

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Katedra organické chemie



Klára HEKELOVÁ

**Syntéza nových derivátů 1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu a
3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu na pevné fázi**

Bakalářská práce

Studijní obor: Bioorganická chemie B1407

Vedoucí práce: Mgr. Barbora Lemrová, Ph.D.
Konzultant práce: Mgr. Veronika Fülöpová, Ph.D.

Olomouc 2016

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

V Olomouci, dne 15. 5. 2016

.....
Klára Hekelová

Chtěla bych zde z celého srdce poděkovat Mgr. Barboře Lemrové, Ph.D. za to, že mi byla skvělou vedoucí, za její nesmírnou vstřícnost, podporu, cenné rady, odborný dohled, pomoc se zpracováním výsledků a v neposlední řadě též za velkou míru trpělivosti. Nemenší dík patří také Mgr. Veronice Fülöpové, Ph.D. za dlouhé hodiny, kdy mi byla po ruce v laboratoři i za její povzbudivá slova. Jsem také vděčna všem ostatním pracovníkům Ústavu molekulární a translační medicíny, kteří mi v průběhu vypracování zadaného úkolu pomáhali. Děkuji však také své rodině a přátelům, jejichž podpora sehrála neopomenutelnou roli.

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: Klára Hekelová
Název práce: Syntéza nových derivátů 1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu a 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu na pevné fázi
Typ práce: Bakalářská
Pracoviště: Ústav molekulární a translační medicíny
Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci
Školitel: Mgr. Barbora Lemrová, Ph.D.
Konzultant: Mgr. Veronika Fülöpová, Ph.D.
Rok obhajoby práce: 2016
Abstrakt:

Bakalářská práce se zabývá použitím syntézy na pevné fázi pro přípravu nových derivátů „deazapurinu“, konkrétně derivátů 1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu a 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu se dvěma diverzními místy. Jako výchozích látek je užito 3-fluor-2-nitropyridinu nebo 2-chlor-3-nitropyridinu, vhodných aminů a aldehydů. Cílem práce bylo prověřit navrženou syntetickou cestu, případně optimalizovat potřebné kroky a připravit konečné produkty pro biologické testování.

Klíčová slova: deazapurin, imidazopyridin, syntéza na pevné fázi, pyridin

Počet stran: 50

Jazyk: Čeština

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Klára Hekelová
Title: Solid-phase synthesis of new 1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine and 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine derivatives
Type of thesis: Bachelors
Department: Institute of Molecular and Translational Chemistry
Faculty of Science of Palacký University Olomouc
Advisor: Mgr. Barbora Lemrová, Ph.D
Advisor-consultant: Mgr. Veronika Fülöpová, Ph.D.
The year of presentation: 2016
Abstract:

The bachelor degree work concerns an usage of solid phase synthesis for a preparation of new 'deazapurine' derivatives, particularly derivatives of 1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine and 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine with two diverse positions. 3-fluoro-2-nitropyridine or 2-chloro-3-nitropyridine, suitable amines and aldehydes were used as building blocks. The aim of the work was to verify a suggested synthetic pathway, optimize its steps, if necessary and prepare the target compounds for biological screening.

Keywords: deazapurine, imidazopyridine, solid phase synthesis, pyridine
Number of pages: 50
Language: Czech

Obsah

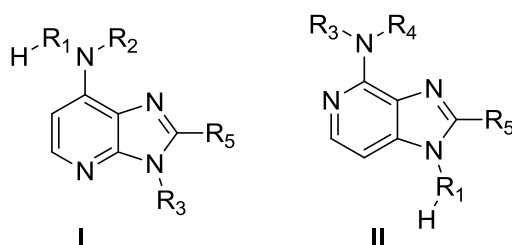
1. Úvod.....	8
2. Cíl práce	9
3. Teoretická část.....	10
3.1. Příprava derivátů 1 <i>H</i> - a 3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]pyridinu	10
3.1.1. Deriváty připravené kondenzací pyridinového kruhu	10
3.1.2. Deriváty připravené kondenzací imidazolového kruhu.....	14
3.1.3. Deriváty připravené dekoracemi imidazopyridinu	15
3.1.4. Deriváty připravené molekulovými přesmyky	17
3.1.5. Deriváty připravené syntézou na pevné fázi.....	18
3.2. Biologická aktivita 1 <i>H</i> - a 3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]pyridinu	23
3.2.1. Antihistaminická aktivita.....	23
3.2.2. Analgetická aktivita.....	24
3.2.3. Protizánětlivá aktivita	24
3.2.4. Cytotoxická aktivita.....	25
3.2.5. Antikonvulzivní aktivita.....	25
3.2.6. Antipsychotická aktivita.....	26
3.2.7. Antituberkulotická aktivita.....	26
3.2.8. Antihypertenzivní aktivita	26
4. Výsledky a diskuze.....	27
4.1. Imobilizace aminu	29
4.1.1. Ukotvení 2-(Fmoc-amino)ethanolu na Wangovu pryskyřici.....	29
4.1.2. Ukotvení 1,3-diaminopropanu na Wangovu pryskyřici	30
4.1.3. Ukotvení Fmoc-Ala-OH a Fmoc-β-Ala-OH na Wangovu pryskyřici	30
4.1.4. Ukotvení Fmoc-Ala-OH a Fmoc-β-Ala-OH na Rinkovu pryskyřici	30
4.1.5. Určení loadingu pryskyřice	31
4.2. Příprava derivátů 1 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]pyridinu	31
4.2.1. Arylace 3-fluor-2-nitropyridinem.....	31
4.2.2. Redukce nitroskupiny a cyklizace s aldehydem.....	32

4.2.3.	Přehled připravených látek	34
4.3.	Příprava derivátů 3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]pyridinu	34
4.3.1.	Arylace 2-chlor-3-nitropyridinem	34
4.3.2.	Redukce nitroskupiny a cyklizace s aldehydem	36
4.3.3.	Štěpení a čištění finální látky	37
4.3.4.	Přehled připravených látek	38
4.4.	Příprava derivátu 1 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>c</i>]pyridinu	39
5.	Experimentální část	40
5.1.	Přístroje a instrumentální metody	40
5.2.	Příprava vzorku pro analýzu	41
5.2.1.	Štěpení vzorku a standardní analýza	41
5.2.3.	Kvantifikace a stanovení loadingu pryskyřice	41
5.3.	Reakční postupy	42
5.3.1.	Imobilizace primárních aminů a aminokyselin	42
5.3.2.	Arylace pyridinem – B1 (R ¹), B2 (R ¹), B3 (R ¹)	43
5.3.3.	Redukce nitroskupiny – C1 (R ¹), C2 (R ¹), C3 (R ¹)	43
5.3.4.	Cyklizace s benzaldehydem – D1 (R ¹ , R ⁵), D2 (R ¹ , R ⁵), D3 (R ¹ , R ⁵)	44
5.3.5.	Finální štěpení, čištění a NMR analýza – E1 (R ¹ , R ⁵), E2 (R ¹ , R ⁵), E3 (R ¹ , R ⁵)	44
5.4.	Analytická data finálních sloučenin	45
5.4.1.	3-(2-fenyl-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]pyridin-3-yl)propan-1-amin – E2(1,1)	45
5.4.2.	2-(2-fenyl-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]pyridin-3-yl)ethanol – E2(2,1)	45
5.4.3.	3-(2-fenyl-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]pyridin-3-yl)propanová kyselina – E2(4,1)	45
5.4.4.	3-(2-fenyl-1 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>c</i>]pyridin-1-yl)propan-1-amin – E3(2,1)	46
6.	Závěr	47
7.	Seznam použitých zkratk	48
8.	Použitá literatura	49

1. Úvod

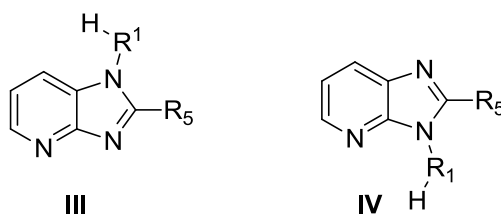
Látky, jejichž základ tvoří struktura imidazo[4,5-*b*]pyridinu, jsou v posledních desetiletích podrobovány rozsáhlým studiím¹. Důvodem tohoto zájmu je jejich různorodá biologická aktivita^{1, 2, 3} studována nejen na *in vitro* ale i *in vivo* testech. Konkrétně jsou známy strukturně různě modifikované imidazo[4,5-*b*]pyridiny s antihistaminickou^{26, 28}, analgetickou^{29, 30}, protizánětlivou³¹, cytotoxickou²⁰ a další aktivitou^{32 - 35}.

Téma bakalářské práce je součástí rozsáhlého konceptu studia biologické aktivity sloučenin odvozených od „deazapurinů“, konkrétně trisubstituovaných imidazo[4,5-*b*]pyridinů **I** a imidazo[4,5-*c*]pyridinů **II**. Strategie syntézy nových derivátů navazuje na předchozí studium a přípravu těchto deazapurinů na pevné fázi²² publikované v roce 2014.



Syntetizované sloučeniny imidazo[4,5-*b*]pyridinů a imidazo[4,5-*c*]pyridinů

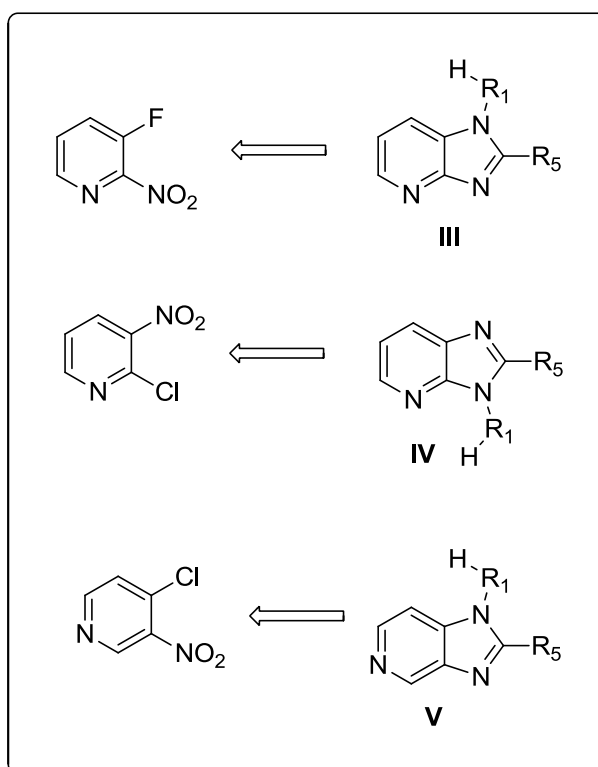
V řešení bakalářské práce si opět klademe za cíl přípravu strukturně velmi podobných látek lišících se pozicí atomu dusíku na heterocyklu se současnou obměnou substituce imidazo[4,5-*b*]pyridinu v polohách 1,2 (struktura **III**) či 2,3 (struktura **IV**).



Cílové sloučeniny imidazo[4,5-*b*]pyridinu

2. Cíl práce

Hlavním cílem bylo vyvinutí a optimalizace syntetické cesty vedoucí k přípravě derivátů 1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinů a 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinů z 3-fluor-2-nitropyridinu či 2-chlor-3-nitropyridinu, vhodných aminů a aldehydů. V rámci porovnatelnosti biologické aktivity nových derivátů byly jednotlivé výchozí látky neboli „buildingblocky“ voleny dle předchozího studia trisubstituovanýchimidazo[4,5-*b*]pyridinů a imidazo[4,5-*c*]pyridinů.



Retrospektivní pohled na syntézu cílových sloučenin

Vedle námi dvou navržených struktur se naskytla příležitost současně pracovat i na třetím typu derivátu vycházejícího z 4-chlor-3-nitropyridinu za vzniku 1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridinu. Vzhledem k výhodám provedení syntézy na pevné fázi jsme paralelně syntetizovaly i tento typ derivátů a rozšířily tím celkovou problematiku. Nicméně s ohledem na rozsáhlost problematiky se teoretický úvod zaměřuje na původně vypsane téma.

3. Teoretická část

Teoretická část této práce zpracovává dostupné literární zdroje zabývající se přípravou a biologickou aktivitou derivátů 1*H*- respektive 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinů substituovaných v polohách 1,2 respektive 2,3.

3.1. Příprava derivátů 1*H*- a 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu

Pro přípravu derivátů 1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu substituovaného v poloze 1 a 2, respektive 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu substituovaného v poloze 2 a 3, existuje několik hlavních metod. Nejvyužívanějším postupem je kondenzace 2,3-diaminopyridinu s vhodnými činidly. Jiný přístup naopak volí jako výchozí substrát deriváty imidazolu nebo se využívá dekorací imidazopyridinového skeletu. V rámci těchto postupů je často zmiňováno také použití cross-couplingových reakcí.

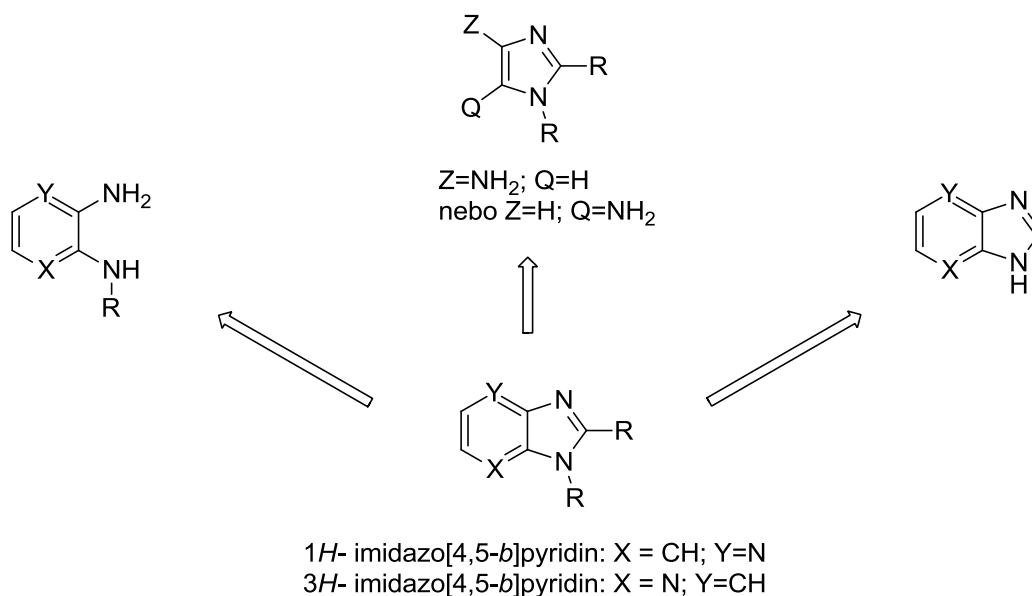


Schéma 1

Alternativní možnosti přípravy jsou reakce při nichž dochází k molekulovým přesmykům. Výše zmíněné postupy lze také využít při práci metodou syntézy na pevné fázi, které je zde věnována zvláštní pozornost, neboť se jí zabývá i experimentální část této práce.

3.1.1. Deriváty připravené kondenzací pyridinového kruhu

Jak již bylo výše zmíněno, nejčastěji používaná metoda přípravy imidazopyridinových derivátů je kondenzace z derivátů 2,3-diaminopyridinu⁴, při níž je k pyridinového cyklu syntetizován kruh imidazolu. Obecně zachycuje průběh syntézy Schéma 2.

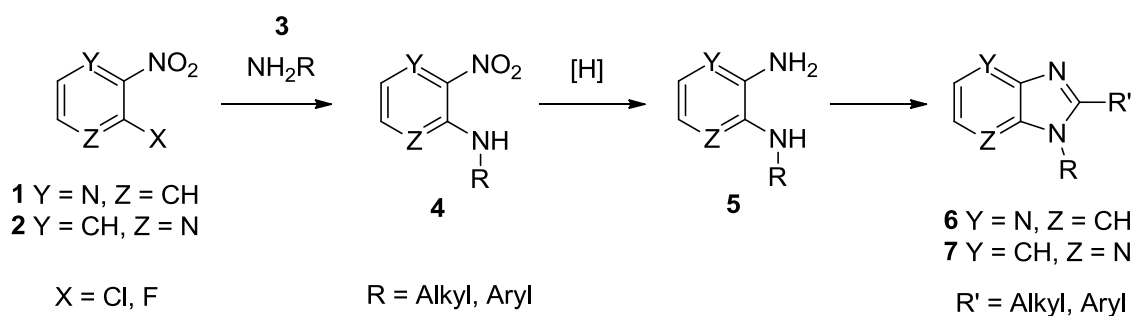


Schéma 2

Jako výchozí látka se nejčastěji používá komerčně snadno dostupných chlor- nebo fluor-nitropyridinů. Z 3-halogen-2-nitropyridinu **1** jsou syntetizovány deriváty 1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu **6**, zatímco 2-halogen-3-nitropyridin **2** slouží pro přípravu derivátů 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu **7**.

Prvním krokem syntézy je nukleofilní substituce atomu halogenu alkylamino- nebo arylaminoskupinou za vzniku meziprojektu **4**. Výběr použitého primárního aminu **3** hraje klíčovou roli pro zavedení požadovaného alkylu či arylu jako substituentu do polohy 1 (u derivátů 1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu) nebo polohy 3 (u derivátů 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu).

Poté následuje redukce nitroskupiny, čímž je získán 2,3-diaminopyridinový derivát **5**. Jako redukční činidlo bývá nejčastěji volen vodík v přítomnosti palladia na uhlíku, Raneyův nikl, železo v kyselém prostředí, dithioničitan sodný nebo chlorid cínatý.

