

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Fakulta přírodovědecká

Katedra analytické chemie

Využití 1-methyl-*N*-acylaminopyrazolů pro Suzuki-Miyaurovu reakci

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor:

Alena Šustková

Studijní obor:

Chemie

Vedoucí práce:

Mgr. Lukáš Jedinák, Ph. D.

Olomouc 2017

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 analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne 18. 4. 2017

.....

Podpis

Poděkování

Chtěla bych poděkovat Mgr. Lukáši Jedinákovi, Ph. D. za odborné vedení této bakalářské práce, připomínky a cenné rady při jejím zpracování a také za jeho velkou trpělivost. Dále bych ráda poděkovala Katedře organické chemie PŘF UPOL za umožnění vypracování práce a přátelský přístup a grantovému projektu IGA PrF 201 020 za finanční podporu, která umožnila řešení této bakalářské práce. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat svojí rodině a nejbližším přátelům za podporu a sílu, kterou mi dodávali.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora:	Alena Šustková
Název práce:	Využití 1-methyl- <i>N</i> -acylaminopyrazolů pro Suzuki-Miyaurovu reakci
Typ práce:	Bakalářská
Pracoviště:	Katedra organické chemie
Školitel:	Mgr. Lukáš Jedinák, Ph. D
Rok obhajoby práce:	2017
Abstrakt:	<p>Cílem bakalářské práce bylo připravit deriváty pyrazolu substituované na uhlíku C4. Syntéze předcházela optimalizace podmínek, za kterých reakce probíhala nejlépe. Po přípravě halogenovaných pyrazolů se nejdříve podmínky optimalizovaly na bromovaném pyrazolu 36, kdy nejlepší výsledky vykazovaly takové podmínky, při kterých byly následně vyzkoušeny syntézy z jodovaného 38 i chlorovaného 37 derivátu pyrazolu. Celkem bylo pomocí Suzuki-Miyaurovy cross couplingové reakce připraveno 5 nových derivátů, přičemž se podařilo připravit deriváty s navázanými aryl-, heteroaryl-, styryl- substituenty 40, 41, 44, 46, 47 v relativně dobrých výtěžcích. Ty ovlivňovaly různé faktory, ať už sterické bránění nebo přítomnost dvojně vazby či indukční efekty. Tyto sloučeniny byly syntetizovány z důvodu potencionální biologické aktivity, jejíž zkoumání nezahrnovala tato práce.</p>
Klíčová slova:	Heterocykly, cross-coupling, katalýza přechodnými kovy
Počet stran:	38
Počet příloh:	10
Jazyk:	Čeština

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Alena Šustková

Title: The use of 1-methyl-*N*-acylaminopyrazoles for Suzuki-Miyaura reaction

Type of thesis: Bachelor

Department: Department of Organic Chemistry

Supervisor: Mgr. Lukáš Jedinák, Ph. D

The year of presentation: 2017

Abstract: The goal of this bachelor thesis was to prepare derivatives substituted on carbon pyrazole C4. Synthesis was preceded by the optimizing the best conditions under which the reaction proceeded. The next step after preparation of halogenated pyrazole was optimizing conditions on brominated pyrazole **36**, when the best results were reached in such condition in which were subsequently tested the synthesis of iodinated **38** and chlorinated **37** pyrazole derivative. By using a Suzuki-Miyaura cross coupling reactions were prepared 5 new derivatives in total, while it was achieved to prepare derivatives with attached aryl-, heteroaryl-, styryl-substituents **40, 41, 44, 46, 47** in relatively good yields. These yields has been influenced by different factors like steric hindrance or presence of double bond or inductive effects. These compounds were synthesized from the ground of potential biological activity, however this activity is not subject of this thesis.

Keywords: Heterocycles, cross-coupling, transitional metal catalysis

Number of pages: 38

Number of appendixes: 10

Language: Czech

Obsah

1	ÚVOD	1
2	TEORETICKÁ ČÁST	2
2.1	Pyrazoly jako aromatické sloučeniny	2
2.1.1	Reaktivita pyrazolů	3
2.2	Biologická aktivita	3
2.2.1	Deriváty pyrazolů ve farmakochemii	4
2.2.2	Deriváty pyrazolů v agrochemii	8
2.2.3	Deriváty pyrazolů jako barviva	9
2.3	Suzuki-Miyaurova reakce	10
2.3.1	Historie Suzuki-Miyaurovy reakce	10
2.3.2	Mechanismus reakce	11
2.3.3	Využití pro syntézu farmaceuticky relevantních substancí.....	13
3	VÝSLEDKY A DISKUZE	17
3.1	Příprava halogenovaných pyrazolů 36-38.....	17
3.1.1	Příprava <i>N</i> -(4-brom-1-methyl-1 <i>H</i> -pyrazol-5-yl)acetamidu 36	17
3.1.2	Příprava <i>N</i> -(4-chlor-1-methyl-1 <i>H</i> -pyrazol-5-yl)acetamidu 37	18
3.1.3	Příprava <i>N</i> -(4-jod-1-methyl-1 <i>H</i> -pyrazol-5-yl)acetamidu 38.....	18
3.2	Optimalizace Suzuki reakce.....	19
3.2.1	Optimalizace podmínek z bromovaného pyrazolu.....	19
3.2.2	Optimalizace podmínek z chlorovaného pyrazolu	21
3.2.3	Optimalizace podmínek z jodovaného pyrazolu	21
3.2.4	Shrnutí optimalizace	23
3.3	Syntéza pyrazolů.....	23
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	27
4.1	Příprava halogenaminopyrazolů.....	27

4.2	Syntéza aminopyrazolů	29
5	ZÁVĚR	32
6	SUMMARY.....	33
7	LITERATURA	35
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	38
9	PŘÍLOHY – NMR spektra	39

1 ÚVOD

Cílem bakalářské práce bylo vyvinout metodu modifikace polohy 4 aminopyrazolů pomocí Suzuki-Miyaurovy reakce. Od objevení této reakce v roce 1979 zaznamenala velký rozmach a dnes se bez Suzuki reakce neobejde téměř žádný chemik zabývající se syntézami. Při reakci boronových kyselin nebo jejich esterů nebo s vhodnými elektrofilny dochází ke vzniku vazby C-C. Je to jedna z nejvýznamnějších cross-coupling reakcí katalyzovaných komplexy palladia za přítomnosti báze a jsou vhodné zejména pro reakce sp^2 hybridizovaných center. Mezi jejich hlavní výhody patří vysoká tolerance k nejrůznějším funkčním skupinám, snížení množství reakčních kroků a také nízká toxicita vedlejších produktů vznikajících při reakci. Reakce lze často provést ve vodném prostředí, a tudíž není vyžadováno ani rozpouštědel se stopovým množstvím vody (suchých rozpouštědel).

Suzuki-Miyaurova reakce se stala velice populární pro syntézu biologicky aktivních látek vzhledem k tomu, že umožňuje efektivně diverzifikovat strukturu cílových sloučenin v jednom jediném kroku. Aplikace této reakce v oblasti heteroaromatických sloučenin obsahujících amino skupiny či amidickou skupinu není zcela triviální a vyžaduje zevrubnou optimalizaci reakčních podmínek. Zvládnutí této reakce v oblasti pyrazolů nesoucích NHAc skupinu je hlavním cílem této práce.

Jedním z prvních cílů je optimalizace podmínek pro Suzuki-Miyaurovu reakci, aby byly získány co nejvyšší podíly produktu s co nejmenším vznikem nečistot. Po zjištění vhodných reakčních podmínek s modelovou boronovou kyselinou a určení, který z halogenovaných derivátů pyrazolu je pro cross-coupling nejvhodnější, měly být provedeny reakce s vybranými boronovými kyselinami tak, aby tyto obsahovaly funkční skupiny a uspořádání s nejrůznějšími stereo-elektronickými efekty.

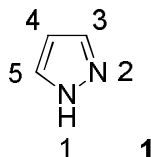
2 TEORETICKÁ ÁST

Následující teoretická část je rozdělena do dvou hlavních skupin. První část se zabývá deriváty pyrazolů a jejich biologickou aktivitou. Kapitola pojednává nejen o tom, co jsou pyrazoly za látky a jaká je jejich reaktivita, ale i o sloučeninách již vyrobených a používaných, a také o jejich různé biologické aktivitě. Použití pyrazolů díky jejich účinnosti má široké spektrum uplatnitelnosti, protože nejen že se najdou mezi pyrazolovými sloučeninami již používané léčiva, ale i látky s využitím v agrochemii jako pesticidy nebo dokonce v potravinářství jako barviva. Uplatnění také našly jako ligandy používající se v supramolekulární chemii.

