly ke vzniku velmi malého množství produktu a dalších nečistot. Při reakci za podmínek **H** vznikal produkt ve výrazném množství, ale ani po zahřátí na 50 °C nedošlo ke kvantitativní konverzi výchozí látky na produkt, navíc vznikaly nečistoty.

Po rychlém zhodnocení výsledků a snahu o izolaci produktu u pokusů **A,E** a **C**, byl pro přípravu většího množství methylovaného produktu **XII(a,C)** použit postup **E**. Žádaný produkt byl z reakční směsi vysrážen, přidavkem vody, spolu s jedinou nečistotou, která byla pomocí sloupcové chromatografie odstraněna.

Schéma 22 - *N*-Methylace



3.3.2. *N*-Acylace

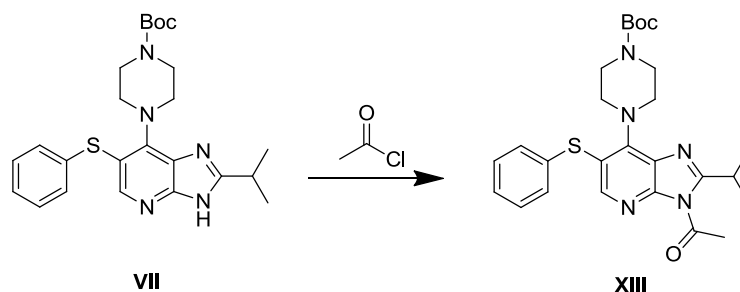
Ve stejném duchu pokusů o alkylation, proběhly i pokusy o acylaci dusíku, kdy jako acylační činidlo byl použit acetylchlorid. Všechna použitá rozpouštědla byla bezvodá. Podmínky reakcí jsou shrnuty v **Tabulce č. 2**.

Tabulka č. 2. - Přehled reagentů a podmínek acylace.

Označení	Rozpouštědlo	Báze	Produkt
I	THF	DIEA	nevznikal
J	THF	BTTP	vznikal
K	DMSO	DIEA	vznikal
L	DMSO	BTTP	nevznikal
M	CH ₂ Cl ₂	DIEA	nevznikal
N	CH ₂ Cl ₂	BTTP	nevznikal

Za podmínek reakce **J** produkt **XIII** vznikal pouze ve velmi malém množství a ani pomocí zvýšení teploty nedošlo ke zlepšení konverze. V průběhu podmínek **K** produkt vznikal, bez vzniku vedlejších produktů, nicméně ani zvýšení teploty, ani dodání dalšího množství báze i acylačního činidla nevedlo k žádné změně. U ostatních reakčních podmínek, při laboratorní teplotě ani při 40 °C nedocházelo ke vzniku požadovaného produktu. Z důvodu nedostatku času nebylo již v pokusech o acylace pokračováno.

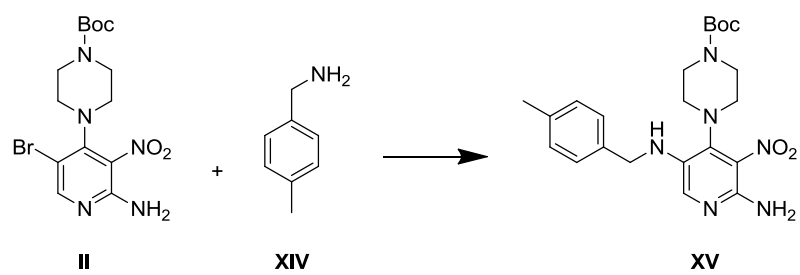
Schéma 23 - *N*-Acetylace



3.3.3. Substituce benzylaminem

Pro další zvýšení diverzity produktů byla vyzkoušena na intermediátu **II** substituce bromu a to 4-methyl-benzylaminem. Jako rozpouštědlo byl použit DMSO, ale ani po několika dnech a reakční teplotě 150 °C nedošlo k náznačce vzniku požadovaného produktu **XV**. Z časových důvodů nebylo na těchto pokusech dále pokračováno.

Schéma 24 – Substituce benzylaminem



4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

LCMS analýzy byly měřeny na:

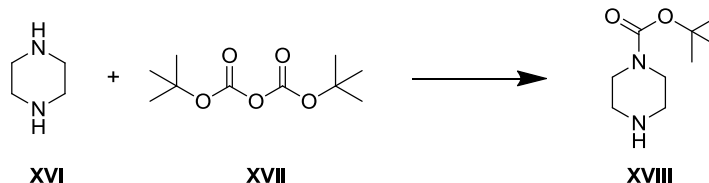
- hmotnostním spektrometru TSQ Quantum ACCES s trojitým kvadrupólem od firmy Thermo Scientific s PDA detektorem, kolonou X-Select C18 za použití mobilní fáze složené z (A) 0,01 M octanu amonného ve vodě a (B) acetonitrilu
- ACQUITY UPLC systému (Waters, USA) s PDA detektorem a hmotnostním spektrometrem s HESI (heated electrospray) a kvadrupólovým analyzátoem s QDA detektorem, kolonou XSelect HSS T3 za použití mobilní fáze složené z (A) 0,01 M octanu amonného ve vodě a (B) ACN

NMR spektra byla měřena na přístroji JEOL ECA 400 II (400 MHz) při 20 °C. Pro měření byly použity cca 3 % roztoky v hexadeuteriodimethylsulfoxidu (DMSO-*d*₆), nebo deuteriochloroformu (CDCl₃-*d*). Chemické posuny jsou udány v jednotkách ppm a jsou vztaženy k signálu rozpouštědla (DMSO-*d*₆: ¹H 2.50 ppm, ¹³C 39.51 ppm; CDCl₃-*d*: ¹H 7.27 ppm, ¹³C 77.00 ppm). Interakční konstanty jsou v jednotkách Hz.

Titrace byla prováděna na přístroji Mettler Toledo Five Easy se skleněnou elektrodou Mettler Toledo LE409.

Teploty tání byly měřeny na přístroji VEB Analytik Dresden PHMK 78/1586 v rozsahu teplot 80-360 °C.

4.1. Příprava 1-Boc-piperazinu (XVIII)

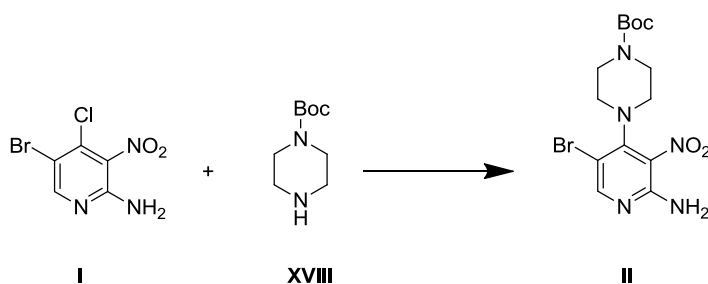


Piperazin (**XVI**) (53,70 g; 0,623 mol) byl rozpuštěn v DCM (400 ml) a ochlazen na 0 °C. Do vzniklé reakční směsi byl pomalu během 30 min po kapkách přidán roztok di-*tert*butyl dikarbonátu (**XVII**) (20,74 g; 0,095 mol) v DCM (120 ml) za stálého míchání a chlazení na 0 °C. Vzniklá suspenze byla další 1 h míchána při 0 °C.

Následně byla reakční směs důkladně promyta vodou (4x 250 ml). Oddělená organická fáze byla vysušena bezvodým Na₂SO₄, zfiltrována a odpařena na rotační vakuové odparce. Vzniklá olejovitá kapalina byla umístěna přes noc do lednice, kde došlo ke krystalizaci.

Bylo získáno 15,6 g (tj. 88 %) produktu ve formě bílé krystalické látky. MS (*m/z*): 187,02 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-*d*) δ ppm 3.44 - 3.38 (m, 4 H), 2.46-2.39 (m, 4 H), 1.45 (s, 9 H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃-*d*) δ ppm 154.8, 79.5, 51.2, 44.0, 43.2, 28.4.

4.2. Příprava 2-amino-4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-brom-3-nitropyridinu (II)



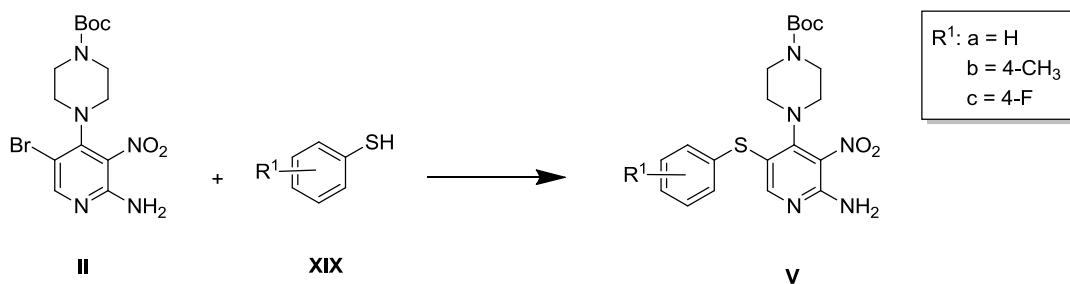
Do roztoku 2-amino-5-brom-4-chlor-3-nitropyridinu (5 g; 19,8 mmol) v DMSO (50 ml) byl přidán 1-Boc-piperazin (**XVIII**) (5 g; 26,8 mmol) a DIEA (3,4 ml; 20,7 mmol). Reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě přes noc.