Postup je nakonec završen cyklizační reakcí, při níž dochází k uzavření imidazolového kruhu. Látek, jež mohou být pro cyklizaci použity je celá řada. Účinně působí deriváty karboxylových kyselin, především anhydridy nebo chloridy. Acetanhydrid využívala k finální cyklizaci i vůbec první popsaná syntéza imidazo[4,5-*b*]pyridinů, publikovaná již v roce 1927⁵ (Schéma 3).

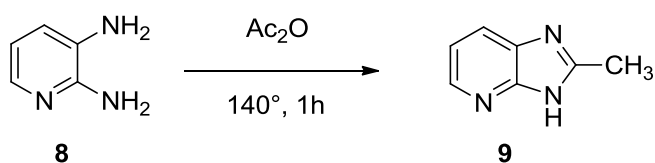


Schéma 3

Používají se také samotné karboxylové kyseliny. V tomto případě je však zapotřebí užití speciálních aktivátorů, vysoké teploty, silných karboxylových kyselin nebo mikrovlnného záření⁴.

Další možností, jak docílit cyklizace je použití dehydratačních činidel, jako je polyfosforečná kyselina (PPA) nebo chlorid fosforylu (POCl₃) na vhodných výchozích derivátech. Literatura zmiňuje použití POCl₃ při syntéze 2-amino-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinů **12** z derivátů (2-aminopyridin-3-

yl)močoviny **11**⁶. Požadované deriváty močoviny byly předtím připraveny reakcí *o*-diaminopyridinů **10** s kyanatanem draselným a kyselinou chlorovodíkovou (Schéma 4).

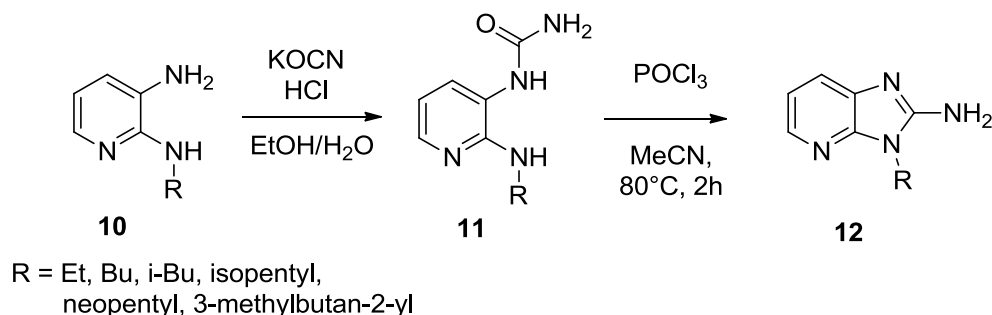


Schéma 4

Hojně používanou cestou výstavby imidazolového kruhu je také kondenzační reakce diaminopyridinů s aldehydy. Reakce vyžaduje přítomnost oxidačního činidla k zoxidování vznikajících 2,3-dihydroimidazopyridinových derivátů na požadované imidazo[4,5-*b*]pyridiny.

Jedna z popsaných metod používá k oxidaci síru⁷. Samotná směs ekvivalentních množství 2-methylamino-3-aminopyridinu **13**, aromatického aldehydu **14** a síry je buď společně zahřívána na vysokou teplotu, nebo zahřívána ve vysokotroucích rozpouštědlech jako je xylen či mesitylen. Kompletnost reakce bylo detekována ukončením vylučování sulfanu.

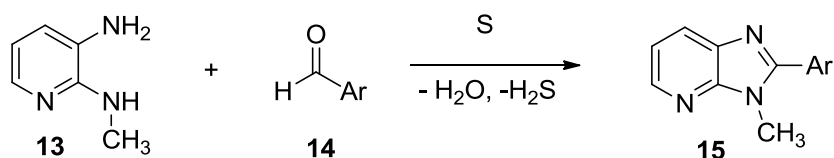


Schéma 5

Často však k oxidaci postačuje i vzdušný kyslík, jak lze pozorovat na reakci aromatického aldehydu s 2-methoxyethylamino-3-aminopyridinem **16** v methanolu⁸, jejímž prostřednictvím vznikl 1-methoxyethyl-2-aryl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin **17**.

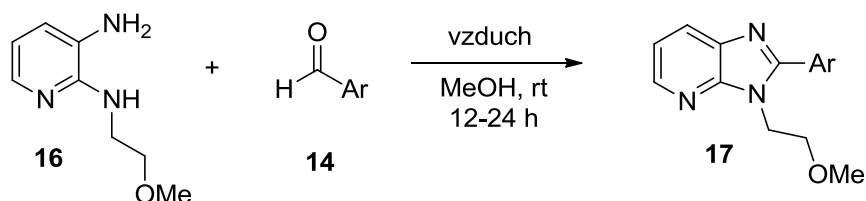


Schéma 6

Výše popsáný klasický postup optimalizuje varianta, při níž jsou provedeny posledních dva kroky syntézy najednou. Literatura popisuje reaktivní cyklizaci probíhající za účasti aromatického aldehydu a redukujícího dithioničitanu sodného při zahřívání ve směsi rozpouštědel dimethylsulfoxidu a methanolu⁹. Pro zdárný průběh dané syntézy bylo třeba ošetřit volné aminoskupiny skupinami chránícími, aby nedošlo i k jiným, nežádoucím cyklizacím. Po cyklizaci byly aminoskupiny opět odchráněny.

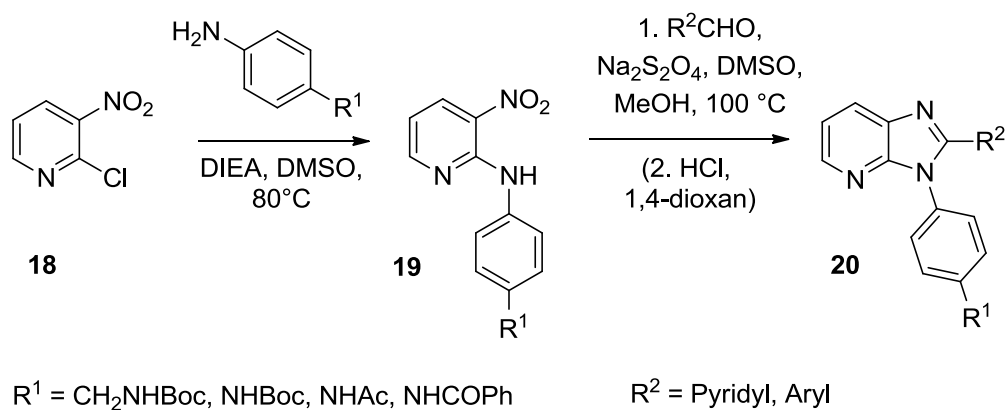


Schéma 7

Couplingové reakce patří obecně mezi jedny z nejhojněji používaných metod pro tvorby vazby mezi dvěma uhlíky¹⁰. Často se však také využívají ke spojení uhlíku s dusíkem. Jejich upotřebení je časté i na poli syntézy disubstituovaných imidazo[4,5-*b*]pyridinů. Literatura zabývající se daným tématem uvádí v tomto případě jako dva hlavní typy používaných katalyzátorů sloučeniny palladia a mědi.

Reakce *N*-(2-bromopyridin-3-yl)alkylamidu **24** s primárním aminem za katalytického působení CuI je kaskádovou reakcí ullmanovského typu, jejímž prostřednictvím byla připravena řada 2,3-substituovaných imidazo[4,5-*b*]pyridinových derivátů¹¹.

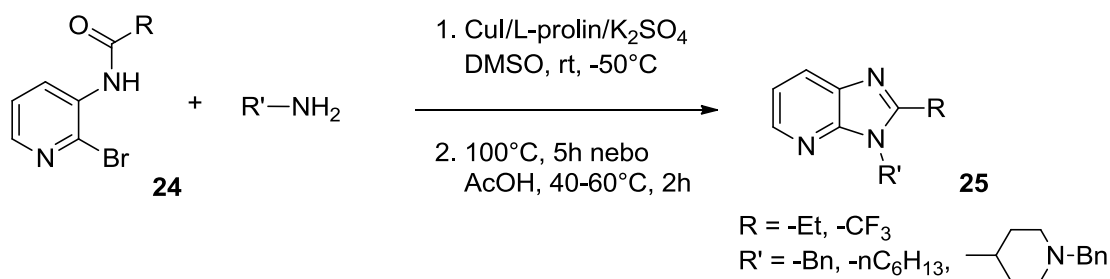


Schéma 8

Jiný zdroj podává informaci o palladiem katalyzované syntéze 1,2-substituovaných 1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinů **27**¹². Reaguje zde spolu 3-(alkyl)amino-2-chlorpyridin **26** s amidem. Krom

palladnaté sloučeniny je nezbytná pro zdárný průběh reakce také přítomnost ligandů. Nejlepších výtěžků bylo dosaženo s ligandy tBu-Xphos (L1) a t-BuBrettPhos (L2).

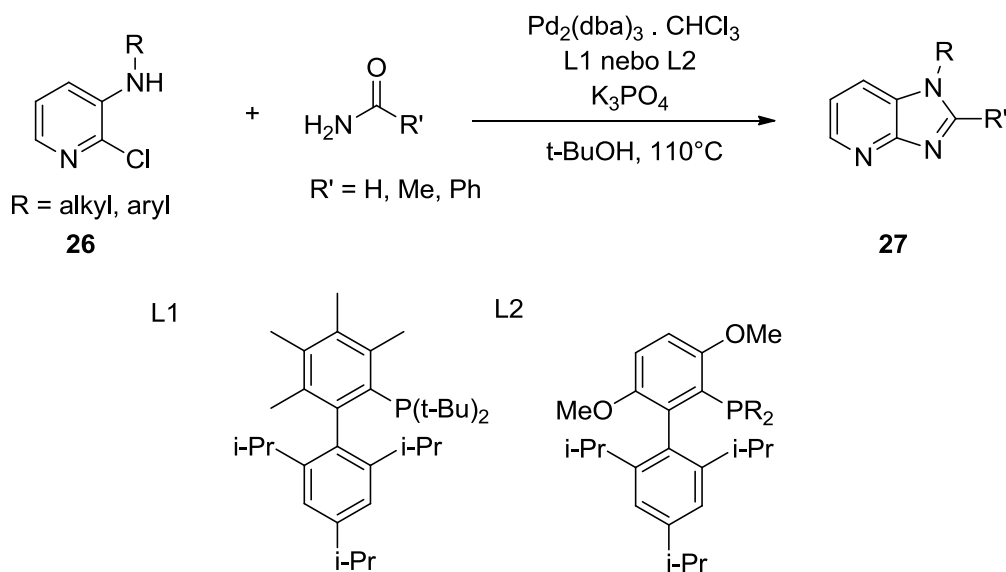


Schéma 9

3.1.2. Deriváty připravené kondenzací imidazolového kruhu

Alternativní cestu přípravy imidazo[4,5-*b*]pyridinů skýtají kondenzační reakce derivátů 4- nebo 5-aminoimidazolu s molekulou 1,3-biselektrofilu, nejčastěji 1,3-diketonu¹³.

Deriváty 4(5)-aminoimidazolu jsou však velmi nestabilní a reaktivní látky, což znesnadňuje průběh syntézy. Aby se zabránilo rozpadu aminoimidazolu a vedlejším reakcím zavádí se reakce do inertní atmosféry a bezvodého rozpouštědla, přičemž 5-aminoimidazol vzniká *in situ* redukcí příslušné nitroimidazolové sloučeniny¹⁴.

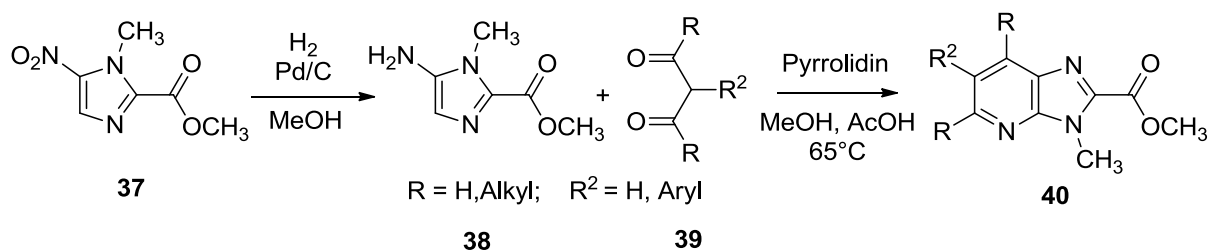


Schéma 10

Tento postup je příhodný pro přípravu imidazopyridinových derivátů s objemnými substituenty na pyridinovém kruhu, které by bránily průběhu obvyklejší syntézy vycházející z 2,3-substituovaného pyridinu, nebo k přípravě sady derivátů se shodnou imidazolovou částí a různě

substituovaným pyridinovým cyklem. Avšak pro syntézu 1*H*- či 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinů obsahující substituenty pouze v polohách 1,2 či 2,3 se nejedná o příliš praktickou metodu.

3.1.3. Deriváty připravené dekoracemi imidazopyridinu

Couplingové reakce skýtají ještě širší spektrum možností. Krom syntéz samotného imidazopyridinového jádra molekuly se také často používají k dekorování jádra již existujícího. V rámci této problematiky, je popsána celá řada metod soustředících se na zavádění různorodých funkčních skupin především do polohy 2.

Jednou ze zmíněných metod je Suzukiho cross-couplingová reakce. Její úprava pro syntézu 3-substituovaného 2-aryl/heteroaryl imidazo[4,5-*b*]pyridinu **31** využívá jako katalyzátor (A-taphos)₂PdCl₂ a je umocněna mikrovlnným zářením¹⁵. Nejprve je jednoduchým způsobem připraven meziproduct **30** jodovaný v poloze 2. Následná couplingová reakce spojuje látku **30** s některým ze sady arylderivátů kyseliny borité.

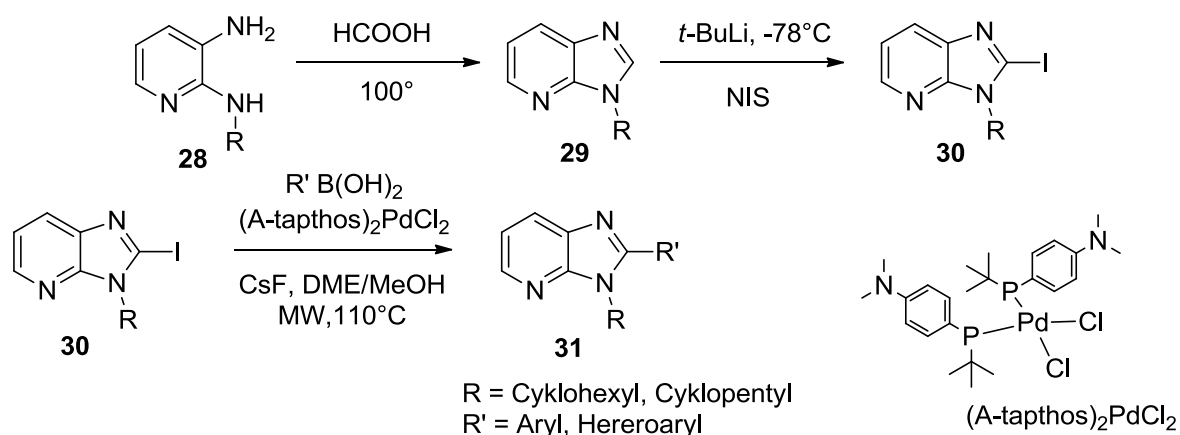


Schéma 11

Další využívanou metodou je Sonogashirova couplingová reakce, která do polohy 2 zavádí alkynylou skupinu. V literatuře je popsána její aplikace vyhýbající se spoluúčasti mědi a aminů na průběhu reakce. Místo nich bylo ke katalytickému účinku užito stericky náročných a elektronově bohatých sloučenin palladia¹⁶. Jako báze byl použit octan tetrabutylamonný a reakce byla urychlena v mikrovlnném reaktoru.

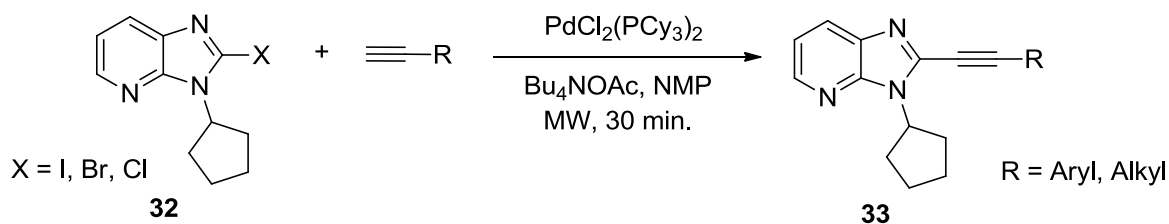


Schéma 12

Popsána je také metoda postupné *N*-(hetero)arylace aryl-deriváty kyseliny borité za katalýzy měďnatými solemi¹⁷. Výchozím substrátem jsou 2-amino imidazo[4,5-*b*]pyridiny **34**. K arylaci dochází nejprve na dusíku 3. Ve druhém kroku je zapotřebí také účasti báze, arylována je pak aminoskupina v poloze 2, čímž dochází ke vzniku diaryl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-aminu **36**.