V druhé části se můžeme seznámit se Suzuki-Miyauruovou cross couplingovou reakcí, na které je postavena experimentální část bakalářské práce. Kapitola obsahuje seznámení s tím, jaký typ reakce je Suzuki-Miyaura coupling, k jakým reakcím se zejména používá, ale také jaké jsou nezbytné podmínky, které by zajišťovaly správný průběh reakce.

2.1 Pyrazoly jako aromatické sloučeniny

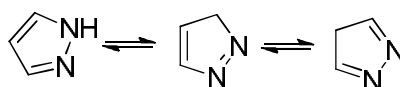
Pyrazoly **1** se řadí mezi pětičlenné heterocyklické aromatické uhlovodíky obsahující dva atomy dusíku. (Obr. 1). V důsledku nepřerušené konjugace dvou vazeb π a jednoho nevazebného elektronového páru a dále díky planárnímu uspořádání, je pyrazolové jádro aromatické. Tento fakt má zcela zásadní vliv na fyzikální a chemické vlastnosti pyrazolového cyklu. Projevem je například vyšší stabilita nenasyceného pětičlenného cyklu nebo chemické reakce typické pro aromatické uhlovodíky, čili aromatické substituce elektrofilní.



Obrázek 1: *Pyrazol 1*

2.1.1 Reaktivita pyrazolů

Díky mezním strukturám a rozložení elektronové hustoty napříč jednotlivými atomy můžeme vysvětlit chemickou reaktivitu molekuly pyrazolu **1**. Atom dusíku v poloze 2 je bazický, reaguje s elektrofilu, a to díky dvěma volným elektronům. Dusík v poloze 1 je nereaktivní, v přítomnosti báze ztrácí proton. Zkombinováním dvou atomů dusíku je snížena hustota náboje na uhlících v poloze 3 a v poloze 5, naopak uhlík v poloze 4 je přístupný elektrofilnímu útoku¹. Pokud bude pyrazol **1** v přítomnosti silné báze, může dojít k deprotonaci na uhlíku v poloze 3 a následnému otevření kruhu. Při protonizaci se vytvářejí pyrazolové kationty, u kterých je menší pravděpodobnost elektrofilního útoku na uhlík v poloze 4, avšak na uhlík v poloze 3 je útok usnadněn. Substituce elektrofilní bude probíhat pouze se silnými elektrofilu (nitrace, halogenace, sulfonace)². Pyrazolový anion je mnohem méně reaktivní vůči nukleofilům, ale vzrůstá reaktivita k elektrofilům¹. Nesubstituovaný pyrazol **1** můžeme zapsat ve třech tautomerních strukturách (Obr. 2).



Obrázek 2: Tautomerní struktury pyrazolu **1**

2.2 Biologická aktivita

Z biologických účinků, jež byly u různých derivátů odvozených od pyrazolu prokázány, můžeme jmenovat zejména: antibakteriální, antivirové, antimikrobiální, antihistaminové, antidepressivní, antituberkulózní, analgetické, sedativní antirevmatické, protizánětlivé účinky, ale také mají pozitivní účinek proti rakovině a obezitě. Některé mají využití jako antimalarika, cytostatika i jako hypoglykemické činidlo. Jako antikonvulziva se využívají zejména u lidí trpící epilepsií – medikamenty z derivátů pyrazolů se používají na uvolnění křečových stavů. Především z těchto důvodů jsou deriváty zajímavé prioritně pro farmaceutické odvětví, protože heterocyklická část představuje jádro struktury pro nespočet léčiv.

Další použití našly pyrazoly jako herbicidy, insekticidy a fungicidy. Jsou tedy významným prvkem v agrochemickém průmyslu, jako meziproducty řady syntéz, bifunkční ligandy pro kovové katalýzy a také jako barviva v potravinářském, oděvním a fotografickém průmyslu.

2.2.1 Deriváty pyrazolů ve farmakochemii

Léčiv, jež mají jako jádro struktury pyrazol **1**, je v dnešní době mnoho. Zejména v poslední době jsou deriváty pyrazolů zkoumány z důvodu jejich biologické aktivity. Pyrazolový kruh je přítomen jako jádro v různých předních léčích, jako je například Difenamizol **2**, Celebrex **3**, Sildenafil (Viagra) **4**, Rimonabant **5**, Ionazlac, atd. (cit. ³). Mají však různé biologické účinky.

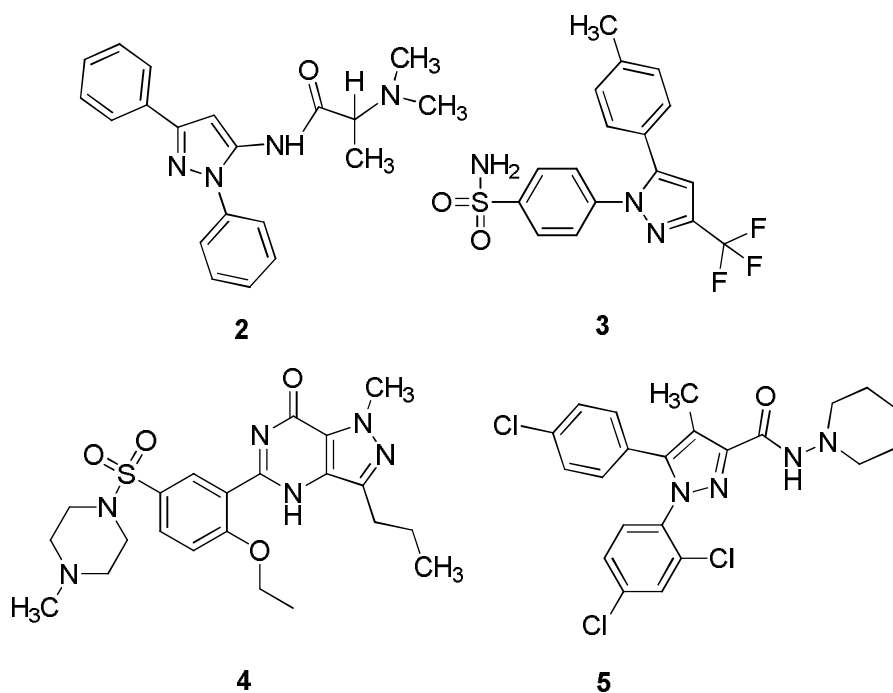
2.2.1.1 Deriváty pyrazolů jako zavedené léčiva

Zmíněný Difenamizol **2** (Obr. 3) se řadí mezi nesteroidní léčiva s protizánětlivým a analgetickým účinkem. Celebrex (Celecoxib) **3** je zástupce coxibů a řadí se mezi nesteroidní protizánětlivé léky potlačující bolest a zánět (Obr. 3). Díky tomu, že je to inhibitor enzymu cyklooxygenázy-2 (COX-2,) snižuje hladinu prostaglandinů. Používá se k léčbě osteoartrózy, revmatoidní artritidy a ankylozující spondylitidy⁴. Kromě protizánětlivého efektu má výhodu v tom, že minimálně poškozuje žaludeční sliznici⁵.

Sildenafil **4**, také známý jako Viagra, je používán zejména na erektilní dysfunkci u mužů (Obr. 3). Účinek léku spočívá v inhibici fosfodiesterázy zabraňující rozkladu cyklického guanosinmonofosfátu, který následně stimuluje účinek oxidu dusnatého – látky schopné vyvolat erekci⁶. Stejnou látku můžeme zakoupit také pod názvem Revatio, jimž se léčí vzácná plicní arteriální hypertenze.

Rimonabant **5** patří do skupiny léků používaných k léčbě obezity díky účinku snižování chuti k jídlu (Obr. 3). Princip spočívá v selektivní inhibici kanabinoidních receptorů CB1. Bylo také zjištěno, že pomáhá lidem při odvykání kouření. Proběhly dvě studie – první studie studovala použití Rimonabantu **5** přímo k pomoci při odvykání kouření, druhá studovala zabránění přibývání na váze u bývalých kuřáků. Obě studie byly úspěšné a mohou zvýšit šanci na odvyknutí až 1,5 krát⁷.