Reakce byla ukončena pozvolným přidáním vody (100 ml), tím došlo k vyloučení žluté sraženiny. Vzniklá suspenze byla zfiltrována a důkladně promyta vodou (3x 20 ml).

Suchý surový produkt byl suspendován ve směsi rozpouštědel hexan:toluen (70 ml, 10:1). Suspenze byla krátce povařena (cca 5-10 min) a za horka zfiltrována. Filtrační koláč byl promyt směsí rozpouštědel hexan:toluen (10 ml; 10:1), hexanem (2x 10 ml) a vysušen na vzduchu.

Bylo získáno 7,87g (tj. 98 %) produktu ve formě žluté krystalické látky s teplotou tání 141-143 °C. LC-MS čistota 99 %. MS (*m/z*): 401,89 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-*d*) δ ppm 8.17 (s, 1 H), 5.85 (s, 2 H), 3.60 (br. s., 4 H), 3.13 (br. s., 4 H), 1.48 (s, 9 H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃-*d*) δ ppm 154.7, 154.6, 152.9, 152.0, 127.5, 105.8, 80.2, 49.8, 44.2, 43.2, 28.4.

4.3. Příprava 2-amino-3-nitro-4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-(thioaryl)pyridinu (V)



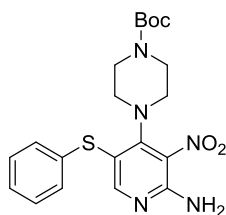
Obecný postup:

Do roztoku 2-amino-4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-brom-3-nitropyridinu (**II**) (2 g; 5 mmol) a příslušného thiofenolu (**XIX**) (10 mmol) v DMSO (20 ml) byl přidán nejemno rozdrcený NaOH (0,4 g; 10 mmol). Temně fialový roztok byl za stálého míchání zahříván po dobu 4 h při teplotě 120-125 °C.

Do ochlazené reakční směsi na laboratorní teplotu, byl pomalu přidáván MeOH (20 ml) a poté byla reakční směs míchána dalších cca 30 min, kdy došlo k vyloučení sraženiny. Následně byla pomalu přidána voda (50 ml) a suspenze byla míchána dalších 20-30 min, poté byla zfiltrována, důkladně promyta vodou a usušena na vzduchu.

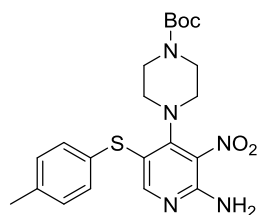
Suchý surový produkt byl poté suspendován ve směsi *n*-hexan:toluen (25 ml; 8:2). Suspenze byla krátce přivedena k varu (5-10 min), po ochlazení byla zfiltrována a promyta, nejprve směsí *n*-hexan:toluen (5 ml; 8:2) a poté *n*-hexanem (2x 5 ml).

4.3.1. 2-Amino-4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-(fenylthio)-3-nitropyridin (Va)



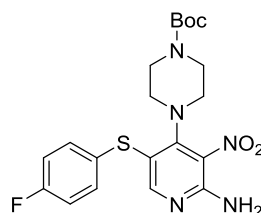
Bylo získáno 1,5 g (tj. 70 %) produktu ve formě žluté krystalické látky s bodem tání 189-192 °C. LC-MS čistota: 96 %. MS (*m/z*): 431,96 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-*d*) δ ppm 8.18 (s, 1 H), 7.30 - 7.24 (m, 2 H), 7.21 - 7.15 (m, 1 H), 7.06 (d, *J* = 8.3 Hz, 2 H), 6.08 (s, 2 H), 3.36 (br. s., 4 H), 3.15 (br. s., 4 H), 1.46 (s, 9 H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃-*d*) δ ppm 160.5, 156.1, 154.4, 154.3, 137.0, 129.2, 126.6, 126.3, 126.0, 112.6, 80.1, 50.4, 43.9, 42.8, 28.3.

4.3.2. 2-Amino-4-(4-boc-piperazin-1-yl)-3-nitro-5-(p-tolylthio)pyridin (Vb)



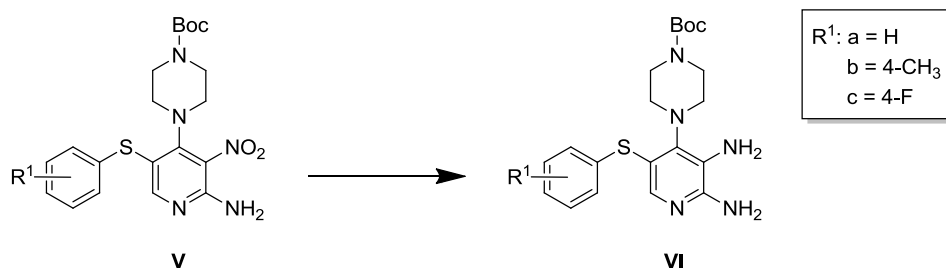
Bylo získáno 1,1 g (tj. 56 %) produktu ve formě žluté krystalické látky s bodem tání 224-227 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 446,05 $[M+H]^+$. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 8.12 (s, 1 H), 7.08 (d, $J = 8.0$ Hz, 2 H), 6.98 (td, $J = 2.1, 8.3$ Hz, 2 H), 5.94 (s, 2 H), 3.39 (br. s., 4 H), 3.14 (br. s., 4 H), 2.31 (s, 3 H), 1.45 (s, 9 H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 159.9, 155.7, 154.5, 154.0, 136.2, 133.0, 130.0, 127.1, 113.8, 80.1, 50.4, 44.0, 42.9, 28.4, 20.9.

4.3.3. 2-Amino-4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-(4-fluorfenylthio)-3-nitropyridin (Vc)



Bylo získáno 1,4 g (tj. 64%) produktu ve formě žluté krystalické látky s teplotou tání 198-201 °C. LC-MS čistota: 97 %. MS (m/z): 450,0 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 8.11 (s, 1 H), 7.07 (dd, $J = 4.9, 9.1$ Hz, 2 H), 6.98 (t, $J = 8.6$ Hz, 2 H), 6.03 (s, 2 H), 3.39 (br. s., 4 H), 3.13 (br. s., 4 H), 1.45 (s, 9 H). ^{13}C NMR (101MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm = 161.5, 159.8, 155.6, 154.5, 154.2, 131.8, 128.8, 126.7, 116.5, 113.6, 80.1, 50.5, 43.8, 42.9, 28.3.

4.4. Příprava 2,3-diamino-4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-(thioaryl)pyridinu (VI)



Obecný postup:

Roztok 2-amino-3-nitro-4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-(thioaryl)pyridinu (**V**) (3,5 mmol) v ethanolu (30 ml) byl ohříván na 55-60 °C (v případě **Vc** byla teplota roztoku 65-70°C) za stálého míchání. Současně byl připravován redukční roztok, a to rozpuštěním Na₂S₂O₄ (3 g; 17,5 mmol) a K₂CO₃ (2,4 g; 17,5 mmol) ve vodě (30 ml). Čtvrtina objemu redukčního roztoku byla přidána do zahřátého roztoku 2-amino-3-nitro-4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-(thioaryl)pyridinu (**V**) a zbylé ¾ byly přidány ve 3 dílech, ve 30 min intervalech. Po posledním přidavku redukčního roztoku, byla reakční směs udržována další 1-2 h při 55-60 °C (65-70°C) za stálého míchání. Průběh reakce byl sledován i vizuálně, neboť docházelo k odbarvování reakční směsi.

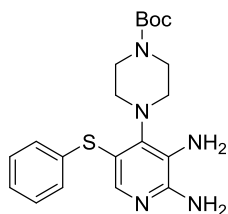
Po ochlazení reakční směsi byl na RVO odpařen ethanol a částečně i voda (celkový objem 30 ml). Vzniklá suspenze byla následně zfiltrována, promyta vodou a vysušena na vzduchu.

Surový produkt (**VIa**) byl suspendován ve směsi ethanolu a vody (1:2) (15 ml). Suspenze byla zahřívána tak dlouho, dokud nedošlo k rozpuštění. Po ochlazení reakční směsi byla vzniklá suspenze zfiltrována, promyta vodou a cyklohexanem a vysušena na vzduchu.

Surový produkt (**VIb**) byl za horka rozpuštěn v 50% ethanolu a zfiltrován s aktivním uhlím. Matečné louhy byly ochlazeny ve směsi voda – led na 5-7 °C. Vyloučená suspenze byla zfiltrována, promyta vodou a cyklohexanem a vysušena na vzduchu.

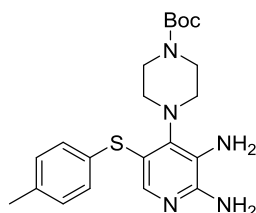
Surový produkt (**VIc**) byl krystalován ze směsi roztoků hexan a toluen (3:1). Vyloučená suspenze byla zfiltrována, promyta vodou, cyklohexanem a vysušena na vzduchu. V případě nedostatečné čistoty byl produkt za horka suspendován ve směsi vody a ethanolu (2:1), na dobu 5-10 min přiveden k varu a poté za studena zfiltrován, promyt vodou a cyklohexanem a vysušen na vzduchu.