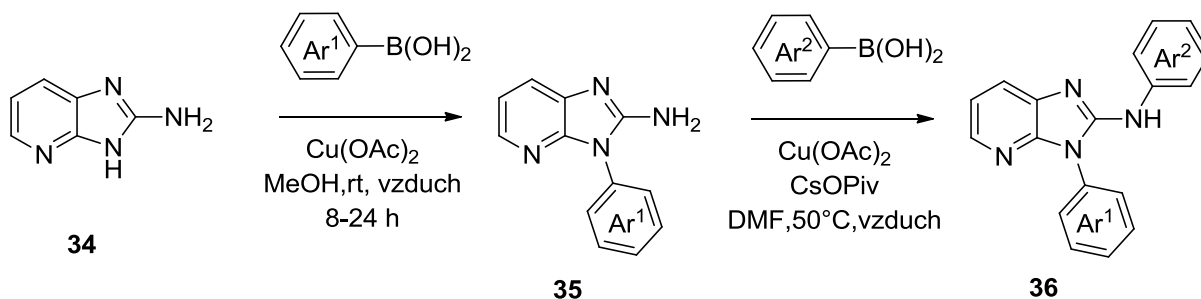


Schéma 13

Existují však i jiné možnosti dekorování imidazopyridinového skeletu než couplingovými reakcemi. Je-li jako výchozí látka použit komerčně dostupný 1,2-diaminopyridin **8**, který je následně podroben cyklizaci, lze substituenty do polohy 1, případně 3, na imidazopyridinovém jádru posléze vpravit pomocí alkylace methyl jodidem. Cyklizací **8** s furanalem vznikl 2-(furan-2-yl)-1(3)*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin **21**, jehož následnou methyloací byly získány isomery 1-methyl-2-(furan-2-yl)-1*H*-**22** a 3-methyl-2-(furan-2-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu **23**¹⁸.

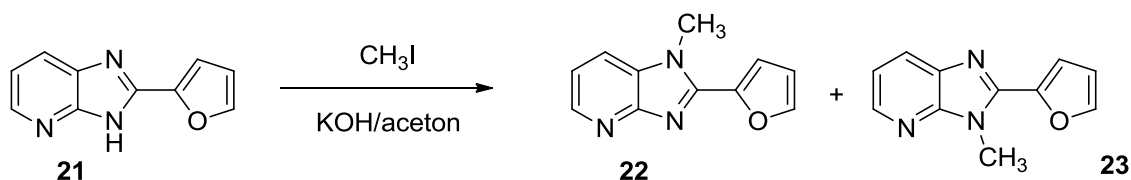


Schéma 14

3.1.4. Deriváty připravené molekulovými přesmyky

Jednou z méně častých metod přípravy 1,2-substituovaných derivátů 1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu, které jsou v literatuře zmíněny je konverze šesti- nebo sedmičlenného kruhu na kruh imidazolový. Tento postup je popsán především pro deriváty, které mají v poloze 2 karbonylovou skupinu.

Příkladem konverze šestičlenného kruhu, jež literatura popisuje, je reakce 3-benzoylpyrido[3,2-*b*]pyrazin-2(1*H*)-onu **41** s *N*-nukleofilem, konkrétně enaminem¹⁹. V průběhu této reakce dochází ke vzniku spiromeziprojektu a jeho následnému kyselé katalyzovanému přesmyku. Produktem je směs dvou izomerů *N*-pyrrolyl-1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2(3*H*)-onu.

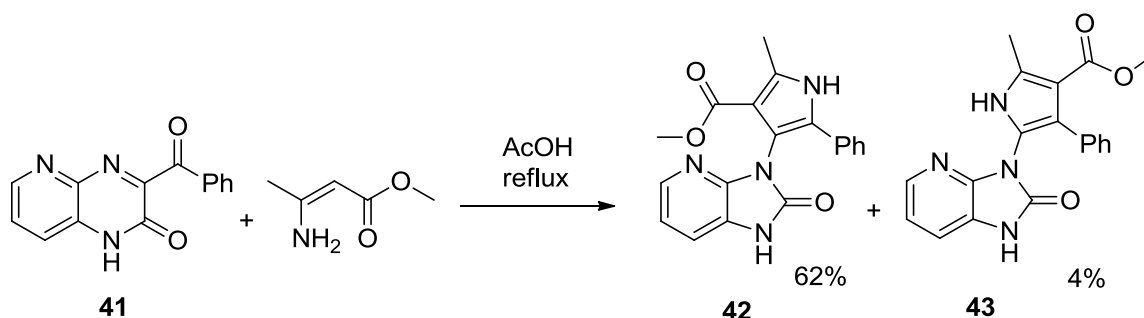


Schéma 15

Deriváty imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-onu lze syntetizovat také z pyridodiazepinů²⁰. Reakce 4-aryl-2-fenacyliden-1,3,4,5-tetrahydropyrido[2,3-*b*][1,4]diazepinu **44** s ethylchlorformiátem poskytla ester **45** a po jeho následném zahřívání s hydrátem hydrazinu byl získán produkt 3-[1-(*p*-chlorofenylen)-2-(5-enyl-1*H*-pyrazol-3-yl)-ethyl]-1,3-dihydroimidazo[4,5-*b*]pyridin-2-on **46**.

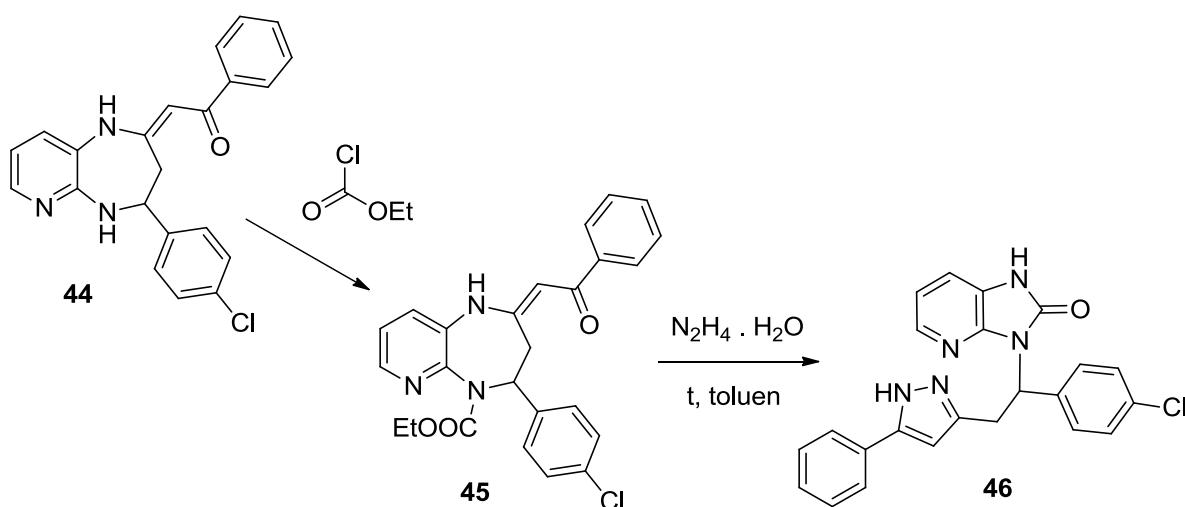


Schéma 16

Originální metoda, s níž je možno se v literatuře setkat, je přesmyk *N*-(heteroaryl)-2-imidazolinů²¹. Jedná se o jednoduchou dvoukrokovou syntézu. Prvním krokem je palladiem katalyzovaná heteroarylace 2-imidazolinu **47**, jež poskytuje *N*-(hetero)aryl-2-imidazolin **48**. Při následné reakci, modifikované Bechámpově redukcí, dochází u této látky k molekulovému přesmyku. Vzniklý imidazo[4,5-*b*]pyridin **49** má v poloze 3 navázán ethylenaminový zbytek. Poloha 2 skýtá velké možnosti syntézy rozličných derivátů.

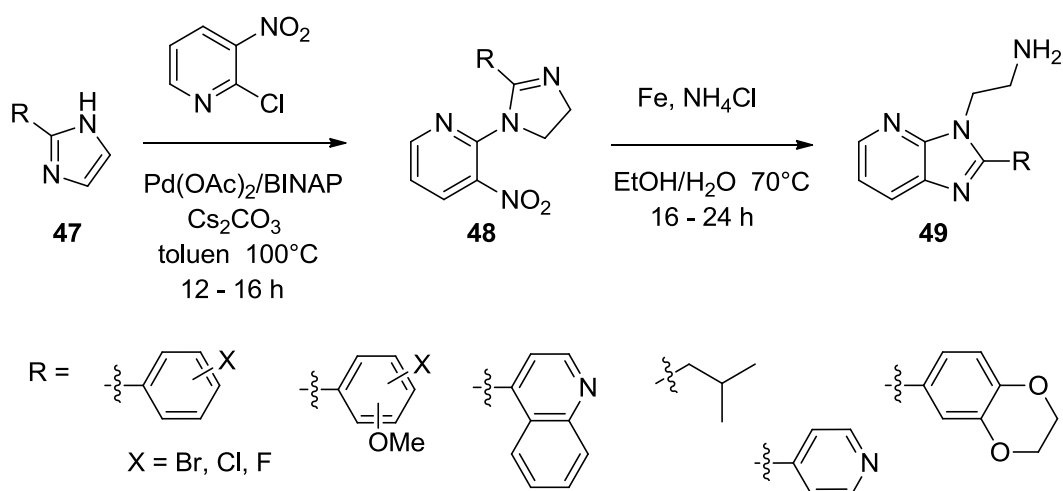


Schéma 17

3.1.5. Deriváty připravené syntézou na pevné fázi

Syntéza na pevné fázi je metoda, která umožňuje snadnou a rychlou přípravu nejrůznějších organických sloučenin i jejich celých knihoven. Avšak co se zmínek v literatuře ohledně užití této metody pro přípravu látek s imidazopyridinovým strukturním motivem týká, jsou možnosti jejího použití prozatím probádány jen málo.

Jedním z příkladů popsaných v literatuře je užití syntézy na pevné fázi pro přípravu trisubstituovaných imidazo[4,5-*b*]pyridinů a imidazo[4,5-*c*]pyridinů z 2,4-dichlor-3-nitropyridinu²². Cestu, již bylo dosaženo 2,3,7-trisubstituovaných derivátů 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu **55**, znázorňuje Schéma 18.

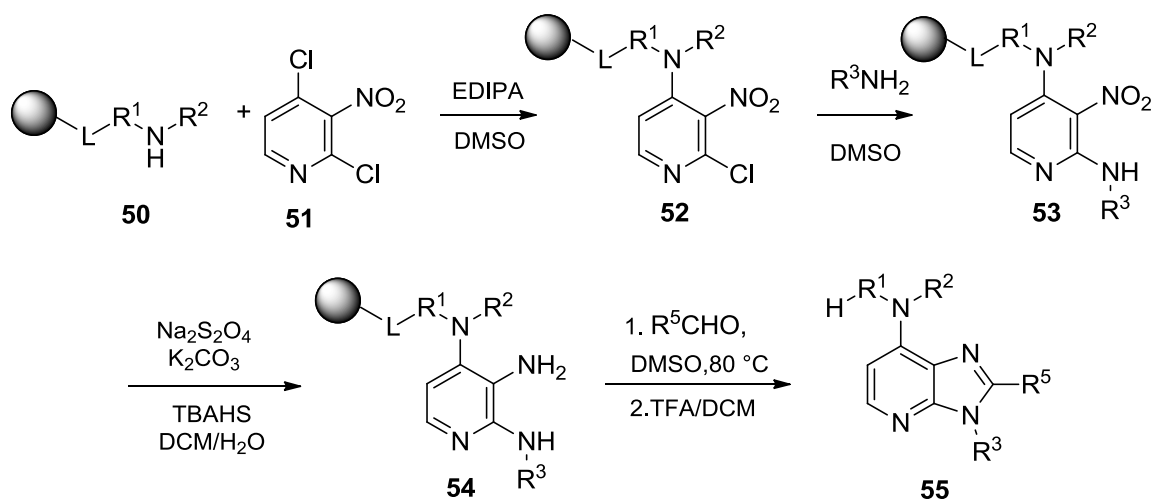


Schéma 18

Využívané aminosloučeniny byly nejprve ukotveny na polymerním nosiči. Použity byly tři druhy polystyrenové pryskyřice. Na Wangovu pryskyřici byly aminoalkoholy navázány etherovou vazbou a Fmoc-amino kyseliny esterovou vazbou, k Rinkově amidové pryskyřici byly pro změnu Fmoc-amino kyseliny ukotveny stabilnější amidovou vazbou a aminomethylová pryskyřice s BAL linkerem (4-(4-formyl-3-methoxyphenoxy)máseľnou kyselinou) byla použita pro přípravu imobilizovaných sekundárních aminů.

Polymerem nesený amin **50** byl pak vystaven arylaci s 2,4-dichlor-3-nitropyridinem **51**. Další reakce jsou upravenou obdobou klasického postupu používaného v roztokové syntéze: následuje substituce atomu chloru primárním aminem, redukce dithioničitanem sodným v přítomnosti uhličitanu draselného, hydrogensíranu tetrabutylamonného (TBAHS) a cyklizace s aromatickým aldehydem.

Výhodou této syntézy je možnost připravit rozdílné typy imidazopyridinů v závislosti na tom, v jakém pořadí je výchozí 2,4-dichlor-3-nitropyridin **51** podroben reakci s primárním a sekundárním aminem.

Reaguje-li látka **51** nejprve se sekundárním aminem **50**, dochází prvně k substituci chloru v poloze 4. Při následné reakci s primárním aminem dochází k substituci druhého chloru v poloze 2. Redukcí posléze získaný meziprodukt **54** nese alkylaminoskupinu v poloze 2, aminoskupinu v poloze 3 a imobilizovanou dialkylaminoskupinu v poloze 4. Závěrečná kondenzace pak tedy probíhá mezi aldehydem a skupinami v polohách 2 a 3 a poskytuje výsledný produkt o struktuře imidazo[4,5-*b*]pyridinu **55**.

Pokud ovšem reaguje látka **51** nejprve s primárním aminem **56** a až následně se sekundárním (Schéma 19), dostane se do polohy 4 imobilizovaná alkylaminoskupina **57** a do polohy 2 dialkylskupina **58**. Cyklizace nakonec probíhá mezi aldehydem, redukcí získanou aminoskupinou v poloze 3 a

polymerem nesenou alkylaminoskupinou v poloze 4. Touto cestou připravená látka má strukturu imidazo[4,5-*c*]pyridinu **60**.

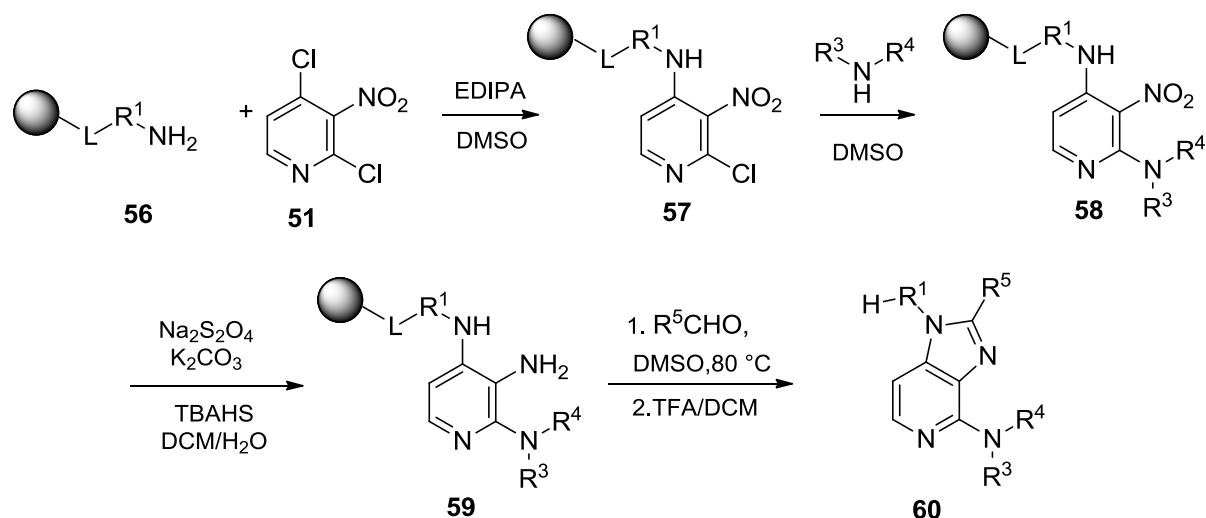


Schéma 19

Popsanou metodou lze tedy docílit zisku široké škály produktů, jejichž rozmanitost nespočívá jen v diverzních místech na imidazopyridinovém jádře, nýbrž i ve změně struktury jádra samotného. Různorodost substituentů v diverzních místech je zajištěna obměnou reaktantů, zatímco rozdílnosti imidazopyridinové kostry bylo dosaženo změnou reakčního sledu. Pro možnosti, které zmíněná metoda poskytuje, se stala námětem i pro praktickou část předložené práce.

Jiná studie ozkoušela syntézu na pevné fázi pro přípravu knihovny 2,3,6-substituovaných 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinů²³. Použita byla 4-formyl-3-methoxyfenyloxymethyl polystyrenová pryskyřice, na niž byl reduktivní alkyací připevněn primární amin. V následném kroku byl imobilizovaný amin **62** podroben reakci s 6-chlor-5-nitronikotinoyl chloridem. Vzniklý meziprodukt **63** byl poté alkylován dalším primárním aminem a zredukován. K cyklizaci byla využita reakce diaminu **65** s aldehydem při zahřátí v dimethylacetamidu. Prvotně cyklizací vznikající dihydroimidazopyridinový intermediát byl zoxidován vzdušným kyslíkem na finální produkt **66**.