S pyrazolovým motivem se můžeme setkat i u látky granisetronu, který je účinnou látkou v léku zvaném Kytril. Ten se podává pacientům jako doprovodný lék proti nevolnostem a zvracení při léčbě chemoterapií nebo radioterapií. Zařazuje se do skupiny léků zvaných antagonisté serotoninových 5-HT₃ receptorů (setrony), nebo také antiemetika – medikamenty proti zvracení⁸.

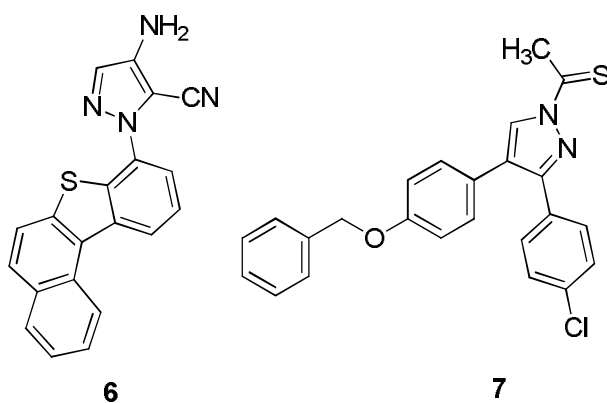


Obrázek 3: *Struktury derivátů pyrazolů používaných jako léčiva*

2.2.1.2 Antivirální aktivita

Již v roce 2008 vznikly látky **6** a **7** s velice slibnou antivirovou aktivitou a to zejména proti viru způsobující hepatitidu typu A a Herpes Simplex type-1 za použití plaque infective testu. Tyto látky jsou substituované deriváty od výchozího pyrazolu **6** (Obr. 4)⁹.

Následně 2009 byly vysyntetizované nové látky odvozené od pyrazolu **7** (Obr. 4). Tyto 4,5-disubstituované deriváty obsahující chlór vykazaly silný antivirový účinek vůči širokému spektru virů v různých buněčných kulturách (HEL Cell cultures)¹⁰.

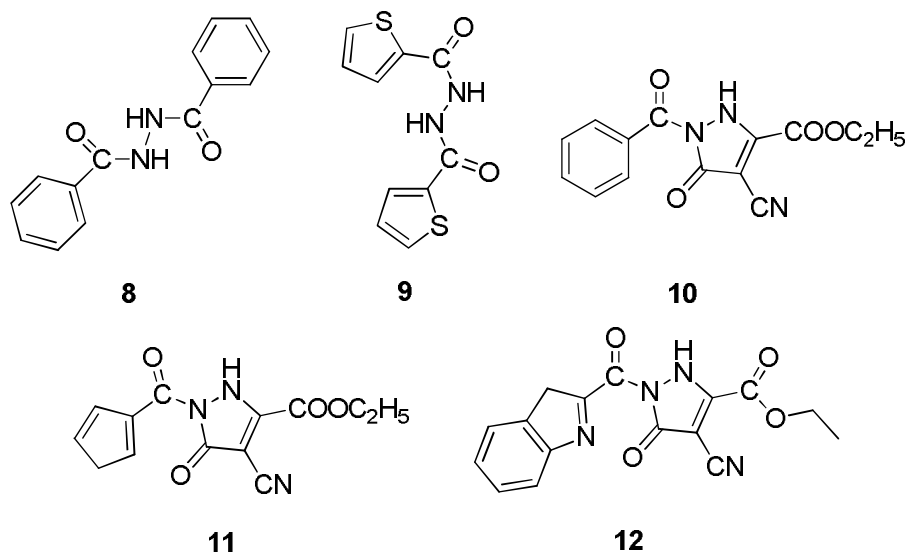


Obrázek 4: *Deriváty pyrazolů s antivirální aktivitou*

2.2.1.3 Antikonvulzivní a antidepressivní aktivita

Skupina vědců v roce 2009 publikovala článek, ve kterém popsali dvě možnosti jak syntetizovat diacylhydraziny, 5-amino-1-substituované pyrazol-3,3,4-trikarbonitryly (Obr. 5) a oxadiazoly. Tyto pyrazolové deriváty poskytly pozitivní výsledky proti depresím dokázané pomocí tail suspension a behavioural despair testů. Dále u nich byla zjištěná i antikonvulzivní aktivita proti záchvatům vyvolaných u myši pomocí látky nazývané pentylentetrazol (PTZ).

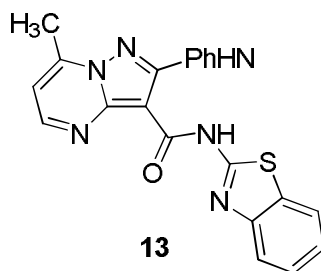
Pokud bychom chtěli porovnat antidepressivní aktivitu imipraminu (tricyklické antidepressivum) s látkami, které vědci vyrobili, měly by sloučeniny **8** a **9** při dávce 10 mg/kg dvakrát vyšší aktivitu než imipramin. Zbylé syntetizované sloučeniny **10**, **11** a **12** projevily profylaktický účinek proti klonickým záchvatům, jež byly vyvolány při PTZ o dávce vysoké 20 mg/kg (cit. ¹¹).



Obrázek 5: Sloučeniny **8-12** s protikonvulzivními a antidepressivními účinky.

2.2.1.4 Antimikrobiální aktivita

Pomocí difuzní techniky na agarové desce byly v roce 2010 zjištěny antimikrobiální aktivity u nově syntetizovaných derivátů pyrazolů **13** (Obr. 6). Antimikrobiální aktivita stanovená difuzní metodou na Petriho miskách s agarem byla zkoumána na *E coli*, kmenu *Saccharomyces cerevisiae* a *Fusarium oxysporum f. sp. albicans*. Pro provedení testu byl jako referenční sloučenina použit streptomycin. Bylo zjištěno, že tyto deriváty jsou neúčinnější¹².



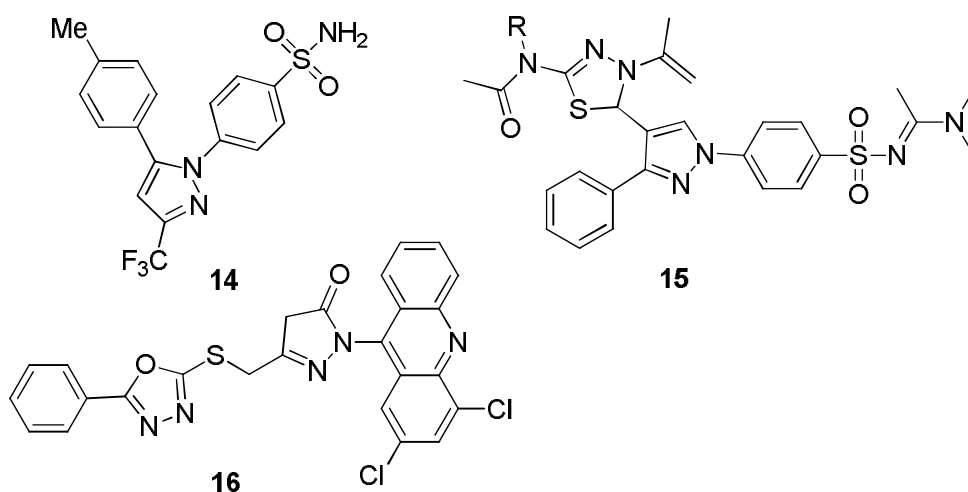
Obrázek 6: Sloučenina s antimikrobiální aktivitou

2.2.1.5 Protizánětlivá aktivita

Aromatické heterosloučeniny (2-aryl-1-cyklopentenyl-1-alkyliden)-(arylmethoxy)-aminy, inhibitory COX-2 enzymů, byly použity pro syntézu analogů, kdy byla skupina cyklopentenu nahrazena pyrazolem **14** (Obr. 7). Tato vzniklá látka prokazovala aktivitu pouze k COX-1 enzymu¹³.

V roce 2008 byly uvedeny série sloučenin s protizánětlivým účinkem thiazolových a thiadiazolových derivátů odvozených od 1*H*-pyrazolu **15** (Obr. 7). Při pozorování bylo zjištěno, že tyto látky jsou účinnější než standardní indomethacin. V tomto případě byla aktivní látka selektivní proti COX-2 enzymu¹⁴.