4.4.1. 2,3-Diamino-4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-(fenylthio)pyridin (**VIa**)



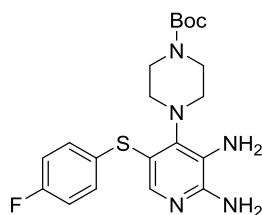
Bylo získáno 0,95 g (tj. 68 %) látky ve formě béžově zbarvené krystalické látky s bodem tání 160-163 °C. LC-MS čistota: 98 %. MS (m/z): 402,05 $[M+H]^+$. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 7.69 (s, 1 H), 7.04 - 6.99 (m, $J = 8.0$ Hz, 2 H), 6.95 - 6.90 (m, 2 H), 4.47 (br. s., 2 H), 3.95 (br. s., 2 H), 3.87 (br. s., 2 H), 3.37 (br. s., 2 H), 2.95 (br. s., 2 H), 2.76 (br. s., 2 H), 2.28 (s, 3 H), 1.46 (s, 9 H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 154.8, 150.4, 146.8, 145.6, 135.8, 135.1, 129.7, 127.3, 126.5, 126.5, 116.9, 116.8, 79.8, 49.5, 45.4, 44.6, 28.4, 20.8.

4.4.2. 2,3-Diamino-4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-(p-tolylthio)pyridin (**VIb**)



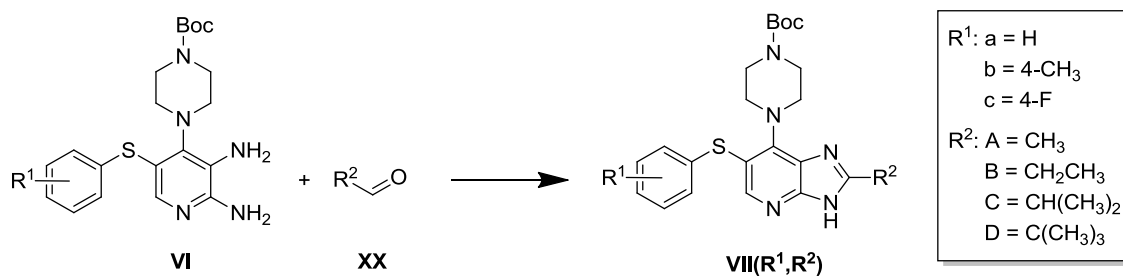
Byl získán krystalický produkt světle žluté barvy o hmotnosti 0,97 g (tj. 67 %) s bodem tání 169-171 °C. LC-MS čistota: 98 %. MS (m/z): 416,02 $[M+H]^+$. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 7.69 (s, 1 H), 7.04 - 6.99 (m, $J = 8.0$ Hz, 2 H), 6.95 - 6.90 (m, 2 H), 4.47 (br. s., 2 H), 3.95 (br. s., 2 H), 3.87 (br. s., 2 H), 3.37 (br. s., 2 H), 2.95 (br. s., 2 H), 2.76 (br. s., 2 H), 2.28 (s, 3 H), 1.46 (s, 9 H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 154.8, 150.4, 146.8, 145.6, 135.8, 135.1, 129.7, 127.3, 126.5, 126.5, 116.9, 116.8, 79.8, 49.5, 45.4, 44.6, 28.4, 20.8.

4.4.3. 2,3-Diamino-4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-(4-fluorfenylthio)pyridin (**VIc**)



Byl získán krystalický produkt světle béžové barvy o hmotnosti 0,75 g (tj. 51 %) s bodem tání 168-171 °C. LC-MS čistota 99 %. MS (m/z): 420,08 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 7.69 (s, 1 H), 7.01 (dd, $J = 5.2, 8.8$ Hz, 2 H), 6.92 (t, $J = 8.6$ Hz, 2 H), 4.46 (br. s., 2 H), 3.86 (br. s., 2 H), 3.33 (br. s., 2 H), 2.97 (br. s., 2 H), 2.76 (br. s., 2 H), 1.47 (s, 9 H). ^{13}C NMR (101MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm = 161.1, 154.8, 150.6, 146.7, 145.3, 134.4, 128.3, 127.4, 116.8, 116.0, 79.9, 49.6, 45.0, 28.4.

4.5. Příprava 2-alkyl-7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(thioaryl)-3H-imidazo[4,5-b]-pyridinu (VII)



Obecný postup:

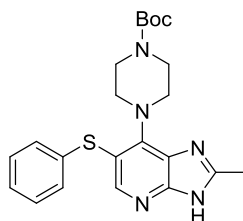
Do 2 % (w/w) roztoku 2,3-diamino-4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-(thioaryl)pyridin (**VI**) (0,5 mmol) v DMSO byl přidán příslušný aldehyd (1,5 mmol) a poté byla reakční směs míchána při 55-60 °C po dobu 16-23 h.

Do ochlazené reakční směsi byla postupně přidávána voda (objem vody odpovídal objemu použitého rozpouštědla v reakční směsi), za chlazení voda – led. Suspenze byla poté asi 3 hodiny míchána při laboratorní teplotě a posléze zfiltrována, promyta vodou a hexanem a vysušena na vzduchu.

V případě vzniku nefiltrovatelné sraženiny **VII(b,A)**, byla po přidavku vody provedena extrakce do ethylacetátu. Ethylacetátové vrstvy s produktem byly spojeny, postupně promyty vodným roztokem NaHSO₃ a vodou, vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a odpařeny na RVO.

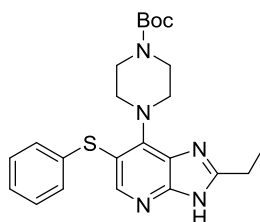
Surové produkty byly po vysušení na vzduchu suspendovány v methanolu (5-9 ml), krátce povařeny (5-10 minut) a poté ponechány při laboratorní teplotě několik hodin za stálého míchání. Do suspenze bylo poté přidáno malé množství vody (1-2 ml), po krátkém promíchání byla suspenze zfiltrována, promyta vodou (či H₂O: MeOH, 1:1), hexanem a ponechána uschnout.

4.5.1. 2-Methyl-7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(fenylthio)-3H-imidazo[4,5-b]-pyridin (**VII(a,A)**)



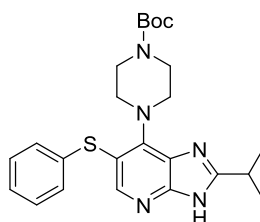
Bylo získáno 162 mg (tj. 76 %) bílé krystalické látky s bodem tání 237-240 °C. LC-MS čistota: 97 %. MS (m/z): 426,01 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 8.28 (s, 1 H), 7.22 (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 7.12 (t, $J = 7.3$ Hz, 1 H), 7.07 (d, $J = 1.0$ Hz, 2 H), 3.78 - 3.72 (m, 4 H), 3.45 (br. s., 4 H), 2.65 (s, 3 H), 1.46 (s, 9 H). ^{13}C NMR (101MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 154.7, 151.2, 151.2, 151.1, 150.2, 138.2, 129.7, 128.9, 126.2, 125.4, 111.8, 79.7, 51.2, 44.7, 43.5, 28.4, 15.6.

4.5.2. 2-Ethyl-7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(fenylthio)-3H-imidazo[4,5-b]-pyridin (VII(a,B))



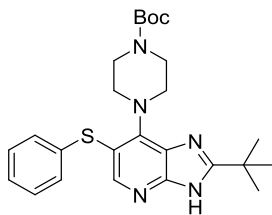
Bylo získáno 84 mg (tj. 38 %) krystalického produktu bílé barvy s bodem tání 233-235 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 440,05 $[M+H]^+$. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 8.27 (s, 1 H), 7.22 (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 7.12 (t, $J = 7.3$ Hz, 1 H), 7.07 (d, $J = 7.3$ Hz, 2 H), 3.80 - 3.74 (m, 4 H), 3.45 (br. s., 4 H), 2.98 (q, $J = 7.8$ Hz, 2 H), 1.50 - 1.45 (m, 14 H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 155.3, 154.7, 151.2, 151.2, 151.0, 138.2, 129.5, 128.9, 126.2, 125.4, 111.5, 79.7, 51.1, 44.7, 43.5, 28.4, 23.2, 12.1.

4.5.3. 2-Isopropyl-7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(fenylthio)-3H-imidazo[4,5-b]-pyridin (VII(a,C))



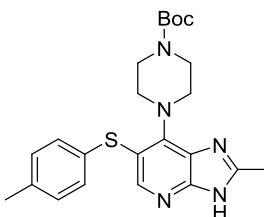
Bylo získáno 186 mg (tj. 82 %) bílé krystalické látky s bodem tání 228-230 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 454,08 $[M+H]^+$. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 8.28 (s, 1 H), 7.22 (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 7.12 (t, $J = 7.3$ Hz, 1 H), 7.09 - 7.06 (m, 2 H), 3.82 - 3.77 (m, 4 H), 3.46 (s, 4 H), 3.26 (td, $J = 7.0, 14.0$ Hz, 1 H), 1.49 (s, 3 H), 1.47 (s, 13 H). ^{13}C NMR (101MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 158.7, 154.4, 150.9, 150.8, 150.8, 137.8, 128.9, 128.6, 125.9, 125.1, 110.8, 79.3, 50.8, 44.4, 43.3, 29.3, 28.1, 21.1.

4.5.4. 2-Terbutyl-7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(fenylthio)-3H-imidazo[4,5-b]-pyridin (VII(a,D))



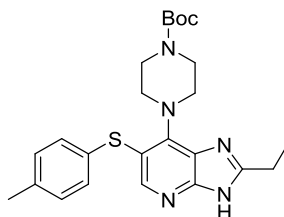
Byl získán produkt bílé barvy o hmotnosti 161 mg (tj. 69 %) s bodem tání 237-240 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 468,02 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 8.29 (s, 1 H), 7.22 (t, $J = 7.8$ Hz, 2 H), 7.12 (t, $J = 7.5$ Hz, 1 H), 7.08 (d, $J = 7.3$ Hz, 2 H), 3.82 (br. s., 4 H), 3.48 (br. s., 4 H), 1.51 (s, 9 H), 1.48 (s, 9 H). ^{13}C NMR (101MHz, $CHLOROFORM-d$) $\delta = 161.3, 154.8, 151.5, 151.3, 151.1, 138.3, 128.9, 126.2, 125.4, 110.5, 79.7, 51.0, 44.6, 43.8, 33.7, 29.3, 28.4$.