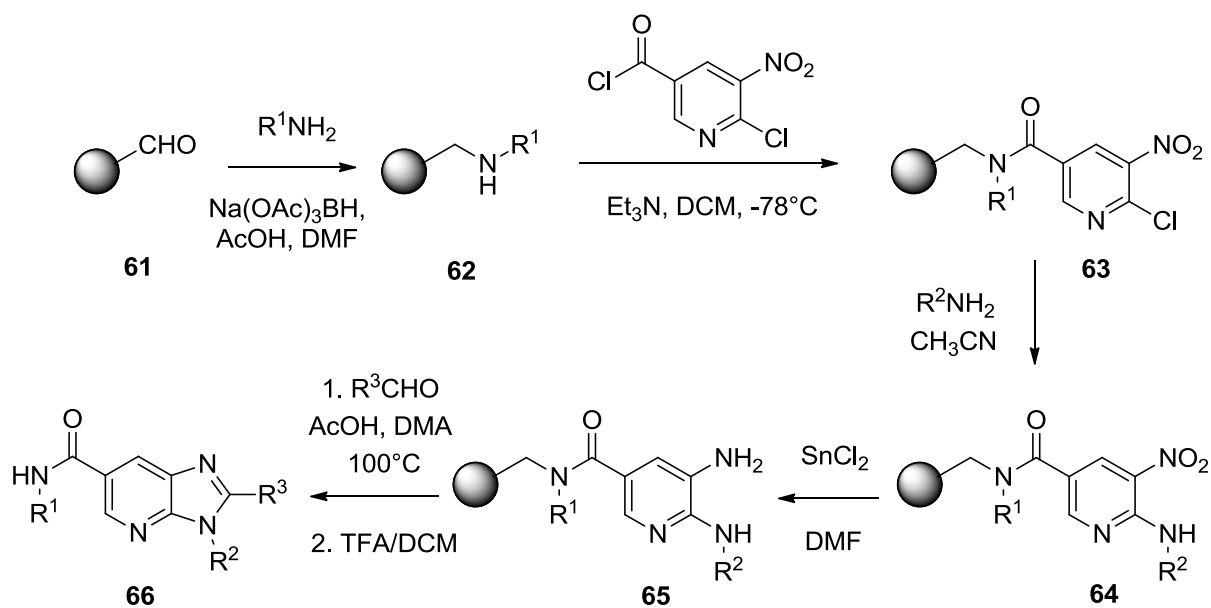


Schéma 20

Další ze zdrojů se zabývá použitím syntézy na pevné fázi pro přípravu imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-onů a podobných cyklických derivátů močoviny²⁴. Výchozí látkou je opět 2,3-substituovaný pyridin, tentokrát konkrétně 2-amino-3-nitropyridin, který byl karbamátovou vazbou ukotven na Wangově pryskyřici **69**. K redukci nitroskupiny byl použit roztok chloridu cínatého. Po reduktivní alkylation řadou různě substituovaných benzaldehydů a následném cyklizačním štěpení byla získána sada 3-substituovaných imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-onů **72**. Aby se zabránilo znečištění finálního produktu, byly k cyklizačnímu štěpení využity na polymeru ukotvené báze, přičemž nejlepších výsledků bylo dosaženo s MP-uhlíčitanem (makroporézní polystyrenovou pryskyřicí s vlastnostmi anexu).

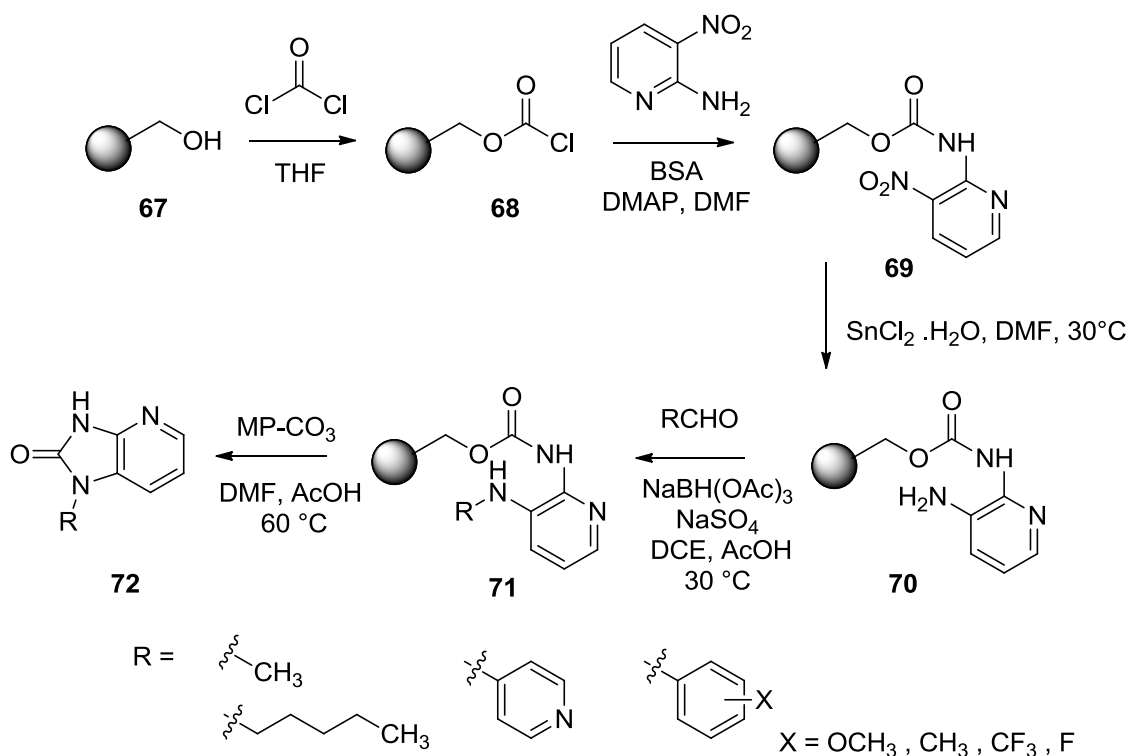


Schéma 21

Látky o struktuře **72** byly připraveny jakožto potenciální inhibitory cAMP fosfodiesterázy krevních destiček.

Literatura také podává zprávu o přípravě 2,3-disubstituovaných imidazo[4,5-*b*]pyridinů metodou polymerem asistované syntézy v roztoku²⁵. Jedná se o roztokovou syntézu, která však využívá určitých rysů syntézy na pevné fázi. Místo substrátu jsou však při těchto reakcích na polymerní pryskyřici ukotvena činidla či katalyzátory.

Reakce N^2 -arylpýridyn-2,3-diaminu **73** s karboxylovými kyselinami v přítomnosti 1-hydroxy-7-azabenzotriazolu (HOAt) a polystyren-karbodiimidu mění aminoskupinu v poloze 3 na skupinu amidovou. Vzniklý amid **74** je následně podroben kyselé katalyzované cyklizaci. Ještě před tím byl však přebytek reakčních činidel vycitán další k polymeru uchycenou látkou, polystyren-trisaminem. Nezreagovaná činidla i vedlejší produkty navázané na polymerní pryskyřici jsou snadno odfiltrovatelné, díky čemuž byl hlavní produkt **75** obdržen ve velké čistotě.

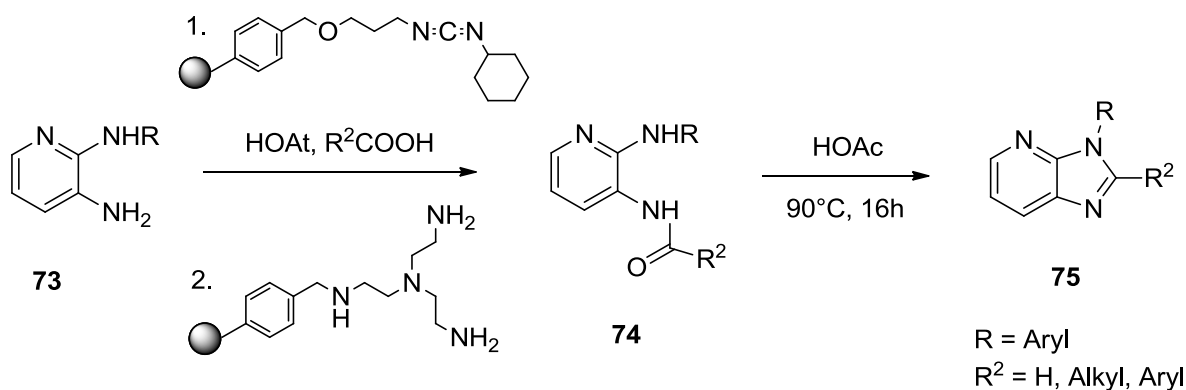


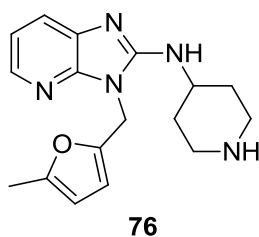
Schéma 22

3.2. Biologická aktivita 1*H*- a 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu

Jak již bylo zmíněno, existuje celá řada látek obsahujících strukturu 1,2-disubstituovaného 1*H*- nebo 2,3-disubstituovaného 3*H*-imidazo(4,5-*b*)pyridinu, které v biologických testech prokázaly různé druhy aktivity. Mnohé z těchto látek byly patentovány.

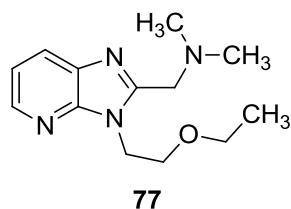
3.2.1. Antihistaminická aktivita

Noberastin neboli 3-(5-methylfurfuryl)-2-(4-piperidylamino)-3*H*-imidazo(4,5-*b*)pyridin **76** je antagonistou histaminových H1 receptorů a slouží jako lék k potlačení alergických příznaků a senné rýmy²⁶. Literatura noberastin popisuje jako moderní antihistaminikum s minimem nežádoucích účinků srovnatelných s nežádoucími účinky placebo²⁷.



Obrázek 1

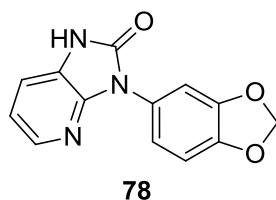
Další patentovanou látkou s antihistaminickým účinkem je 1-(3-(2-ethoxyethyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-yl)-*N,N*-dimethylmethanamin **77**²⁸.



Obrázek 2

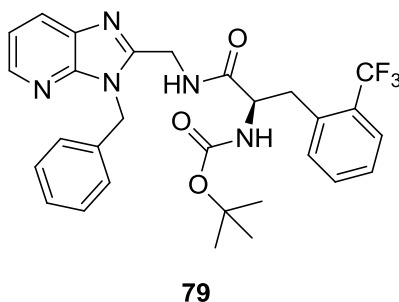
3.2.2. Analgetická aktivita

U 1,3-dihydro-3-[3,4-(methylenedioxy)fenyl]imidazo[4,5-*b*]pyridin-2-onu **78** byl zjištěn analgetický účinek srovnatelný s účinkem kodeinu a *d*-propoxyfenu²⁹, a to bez vedlejšího narkotického efektu.



Obrázek 3

Analgetická aktivita byla pozorována také u látky **79**. V rámci *in vivo* testů na krysách byla vyhodnocena jako vhodný blokátor sodíkových kanálů třídy hNa_v1.7³⁰, které jsou zodpovědné za neuropatickou bolest. Při ústním podání bylo dosaženo dobrých výsledků v potlačení neuropatické i zánětlivé bolesti.

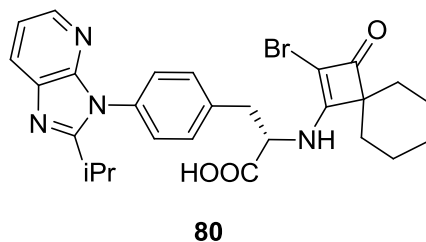


Obrázek 4

3.2.3. Protizánětlivá aktivita

Při studiu fenylalaninem substituovaných imidazol[4,5-*b*]pyridinů byla u látky **80** v *in vitro* testech zjištěna silná schopnost antagonismu VLA-4 integrinů (angl. *very late antigen*)³¹. Ty se vyskytují na povrchu buněk lymfocytů typu B i T, makrofágů a eozinofilů. Při zánětu způsobují

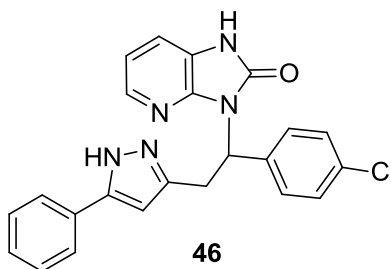
zánětlivé cytokiny vazbu VLA-4 na VCAM-1 (angl. *vascular cell adhesion molecule 1*), čímž brání bílým krvinkám vydat se do místa zánětu. Látka **80** vážící se na VLA-4 této situaci předchází.



Obrázek 5

3.2.4. Cytotoxická aktivita

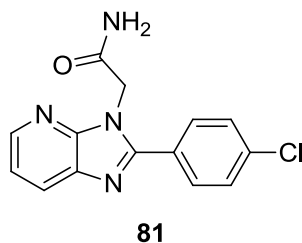
Látka **46** byla podrobena *in vitro* testům, v nichž projevovala cytotoxickou aktivitu vůči buňkám lidských rakovinných linií HL-60(leukémie), HCV-29T (rakovina močového měchýře), SW 707(rakovina konečnicku), HepG2 (rakovina jater) a MES-SA (rakovina dělohy)²⁰.



Obrázek 6

3.2.5. Antikonvulzivní aktivita

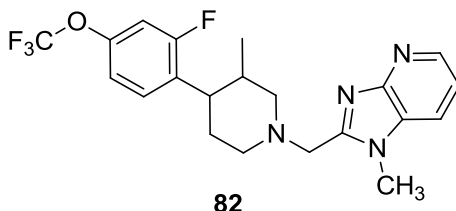
V rámci výzkumu 2-fenyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-3-acetamidů coby potenciálních nebenzodiazepinových anxiolytik a antikonvulzantů byla objeven u látky **81** silný selektivně antikonvulzivní účinek³². Testování bylo prováděno *in vivo* na myších, jimž byly v těle uměle chemicky či elektricky vyvolány křeče.



Obrázek 7

3.2.6. Antipsychotická aktivita

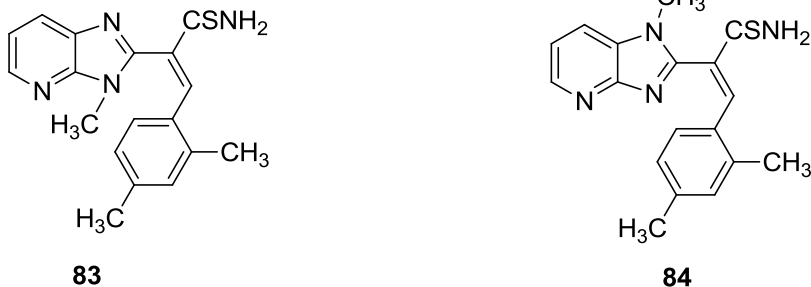
Látka **82** byla popsána jako pozitivní alosterický modulátor metabotropických glutamátových receptorů skupiny II (mGlu2)³³, které hrají klíčovou roli v léčbě psychóz. Účinky látky **82** byly prověřeny ve dvou typech *in vivo* testů na hlodavcích: v testu inhibice metamfetaminem vyvolané hyperaktivity a mezkalinem indukované psychózy.



Obrázek 8

3.2.7. Antituberkulotická aktivita

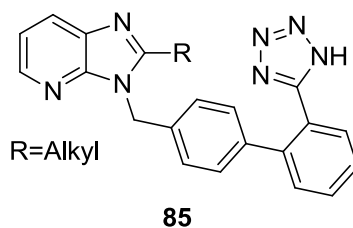
Tuberkulóza je závažnou chorobou, již způsobují bakterie rodu *Mycobacterium*, konkrétně druh *tuberculosis*, méně často také *bovis* a *africanum*. Výjimečně vysoká tuberkulostatická aktivita proti kmenům *Mycobacteriatuberculosis*, odolným vůči obvyklým lékům, byla popsána u látek **83** a **84**³⁴.



Obrázek 9

3.2.8. Antihypertenzivní aktivita

Bifenylylalkylimidazopyridiny odpovídající struktuře **85** jsou popsány jako látky projevující antihypertenzivní aktivitu³⁵.

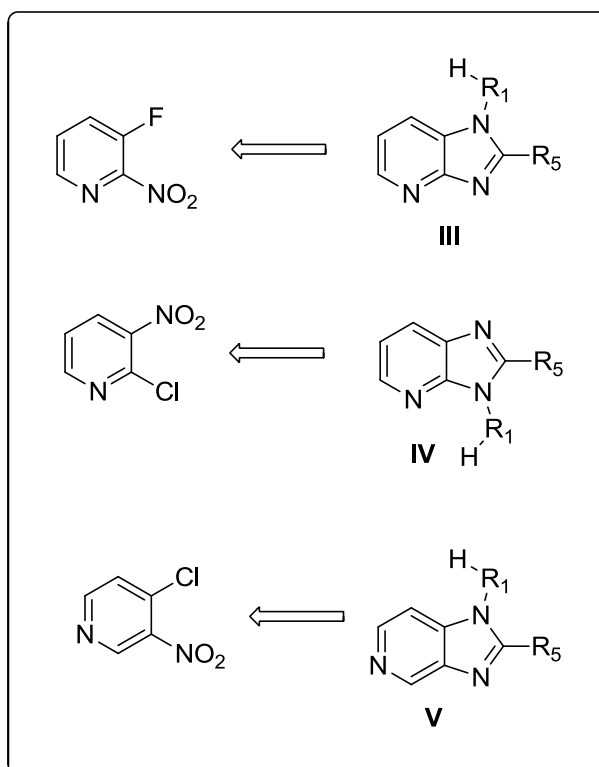


Obrázek 10

4. Výsledky a diskuze

Tato práce navazuje na předchozí výzkum trisubstituovaných derivátů deazapurinů (imidazopyridinů) publikovaný v roce 2014. Tentokrát byla pozornost obrácena k derivátům disubstituovaným, přičemž se navrhovaná syntetická cesta opírala o syntetické postupy osvědčené v dřívějším bádání.