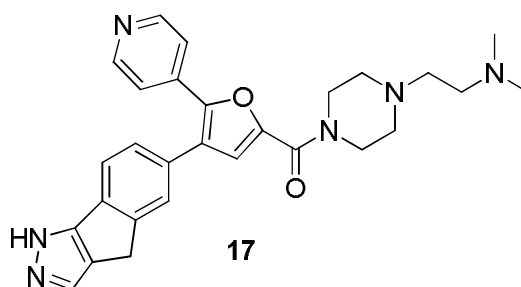
Další skupina vědců syntetizovala sérii látek nejen s protizánětlivou aktivitou, ale i s účinky proti bolesti. Sloučenina 1-(2,4-Chloracridin-9-yl)-3-(5-pyridin-4-yl)-(1,3,4-oxadiazol-2-ylthiomethyl)-pyrazol-5-on **16** (Obr. 7) vykazovala biologickou aktivitu ve třech odstupňovaných dávkách, a to při 25, 50 a 100 mg/kg (cit. ¹⁵).



Obrázek 7: Sloučeniny vykazující protizánětlivé účinky

2.2.1.6 Antikarcinogenní aktivita

O vytvoření nových látek s protirakovinnou aktivitou se zabývají vědci již několik let. 2009 se kolektivu vědců podařilo vytvořit novou sérii 3-aryl-1-(4-terc-butylbenzyl)-1H-pyrazol-5-karbohydrazid hydrazon derivátů **17** (Obr. 8). Poté byly látky podrobeny výzkumu na účinnost proti růstu buněk A549. Největší inhibiční účinek proti růstu plicních nádorových buněk A549, jakož i největší efekt k vyvolání jejich apoptózy (řízené buněčné smrti), vykazovala sloučenina (E)-1-(4-terc-butylbenzyl)-NO-(1-(5-chlor-2-hydroxyphenylethyliden)-3-(4-chlorphenyl)-1H-pyrazol-5-karbohydrazid (cit.¹⁶).



Obrázek 8: Sloučenina s antikarcinogenní aktivitou

2.2.2 Deriváty pyrazolů v agrochemii

Pod souhrnný název pesticidy můžeme zařadit nejen herbicidy, insekticidy, fungicidy, ale i další chemické látky určené k ochraně rostlin a zemědělských rostlinných produktů. I v tomto odvětví mají deriváty pyrazolů svoje místo a běžně se s nimi můžeme setkat v komerčních obchodech.

Chemické látky určené k hubení nežádoucích rostlin, jako jsou plevely či invazní rostliny, nazýváme herbicidy. Jejich účinek na organismus zasažené rostliny se dělí do tří skupin. Pokud odumře jen část, která byla v kontaktu s látkou, jedná se o herbicid kontaktní. Když je látka rozvedena do celé rostliny, přitom herbicidem byla zasažena jen část rostliny, mluvíme o herbicidu systémovém. Herbicidy kořenové se dokáží sorbovat z půdy přes kořenový systém rostliny.

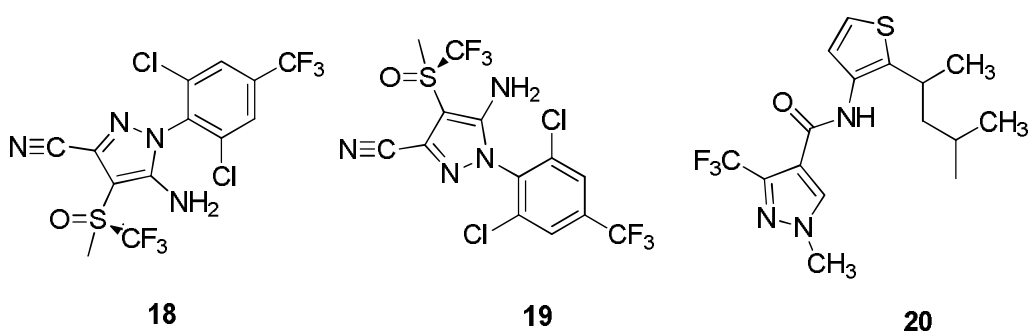
Insekticidy - látky předem určené k hubení hmyzu v různých stádiích jejich vývoje. První ze způsobů vniknutí látky do hmyzu se nazývá požer, kdy k otravě dojde požitím insekticidu. Druhý způsob, kdy po vdechnutí aerosolu nebo par insekticidu dojde k otravě, se

nazývá fumigantní působení insekticidu. Posledním způsobem je kontakt, kdy dochází k otravě po kontaktu s jakoukoliv částí povrchu těla živočichů.

Jedním z širokospektrálních insekticidů je Fipronil **18**, **19** (Obr. 9). Oba enantiomery **18**, **19** jsou vysoce toxické zejména pro včely, díky narušení centrálního nervového systému tím, že v nervovém systému zablokuje průchod chloridových iontů specifickými receptory gama aminomáselné kyseliny (GABA). U Fipronilu **18**, **19** dle českých vědeckých výzkumů bylo zjištěno, že tento insekticid je hlavní příčinou toxikózy u včel¹⁷.

Fungicidy jsou používány k hubení houbových chorob a plísní. Nesmí vykazovat fyto toxicitu, musí být minimálně toxické pro člověka a živočichy. Směsi fungicidů nesmí mezi sebou nijak reagovat a vytvářet nežádoucí sloučeniny, aby nenarušily biologickou rovnováhu prostředí. Kontaktní fungicidy by měly odolat nepříznivým vlivům počasí a naopak fumigační fungicidy by měly chránit nově narostlé části rostliny, zároveň by po dosažení svého pesticidního výsledku měly být biologicky rozložitelné na neškodné látky.

Mezi fungicidní zástupce derivátů pyrazolu můžeme jmenovat například Pentioapyrad **20** (Obr. 9), jež řadíme do karboxamidů, kvůli odlišnému systému účinku. Účinek spočívá v inhibici mitochondriální respirace. Tento širokospektrální fungicid brání klíčení spór a u hostitele indukuje reakci obranných genů. Účinky Pentioapyradu **20** jsou preventivní a kurativní¹⁸.

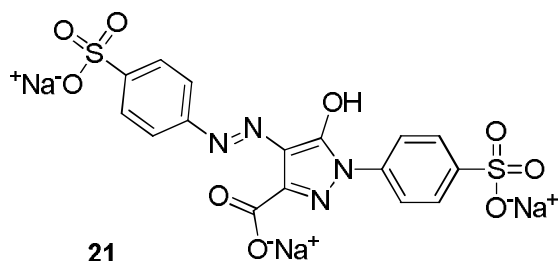


Obrázek 9: Struktury derivátů pyrazolů používaných v agrochemii

2.2.3 Deriváty pyrazolů jako barviva

Uplatňují se jako barviva ve fotografickém průmyslu k vyvolávání barevných fotografií, k barvení vlny a hedvábí, v potravinářském průmyslu, farmacii i kosmetice. Ve fotografickém průmyslu je to hlavně zelené barvivo, v potravinářském např. Oranž B. Od pyrazolonu je odvozeno žluté barvivo, známé jako Egacidová žluť 3G.

Jedním z nejvíce využívaných barviv můžeme jmenovat Tartrazin **21** (Obr. 10), který našel uplatnění nejen v potravinářském průmyslu, farmacii, kosmetice, barvení vlny a hedvábí, ale také v biochemii jako adsorpčně-eluční indikátor při stanovování chloridů.



Obrázek 10: *Struktura Tartrazinu*

2.3 Suzuki-Miyaurova reakce

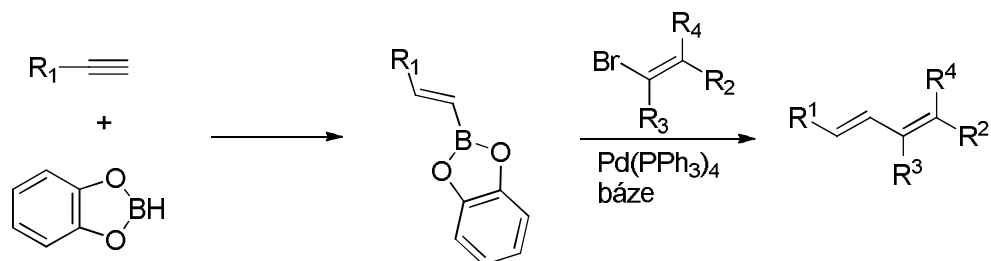
Suzuki-Miyaurova reakce se řadí mezi cross couplingové reakce, které jsou hojně využívané v dnešní době, ale zároveň také neustále zkoumané. V dnešní době existuje množství léků, agrochemických přípravků, ale i dalších komerčně dostupných látek, které se jednoduše dají připravit právě Suzuki-Miyaurovou reakcí.