4.5.5. 2-methyl-7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(p-tolylthio)-3H-imidaz-[4,5-b]-pyridin (VII(b,A))



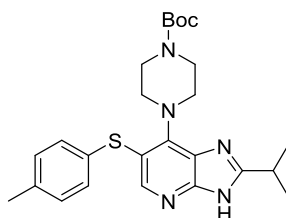
Bylo získáno 73 mg (tj. 33 %) produktu bílé barvy s teplotou tání 236-239 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 440,10 $[M+H]^+$. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 8.24 (s, 1 H), 7.04 (d, $J = 7.8$ Hz, 2 H), 6.98 (d, $J = 7.8$ Hz, 2 H), 3.75 (br. s., 4 H), 3.47 (br. s., 4 H), 2.64 (s, 3 H), 2.29 (s, 3 H), 1.46 (s, 9 H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 154.7, 151.0, 151.0, 150.6, 150.2, 135.4, 134.4, 129.7, 126.6, 112.5, 79.7, 51.2, 44.6, 43.4, 28.4, 20.9, 15.6.

4.5.6. 2-ethyl-7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(p-tolylthio)-3H-imidazo[4,5-b]-pyridin (VII(b,B))



Bylo získáno 104 mg (tj. 46 %) produktu bílé barvy o teplotě tání 244-247 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 454,02 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 8.24 (s, 1 H), 7.06 - 6.97 (m, 4 H), 3.80 - 3.73 (m, 4 H), 3.48 (br. s., 4 H), 2.97 (q, $J = 7.8$ Hz, 2 H), 2.29 (s, 3 H), 1.49 - 1.44 (m, 12 H). ^{13}C NMR (101MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 155.3, 154.7, 151.0, 150.7, 135.4, 134.4, 129.7, 129.5, 126.7, 112.3, 79.7, 51.1, 44.7, 43.6, 28.4, 23.2, 20.9, 12.1.

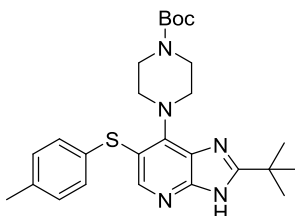
4.5.7. 2-Isopropyl-7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(p-tolylthio)-3H-imidazo[4,5-b]-pyridin (VII(b,C))



Bylo získáno 168 mg (tj. 72 %) krystalického produktu bílé barvy s teplotou tání 256-258 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 468,05 $[M+H]^+$. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 8.24 (s, 1 H), 7.04 (d, $J = 8.3$ Hz, 2 H), 7.01 - 6.98 (m, 2 H), 3.83 - 3.73 (m, 4 H), 3.49 (br. s., 4 H), 3.25 (spt, $J = 7.0$ Hz, 1 H), 2.29 (s, 3 H), 1.49 - 1.44 (m, 15 H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 159.0, 154.8, 151.0, 150.9, 150.7, 135.4, 134.4, 129.7, 129.2, 126.8, 112.1, 79.7, 51.1, 44.7, 43.6, 29.6, 28.4, 21.4, 20.9.

4.5.8. 2-Terbutyl-7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(p-tolylthio)-3H-imidazo[4,5-b]-pyridin (XII(b,D))

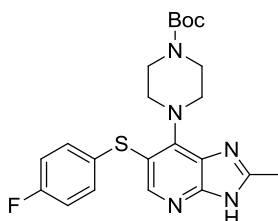
V průběhu 3 denní reakce došlo ke vzniku mnoha nečistot, které nebyly izolačními ani čistícími kroky odstraněny. Proto byla provedena sloupcová chromatografie. Jako stacionární fáze byl použit silikagel a jako fáze mobilní byla použita směs rozpouštědel acetonitril:chloroform (1:12).



Bylo získáno 152 mg (tj. 63 %) krystalického produktu bílé barvy s bodem tání 248-252 °C. LC-MS čistota: 95 %. MS (m/z): 482,15 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 8.25 (s, 1 H), 7.04 (d, $J = 8.3$ Hz, 2 H), 7.00 (d, $J = 8.3$ Hz, 2 H), 3.82

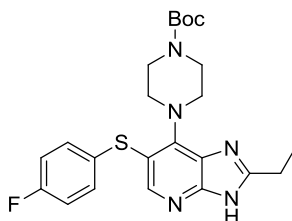
(br. s., 4 H), 3.55 - 3.45 (m, 4 H), 2.30 (s, 3 H), 1.50 (s, 9 H), 1.48 (s, 9 H). ^{13}C NMR (101MHz, CDCl_3-d) δ ppm 161.3, 154.8, 151.1, 151.1, 150.8, 135.4, 134.5, 129.7, 128.8, 126.7, 111.3, 79.7, 51.0, 44.7, 43.8, 33.7, 29.3, 28.4, 20.9.

4.5.9. 2-Methyl-7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(4-fluorfenylthio)-3H-imidazo-[4,5-b]pyridin (**VII(c,A)**)



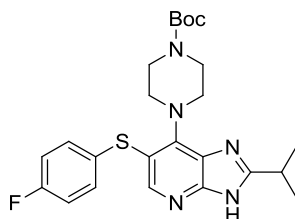
Bylo získáno 127 mg (tj. 59 %) krystalického produktu bílé až béžové barvy s teplotou tání 226-230 °C. LC-MS čistota: 97 %. MS (m/z): 444 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3-d) δ ppm 8.23 (s, 1 H), 7.09 - 7.02 (m, 2 H), 6.94 (t, $J = 1.0$ Hz, 2 H), 3.79 - 3.69 (m, 4 H), 3.47 (br. s., 4 H), 2.64 (s, 3 H), 1.47 (s, 9 H). ^{13}C NMR (101MHz, CDCl_3-d) δ ppm 160.9, 154.4, 150.6, 150.5, 150.1, 149.9, 132.5, 129.4, 128.1, 115.8, 112.4, 79.5, 50.9, 44.2, 43.2, 28.1, 15.3.

4.5.10. 2-Ethyl-7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(4-fluorfenylthio)-3H-imidazo-[4,5-b]pyridin (**VII(c,B)**)



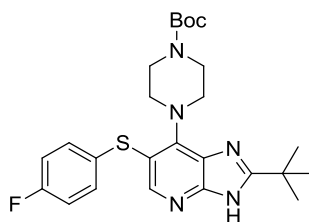
Bylo získáno 117 mg (tj. 51%) bílé krystalické látky s bodem tání 234-238 °C. LC-MS čistota: 96 %. MS (m/z): 458,22 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3-d) δ ppm 8.22 (s, 1 H), 7.07 (dd, $J = 5.2, 8.8$ Hz, 2 H), 6.94 (t, $J = 8.6$ Hz, 2 H), 3.80 - 3.73 (m, 4 H), 3.48 (br. s., 4 H), 2.98 (q, $J = 7.8$ Hz, 2 H), 1.49 - 1.44 (m, 13 H). ^{13}C NMR (101MHz, CDCl_3-d) δ ppm 161.3, 155.4, 154.7, 150.9, 150.7, 150.2, 132.8, 129.5, 128.5, 116.1, 112.5, 79.8, 51.2, 44.8, 43.5, 28.4, 23.2, 12.1.

**4.5.11. 2-Isopropyl-7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(4-fluorfenylthio)-3H-imidazo-
[4,5-b]pyridin (VII(c,C))**



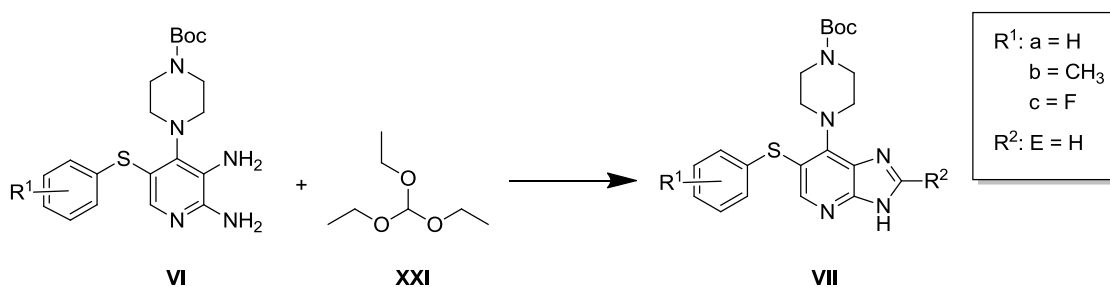
Bylo získáno 97 mg (tj. 41 %) bílé krystalické látky s bodem tání 243-247 °C. LC-MS čistota: 97 %. MS (m/z): 472,17 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 8.19 (s, 1 H), 7.08 (dd, $J = 5.3, 8.5$ Hz, 2 H), 7.00 - 6.91 (m, 2 H), 3.81 (br. s., 4 H), 3.50 (br. s., 4 H), 3.25 (td, $J = 6.9, 13.7$ Hz, 1 H), 1.52 - 1.45 (m, 16 H). ^{13}C NMR (101MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 161.5, 159.0, 154.7, 151.3, 148.5, 148.4, 132.2, 129.0, 128.2, 116.2, 112.4, 79.9, 51.2, 44.4, 43.7, 29.4, 28.4, 21.2.