Klíčovými building blocky této syntézy jsou disubstituované deriváty pyridinu, přičemž substituenty nesené pyridinovým jádrem jsou halogen (chlor nebo fluor) a nitroskupina v rozličných polohách. V závislosti na použitém pyridinu se pak proměňuje poloha dusíku ve struktuře cílového imidazopyridinu. Konkrétně vycházela syntéza 1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinů **III** z 3-fluor-2-nitropyridinu a syntéza 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinů **IV** z 2-chlor-3-nitropyridinu. Posléze byla práce rozšířena ještě o třetí model, který využíval 4-chlor-3-nitropyridin pro syntézu derivátů 1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridinů **V**. Popsanou strategii zachycuje Obrázek 11.



Obrázek 11

K přípravě cílových sloučenin byla navržena jednoduchá syntetická cesta, vycházející z předchozího výzkumu purinů a deazapurinů. Rozdíl zkoumané syntézy od přípravy trisubstituovaných imidazopyridinových derivátů, z níž téma této práce vychází, spočívá ve vynechání reakce se sekundárním aminem v reakčním sledu, tudíž byla výsledná struktura ochuzena o substituent v poloze 5 a vznikl tak disubstituovaný derivát.

Primární amin nebo aminokyselina byl ukotven na pevný polymerní nosič, jímž byla Wangova, případně Rinkova amidová pryskyřice. Imobilizovaný amin byl dále podroben arylaci s vybraným halogen-nitropyridinem. Následně byla redukována nitroskupina nesená pyridinovým kruhem na aminoskupinu. Reakční sled byl poté završen cyklizační reakcí probíhající mezi redukcí získanou aminoskupinou, alkyl-aminoskupinou a přidáním aldehydem, čímž byl uzavřen imidazolový prstenec a vznikla požadovaná imidazopyridinová struktura. Finální látky byly poté odštěpeny z polymerního nosiče a purifikovány. Tento obecný postup zachycuje Schéma 23.

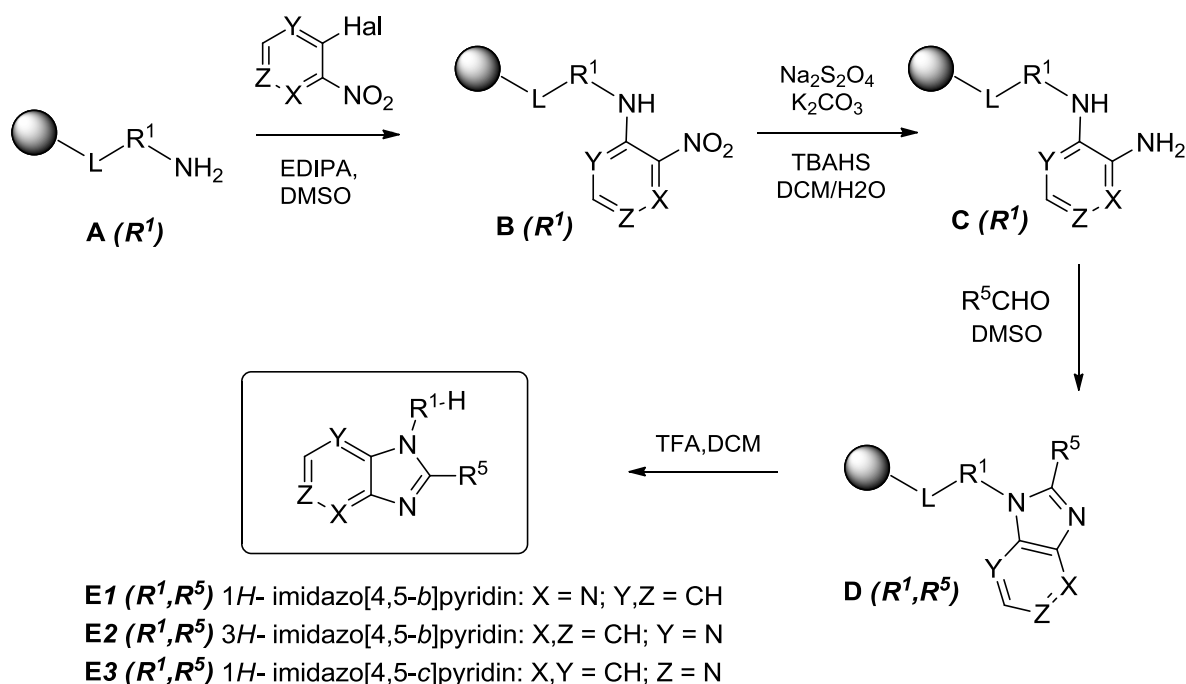
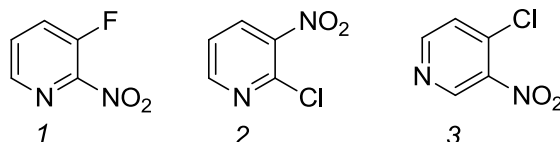


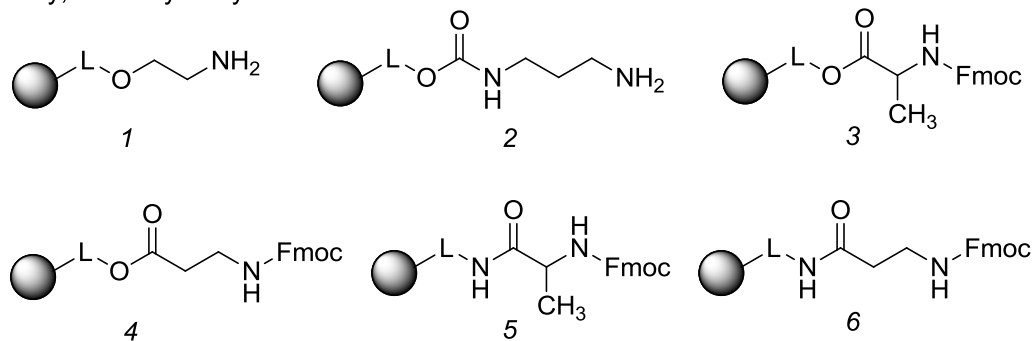
Schéma 23

Přehled výchozích látek navržených pro použití výše popsaného syntetického postupu udává Obrázek 12. Ve skutečnosti se výběr výchozích sloučenin poněkud lišil. Z uvedených aldehydů (R^5) byl zvolený reakční sled ozkoušen jen modelem benzaldehydu (**I**). Použití ostatních aldehydů není v rámci předložené bakalářské práce řešeno.

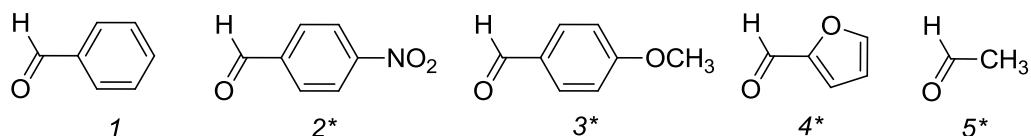
Pyridin:



R¹: Aminy, Aminokyseliny



R⁵: Aldehydy



* použití označených látek není v předložené práci popsáno

Obrázek 12: Přehled výchozích látek

4.1. Imobilizace aminu

Pro ukotvení výchozích primárních aminů a aminokyselin byla primárně používána Wangova pryskyřice (Schéma 24). V případě aminokyselin bylo prováděno také ukotvení na Rinkově amidové pryskyřici.

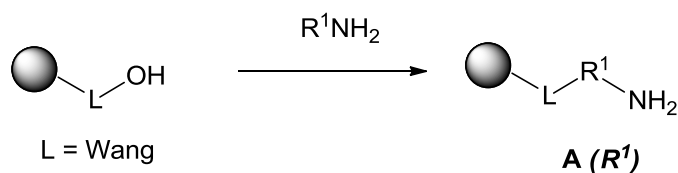


Schéma 24

4.1.1. Ukotvení 2-(Fmoc-amino)ethanolu na Wangovu pryskyřici

Wangova pryskyřice byla derivatizována 2-(Fmoc-amino)ethanolem prostřednictvím etherického navázání, k němuž bylo použito trichloracetimidátové aktivace. Pryskyřice byla vystavena reakci s trichloracetimidátem v bezvodém dichlormethanu (DCM) za chlazení v mrazáku. Poté byl přidán roztok 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-enu (DBU) v témž rozpouštědle. Vzniklý trichloracetimidát poté reagoval s 2-(Fmoc-amino)ethanolem s přidávkou BF₃Et₂O v bezvodém tetrahydrofuranu (THF) za vzniku derivátu A (I).

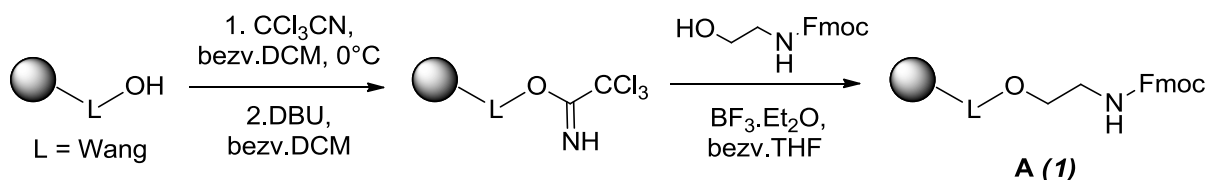


Schéma 25

4.1.2. Ukotvení 1,3-diaminopropanu na Wangovu pryskyřici

1,3-Diaminopropan byl k Wangově pryskyřici ukotven přes karbamátovou vazbu. Ke vzniku tohoto typu uchycení se pryskyřice nechala nejprve aktivovat působením 1,1'-karbonyldiimidazolu (CDI) a teprve poté byla podrobena reakci se samotným 1,3-diaminopropanem v DCM.

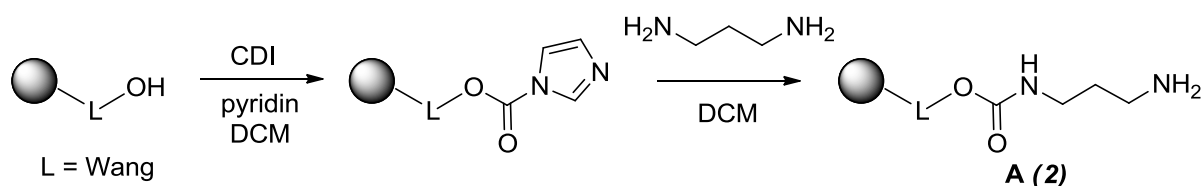


Schéma 26

4.1.3. Ukotvení Fmoc-Ala-OH a Fmoc-β-Ala-OH na Wangovu pryskyřici

Aminokyseliny Fmoc- α -alanin a Fmoc- β -alanin byly na Wangově pryskyřici imobilizovány vzájemnou reakcí s přidavkem hydroxybenzotriazolu (HOBT) a za katalýzy pomocí 4-dimethylaminopyridinu (DMAP) a *N,N'*-diisopropylkarbodiimidu (DIC) ve směsi rozpouštědel DCM s *N,N*-dimethylformamidem (DMF) v poměru 1:1. Acylace pryskyřice probíhala za laboratorní teploty přes noc. Imobilizace Fmoc-alaninu je znázorněna ve Schématu 27. Fmoc- β -alanin byl ukotven za stejných podmínek za vzniku meziproductu **A (4)**.

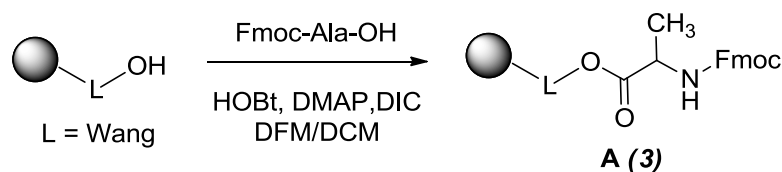


Schéma 27

4.1.4. Ukotvení Fmoc-Ala-OH a Fmoc-β-Ala-OH na Rinkovu pryskyřici

Při použití Rinkovy amidové pryskyřice, jejíž linker je chráněn skupinou Fmoc, bylo nejprve nutno provést ochránění v bazickém prostředí 50% roztoku piperidinu v DMF. Samotná acylace Fmoc-alaninem probíhala obdobně jako v případě pryskyřice Wangovy, s rozdílem, že ke katalýze bylo použito pouze DIC, DMAP nebylo potřeba. Reakcí byl získán derivát **A (5)**. Analogicky byla provedena reakce s Fmoc- β -alaninem, která poskytla derivát **A (6)**.

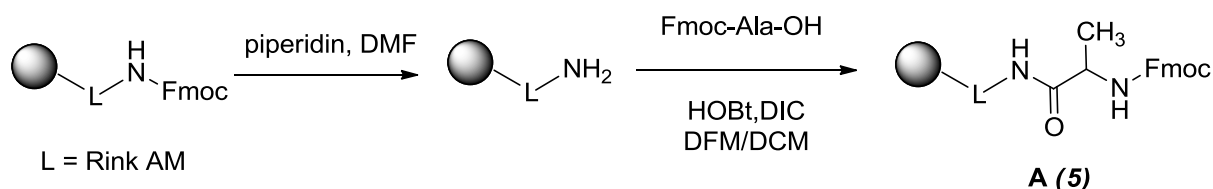


Schéma 28

4.1.5. Určení loadingu pryskyřice

Po imobilizační reakci byla provedena kvantifikace metodou vnějšího standardu a stanoven loading pryskyřic jednotlivých připravených derivátů. Výtěžky reakcí se pohybovaly v rozpětí 43 – 80%. Obzvláště dobrých výsledků bylo dosaženo při ukotvování Fmoc- α -alaninu **A (3)** a Fmoc- β -alaninu **A (4)** na Wangovu pryskyřici. Celkový přehled vypočtených loadingů a výtěžků je uveden v Tabulce 1.

Struktura	Pryskyřice	Amin/Aminokyselina	Loading	Výtěžek
A (1)	Wang (1 mmol/g)	2-(Fmoc-amino)ethanol	0,43	43%
A (2)	Wang (0,52 mmol/g)	1,3-diaminopropan	0,26	50%
A (3)	Wang (0,52 mmol/g)	Fmoc-Ala-OH	0,42	80%
A (4)	Wang (0,52 mmol/g)	Fmoc- β -Ala-OH	0,39	75%
A (5)	Rink AM (0,6 mmol/g)	Fmoc-Ala-OH	0,28	47%
A (6)	Rink AM (0,6 mmol/g)	Fmoc- β -Ala-OH	0,30	50%

Tabulka 1: Hodnoty loadingu pryskyřic s imobilizovaným aminem

4.2. Příprava derivátů 1H-imidazo[4,5-b]pyridinu

Pro přípravu látek se strukturou 1H-imidazo[4,5-b]pyridinu bylo pro arylaci aminu na polymerním nosiči používáno 3-fluor-2-nitropyridinu. Další reakční kroky již kopírovaly dříve optimalizovaný postup.

4.2.1. Arylace 3-fluor-2-nitropyridinem

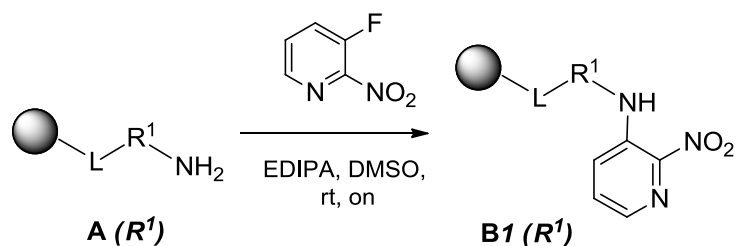


Schéma 29

Před samotnou arylací bylo nutné u připravených ukotvených aminů, s výjimkou derivátu **A** (**2**), provést deprotekcí aminoskupiny v roztoku piperidinu s DMF (1:1). Pryskyřice zbavená chráničicí Fmoc skupiny byla poté podrobena reakci s 0,5M roztokem 3-fluor-2-nitropyridinu v DMSO s ekvivalentem báze *N,N'*-diisopropylethylaminu (EDIPA).

Arylační reakce měla probíhat přes noc za laboratorní teploty, což bez obtíží fungovalo při přípravě meziproductů **BI** (**2**) a **BI** (**4**). Příprava látek **BI** (**3**), **BI**(**5**) a **BI** (**6**) však neprobíhala dobře, neboť na pryskyřici stále zůstávalo velké množství nezreagované výchozí látky. Reakce s 3-fluor-2-nitropyridinem byla proto zopakována, což dalo uspokojivý výsledek v případě látky **BI** (**3**). Deriváty **BI** (**5**) a **BI** (**6**) ukotvené na Rinkově pryskyřici však stále reagovaly poměrně neochotně. Jejich úspěšného připravení bylo docíleno až optimalizací reakční teploty, která byla zvýšena na 70°C.