Jedním z nejdůležitějších kritérií, kterým se daná cross couplingová reakce vyznačuje je to, že probíhá za relativně mírných podmínek, jelikož není třeba používat silné kyseliny nebo silné báze, a tak reakce toleruje řadu funkčních skupin. Výtěžky, kterých se dosahuje, bývají zpravidla vysoké a zároveň se při reakci tolerují různé reaktanty a funkční skupiny. Reakce je katalyzovaná palladiem a dochází k tvorbě vazby $C(sp^2)-C(sp^2)$ mezi elektrofilem (nejčastěji arylhalogenid) a nukleofilem (obvykle arylboronová kyselina)¹⁹.

2.3.1 Historie Suzuki-Miyaurovy reakce

V roce 1979 publikovali vědci Norio Miyauro, Kinji Yamada a Akira Suzuki článek, ve kterém popsali reakci alkenylboranů, které lze získat hydroborací alkynů, s alkenylhalogenidy za přítomnosti báze a katalytického množství palladia. Tato reakce poskytla vysoce stereoselektivní a regiospecifickou syntézu konjugovaných dienů, které jsou užitečnými intermediáty například pro Diels-Alderovy reakce²⁰. Jedna z prvních typů reakcí, které skupina vědců provedli, je zobrazena níže (Schéma I).

Schéma I: Jedna z jejích prvních provedených cross-coupling reakcí



Suzuki a Miyaura přitom vycházeli z práce Negishiho a Baba, kterým se nepovedlo přimět reagovat alkenylborany s alkenylhalogenidy v přítomnosti komplexu palladia. Suzuki a Miyaura zjistili, že pro úspěch reakce je důležité přidat bázi (methoxid, ethoxid, acetát nebo hydroxid), čímž získali produkty couplingu ve výtěžcích kolem 80 %.

Předkládaná cross-coupling reakce je vhodná především pro (*E*)-1-alkenylborany (R_1 = fenyl, butyl, hexyl) a je efektivní pro syntézu (*E*, *E*)-dienů. V každém případě se jedná o reakci stereospecifickou, při níž se zachovává konfigurace jak (*E*)-1-alkenylboranů, tak (*E*)-1-alkenyl bromidů²⁰.

Ve stejném roce Suzuki a Miyaura publikovali ještě jeden článek²¹, kde shrnuli výsledky svého stávajícího výzkumu. Ten ukazuje, že tento nový cross-coupling je použitelný pro reakce alkenylboranů s aryl bromidy a jodidy. Reakce probíhá při zachování geometrické izomerie vzhledem k alkenylboranům. Při reakcích s funkčními deriváty benzenu se ukázalo, že podmínky reakce tolerují různé funkční skupiny, jako například OMe, CO₂Et a Cl.

Po provedení studie zabývající se srovnáním vlivů substituentů na relativní reaktivitu sestavili vědci následující řadu: PhI > *p*-ClC₆H₄Br > PhBr > *o*-MeC₆H₄Br > *o*-MeOC₆H₄Br (cit.²¹). Tato řada odpovídá vlivu substituentů na rychlost oxidativní arylhalogenidů na palladium v oxidačním stavu nula. Je tedy více než pravděpodobné, že oxidativní adice arylhalogenidů na Pd (0) je krok určující rychlost reakce, tzn. přenos alkenylových skupin z alkenylboranů (transmetalace) na Ar-Pd-halid je relativně rychlý krok. Na druhé straně, aryl chloridy, jako je chlorbenzen, jsou zcela inertní za daných reakčních podmínek.

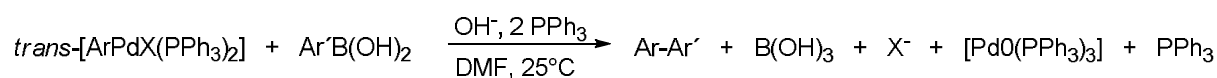
2.3.2 Mechanismus reakce

Poprvé byl mechanismu Suzuki-Miyaurovy²² reakce katalyzované palladiem zkoumán v DMF za přítomnosti báze při reakci *trans*-[ArPdX(PPh₃)₂], kdy Ar = *p*-Z-C₆H₄; Z = CN, F, H; X = I, Br, Cl; s arylboronovou kyselinou Ar'B(OH)₂, kdy Ar' = *p*-Z'-C₆H₄; Z' = CN, H, OMe. Poprvé

také byly stanoveny kinetické údaje celkové reakce pomocí změření rychlostní konstanty K_{obs} . Komplex $\text{trans-[ArPdX(PPh}_3)_2]$ není reaktivní, pokud není přítomna báze. To vedlo k závěru, že báze hraje v reakci celkem tři důležité role:

- 1) Vytvoření $\text{trans-[ArPd(OH)(PPh}_3)_2]$, což je reaktivní forma, která se podílí na transmetalaci a je značně reaktivnější než $\text{trans-[ArPdX(PPh}_3)_2]$.
- 2) Tvorba velmi reaktivního a nukleofilního ArB(OH)_3^- pomocí reakce OH^- s ArB(OH)_2 .
- 3) Zrychlení reductivní eliminace při reakci OH^- s meziproduktem $\text{trans-[ArPdAr'(PPh}_3)_2]$ komplexu (cit.²²).

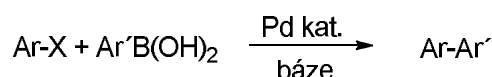
Schéma II: Obecná rovnice Suzuki-Miyaurovy reakce



2.3.2.1 Katalytický cyklus a vliv báze

Palladiem katalyzovaná Suzuki-Miyaurova reakce ArX a Ar'B(OH)_2 probíhá v přítomnosti báze, například Ba(OH)_2 , NaOH , K_3PO_4 , Na_2CO_3 , CS_2CO_3 , NaHCO_3 , NaOAc (Schéma II)²³⁻²⁵. Báze hrají důležitou úlohu, ale až doposud jejich role nebyly nikdy zcela vysvětleny. Čistě hypoteticky, reakce by měly probíhat v nepřítomnosti báze, jelikož není nutný žádný přenos protonu v jakékoliv fázi. Nicméně, pro všechny takové katalytické reakce jsou báze vyžadovány²³⁻²⁵. Důvody, proč jsou báze důležité, jsou zmíněny výše, sepsány ve třech skupinách (viz kapitola 2.3.2).

Schéma III: Suzuki-Miyaurova reakce

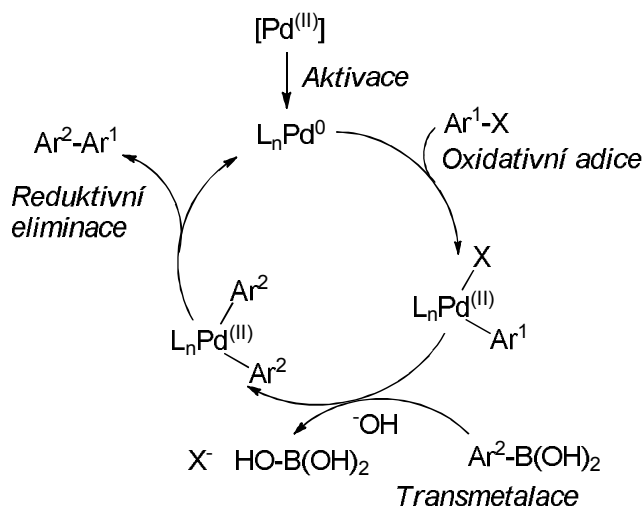


Katalytický cyklus je sled jednoduchých reakcí zahrnující organokovové intermediáty, kdy jejich koncentrace zůstává nízká v porovnání s reakčními činidly. Pro stanovení

mechanismu katalytického cyklu je třeba prozkoumat rychlost a mechanismus každého kroku za podmínek, jež jsou blízké podmínkám katalytické reakce.