**4.5.12. 2-Terbutyl-7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(4-fluorfenylthio)-3H-imidazo-
[4,5-b]pyridin (VII(c,D))**



Bylo získáno 129 mg (tj. 53 %) krystalického produktu bílé až šedivé barvy s teplotou tání 243-248 °C. LC-MS čistota: 95 %. MS (m/z): 486,2 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 8.22 (s, 1 H), 7.06 (dd, $J = 5.2, 8.8$ Hz, 2 H), 6.93 (t, $J = 8.8$ Hz, 2 H), 3.80 (br. s., 4 H), 3.49 (br. s., 4 H), 1.50 (s, 9 H), 1.48 (s, 9 H). ^{13}C NMR (101MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 161.3, 154.7, 150.9, 150.8, 150.4, 150.2, 132.8, 129.7, 128.5, 116.1, 112.8, 79.8, 51.3, 44.5, 43.6, 28.4, 26.9, 15.6.

**4.6. Příprava 7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(thioaryl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridinu
(VII)**

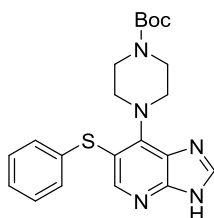


Obecný postup:

2,3-Diamino-4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-(thioaryl)pyridin (**VI**) (0,4 mmol) byl rozpuštěn v orthomravenčnanu ethylnatém (1,5 ml). Tato reakční směs byla míchána a při teplotě 50-55 °C po dobu 18-21 h.

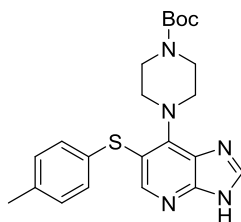
Po ochlazení reakční směsi byla suspenze zfiltrována, promyta vodou a ponechána schnout na vzduchu.

4.6.1. 7-4-(Boc-piperazin-1-yl)-6-(fenylthio)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin (VII(a,E))



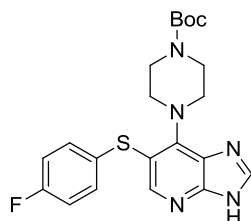
Bylo připraveno 89 mg (tj. 54 %) bílého až béžového, krystalického produktu s bodem tání 210-213 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 412,12 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 8.40 (s, 1 H), 8.08 (s, 1 H), 7.23 (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 7.13 (t, $J = 7.3$ Hz, 1 H), 7.08 (d, $J = 7.8$ Hz, 2 H), 3.86 - 3.80 (m, 4 H), 3.52 - 3.45 (m, 4 H), 1.46 (s, 9 H). ^{13}C NMR (101MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 154.7, 152.8, 152.2, 149.8, 139.5, 138.0, 129.0, 128.7, 126.3, 125.6, 111.4, 79.8, 51.2, 44.5, 43.6, 28.4.

4.6.2. 7-(4-Boc-piperazin-1-yl)-6-(p-tolylthio)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin (VII(b,E))



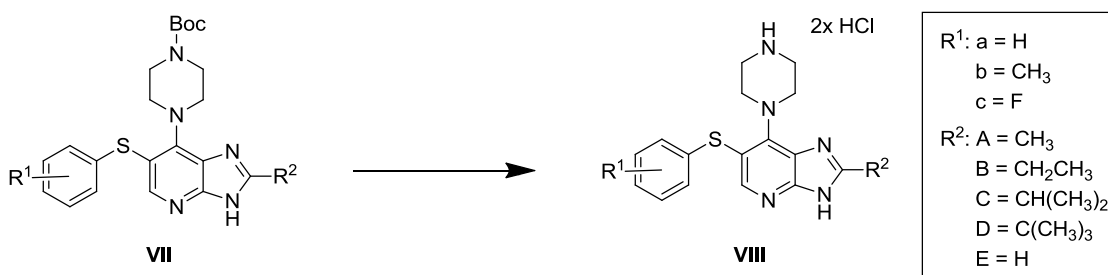
Bylo připraveno 89 mg (tj. 52 %) krystalického produktu bílé barvy s bodem tání 217-220 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 426,14 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 8.37 (s, 1 H), 8.07 (s, 1 H), 7.03 (t, $J = 1.0$ Hz, 5 H), 3.87 - 3.78 (m, 4 H), 3.54 - 3.47 (m, 4 H), 2.30 (s, 3 H), 1.47 (s, 10 H). ^{13}C NMR (101MHz, $CDCl_3-d$) δ ppm 154.7, 152.4, 151.9, 149.6, 139.5, 135.6, 134.2, 129.8, 128.7, 126.9, 112.4, 79.8, 51.2, 44.7, 43.5, 28.4, 20.9

**4.6.3. 7-(4-Boc-piperazin-1-yl)-6-(4-fluorfenylthio)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin
(VII(c,E))**



Bylo připraveno 115 mg (tj. 67 %) krystalického produktu bílé barvy s bodem tání 215-219 °C. LC-MS čistota: 98 %. MS (m/z): 430,18 [M+H]⁺. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d) δ ppm 8.36 (br. s., 1 H), 8.08 (s, 1 H), 7.09 (dd, J = 4.7, 8.8 Hz, 2 H), 6.95 (t, J = 8.8 Hz, 2 H), 3.82 (t, J = 1.0 Hz, 4 H), 3.51 (t, J = 1.0 Hz, 4 H), 1.47 (s, 9 H). ¹³C NMR (101MHz, CDCl₃-d) δ ppm 161.4, 154.7, 151.9, 149.3, 139.6, 132.6, 128.7, 116.2, 79.9, 51.2, 44.7, 43.6, 28.4.

4.7. Příprava 7-(piperazin-1-yl)-6-(thioaryl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin hydrochloridu (VIII)



Obecný postup:

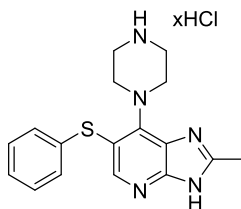
4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-(thioaryl)3H-imidazo[4,5-b]-pyridin (**VII**) (0,2 mmol) byl suspendován v suchém ethanolu (1 ml). Do suspenze byl přidán nasycený roztok plynného chlorovodíku v ethanolu (1 ml) za vzniku roztoku. Reakční směs byla následně míchána při laboratorní teplotě po dobu 18 až 24 h.

Vzniklá suspenze byla zfiltrována a promyta etherem. Produkt byl ihned z filtru přenesen do vialky, kde byl rozpuštěn ve vodě. Roztok byl zmrazen a po dobu 2-4 dní lyofilizován.

V případě, že nevznikla suspenze byla rozpouštědla z reakční směsi odpařena na RVO (**VIII(c,B)**).

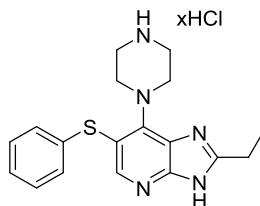
Výtěžky jsou počítány na dihydrochlorid.

4.7.1. 2-Methyl-6-(fenylthio)-7-(piperazin-1-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin hydrochlorid (VIII(a,A))



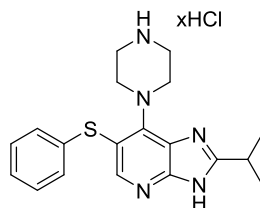
Bylo získáno 57 mg (tj. 72 %) krystalického produktu bílé barvy s bodem tání 168 – 171 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 325,97 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9.67 (br. s., 2 H), 8.33 (s, 1 H), 7.30 (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 7.21 (t, $J = 7.3$ Hz, 1 H), 7.11 (d, $J = 7.3$ Hz, 2 H), 3.96 - 3.78 (m, 4 H), 3.07 (br. s., 4 H), 2.70 (s, 3 H). ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ ppm 154.2, 149.3, 148.6, 148.1, 136.4, 129.5, 126.7, 126.3, 123.2, 113.8, 47.4, 42.9, 14.1.

4.7.2. 2-Ethyl-6-(fenylthio)-7-(piperazin-1-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin hydrochlorid (VIII(a,B))



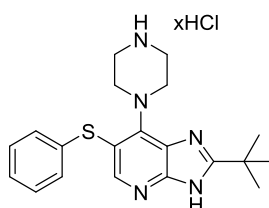
Byl získán produkt bílé barvy o hmotnosti 35 mg (tj. 42 %) s bodem tání 162-165 °C. LC-MS čistota: 97 %. MS (m/z): 340,00 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9.71 (br. s., 2 H), 8.33 (s, 1 H), 7.30 (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 7.21 (t, $J = 7.3$ Hz, 1 H), 7.12 (d, $J = 7.3$ Hz, 2 H), 3.98 - 3.83 (m, 4 H), 3.15 - 2.98 (m, 6 H), 1.36 (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H). ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ 158.8, 149.1, 148.8, 148.1, 136.5, 129.5, 126.6, 126.3, 123.4, 113.4, 47.4, 42.9, 21.4, 11.9.