Kontrolní analýzy byly prováděny jak po reakci s 3-fluor-2-nitropyridinem, tak po derivatizaci Fmoc skupinou, což posloužilo ke zviditelnění případného zbytku výchozí látky **A** (**R¹**) ve spektru měřeném kapalinovým chromatografem.

4.2.2. Redukce nitroskupiny a cyklizace s aldehydem

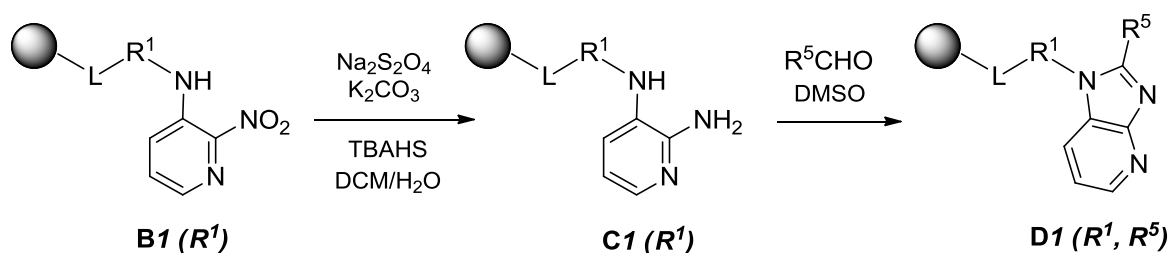


Schéma 30

K redukci nitroskupiny na aminoskupinu byl použit jako redukční činidlo dithioničitan sodný ve směsi s uhličitanem draselným, TBAHS a rozpouštědly DCM a vodou. Redukce běžela přes noc za laboratorní teploty a poskytla meziproducty **CI** (**R¹**). Závěrečná cyklizace byla poté prováděna v 0,5M roztoku aldehydu v DMSO přes noc při 80°C. Výsledkem cyklizace byly látky **DI** (**R¹**, **R²**).

Bez potíží probíhaly reakce v případě derivátů **BI** (**4**) a **BI** (**6**), jejichž redukce dala vzniku látkám **CI** (**4**) a **CI** (**6**) a následnou cyklizací s benzaldehydem vznikly **DI** (**4, 1**) a **DI** (**6, 1**) přesně podle očekávání.

Komplikovanější situace nastala v případě meziproductu **CI** (**3**) připraveného redukcí pryskyřice **BI** (**3**). Při analýze této látky po redukcí byla v hmotnostním spektru detekována hmota $[M+H]^+ = 164,53$ místo hodnoty $[M+H]^+ = 182$ odpovídající předpokládané struktuře **CI** (**3**). Tato hodnota byla vysvětlena vznikem cyklické struktury po odštěpení intermediátu **CI** (**3**) z pryskyřice s kyselinou trifluoroctovou (TFA) pro potřebu analýzy (Schéma 31). Vzhledem k tomu, že látka

CI (3) poskytla reakcí s benzaldehydem požadovaný produkt **DI (3, I)**, lze usuzovat, že vázaná na pryskyřici byla látka v pořádku a měla předpokládanou strukturu.

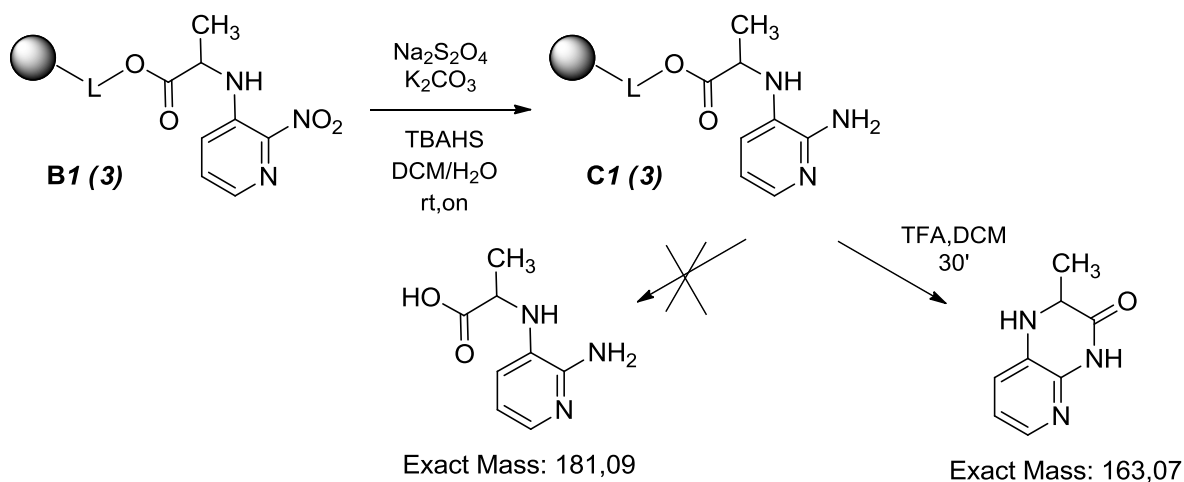


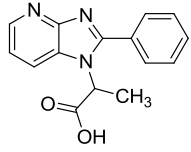
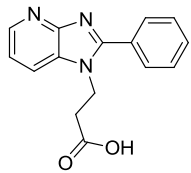
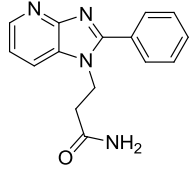
Schéma 31

Dále byla testována příprava derivátů **CI (5)** a následně **DI (2, I)** z látky **BI (5)**. Reakce neměly příliš zdárný průběh. Analýza látky **DI (2, I)** prováděná na LC-MS standardním postupem nenasvědčovala přítomnosti žádné látky. Možným vysvětlením je, že se látka **DI (2, I)** v tomto případě hůře štěpí z pryskyřice nebo po redukci došlo k odštěpení látky **CI (5)** do reakčního roztoku. Reakční model však nebyl podroben dalšímu studiu.

Poslední testovaná reakce z této série byla redukce pryskyřice **BI (2)**. Zisk derivátu **CI (2)** ale také neprobíhal dle očekávání. I v tomto případě pravděpodobně docházelo k nežádoucí interakci s TFA, což komplikovalo analýzu. Závěrečná cyklizace s benzaldehydem nebyla testována.

4.2.3. Přehled připravených látek

V sérii derivátů 1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu byly nakonec připraveny 3 látky ve výborné čistotě. Látky však nebyly zatím purifikovány a jejich výtěžek tedy nebylo možno určit.

Kód struktury	Struktura látky	Surová čistota	Výtěžek
EI (3, 1)		99%	Látka nebyla přečištěna
EI (4, 1)		99%	Látka nebyla přečištěna
EI (6, 1)		95%	Látka nebyla přečištěna

Tabulka 2: Připravené deriváty 1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu

4.3. Příprava derivátů 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu

Stěžejním krokem přípravy, který předurčil vznik látek o výsledné struktuře 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu, byla opět arylační reakce. Rozdílem oproti výše popsanému modelu bylo, že tentokrát byl k arylaci použit 2-chlor-3-nitropyridin. Syntéza derivátů z této série však běžela hůře než na předcházejícím modelu, neboť u mnoha sloučenin docházelo v průběhu reakčního sledu k nežádoucím cyklizacím.

4.3.1. Arylace 2-chlor-3-nitropyridinem

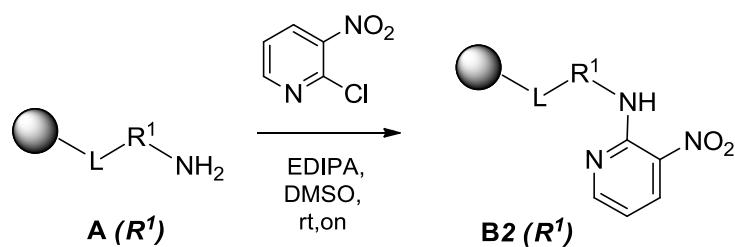


Schéma 32

U většiny aminů bylo opět třeba nejprve provést ochránění aminoskupiny, které umožnilo průběh dalších reakcí. Arylace 0,5M roztokem 2-chlor-3-nitropyridinu probíhala hladce pouze v případě syntézy látek **B2 (2)** a **B2 (4)**, kdy byly za navržených podmínek získány očekávané produkty reakcí s kvantitativním průběhem. Na pryskyřici s intermediátem **B2 (1)** bylo detekováno jisté množství výchozí látky **A (1)**. Reakce byla proto za stejných podmínek zopakována, což přineslo uspokojivý výsledek. Špatný průběh reakce za laboratorní teploty byl pozorován při arylaci α -alaninu na Wangově pryskyřici **A (3)**, proto byla v případě přípravy **B2 (3)** látky zvolena optimalizace při 70°C.

Pro arylaci aminokyselin na Rinkově pryskyřici **A (5)** a **A (6)** bylo podle zkušenosti z předchozího modelu arylace 3-fluor-2-nitropyridinem aplikováno též zvýšení reakční teploty na 70°C. Při analýze derivátů **B2 (5)** a **B2 (6)**, které tato reakce poskytla, byla na LC-MS detekována v obou případech hmota $[M+H]^+ = 194$ místo předpokládané hmoty $[M+H]^+ = 211$. Možnost vysvětlení nabízí Schéma 33.

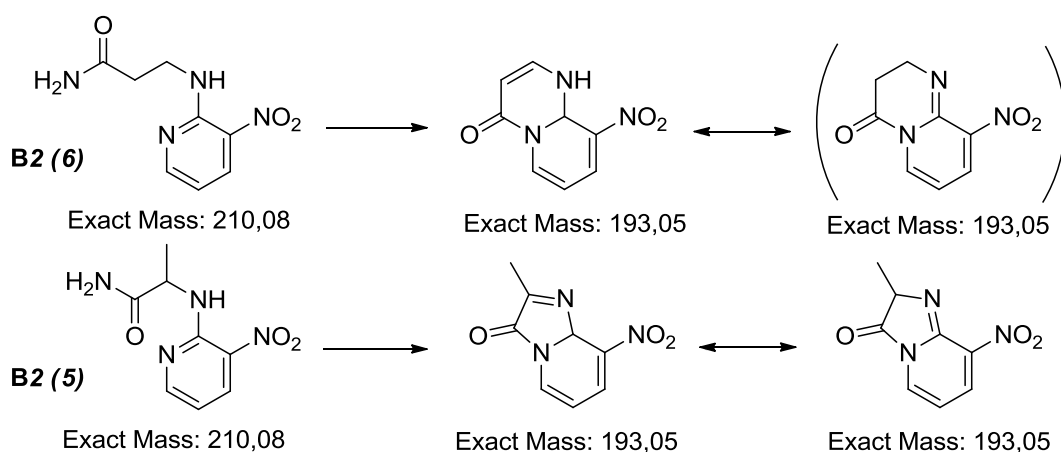


Schéma 33

Derivát **B2 (6)** byl pro potvrzení domnělé vznikající struktury izolován a přečištěn. Výtěžek byl však nízký a izolovaná látka dávala na NMR špatnou odezvu, její strukturu se nepodařilo ověřit. Druhá látka **B2 (5)** spolu s nově připravenou várkou látky **B2 (6)** byly poté podrobeny dalším reakcím podle původního schématu. Vzhledem k úspěšnosti dalších reakčních kroků, usuzujeme, že struktury **B2 (6)** a **B2 (5)** byly na pryskyřici v pořádku a ke vzniku vedlejších látek docházelo jen při štěpení v trifluoroctové kyselině pro potřebu kontrolní analýzy.

4.3.2. Redukce nitroskupiny a cyklizace s aldehydem

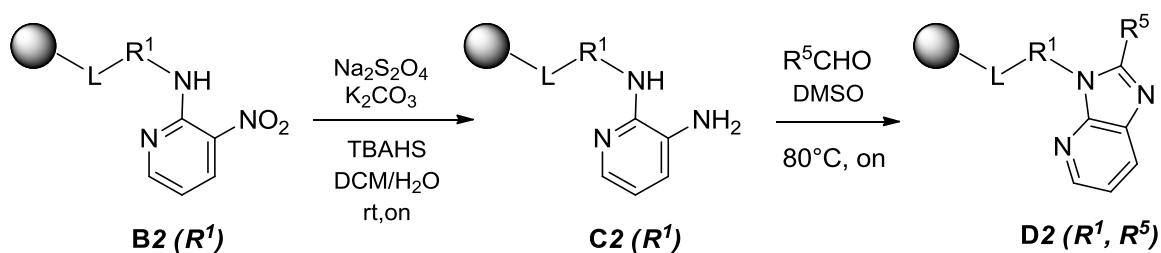


Schéma 34

Průběh a podmínky redukční a cyklizační reakce se nelišily od obecného postupu. Odlišné bylo ale v několika případech chování jednotlivých připravených derivátů.

Redukce pryskyřice **B2** (**1**), **B2** (**2**) a **B2** (**4**) poskytla bez potíží deriváty **C2** (**1**), **C2** (**2**) a **C2** (**4**), které se chovaly podle očekávání i v následujícím cyklizačním kroku. Získané deriváty **D2** (**1, 1**), **D2** (**2, 1**) a **D2** (**4, 1**) byly poté odštěpeny z pryskyřice a purifikovány.

Zajímavější situace nastala u derivátu **B2** (**3**), kde podobně jako v případě derivátu 1H-imidazo[4,5-*b*]pyridinu **B1** (**3**), vznikala po redukci látka o detekované hmotě $[\text{M}+\text{H}]^+ = 164$ namísto $[\text{M}+\text{H}]^+ = 182$. Rozdílné však bylo, že v případě derivátu **B2** (**3**) zůstala tato hodnota ve spektru i po závěrečné cyklizaci. Cyklizace tedy neprobíhala. Zatímco během analytické reakce se ve spektru vyskytl vedle pík látky s hmotou $[\text{M}+\text{H}]^+ = 164$ i pík $[\text{M}+\text{H}]^+ = 257$ odpovídající hmotě požadovaného produktu **D2** (**3, 1**), při reakci prováděné v preparativním množství zde byl přítomen již jen pík pro $[\text{M}+\text{H}]^+ = 164$.

Podobné problémy vyvstaly také v případě derivátů **B2** (**5**) a **B2** (**6**) vázaných na Rinkově pryskyřici, u nichž nabrala jiný směr již předchozí arylace (analýza odhalila hmotu $[\text{M}+\text{H}]^+ = 194$, viz možné vysvětlení dle Schématu 33). Ač byla pravá povaha struktury sloučenin na pryskyřici neznámá, redukce nitroskupiny proběhla v pořádku, v záznamu hmotnostního spektrometru se u látek **C2** (**5**) a **C2** (**6**) v obou případech objevila hmotnost $[\text{M}+\text{H}]^+ = 164$, kdy mohlo docházet k cyklizaci za vzniku šestičlenného, v případě ukotvení přes β -alanin sedmičlenného cyklu (Schéma 35). Tuto hodnotu si zachovalo i spektrum získané při analýze látek po finální reakci s benzaldehydem při 80°C , kdy byla pro deriváty **D2** (**5, 1**) a **D2** (**6, 1**) očekávaná hodnota $[\text{M}+\text{H}]^+ = 267$.

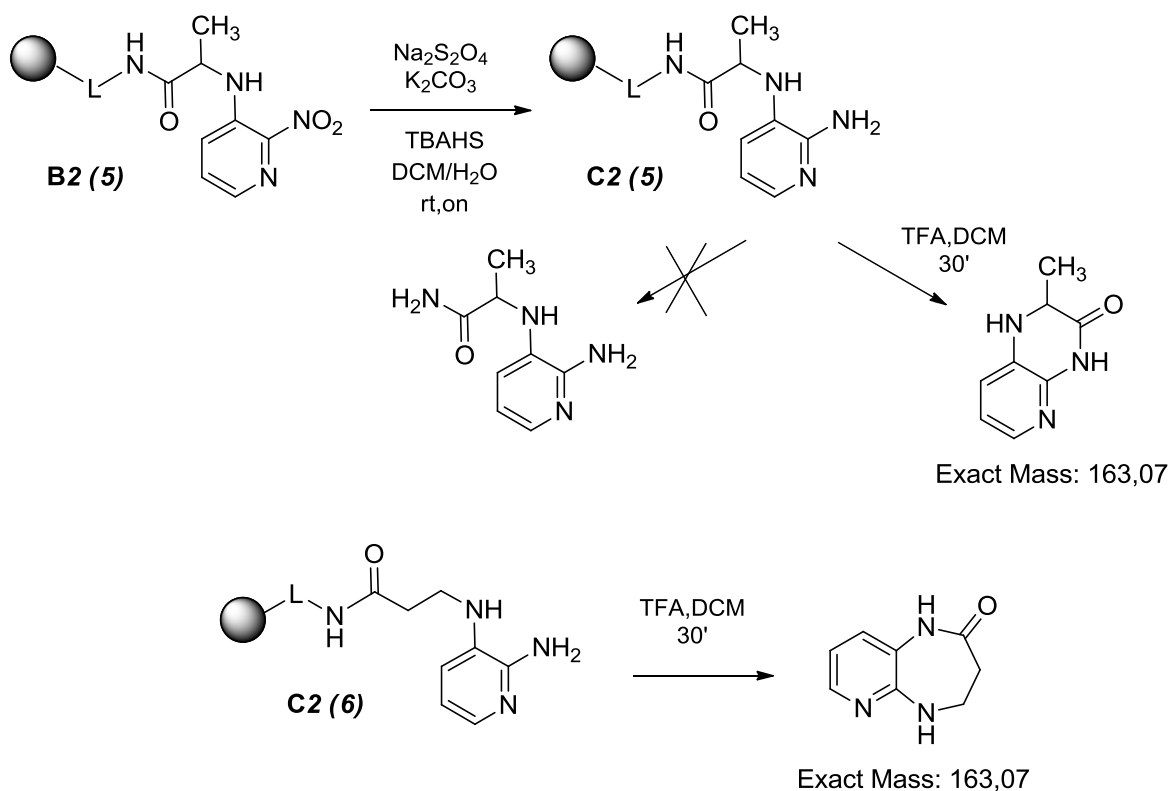


Schéma 35: Možné konkurenční cyklizační reakce.