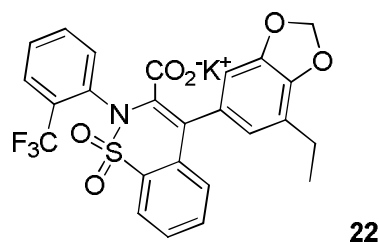
Rychlost a mechanismus prvního kroku, tedy tvorba *trans*-[ArPdX(PPh₃)₂] (X = Cl, Br, I) oxidativní adicí ArX na komplex [Pd(PPh₃)₂], jsou nyní dobře zdokumentovány²⁶. Druhý krok katalytického cyklu (transmetalace) zahrnuje reakci Ar²B(OH)₂ s komplexem *trans*-[ArPdX(PPh₃)₂] za vytvoření nového komplexu [ArPdAr²(PPh₃)₂]. Katalytický cyklus se uzavírá reduktivní eliminací, která vytváří produkt Ar²-Ar¹ za současného obnovení katalyzátoru Pd (0) (Schéma IV).

Schéma IV: Katalytický cyklus



2.3.3 Využití pro syntézu farmaceuticky relevantních substancí

Jedním z příkladů využití Suzuki-Miyaurovy reakce v průmyslu byla popsána syntéza sloučeniny **22** nazývané CI-1034, která je silným antagonistou endotelinového receptoru používaného při léčbě primární plicních arteriálních hypertenzí a městnavých srdečních selhání²⁷.

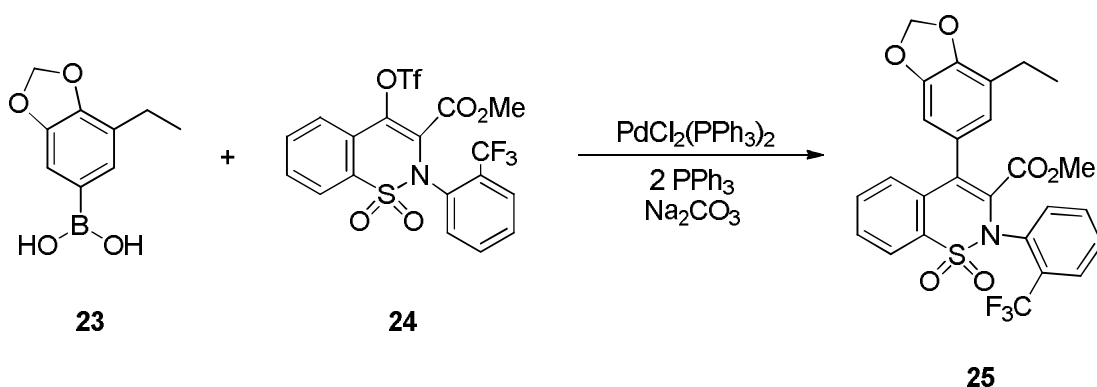


Obrázek 11: Struktura sloučeniny CI-1034

V patnácti krokové syntéze se vycházelo z benzensulfonylchloridu a z komerčně dostupného *o*-vanilinu. Klíčovým krokem byla Suzuki reakce mezi boronovou kyselinou **23** a esterem **25** (Schéma V).

Po několika vyzkoušených způsobech se našla vhodná metoda, při které se získaly poměrně vysoké výtěžky přesahující 90 %. Roztok boronové kyseliny **23** se převedl do nádoby obsahující trifluormethansulfonát **24**, bázi Na₂CO₃, spolu s katalytickým systémem PdCl₂(PPh₃)₂ (katalyzátor) a 2 ekvimolární množství PPh₃ (ligand). Jiné vyzkoušené katalytické systémy byly náchylné na tvorbu tzv. palladiové černi, která vedla k inhibici katalytického cyklu. Reakce probíhala jen s minimálním množstvím katalyzátoru (0,3 molárních procent), přičemž tento katalytický systém byl dostatečně efektivní a robustní. Vzniklý produkt **25** se po extrakci organickým rozpouštědlem a následné krystalizaci získal ve vysokém výtěžku 90 % (cit.²⁸).

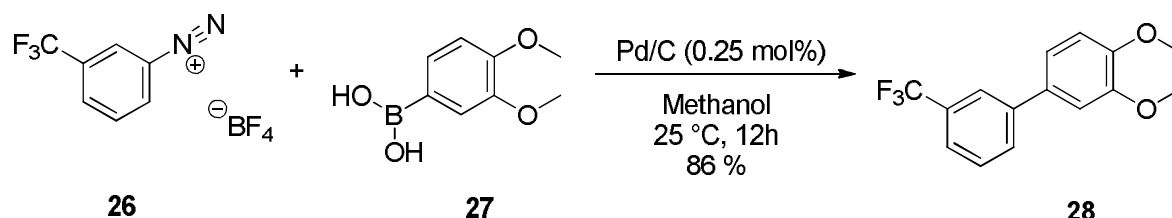
Schéma V: Suzuki-Miyaurova reakce při přípravě sloučeniny CI-1034 **22**



Dalším z příkladů Suzuki-Miyaurovy reakce je využití aryldiazoniových solí, které jsou schopny snížit náklady a zkrátit syntézu. Jejich vysoká reaktivita zároveň umožňuje použití méně aktivních katalyzátorů. Jejich kompetentnost pro použití jako couplingového partnera v laboratorním měřítku a v přítomnosti palladia jako katalyzátoru, se ukázala již před nějakým časem²⁹. Výsledky syntéz popsal v člancích³⁰⁻³⁴ vědec Felpin a jeho spolupracovníci. Jednalo se o reakce palladia na aktivním uhlí s aryldiazoniovými soli pomocí cross couplingové reakce. Příkladem může být reakce, kdy 3-trifluoromethylbenzenediazonium tetrafluorborát **26** s 3,4-dimethoxyfenylboronovou kyselinou **27**, v přítomnosti palladia na

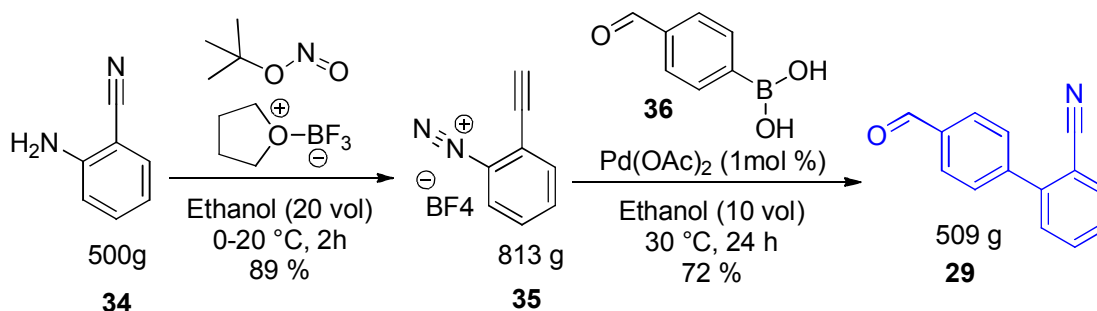
uhlí (0,25 mol%) a v methanolu vznikl produkt biarylu **28** couplingovou reakcí v poměrně vysokém výtěžku 86 % (Schéma VI).