4.7.3. 2-Isopropyl-6-(fenylthio)-7-(piperazin-1-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin hydrochlorid (VIII(a,C))



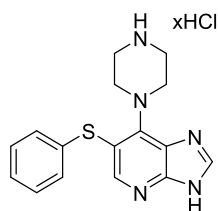
Bylo získáno 66 mg (tj. 77 %) krystalického produktu bílé barvy s bodem tání 196 – 198 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 353,98 $[M+H]^+$. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9.72 (br. s., 2 H), 8.32 (s, 1 H), 7.30 (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 7.20 (t, $J = 7.3$ Hz, 1 H), 7.11 (d, $J = 7.3$ Hz, 2 H), 3.99 - 3.86 (m, 4 H), 3.43 (td, $J = 6.7$, 13.5 Hz, 1 H), 3.08 (br. s., 4 H), 1.39 (d, $J = 6.7$ Hz, 6 H). ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ ppm 162.3, 149.6, 148.2, 136.5, 129.5, 126.5, 126.2, 123.7, 112.6, 47.5, 42.8, 28.1, 20.9.

4.7.4. 2-Tercbutyl-6-(fenylthio)-7-(piperazin-1-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin hydrochlorid (VIII(a,D))



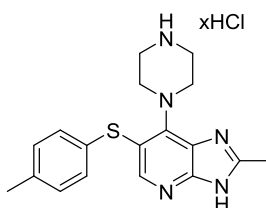
Bylo získáno 73 mg (tj. 83 %) krystalického produktu bílé barvy s bodem tání 175-178 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 367,99 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9.61 (br. s., 2 H), 8.22 (s, 1 H), 7.28 (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 7.18 (t, $J = 7.3$ Hz, 1 H), 7.08 (d, $J = 7.3$ Hz, 2 H), 4.00 - 3.92 (m, 4 H), 3.08 (br. s., 4 H), 1.43 (s, 9 H). ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ ppm 150.1, 148.5, 137.0, 129.3, 126.2, 126.0, 111.0, 47.6, 43.0, 33.6, 28.7.

4.7.5. 6-Fenylthio-7-(piperazin-1-yl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin hydrochlorid (VIII(a,E))



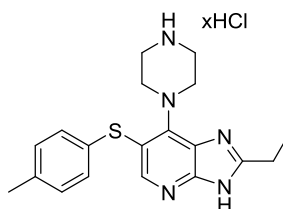
Bylo získáno 62 mg (tj. 81 %) krystalického produktu bílé barvy s teplotou tání 178-180 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 312,07 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9.79 (br. s., 2 H), 8.71 (s, 1 H), 8.37 (s, 1 H), 7.30 (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 7.20 (t, $J = 7.3$ Hz, 1 H), 7.12 (d, $J = 7.3$ Hz, 2 H), 4.06 - 3.89 (m, 4 H), 3.09 (br. s., 4 H). ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ ppm 50.6, 149.1, 147.4, 143.4, 136.4, 129.5, 126.6, 126.3, 124.6, 112.0, 47.5, 42.9.

4.7.6. 2-methyl-7-(piperazin-1-yl)-6-(p-tolylthio)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin hydrochlorid (VIII(b,A))



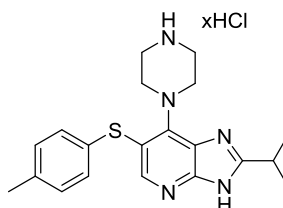
Bylo získáno 41 mg (tj. 50 %) produktu bílé barvy s bodem tání 165-168 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 339,96 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9.69 (br. s., 2 H), 8.26 (s, 1 H), 7.13 (d, $J = 8.3$ Hz, 2 H), 7.05 (d, $J = 8.3$ Hz, 2 H), 3.91 - 3.82 (m, 4 H), 3.11 (br. s., 4 H), 2.70 (s, 3 H), 2.25 (s, 3 H). ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ ppm 154.3, 148.7, 148.3, 147.7, 136.2, 132.5, 130.2, 127.6, 122.9, 115.0, 47.4, 42.9, 20.6, 14.1.

4.7.7. 2-ethyl-7-(piperazin-1-yl)-6-(p-tolylthio)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin hydrochlorid (VIII(b,B))



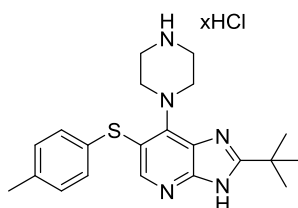
Byl získán krystalický produkt bílé barvy o hmotnosti 65 mg (tj. 76 %) s bodem tání 171-173 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 363,96 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9.73 (br. s., 2 H), 8.28 (s, 1 H), 7.13 (d, $J = 8.3$ Hz, 2 H), 7.06 (d, $J = 8.3$ Hz, 2 H), 3.99 - 3.80 (m, 4 H), 3.12 (br. s., 4 H), 3.04 (q, $J = 7.8$ Hz, 2 H), 2.25 (s, 3 H), 1.36 (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H). ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ ppm 158.9, 148.8, 148.1, 147.7, 136.1, 132.6, 130.1, 127.5, 123.1, 114.5, 47.4, 42.9, 21.4, 20.5, 11.9.

4.7.8. 2-Isopropyl-7-(piperazin-1-yl)-6-(p-tolylthio)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin hydrochlorid (VIII(b,C))



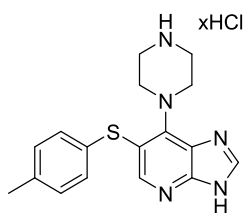
Bylo získáno 62 mg (tj. 70 %) krystalického produktu bílé barvy s teplotou tání 160-163 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 367,97 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9.75 (br. s., 2 H), 8.27 (s, 1 H), 7.13 (d, $J = 7.8$ Hz, 2 H), 7.06 (d, $J = 8.3$ Hz, 2 H), 3.94 (t, $J = 4.9$ Hz, 4 H), 3.53 - 3.38 (m, 1 H), 3.12 (br. s., 4 H), 2.25 (s, 3 H), 1.38 (d, $J = 6.7$ Hz, 6 H). ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ ppm 162.2, 149.3, 147.7, 147.5, 136.0, 132.7, 130.1, 127.4, 123.5, 113.7, 47.5, 42.8, 28.0, 20.9, 20.5.

4.7.9. 2-Tercbutyl-7-(piperazin-1-yl)-6-(p-tolylthio)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin hydrochlorid (VIII(b,D))



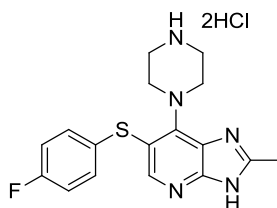
Bylo získáno 61 mg (tj. 67 %) produktu bílé barvy krystalické povahy s teplotou tání 178-181 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 382,12 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9.65 (br. s., 2 H), 8.17 (s, 1 H), 7.11 (d, $J = 1.0$ Hz, 2 H), 7.02 (d, $J = 1.0$ Hz, 2 H), 4.03 - 3.91 (m, 4 H), 3.11 (br. s., 4 H), 2.24 (s, 3 H), 1.43 (s, 9 H). ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ ppm 162.8, 149.9, 148.0, 147.9, 135.6, 133.2, 130.0, 126.9, 111.9, 47.6, 43.0, 33.6, 28.7, 20.5.

4.7.10. 7-(Piperazin-1-yl)-6-(p-tolylthio)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin hydrochlorid (VIII(b,E))



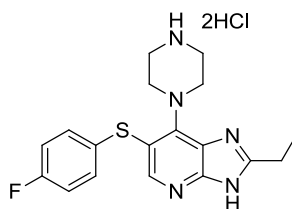
Bylo získáno 64 mg (tj. 80 %) krystalického produktu bílé barvy s teplotou tání 163-165 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 326,07 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9.76 (br. s., 2 H), 8.71 (s, 1 H), 8.32 (s, 1 H), 7.09 (t, $J = 1.0$ Hz, 4 H), 4.08 - 3.79 (m, 4 H), 3.12 (br. s., 4 H), 2.25 (s, 3 H). ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ ppm 150.3, 148.5, 147.2, 143.4, 136.0, 132.6, 130.1, 127.4, 124.5, 113.0, 47.5, 42.9, 20.5.

4.7.11. 2-Methyl-7-(piperazin-1-yl)-6-(4-fluorfenylthio)-3H-imidazo[4,5-b]-pyridin hydrochlorid (VIII(c,A))



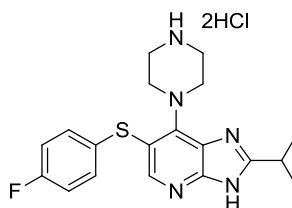
Bylo získáno 62 mg (tj. 75 %) krystalického produktu bílé barvy s teplotou tání 194-199 °C. LC-MS čistota: 98 %. MS (m/z): 344,10 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9.74 (br. s., 2 H), 8.32 (s, 1 H), 7.24 - 7.18 (m, 2 H), 7.18 - 7.13 (m, 2 H), 3.87 (t, $J = 1.0$ Hz, 4 H), 3.11 (br. s., 4 H), 2.71 (s, 3 H). ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ ppm 161.0, 154.4, 149.0, 148.3, 147.8, 131.7, 129.5, 122.8, 116.6, 114.8, 47.4, 42.9, 14.0.

4.7.12. 2-Ethyl-7-(piperazin-1-yl)-6-(4-fluorfenylthio)-3H-imidazo[4,5-b]-pyridin hydrochlorid (VIII(c,B))



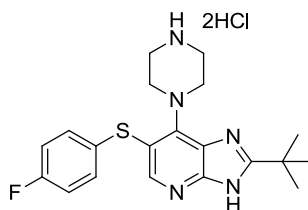
Bylo získáno 70 mg (tj. 81 %) krystalického produktu bílé barvy s teplotou tání 169-173 °C. LC-MS čistota: 98 %. MS (m/z): 358,13 $[M+H]^+$. 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9.68 (br. s., 2 H), 8.33 (s, 1 H), 7.23 - 7.18 (m, 1 H), 7.18 - 7.12 (m, 1 H), 3.95 - 3.83 (m, 4 H), 3.10 (br. s., 4 H), 3.04 (q, $J = 7.8$ Hz, 2 H), 1.36 (t, $J = 7.8$ Hz, 3 H). ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ ppm 160.8, 158.6, 148.6, 148.3, 147.9, 131.6, 129.2, 123.3, 116.3, 114.0, 47.3, 42.7, 21.2, 11.7.