Závěrečná reakce s benzaldehydem neprobíhala hladce jako v předchozích případech. Bohužel do dokončení bakalářské práce se nepodařilo cyklizační krok s modelovým případem benzaldehydu optimalizovat a jiný model nebyl testován.

4.3.3. Štěpení a čištění finální látky

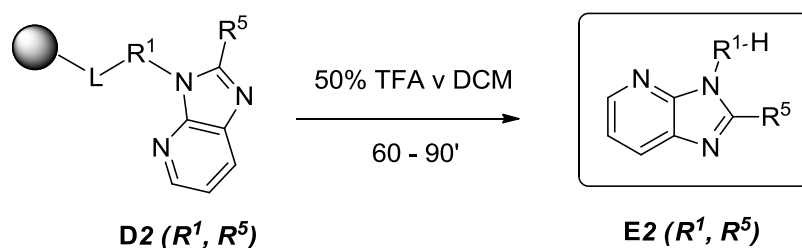


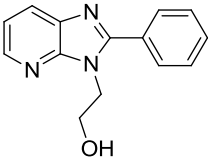
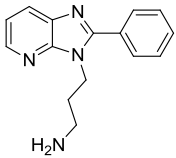
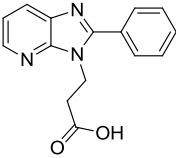
Schéma 36

Připravené deriváty **D2** (R^1 , R^5), jejichž analýzy poskytly očekávané výsledky, byly poté odštěpeny z pevného polymerního nosiče štěpícím koktejlem 50% roztoku TFA v DCM. Štěpení látky z pryskyřice probíhalo 60 až 90 minut, poté byla pryskyřice ještě několikrát propláchnuta 50% TFA. Ze získaného roztoku štěpící směsi s deriváty **E2** (R^1 , R^5) byla TFA odpařena proudem dusíku a zbylý odparek rozpuštěn v malém objemu směsi acetonitrilu (AcCN) a vody. Tento roztok byl poté zfiltrován a přečištěn pomocí semipreparativního HPLC systému za použití mobilní fáze AcCN/octan

amonný. Byly jímány jednotlivé frakce produktu v mobilní fázi, ty byly poté slity, AcCN byl odpařen na rotační vakuové odparce a zbylá voda odstraněna pomocí lyofilizátoru.

4.3.4. Přehled připravených látek

Odštěpeny z pryskyřice a přečištěny byly látky **E2 (1, 1)**, **E2 (1, 1)** a **E2 (1, 1)**.

Kód struktury	Struktura látky	Surová čistota	Výtěžek
E2 (1, 1)		86%	12 mg (49%)
E2 (2, 1)		74%	11 mg (35%)
E2 (4, 1)		78%	28 mg (89%)

Tabulka 3: Připravené deriváty 3H-imidazo[4,5-b]pyridinu

4.4. Příprava derivátu 1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridinu

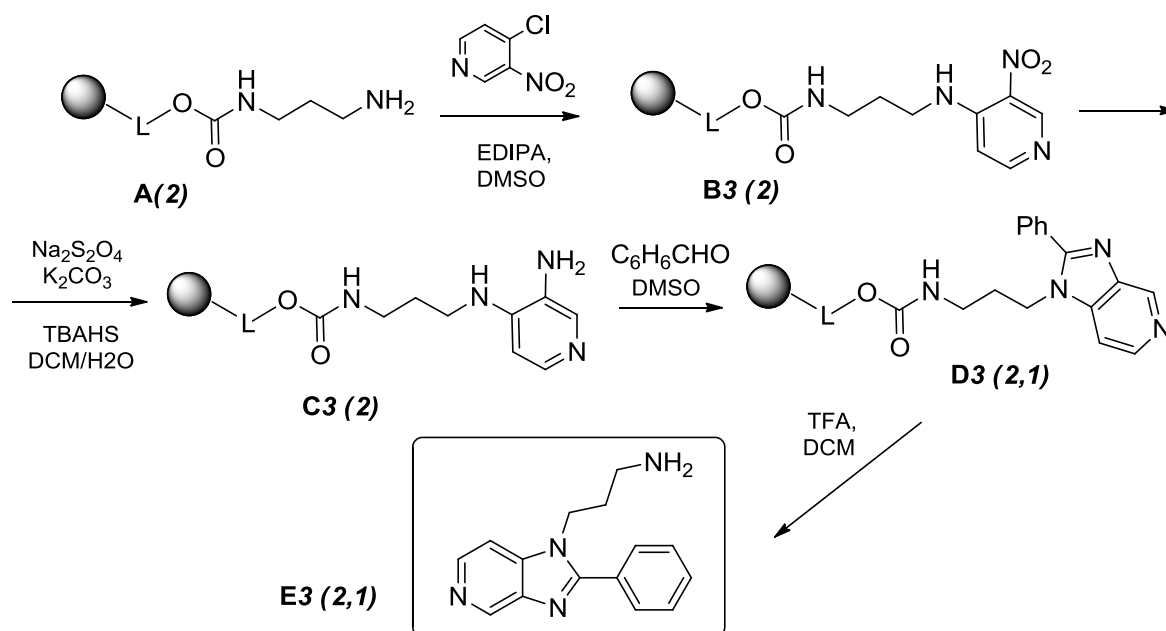


Schéma 37

Při přípravě látek s ústředním motivem 1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridinu bylo stěžejním bodem použití 4-chlor-3-nitropyridinu k arylaci aminu na pryskyřici. Syntéza látek s touto kostrou byla vyzkoušena pouze na jedné cílové struktuře, a to na modelu 1,3-diaminopropanu ukotveného na Wangově pryskyřici **A (2)**. Arylace byla prováděna 0,5M roztokem zmíněného halogen-nitropyridinu a bez problémů poskytla látku **B3 (2)**. Hladký průběh měla také následovná redukce na intermediát **C3 (2)**. Komplikace nastaly, až v cyklizačním kroku, kdy po reakci za původně navržených podmínek stále zůstávala na pryskyřici vedle produktu **D3 (2,1)** i nezreagovaná výchozí látka. Byly proto navrženy několik způsobů optimalizace cyklizačního kroku: zvýšení reakční teploty na 100°C, případně na 120°C, reakce s 1M roztokem benzaldehydu nebo zopakování reakce. Než však byla efektivita těchto optimalizací ozkoušena, došlo k pochybení a látka **D3 (2,1)** byla odštěpena z pryskyřice a purifikována na HPLC. Skutečnost, že látka byla odštěpena, aniž by cyklizace proběhla kvantitativně, snížila její celkový výtěžek.

Kód struktury	Struktura látky	Surová čistota	Výtěžek
E3 (2,1)		51%	5 mg (26%)

Tabulka 4: Připravený derivát 1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridinu

5. Experimentální část

K přípravě látek metodou syntézy na pevné fázi byly jako reakční nádoby využity plastové injekční stříkačky různých objemů. Stříkačky byly opatřeny polypropylenovou fritou umožňující rychlé a efektivní promývání pryskyřice či přidávání a vypouštění reakčního roztoku a zároveň bránící úniku pryskyřice s navázanými meziprodukty ze stříkačky. Při reakcích probíhajících za laboratorní teploty bylo míchání reakční směsi zajištěno umístěním stříkačky po dobu reakce na laboratorní shaker. K promývání reakční směsi byl využíván domino blok. Reakce vyžadující pro zdárný průběh zvýšenou teplotu byly prováděny ve skleněných reakčních vialkách na olejové lázni. K míchání sloužilo vložené magnetické míchadlo.

5.1. Přístroje a instrumentální metody

Pro práci v laboratoři byly využívány následující přístroje:

Kapalinový chromatograf s hmotnostním spektrometrem **Acquility UHPLC-MS (Waters)** posloužil k měření vzorů při průběžných kontrolních analýzách a kvantifikacích.

Parametry přístroje:

- hmotnostní spektrometr s jednoduchým kvadrupólem a PDA detektorem
- mobilní fáze : 0,1% octan amonný v H₂O:AcCN
- lineární gradient z 20% na 80% AcCN po dobu 2,5 minut, poté ekvilibrace kolony 20% AcCN po dobu 1 minuty
- průtok 0,6 ml/min
- X Select kolona (HSS T3; 2,5 mikronů)
- odpařovací teplota 400°C, kapilární teplota 200°C

Semipreparativní HPLC Breeze bylo používáno k přečištění finálních produktů.

Parametry přístroje:

- separace na základě specifických absorbcí v UV-VIS oblasti
- mobilní fáze: 0,1% octan amonný v H₂O:AcCN
- průtok 20 ml/min
- YMC kolona (YMC Pack ODS-A, 5μm, 100x20 mm)

Lyofilizátor SCANVAC byl využíván k odstranění zbytků rozpouštědel (AcCN, H₂O, DMSO) z výsledného vzorku po purifikaci a po měření NMR.

NMR JEOL - 500 MHz byl použit pro měření spekter v d₆ DMSO (při 23°C)

5.2. Příprava vzorku pro analýzu

5.2.1. Štěpení vzorku a standardní analýza

Po každém reakčním kroku byl po promytí reakční směsi odebrán vzorek pryskyřice a provedena kontrolní analýza struktury látky navázané na polymerním nosiči. Vzorek pryskyřice o hmotnosti přibližně 5 mg byl vložen do plastové mikrozkušavky. K provedení analýzy bylo třeba zkoumanou látku odštěpit z pryskyřice, proto se ke vzorku přidalo 0,5 ml štěpícího koktejlu (50% roztoku TFA v DCM) a mikrozkušavka byla ponechána 30 minut na shakeru. Poté byla štěpící směs odpařena v proudu dusíku. K získanému odparku byla přidána směs rozpouštědel methanolu a vody v poměru 1:1, vzorek byl zfiltrován pomocí mikrofiltru do analytické vialky, umístěn do autosampleru UHPLC-MS spektrometru a proměřen.

5.2.2. Derivatizace pomocí Fmoc skupiny

Při analýzách látek s nízkou schopností absorpce v UV oblasti bylo před samotnou analýzou nutno provést derivatizaci s vysoce absorpční Fmoc skupinou, díky čemuž byla látka v měřených spektrech zviditelněna. K fmocylaci bylo odebráno 10-20 mg pryskyřice, jako činidlo byl použit 0,5M roztok Fmoc-OSu (168 mg, 5 mmol) v 1 ml DCM. Reakce probíhala 30 minut, pryskyřice byla poté 5x promyta v DCM a následně odebraný vzorek byl zpracován výše popsaným standardním postupem.

5.2.3. Kvantifikace a stanovení loadingu pryskyřice

Kvantifikace byla prováděna vždy po imobilizační reakci za účelem zjištění loadingu pryskyřice. Pryskyřice byla po reakci promyta 5x DCM, 3x MeOH a poté vysušena proudem dusíku. Poté byly naváženy 2 vzorky suché pryskyřice o hmotnosti 10 mg (přesná hmotnost byla zapsána). Ty byly štěpeny po 30 minut ve štěpící směsi. Směs byla odpařena dusíkem a k odparku každého ze vzorků byl přidán přesně 1 ml MeOH. Roztok byl zfiltrován, 250 µl filtrátu se odebralo do vialky a doplnilo 750 µl čistého MeOH.

Stanovení loadingu pryskyřice se provádělo metodou vnějšího standardu. Jako standard sloužil roztok Fmoc-β-Ala o přesné koncentraci, ten byl změřen na kapalinovém chromatografu. Poté byly proměřeny také dva připravené vzorky. Spektra zobrazená při vlnové délce 300 nm, při níž je absorpce Fmoc skupiny největší, byla zintegrována a z ploch píků vzorku a standardu bylo vypočteno látkové množství vzorku a z něj poté také loading pryskyřice přepočtený na 1g.

$$n_{vz.} = \frac{A_{vz.}}{A_{st.}} \cdot \frac{c_{st.}}{M_{st.}} \qquad L = \frac{n_{vz.}}{m_{prysk.}}$$

($n_{vz.}$ = látkové množství vzorku [mol]; $A_{vz.}$ = plocha píku vzorku; $A_{st.}$ = plocha píku standardu; $c_{st.}$ = hmotnostní koncentrace standardu [mg/ml]; $M_{st.}$ = molární hmotnost standardu [g/mol]; L = loading pryskyřice [mmol/g]; $m_{prysk.}$ = hmotnost vzorku pryskyřice [mg])

5.3. Reakční postupy

5.3.1. Imobilizace primárních aminů a aminokyselin

Ukotvení 2-(Fmoc-amino)ethanolu na Wangovu pryskyřici – A (1)

1g Wangovy pryskyřice (1 mmol/g) byl promyt 3x bezvodým DCM, poté k němu byl přidán roztok trichloroacetonitrilu (15mmol; 1,5 ml) v 10ml bezvodého DCM a stříkačka byla umístěna na 30 minut do mrazáku. Poté byl k pryskyřici přidán roztok DBU (0,67 mmol; 100 μ l) v bezvodém DCM (2 ml). Reakční směs byla třepána 1 hodinu a poté promyta 3x bezvodým DCM a 3x bezvodým THF. Následně byl k pryskyřici přidán roztok 2-(Fmoc-amino)ethanolu (3 mmol; 849 mg) v bezvodém THF (10 ml) s přísadkou BF₃.Et₂O (0,3 mmol; 63 μ l) a směs byla třepána 30 minut. Pryskyřice pak byla promyta 3x THF, 3x MeOH a 3x DCM a byla provedena kvantifikace výše popsáním způsobem. Před dalším postupem bylo potřeba provést deprotekcí Fmoc skupiny.

Ukotvení 1,3-diaminopropanu na Wangovu pryskyřici – A (2)

1 g Wangovy pryskyřice (0,52mmol/g) byl nabobtnán a promyt 3x DCM a poté třepán po 2 hodiny s roztokem CDI (5mmol; 810mg) a pyridinu (5 mmol; 400 μ l) v 10 ml DCM. Pryskyřice byla znovu promyta 3x DCM a nechal se reagovat s roztokem 1,3-diaminopropanu (5mmol; 417 μ l) v DCM (10 ml). Reakce se nechala přes noc za laboratorní teploty a protřepávání na shakeru, nato byla pryskyřice promyta 5x DCM. Byl odebrán vzorek pryskyřice (asi 30 mg), usušen dusíkem a kvantifikován. Produkt bylo pro účely kvantifikace potřeba derivatizovat fmocylační reakcí.

Kvantifikace: 2 x 10 mg vzorku suché pryskyřice bylo podrobena reakci s Fmoc-OSu (0,5 mmol; 168 mg) v 1 ml DCM na 30 minut za okolní teploty. Pryskyřice pak byla 5x promyta DCM a ošetřena 0,5 ml TFA/DCM v poměru 1:1 po dobu dalších 30 minut. Štěpící koktejl byl poté odpařen proudem dusíku a odštěpený produkt extrahován v 1 ml MeOH a zfiltrován. Do vialky bylo odebráno 250 μ l filtrátu a zředěno 750 μ l čistého MeOH. Připravené vzorky byly proměřeny společně se standardem Fmoc- β -Ala-OH na LC-MS a loading pryskyřice byl stanoven klasickým způsobem.

Ukotvení Fmoc-Ala-OH a Fmoc- β -Ala-OH na Wangovu pryskyřici – A (3), A (4)

1g Wangovy pryskyřice (0,52 mmol/g) byl nabobtnán promytím 3x DCM. K pryskyřici byl přidán reakční roztok připravený smícháním Fmoc-Ala-OH, respektive Fmoc- β -Ala-OH (2 mmol; 622mg;), HOBt (2 mmol; 306 mg), DMAP (0,5 mmol; 61 mg;), DMF (5ml), DIC (2 mmol; 312 μ l) a DCM (5ml) v uvedeném pořadí. Stříkačka s reakční směsí byla třepána na shakeru přes noc za laboratorní teploty. Poté byla náplň stříkačky promyta 5x DCM a 3x MeOH. Z pryskyřice usušené proudem dusíku byly odebrány vzorky ke kvantifikaci. Stanovení loadingu bylo provedeno klasickým postupem. Dalšímu reakčnímu kroku poté přecházelo odstranění chránicí Fmoc skupiny.

Ukotvení Fmoc-Ala-OH a Fmoc-β-Ala-OH na Rinkovu pryskyřici – A (5), A (6)

1g Rinkovy pryskyřice (0,6 mmol/g) byl nabobtnán a promyt 3x DCM a 3x DMF. Poté bylo provedeno odchránění aminoskupiny přidáním 10 ml 50% roztoku piperidinu v DMF a třepáním po dobu 30 minut na shakeru. Pryskyřice byla následně promyta 3x DMF a 3x DCM. K promyté pryskyřici byl přidán reakční roztok připravený smícháním Fmoc-Ala-OH, respektive Fmoc-β-Ala-OH (2 mmol; 622mg), HOBt (2 mmol; 306 mg), DMF (5ml), DIC (2 mmol; 312μl) a DCM (5ml) v uvedeném pořadí. Stříkačka s reakční směsí byla třepána na shakeru přes noc za laboratorní teploty. Poté byla náplň stříkačky promyta 5x DCM a byla provedena kvantifikace standardním způsobem. I v tomto případě bylo potřeba pokračovat odchráněním Fmoc-aminoskupiny.