Schéma VI: Suzuki-Miyauraova reakce aryldiazoniové soli



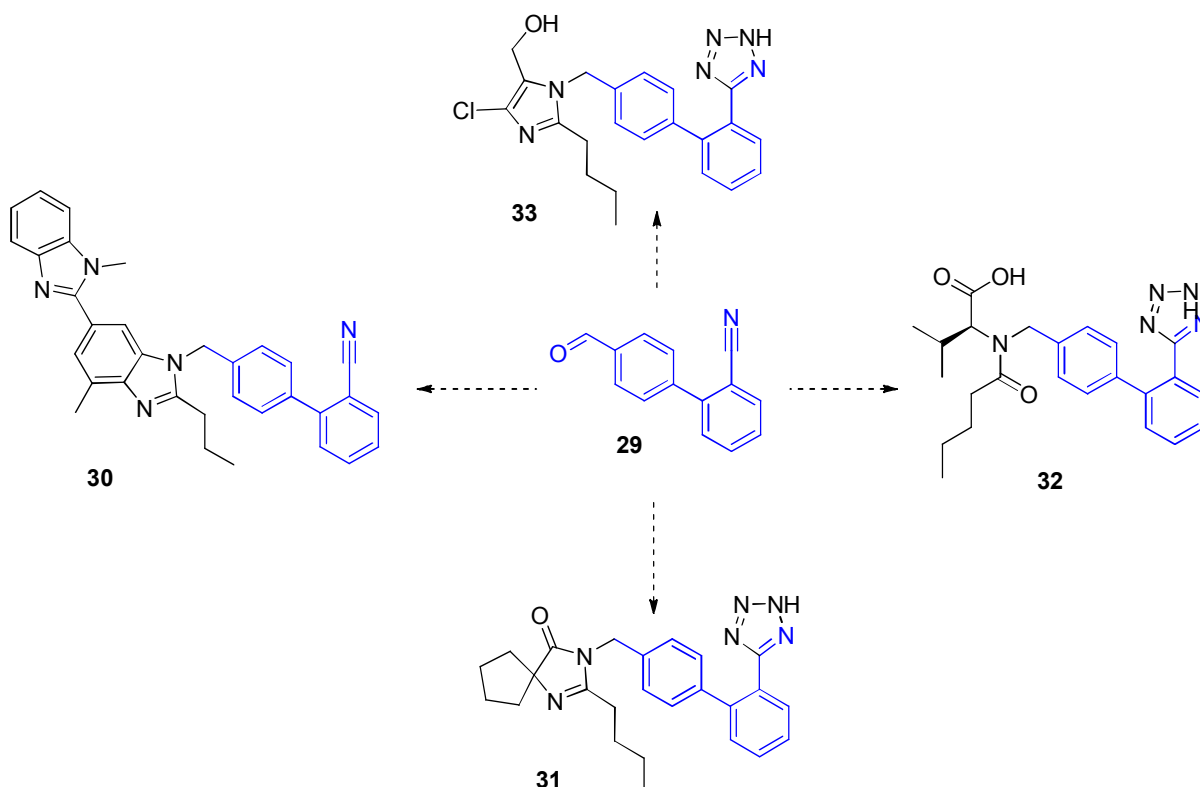
I přes potencionální výhody nebyly aryldiazoniové soli všeobecně přijaty za couplingové partnery pro syntézy ve velkých měřítkách, nejspíše kvůli jejich nestabilitě, což je dobře zdokumentováno^{35,36}. Tento fakt chtěla vyvrátit skupina vědců, a tak se rozhodli demonstrovat svoji metodiku v multimolárním objemu³⁷. Syntetizovaná sloučenina **29** cross couplingovou Suzuki-Miyaurovou reakcí (Schéma VII) je meziproduktem při syntéze řady inhibitorů angiotensinu II.

Schéma VII: Převedení syntézy biarylu **29** do výrobního měřítka



Antagonisté receptoru angiotensinu II, které jsou známé také jako angiotensin receptorové blokátory (ARBs), nebo jako antagonisté AT1-receptoru či sartany, patří do skupiny léčiv, která mění renin-angiotensinový systém. Jejich hlavní použití je při léčbě hypertenze, městnavého srdečního selhání způsobené nahromaděnou krví v plicích nebo při léčbě diabetické nefropatie, při které dochází k poškození ledvin důsledkem diabetu.

Sloučenina **29** patřící do skupiny těchto látek je meziproduktem pro přípravu léčiv jako jsou Telmisartan **30** a Irbesartan **31** (léčba hypertenze), Valsartan **32** (léčba hypertenze a srdečního selhání, zároveň zvyšuje šanci na delší život po infarktu) a Losartan **33** (léčba hypertenze, Losartan draselný je uvedený na trh pod názvem Cozaar) (Obr. 12).



Obrázek 12: Využití sloučeniny **29** pro výrobu léčiv

Ve výsledku se podařilo vědcům stanovit optimální podmínky pro Suzuki-Miyauraovu cross couplingovou reakci. Tyto podmínky byly následně aplikovány na celé řadě substrátů při přípravě molárních množství produktů. Tato metoda poskytuje robustní, levnou a k přírodě šetrnou alternativu ke klasickým cross couplingovým reakcím zahrnující homogenní zdroje palladia a arylhalogenidové couplingové partnery.

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

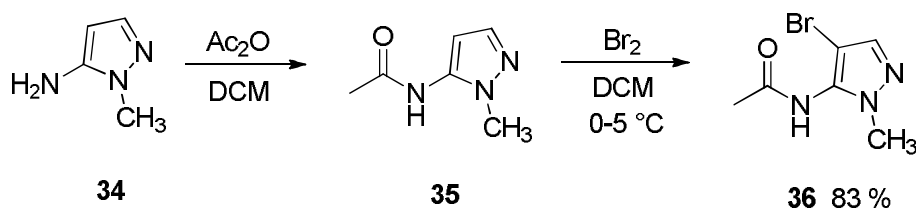
V následující kapitole je uvedena příprava pyrazolů obsahující v poloze 4 halogen, které byly následně používány nejen pro optimalizaci podmínek, ale následně taky k syntéze nových pyrazolů Suzuki-Miyaurovou reakcí. První část se zabývá přípravou halogenovaných pyrazolů, další pojednává o optimalizaci podmínek pro Suzuki reakci. V poslední kapitole je sepsána příprava nových derivátů pyrazolů získaných využitím cross-coupling reakce.

3.1 Příprava halogenovaných pyrazolů 36-38

3.1.1 Příprava *N*-(4-brom-1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamidu 36

Na výchozím derivátu pyrazolu **34** proběhla acylace při laboratorní teplotě za použití anhydridu kyseliny octové v prostředí dichlormethanu. Reakční směs byla ponechána při pokojové teplotě pod dobu šesti dní a následně byla analyzována pomocí tenkovrstvé chromatografie, které odhalila, že došlo k odreagování výchozí látky **34**. Poté byla směs vložena do ledové lázně a při teplotě v rozmezí 0 až 5 °C byl opatrně přikapán brom. Reakce, probíhající zřejmě mechanismem substituce elektrofilní, byla ukončena po dvou hodinách, a poté byla směs zpracována. Ke směsi byl přidán roztok thiosíranu pro zredukování přebytečného bromu a roztok uhličitanu pro neutralizaci přebytečného bromovodíku. Po obvyklém zpracování extrakcí a krystalizací byl pyrazol **36** získán ve formě bílých krystalků ve výtěžku 83 %. Struktura a čistota produktu byla potvrzena pomocí HPLC/MS, HRMS a NMR. Čistý produkt **36** ve formě bílých krystalků byl použit pro optimalizaci Suzuki-Miyaurovy reakce.

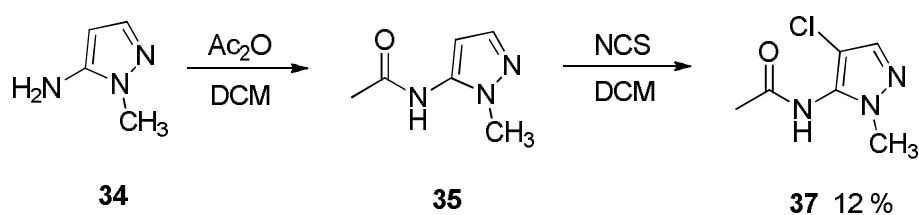
Schéma VIII: Příprava bromovaného pyrazolu 36



3.1.2 Příprava *N*-(4-chlor-1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamidu **37**

Pro acylaci výchozího pyrazolu **34** byl použit anhydrid kyseliny octové opět v dichlormethanu (viz kapitola 3.1.1). Substitucí elektrofilní byl na acylovaný pyrazol **35** navázán chlor pomocí *N*-chlorsukcinimidu (1,05 ekv. množství). Navážka o stejném množství *N*-chlorsukcinimidu byla přidána druhý den, jelikož chlorace neproběhla zcela. Poté, co tenkovrstvá i kapalinová chromatografie potvrdily, že se ve směsi již nenachází amid pyrazolu **35**, byla reakce zpracována. Čištění produktu proběhlo s použitím sloupcové chromatografie, avšak ukázalo se, že separace produktu od sukcinimidu je poměrně problematická, a tak bylo potřeba k získání čisté látky **37** následné extrakce a rekrystalizace několikrát opakovat. Toto opakované čištění mělo za následek snížení výtěžku pyrazolu **37**, který činil 12 %.