4.7.13. 2-Isopropyl-7-(piperazin-1-yl)-6-(4-fluorfenylthio)-3H-imidazo[4,5-b]-pyridin hydrochlorid (VIII(c,C))



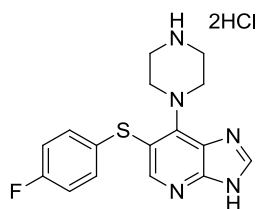
Bylo získáno 6 mg (tj. 7 %) bílého krystalického produktu s teplotou tání 168-177 °C. LC-MS čistota: 95 %. MS (m/z): 372,11 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9.68 (br. s., 2 H), 8.32 (s, 1 H), 7.23 - 7.18 (m, 2 H), 7.18 - 7.12 (m, 2 H), 3.97 - 3.87 (m, 4 H), 3.42 (td, $J = 6.7, 13.6$ Hz, 1 H), 3.11 (br. s., 4 H), 1.38 (d, $J=6.9$ Hz, 6 H).

4.7.14. 2-Tercbutyl-7-(piperazin-1-yl)-6-(4-fluorfenylthio)-3H-imidazo[4,5-b]-pyridin hydrochlorid (VIII(c,D))



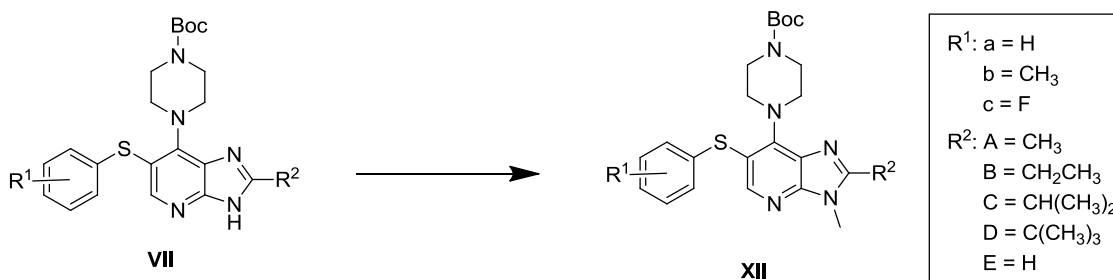
Bylo získáno 86 mg (tj. 94 %) krystalického produktu bílé barvy s bodem tání 189-192 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 386,18 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9.63 (br. s., 2 H), 8.21 (s, 1 H), 7.17 - 7.15 (m, 2 H), 7.15 - 7.11 (m, 2 H), 3.96 (br. s., 4 H), 3.10 (br. s., 4 H), 1.43 (s, 9 H). ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ ppm 160.8, 151.1, 149.9, 148.4, 148.1, 132.3, 128.9, 126.9, 116.4, 111.8, 47.6, 43.0, 33.6, 28.7.

4.7.15. 7-(Piperazin-1-yl)-6-(p-tolylthio)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin hydrochlorid (VIII(c,E))



Bylo získáno 75 mg (tj. 87 %) krystalického produktu bílé barvy s teplotou tání 166-170 °C. LC-MS čistota: 98 %. MS (m/z): 330,07 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9.70 (br. s., 2 H), 8.66 (s, 1 H), 8.35 (s, 1 H), 7.23 - 7.17 (m, 2 H), 7.17 - 7.12 (m, 2 H), 4.01 - 3.87 (m, 4 H), 3.11 (br. s., 4 H). ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ ppm 160.9, 150.1, 149.3, 147.8, 143.2, 131.8, 129.2, 125.1, 116.5, 112.7, 47.5, 42.9.

4.8. Příprava 2-alkyl-3-methyl-7-(4-boc-piperazin-1-yl)-6-(thioaryl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridinu (XII)

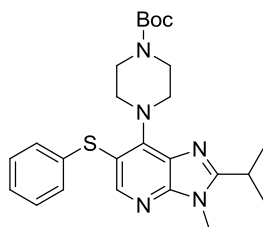


Obecný postup:

4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-(thioaryl)3H-imidazo[4,5-*b*]-pyridin (**VII**) (0,4 mmol) byl rozpuštěn v DMSO (3 ml). Následně bylo do roztoku přidáno methylační činidlo CH₃I (0,4 mmol) a báze BTTP (0,6 mmol). Poté byla reakční směs míchána 25 h při laboratorní teplotě.

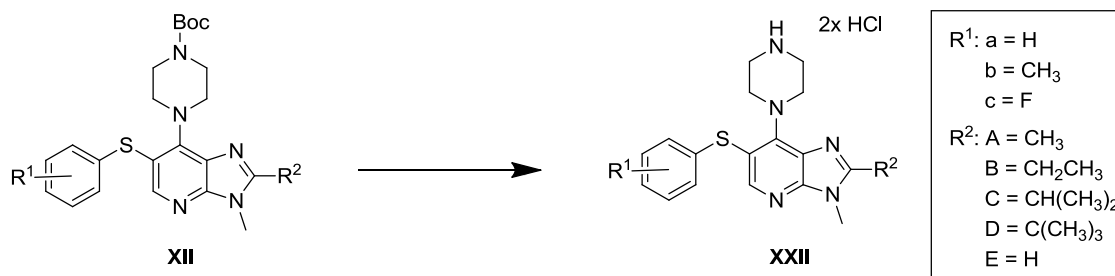
Do reakční směsi byla po kapkách přidána voda (2 ml) za vzniku suspenze. Suspenze byla poté 10 minut při laboratorní teplotě míchána a následně zfiltrována, promyta postupně vodou, cyklohexanem a ponechána na vzduchu uschnout.

4.8.1. 2-Isopropyl-3-methyl-7-(piperazin-1-yl)-6-(4-fluorfenylthio)-3H-imidazo[4,5-*b*]-pyridin hydrochlorid (**XII(a,C)**)



Bylo získáno 142 mg (tj. 76 %) krystalického produktu bílé barvy s bodem tání 118-121 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (*m/z*): 468,10 [M+H]⁺. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-*d*) δ ppm 8.27 (s, 1 H), 7.19 (t, *J* = 7.5 Hz, 2 H), 7.09 (t, *J* = 7.5 Hz, 1 H), 7.06 - 7.03 (m, 2 H), 3.78 (s, 3 H), 3.74 (br. s., 4 H), 3.45 (br. s., 4 H), 3.18 (quin, *J* = 6.7 Hz, 1 H), 1.47 (s, 9 H), 1.42 (d, *J* = 6.7 Hz, 6 H). ¹³C NMR (101MHz, CDCl₃-*d*) δ ppm 157.7, 154.8, 152.4, 150.7, 138.5, 129.0, 128.8, 126.2, 125.2, 111.3, 79.6, 51.0, 44.7, 43.5, 28.4, 28.3, 27.0, 20.8.

4.9. Příprava 3-methyl-7-(piperazin-1-yl)-6-(thioaryl)-3H-imidazo[4,5-b]pyridin hydrochloridu (XXII)

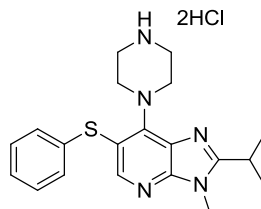


Obecný postup:

4-(4-boc-piperazin-1-yl)-3-methyl-5-(thioaryl)3H-imidazo[4,5-b]pyridin (0,2 mmol) byl suspendován v suchém ethanolu (1 ml). Do suspenze byl přidán nasycený roztok plynného chlorovodíku v ethanolu (1 ml) za vzniku roztoku. Reakční směs byla následně míchána při laboratorní teplotě po dobu 18 h.

Rozpouštědlo bylo po ukončení reakce odpařeno na RVO. Produkt byl rozpuštěn ve vodě, zmražen a lyofilizován.

4.9.1. 2-Isopropyl-6-(fenylthio)-3methyl-7-(piperazin-1-yl)-3H-imidazo[4,5-b]-pyridin hydrochlorid (XXII(a,C))



Bylo získáno 86 mg (tj. 98 %) krystalického produktu bílé barvy s teplotou tání 119-123 °C. LC-MS čistota: 99 %. MS (m/z): 368,10 [M+H]⁺. ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 9.59 (br. s., 2 H), 8.23 (s, 1 H), 7.27 (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 7.16 (t, $J = 7.3$ Hz, 1 H), 7.08 - 7.02 (m, 2 H), 4.00 - 3.86 (m, 4 H), 3.80 (s, 3 H), 3.35 (spt, $J = 6.7$ Hz, 1 H), 3.07 (br. s., 4 H), 1.35 (d, $J = 6.7$ Hz, 6 H). ¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 159.0, 150.2, 149.5, 148.9, 137.2, 129.2, 127.0, 126.2, 125.8, 111.6, 47.6, 43.0, 28.7, 26.0, 20.6.

5. ZÁVĚR

V úvodní části diplomové práce jsou krátce shrnuty informace o centrální nervové soustavě a blíže rozebrána problematika 5-hydroxytyrosinových (serotoninových) receptorů. Dále je v této části detailně přiblíženo léčivo Vortioxetin včetně jeho syntézy, jakožto nové antidepresivum působící na serotoninové receptory. V neposlední řadě jsou zde zmíněny možnosti příprav 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinů jakožto látek s širokým farmakologickým potenciálem.