5.3.2. Arylace pyridinem – B1 (R¹), B2 (R¹), B3 (R¹)

Většina imobilizovaných aminů či aminokyselin obsahovala aminoskupinu ošetřenou chránicí skupinou Fmoc. V takovém případě byla nejprve provedena deprotektace aminoskupiny. 1 g pryskyřice byl promyt 3x DCM a 3x DMF a třepán na shakeru 30 minut v 50% roztoku piperidinu v DMF (10 ml). Poté byl roztok odstraněn a směs promyta opět 3x DMF a následně 3x DCM.

K samotné arylaci bylo odebráno 500 mg pryskyřice, jež byla promyta 3x DCM a 3x DMSO a byl k ní přidán 0,5M roztok halogen-nitropyridinu, a to konkrétně roztok buď 2-chlor-3-nitropyridinu (5 mmol; 790 mg), nebo 3-fluor-2-nitropyridinu (5 mmol; 710 mg), případně 4-chlor-3-nitropyridinu (5 mmol; 790 mg) v 10 ml DMSO s přídavkem EDIPA (5 mmol; 870 μl). Stříkačka s reakčním roztokem byla ve většině případů zanechána na shakeru přes noc za okolní teploty. Alternativně byla reakce prováděna přes noc v reakční vialce na olejové lázni při teplotě 70°C. Pryskyřice byla poté promyta 3x DMSO a 3xDKM. Po tomto kroku byla provedena kontrolní analýza pomocí derivatizace s Fmoc-OSu výše popsaným způsobem. Byl odebrán také vzorek k analýze bez předchozí fmocylace.

5.3.3. Redukce nitroskupiny – C1 (R¹), C2 (R¹), C3 (R¹)

Do stříkačky o objemu 20 ml bylo odebráno 300 mg pryskyřice z předchozího kroku. Pryskyřice byla promyta 3x DCM, aby nabobtnala, a poté k ní byly 4 ml DCM přidány. Pro redukci byl připraven roztok dithioničitanu sodného (4 mmol; 840mg), uhličitanu draselného (5,6 mmol; 776 mg) a TBAHS (0,4 mmol; 136 mg) v 8 ml H₂O, který byl po namíchání rychle přidán k pryskyřici. Reakce probíhala přes noc za laboratorní teploty. Druhého dne byl reakční roztok vypuštěn a náplň stříkačky nejprve 3x promyta ručně směsí DCM a H₂O (v poměru 1:1), poté klasicky na domino bloku 3x DMF a 3x DCM. Následně byl odebrán vzorek k analýze na LC-MS.

5.3.4. Cyklizace s benzaldehydem – D1 (R^1 , R^5), D2 (R^1 , R^5), D3 (R^1 , R^5)

Pryskyřice z předchozího reakčního kroku (asi 300 mg) se promyla 3x v DCM, 3x v DMSO a pak byla přemístěna do reakční vialky o objemu 10 ml. Do nádoby byl přidán 0,5M roztok benzaldehydu (2,5 mmol; 275 μ l) v DMSO (5ml) Uzavřená nádoba s vloženým magnetickým míchadlem, byla umístěna do olejové lázně. Reakce se nechala běžet přes noc při 80°C, poté byla pryskyřice opět přesunuta do injekční stříkačky, promyta 3x DMSO a byl z ní odebrán vzorek k analýze.

5.3.5. Finální štěpení, čištění a NMR analýza – E1 (R^1 , R^5), E2 (R^1 , R^5), E3 (R^1 , R^5)

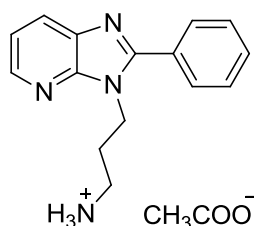
Štěpení závěrečného produktu z pryskyřice se provádí kvantitativně. K pryskyřici ve stříkačce, která se promyla a nabobtnala v DCM, byly přidány 3 ml štěpící směsi 50% TFA v DCM a stříkačka byla na 60-90 minut umístěna na laboratorní shaker. Obsah stříkačky byl poté vypuštěn do větší skleněné vialky a těkavý štěpící koktejl byl odfoukán dusíkem. Zbýlý odparek byl rozpuštěn v malém objemu (2,5 – 3 ml) vhodného rozpouštědla (směs AcCN a H₂O v různém poměru) a zfiltrován do menší vialky. Současně byl také odebrán vzorek k analýze na LC-MS.

K přečištění finálního produktu posloužil semipreparativní HPLC systém, využívá mobilní fázi o složení 1% roztok octanu amonného ve vodě/AcCN. Jednotlivé frakce čistého produktu v mobilní fázi byly jímány do zkumavek a na vakuové odparce byl roztok zbaven přítomnosti těkavého AcCN. Zbýlý vodný roztok byl zmražený koupelí v kapalném dusíku a v něm obsažená voda byla od produktu oddělena pomocí lyofilizátoru.

Zlyofilizovaný čistý produkt byl následně rozpuštěn v 600 μ l DMSO-d₆ a kvantitativně převeden do NMR kyvety. Bylo provedeno NMR měření pro potvrzení konečné struktury produktu a výpočet výtěžku reakcí.

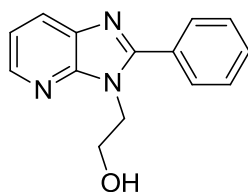
5.4. Analytická data finálních sloučenin

5.4.1. 3-(2-fenyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-3-yl)propan-1-amin – E2 (1, 1)



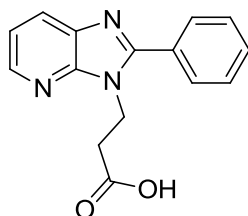
Výtěžek 12 mg (49%). Surová čistota 74%. MS $[M+H]^+ = 253,1$. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8.37 - 8.41 (m, 1 H) 8.11 (dd, $J=7.73, 1.43$ Hz, 1 H) 7.84 - 7.89 (m, 2 H) 7.58 - 7.63 (m, 3 H) 7.31 - 7.37 (m, 1 H) 4.45 (t, $J=7.16$ Hz, 3 H) 2.52 - 2.59 (m, 2 H) 1.91 (quin, $J=7.30$ Hz, 2 H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 153.8, 148.5, 143.6, 134.6, 130.3, 130.0, 129.1, 129.0, 127.0, 118.6, 40.9, 37.6, 30.4.

5.4.2. 2-(2-fenyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-3-yl)ethanol – E2 (2, 1)



Výtěžek 11 mg (35%). Surová čistota 86%. MS $[M+H]^+ = 240,1$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8.36 - 8.40 (m, 1 H) 8.11 (dd, $J=7.79, 1.37$ Hz, 1 H) 7.93 - 8.00 (m, 2 H) 7.56 - 7.61 (m, 3 H) 7.33 (dd, $J=8.01, 4.81$ Hz, 1 H) 5.02 - 5.10 (m, 1 H) 4.41 (t, $J=5.95$ Hz, 2 H) 3.84 (t, $J=5.95$ Hz, 2 H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 154.6, 148.7, 143.4, 134.7, 130.2, 130.0, 129.6, 128.7, 126.7, 118.5, 58.7, 46.0.

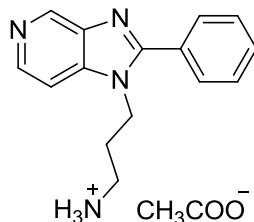
5.4.3. 3-(2-fenyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-3-yl)propanová kyselina – E2 (4, 1)



Výtěžek 28 mg (89%). Surová čistota 78%. MS $[M+H]^+ = 268,1$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8.36 (dd, $J=5.04, 1.37$ Hz, 1 H) 8.00 - 8.12 (m, 1 H) 7.75 - 7.85 (m, 3 H) 7.50 - 7.64 (m, 3 H)

7.23 - 7.36 (m, 1 H) 4.46 - 4.60 (m, 2 H) 2.76 - 2.89 (m, 2 H). ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 171.8, 154.0, 148.3, 143.5, 134.7, 130.2, 130.0, 129.2, 128.8, 126.9, 118.5, 33.2.

5.4.4. 3-(2-phenyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-1-yl)propan-1-amin – E3 (2, 1)



Výtěžek 5 mg (26%). Surová čistota 51%. MS $[\text{M}+\text{H}]^+ = 253,1$. ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 8.99 (d, $J=1.15$ Hz, 1 H) 8.40 (d, $J=5.73$ Hz, 1 H) 7.81 - 7.84 (m, 2 H) 7.79 (dd, $J=5.73$, 1.15 Hz, 1 H) 7.58 - 7.64 (m, 3 H) 4.36 - 4.44 (m, 2 H) 3.90 - 4.33 (m, 2 H) 2.56 - 2.64 (m, 2 H) 1.85 - 1.93 (m, 2 H). ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 154.4, 141.8, 141.6, 140.4, 139.8, 130.3, 129.6, 129.3, 129.0, 106.5, 42.1, 37.1, 29.8.

6. Závěr

Předložená bakalářská práce se zabývá vývojem a optimalizací syntetické metody vedoucí k disubstituovaným derivátům 1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu a 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu pomocí syntézy na pevné fázi. Teoretická část tohoto díla nabízí průřez možnými syntetickými postupy přípravy cílových sloučenin a to jak metodami klasické roztokové syntézy, tak i syntézou na pevné fázi. Dále je probírána také rozmanitá biologická aktivita těchto sloučenin. V praktické a experimentální části je popsán průběh syntézy, jsou diskutovány problémy, se kterými bylo nutné se potýkat, i jejich navrhované řešení.

Základním pilířem celé syntézy byly vhodně substituované halogen-nitropyridiny. Konkrétně pro vznik derivátů 1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu byl využit 3-fluor-2-nitropyridin za vzniku tří finálních látek **E1 (3, 1)**; **E1 (4, 1)** a **E1 (6, 1)** v surové čistotě 95% a vyšší. Tyto sloučeniny však zatím nebyly izolovány a purifikovány. 2-Chlor-3-nitropyridin pak vedl ke vzniku derivátů 3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridinu **E2 (1, 1)**; **E2 (2, 1)** a **E2 (4, 1)** v surové čistotě 74-86% a výtěžku po izolaci a purifikaci semipreparativním HPLC 35-89%. Závěrečná cyklizační reakce **E2** derivátů byla studována i pro další tři typy **R¹** intermediáty (**R¹** = 3,5 a 6), avšak reakce s benzaldehydem neprobíhala snadno dle původního plánu a i přes optimalizaci se doposud nepodařilo cyklizační krok plně optimalizovat.

Původně navržené dva typy cílových imidazopyridinů se v průběhu řešení bakalářské práce rozrostl o třetí typ v závislosti na pozici atomu dusíku v heterocyklu. Tato nepatrná změna ve struktuře vždy v sérii třech velmi podobných disubstituovaných imidazopyridinů nabízí široký potenciál v oblasti studia biologicky aktivních sloučenin. Pro poslední typ derivátů 1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridinu je klíčovou látkou 4-chlor-3-nitropyridin. Získaný produkt **E3 (2, 1)** byl získán v surové čistotě 51% a výtěžku 26%. Syntéza třetího typu imidazopyridinů byla doposud studována jen na jednom modelovém příkladu, přestože konečná cyklizace vyžaduje další optimalizaci, podařilo se potvrdit a charakterizovat danou strukturu.

Celkem bylo připraveno sedm finálních látek, z nichž tři byly izolovány, purifikovány s využitím semipreparativního kapalinového chromatografu a charakterizovány pomocí NMR a LC-MS. Stinnou stránkou vyvinuté metody je nutné podrobnější studium cyklizačního kroku u některých derivátů. Bakalářská práce však stále poskytuje podstatné informace této problematiky, která bude nadále zkoumána.

7. Seznam použitých zkratek

AcCN	acetonitril
CDI	1,1'- karbonyldiimidazol
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCM	dichlormethan
DIC	<i>N,N</i> -diisopropylkarbodimid
DMAP	4-dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
EDIPA	<i>N,N</i> -diisopropylethylamin
Fmoc-OSu	<i>N</i> -(9-Fluorenylmethoxykarbonyloxy)sukcinimid
HOBt	hydroxybenzotriazol
LC-MS	kapalinový chromatograf s hmotnostním spektrometrem
MeOH	methanol
NMR	nukleární magnetická rezonance
TBAHS	hydrogensíran tetrabutylamonný
TFA	trifluoroctová kyselina
THF	tetrahydrofuran

8. Použitá literatura

- ¹ Liskiewicz, H.; Nowicka, A.; Nawrocka, W. P.; *Wiad. Chem.*(2013), 66(3-4), 227-250
- ² Liskiewicz, H.; Nowicka, A.; Nawrocka, W. P.; *Wiad. Chem.*(2012), 66(11-12), 1071-1096
- ³ Dubey, P. K.; Kumar, R. V.; Naidu, A.; *Asian J. Org. Chem.* (2002), 14(3-4), 1129-1152
- ⁴ Bukhryakov, K. V.; Kurkin, A. V.; Yurovskaya M. A.; *Chem. Heterocycl. Compd.*(2011) , 47, 533-557
- ⁵ Chichibabin, A. E.; Kirsanov, A.V.; *Zh. Russ. Fiz.-Khim. Obsch.* (1927), 59, 417
- ⁶ Deasy, R. E.; Slattery, C. N.; Maguire, A. R.; *J. Org. Chem.* (2014), 79(8), 3688-3695
- ⁷ Yutilov; Yu. M.; Shcherbina, L. I; *Khim. Geterotsikl. Soedin.* (1987), 639. [*Chem. Heterocycl. Comp.* (1987), 23, 529].
- ⁸ Krasavin, M.; Kobak, V. V.; Bondarenko, T. Y.; *Heterocycles.* (2005), 65(9), 2189-2194
- ⁹ Ashwell, M. A.; Lapierre, J.-M.; Brassard, C.; *J. Med. Chem.* (2012), 55(11), 5291-5310
- ¹⁰ Seechum, C.; A.; Colacot, T. J.; *RSC Catalysis Series* (2015), 21, 1-19
- ¹¹ Zou, B.; Yuan, Q.; Ma, D.; *Angew. Chem. Int. Ed.* (2007), 46, 2598-2601
- ¹² Rosenberg, A. J.; Zhao, J.; Clark, D. A.; *Org. Lett.* (2012), 14(7), 1764-1767.
- ¹³ Iaroshenko, V. O.; Sevenard, D. V.; Volochnyuk, D. M.; *Synthesis* (2009), (11), 1865-1875
- ¹⁴ Wu, J.; Xing, X.; Cuny, G. D.; *Lett. Org. Chem.* (2009), 6(3), 203-207
- ¹⁵ Sajith, A. M.; Muralidharan, A.; *Tetrahedron Lett.* (2012), 53(9), 1036-1041
- ¹⁶ Sajith, A. M.; Muralidharan, A.; *Tetrahedron Lett.* (2012), 53(39), 5206-5210
- ¹⁷ Nageswar, R. D.; Rasheed, Sk.; Vishwakarma, R. A.; *Chem. Commun.* (2014), 50(85), 12911-12914
- ¹⁸ Elchaninov, M. M.; Achkasova, A. A.; Elchaninov, I. M.; *Russ. J. Org. Chem.* (2014), 50(11), 1663-1666
- ¹⁹ Mamedov, V. A.; Zhukova, N. A.; Zamaletdinova, A. I.; *J. Org. Chem.* (2014), 79(19), 9161-9169
- ²⁰ Liszkiewicz, H.; Nawrocka, W. P.; Sztuba, B.; *Acta Pol. Pharm.* (2011), 68(3), 349-355
- ²¹ Mujumdar, P.; Grkovic, T.; Krasavin, M.; *Tetrahedron Lett.* (2013), 54(26), 3336-3340
- ²² Lemrova, B.; Smyslova, P.; Popa, I.; *ACS Comb. Sci.* (2014), 16(10), 558-565
- ²³ Farrant, E.; Rahman, S. S.; *Tetrahedron Lett.* (2000), 41(28), 5383-5386.
- ²⁴ Ermann, M.; Simkovsky, N. M.; Roberts, S. M.; *J. Org. Chem.* (2002), 4(4), 352-358
- ²⁵ Yun, Y. K.; Porco, J. A., Jr.; Labadie, J.; *Synlett.* (2002), (5), 739-742
- ²⁶ Janssens, M. M. L.; Howarth, P. H.; *Clin. Rev. Allegy* (1993), 11(1), 111-153
- ²⁷ Rodriguez Paredes, A.; Gonzalez, J. L.; *Allergol. Immunopathol.* (2000), 28(5), 272-277
- ²⁸ Giani, R; Parini, E.; patent EP 0397615 A3, (1990)
- ²⁹ Clark, R.L.; Pessolano, A. A.; Shen, T. Y.; *J. Med. Chem.* (1978), 21 (9), 965-978
- ³⁰ London, C.; Hoyt, S. B.; Parsons, W.H; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*(2008), 18, 1696-1701

- ³¹ Philips, D. J.; Davenport, R. J.; Demaude, T. A.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*(2008), 18, 4146-4149
- ³² Tomczuk, B. E.; Taylor, C. L. ; Moses,L. M.;*J. Med. Chem.*(1991), 34, 2993-3006
- ³³ Zhang, L.; Brodney, M. A.; Candler, J.; *J. Med. Chem.*(2011), 54, 1724-1739
- ³⁴ Bukowski, L.; Janowiec, M.; *Pharmazie* (1996), 51(1), 27-30
- ³⁵ Herold, P.; Buehlmayer, P.; Eur. Pat. App. EP 415886 A2 (1991)