Cílem této práce byla syntéza nových derivátů imidazo[4,5-*b*]pyridinů se strukturním motivem kombinující léčivo Vortioxetin a 7-amino-3-alkyl-imidazo[4,5-*b*]pyridiny s již částečně prokázanou aktivitou na CNS.

Pro přípravu cílových sloučenin byly navrženy dvě možné syntetické cesty, které byly současně testovány. Finální imidazopyridiny se nakonec podařilo připravit jednou z těchto cest, konkrétně pětistupňovou syntézou, nezapočítáme-li přípravu boc-piperazinu.

V prvním kroku byl připraven 2-amino-4-(4-boc-piperazin-1-yl)-5-brom-3-nitropyridin (**II**) ve vysoké čistotě 99% (LCMS) s výtěžkem 98 %. Přestože byl druhý stupeň obávaným místem navržené syntetické cesty, byla nakonec substituce Br za thiofenol úspěšně provedena v přítomnosti NaOH při 80 -125 °C v DMSO. V návrhu syntézy bylo i použití 2,4-dimethylthiofenolu, který by se nejvíce strukturně přiblížil Vortioxetinu. Nicméně vzhledem k jeho ceně, byla práce s ním odložena, dokud nebudou všechny kroky plně zoptimalizovány, z časových důvodů však tento thiofenol nebyl použit. Dalším krokem syntézy byla redukce nitroskupiny, která byla zpočátku problematická, neboť ve velkém množství vznikal vedlejší produkt s pravděpodobnou strukturou **9**. Bylo vyzkoušeno několik variant redukcí a nakonec se povedlo najít vhodnou metodu pomocí dithioničitanu v prostředí vodného ethanolu, kde nežádoucí produkt sice také vznikal, ale v minimálním množství. V předposledním stupni se diaminopyridiny **VI** kondenzovali s alifatickými aldehydy za vzniku požadovaných imidazopyridinových heterocyklů **VII**. Finálním krokem byla deprotektce všech připravených intermediátů **VII** za vzniku cílových sloučenin **VIII** ve formě dihydrochloridů. Množství vázaného HCl v produktu bylo dokázáno pomocí titrace finálního produktu roztokem hydroxidu s potenciometrickou indikací bodů ekvivalence.

Dále se podařilo u vybrané sloučeniny **XII(a,C)** přidat další diverzní místo, a to přímou alkylací (methylací) v poloze *N3* za vzniku sloučeniny **XII**, která byla následně deprotektována **XXII**.

Navrženým postupem s optimalizovanými podmínkami jednotlivých kroků se připravilo připravit celkem 39 nových látek z toho bylo 16 látek finálních. Připravené látky byly plně charakterizovány pomocí LC-MS, ¹H a ¹³C NMR a bodu tání. V současné době byly tyto látky odeslány na testování.

6. ZDROJE

1. DRUGA, Rastislav, Miloš GRIM a Petr DUBOVÝ. *Anatomie centrálního nervového systému*. Praha: Galén, c2011. ISBN 978-80-7262-706-6.
2. GANONG, William F. *Přehled lékařské fyziologie*. 20. vyd. Přeložil Jan HERGET, přeložil Karel RAKUŠAN. Praha: Galén, c2005. ISBN 80-7262-311-7
3. TROJAN, Stanislav. *Lékařská fyziologie*. Vyd. 4., přeprac. a dopl. Praha: Grada Publishing, 2003. ISBN 8024705125
4. FONTANA, Josef, Jan TRNKA. fblt. *skripta*. [online]. [2016] [cit. 2016-04-16]. Dostupné z: <http://fblt.cz/skripta/regulacni-mechanismy-2-nervova-regulace/5-neurotransmisni-systemy/>
5. LINCOVÁ, Dagmar a Hassan FARGHALI. *Základní a aplikovaná farmakologie*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, c2007. ISBN 978-80-7262-373-0.
6. LÜLLMANN, Heinz, Klaus MOHR a Martin WEHLING. *Farmakologie a toxikologie*. Vyd. 2. české. Přeložil Elfrída MÜHLBACHOVÁ, přeložil Maxmilián WENKE. Praha: Grada Publishing, 2004. ISBN 80-247-0836-1
7. Barnes, N. M.; Neumaier, J. F.: *Tocris bioscience scientific review series* **2011**, 34, 1.
8. Hoyer, D.; Hannon, J. P.: *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **2002**, 71(4), 533.
9. Pytliak, M.; Vargová, V.: *Physiological Research* **2011**, 60(1), 15.
10. Pauwels, P. J.: *Neuropharmacology* **2003**, 38, 1083.
11. Barnes, N. M.; Sharp, T.: *Neuropharmacology* **1999**, 38(8), 1083.
12. Leysen, J.: *Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders* **2004**, 3(1), 11.
13. Bétry, C.; Etiévant, A.: *Pharmaceuticals* **2011**, 4(4), 603.
14. Kilpatrick, G. J.; Bunce, K. T.: *Medicinal Research Reviews* **1990**, 10(4), 441.
15. Lummis, S. C.: *Journal of Biological Chemistry* **2012**, 287(48), 40239.
16. Lundbeck Česká republika s.r.o.. Brintelix 10MG. *SÚKL*. [online]. ©2010 [cit. 2016-04-26]. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0194732&tab=info>

17. TAKEDA PHARMS USA. Drugs@FDA. *FDA Approved Drugs Product*. [online]. 26.4.2016 [cit. 2016-04-26]. Dostupné z: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm?fuseaction=Search.DrugDetails>
18. Látalová, K.; *Remedia* **2014**, 3(24), 226.
19. D'Agostino, A.; English, C. D.: *Pharmacy and Therapeutics* **2015**, 40(1), 36.
20. ZUPANCIC B., Lek Pharmaceuticals D.D., WO2015155153 A1. 2015-10-15.
21. CHRISTENSEN K., H. Lundbeck A/S, WO2013102573 A1. 2013-07-11.
22. ZUPANCIC B., Lek Pharmaceuticals D.D., WO2014161976 A1. 2014-10-09.
23. STENSBØL T., MILLER S., H. Lundbeck A/S, WO2008113360 A2. 2008-09-25.
24. ROCK M., BRANDES S., H. Lundbeck A/S, US8362255 B2. 2013-01-29.
25. Lemrová, B.; Smyslová, P.: *ACS Combinatorial Science* **2014**, 16(10), 558.
26. Lavanya P.; Suresh, M.: *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* **2011**, 4(4), 69.
27. Hranjec, M.; Lučić, B.: *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, 46(7), 2748.
28. Hameed P, S.; Chinnapattu, M.: *Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, 57(13), 5702.
29. Kale, R. P.; Shaikh, M. U.: *Tetrahedron Letters* **2009**, 50(16), 1780.
30. Harer S.; Bhatia M.: *Chemical Science Transactions* **2015**, 4(1), 1
31. Temple Jr, C.; Rose, J. D.: *Journal of Medicinal chemistry* **1987**, 30(10), 1746.
32. Chang, L. C. W.; von Frijtag Drabbe Künzel, J. K.: *Journal of Medicinal Chemistry* **2007**, 50(4), 828.
33. Senanayake, C. H.; Fredenburgh, L. E.: *Tetrahedron Letters* **1994**, 35(32), 5775.
34. Mujumdar, P.; Grkovic, T.: *Tetrahedron Letters* **2013**, 54(26), 3336.
35. Rosenberg, A. J.; Zhao, J.: *Organic Letters* **2012**, 14(7), 1764.
36. Sajith, A. M.; Muralidharan, A.: *Tetrahedron Letters*; **2012**, 53(9), 1036.
37. Aziz, J.; Baladi, T.: *The Journal of Organic Chemistry* **2016**, XX(X), XXXX.
38. Yu, X.-M.; Ramiandrasoa, F.: *ChemMedChem* **2012**, 7(4), 587.
39. AHMAD N. Vertex Pharmaceuticals Incorporated, WO2014089379 A9. 2015-01-15.
40. Häger, M.; Holmberg, K.: *Chemistry – A European Journal* **2004**, 10(21), 5460.

41. SLOUKA, Jan, Iveta FRYŠOVÁ a Pavel HRADIL. *Stručný přehled organické chemie ve formě reakčních schémat*. Olomouc: Univerzita Palackého, 2006. ISBN 80-244-1314-0.
42. Ausín, C.; Ortega, J.-A.: *Organic Letters* **2002**, 4(23), 4073.
43. Lee, Y-S.; Cho, Y-H.: *Tetrahedron* **2015**, 71(4), 532.
44. Rajabi. F.: *Catalyst Letters* **2015**, 145(8), 1566.
45. Naeimi. H.; Zahra. B.: *Letters in Organic chemistry* **2015**, 12(5), 311.
46. SAUNDERS J. Agios Pharmaceuticals, Inc, WO2011002817 A1. 2011-01-06.
47. Jančář, Luděk. Analytická chemie-odměrná analýza. *Pedagogická fakulta, Masarykova Univerzita*. [online]. @2007 [cit. 2016-05-10]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/pdf/js10/chemie/web/pages/prvniderivace.html>
48. Jahnke, M. C.; Brackemeyer, D.: *Heteroatom Chemistry* **2011**, 22(3-4), 476.
49. TANIGUCHI T. Takeda Pharmaceutical, WO2011163355 A1. 2011-12-29.