Schéma IX: Příprava chlorovaného pyrazolu **37**



3.1.3 Příprava *N*-(4-jod-1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamidu **38**

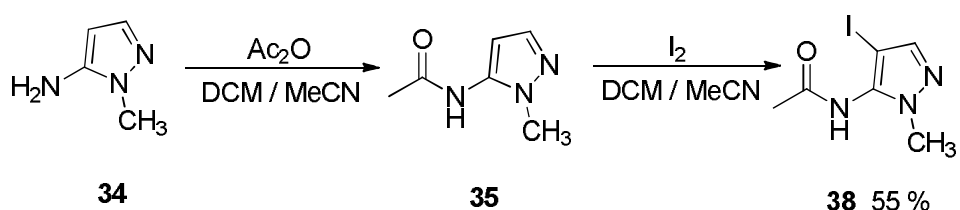
Postup při acylaci pyrazolu byl stejný jako u bromovaného pyrazolu **36** (viz kapitola 3.1.1), kdy reakce probíhala za laboratorní teploty. Pro acylaci byl opět použit anhydrid kyseliny octové. Z rozpouštědel byl zkoušen ještě acetonitril, ve kterém reakce probíhala prakticky stejně jako v dichlormethanu.

Přišlo se na to, že pro acylaci postačí reakční doba jeden den. Poté do obou vzorků (v MeCN i DCM) byl přidán přebytek (2,2 ekviv.) jodu. Kontrola reakčních směsí probíhala pomocí tenkovrstvé chromatografie. Po 24 hodinách byla přidána druhá navážka jodu (opět 2,2 ekviv.), jelikož ve směsi byla pozorována stále výchozí látka **35**. Průběh jodace v acetonitrilu a dichlormethanu byl prakticky totožný, a tak byly obě reakce spojeny a extrahovány dichlormethanem. Po chromatografickém čištění byl získán produkt ve formě bílých krystalků o výtěžnosti pouze 36 %.

Při dalším pokusu probíhala příprava stejným postupem (viz výše napsané), avšak byl použit pouze DCM jako rozpouštědlo. Navážka jódu v tomto případě byla zvýšena celkově na

6 ekvivalentních množství vůči výchozímu pyrazolu **34**, podané ve dvou navážkách. Byly získány bílé krystalky jako konečný produkt pyrazolu **38** o výtěžnosti 55 %.

Schéma X: Příprava jodovaného pyrazolu **38**



3.2 Optimalizace Suzuki reakce

Optimalizace Suzuki reakce byla realizována s halogenovanými amidy pyrazolů **36-38** a *p*-tolylboronovou kyselinou **39**. Mezi parametry, které bylo potřeba optimalizovat, patřil zdroj palladia nezbytný pro katalýzu, báze a reakční teplota. Dále bylo třeba zjistit, který z halogenovaných pyrazolů **36-38** je pro reakci nejvhodnější. Relativní poměr jednotlivých látek **40**, **36-38** a **35** ve směsi byl zjišťován integrací ploch signálů získaných z HPLC. Všechny reakce byly prováděny za inertní atmosféry dusíku.

3.2.1 Optimalizace podmínek z bromovaného pyrazolu

Všechny reakce byly provedeny v rozpouštědlovém systému dioxan – voda v poměru 3:1, přičemž byla obě rozpouštědla deoxygenována řádným probubláváním dusíku. Mezi prvními reakcemi byla zkoumána teplota a reakční doba (Tab. I). Při prvním pokusu byla zkoušena teplota 90 °C a doba, po kterou reakce trvala 18 hodin. Konverze produktu činila pouze 24 %, přitom 67 % směsi obsahovalo výchozí látku **36** a 9 % podlešlo dehalogenaci a vznikl tím pyrazol **35** (experiment 1). Po zvýšení teploty na 100 °C a reakční doby na 24 h se zvýšila konverze na 88 % námi požadovaného produktu **40**, 10 % zůstalo výchozí látky **36** a dehalogenovaly se 2 % za vzniku pyrazolu **35**. Jako báze v těchto případech byl použit Cs₂CO₃, ligand XPhos a zdroj palladia byl použit Pd(OAc)₂ (experiment 2).

Při dalších třech reakcích bylo zjišťováno, zda může v reakci vystupovat jako ligand a zároveň jako zdroj palladia XPhos Pd G2. První pokus byl proveden za teploty 100 °C, zjištěné z předchozích reakcí, a po 24 hodinách reakce byla konverze reakce 61 % námi požadovaného pyrazolu **40**. Část, u které neproběhla reakce, a teda zůstal pouze bromovaný

pyrazol **36**, tvořila 31 % ze směsi, přitom proběhla opět dehalogenace, a to z 8 % (experiment 3). U další reakce byl zvýšen poměr báze Cs_2CO_3 na dvojnásobek za stejných podmínek jako u předchozí reakce, avšak konverze se snížila na pouhých 55 % s 44 % halogenovaného pyrazolu **36**, ale jen z 1 % proběhla dehalogenace (experiment 4). Proto u poslední reakce z této trojice byl zvýšen čas na 48 hodin a báze zůstala v původním poměru. Vzniklo 62 % námi požadovaného produktu **40**, přitom reakce ve směsi z 38 % zcela neproběhla. Dehalogenace v této reakci neproběhla vůbec (experiment 5).

Jako další možný způsob, který by vedl ke zvýšení výtěžnosti, byla změna báze. Ve dvou ekvimolárních množstvích byl použit K_3PO_4 . Za teploty 100 °C a reakční doby 46 hodin byl jako zdroj palladia a ligand použit XPhos Pd G2. Tyto podmínky se neosvědčily, jelikož z 11 % se směs dehalogenovala, 45 % nezreagovalo a 44 % obsahovalo produkt **40** (experiment 6).

Při dalším pokusu byla použita původní báze Cs_2CO_3 , jako zdroj palladia zůstal XPhos Pd G2, ale jako ligand byl přidán XPhos. Reakční doba byla protažena na 48 hodin, což vedlo k 69 % konverzi, avšak 2 % pyrazolu dehalogenovala a 4 % neodreagovala, zbytek směsi byly neznámé nečistoty (experiment 7). Dále za stejných podmínek byla provedena reakce s K_2CO_3 , což vedlo k uspokojivějším výsledkům popsaných níže (experiment 8-10).

Tři stejné reakce byly provedeny za stejných podmínek s odstupem času, jen se změnou reakční doby. Konverze pyrazolu námi požadovaného činily po 48 hodinách reakce 75 %, dehalogenace neproběhla vůbec a bromovaného pyrazolu **36** zůstala ve směsi jen 4 % (experiment 8). U reakce, jež trvala o 2 h méně, produktu **40** bylo získáno 80 %. Halogenovaného pyrazolu **36** se ve směsi objevilo 9 % a dehalogenace proběhla z 11 % (experiment 10). Jako poslední ze tří stejných reakcí byla 22 h reakce, kdy výtěžek produktu **40** činil stejné procento jako u první reakce, a to 75 % (experiment 9). Výsledky se však lišily v podílu bromovaného pyrazolu **36** – 17 % a dehalogenace – 8 %. Těmito reakcemi byla uzavřena optimalizace podmínek z bromovaného pyrazolu **36**.

Jako optimální podmínky pro Suzuki Miyaurovu reakci byla stanovena reakční doba na dva dny při teplotě 100 °C. Jako báze do reakce se osvědčil K_2CO_3 , ligand a zdroj palladia XPhos Pd G2. Rozpouštědla použitá pro reakce byla degasovaný dioxan a voda. Pro ještě lepší výtěžnost byla Suzuki reakce zkoušena za optimálních podmínek ještě s chlorovaným **37** a jodovaným pyrazolem **38**, kde byla stanovována již pouze optimální reakční doba.

3.2.2 Optimalizace podmínek z chlorovaného pyrazolu

S výchozí látkou obsahující chlor **37** byly provedeny pro optimalizaci celkově jen tři reakce. Výsledkem hledání byla ideální doba reakce, při které budou nejlepší výsledky pro získání námi požadovaného produktu.

První reakce měla výborné výsledky, a to získání 97 % konverze produktu **40**, kdy byl spotřebován všechen halogenovaný pyrazol. Dehalogenace se u reakce objevila, ale jen ze 3 %. Tato reakce trvala 48 h, proto další reakcí bylo zkoumáno, zdali se reakční doba může snížit na 22 h. Výsledky přitom už nebyly tak uspokojivé, jako v předchozím případě. U požadovaného produktu **40** se konverze snížila oproti předchozí reakci o 10 %, a to na 87 %. Dokonce se z 6 % objevil i halogenovaný pyrazol **37** a dehalogenace se ze 3 % zvýšila na 7 %.

U poslední třetí reakce byla zvýšená reakční doba na 46 hodin. Výsledky byly ale ještě horší než u předchozího pokusu. Dehalogenace proběhla už z 9 % a halogenovaný pyrazol **37** tvořil 8 %. Požadovaný produkt **40** tvořil 83 % ze směsi.

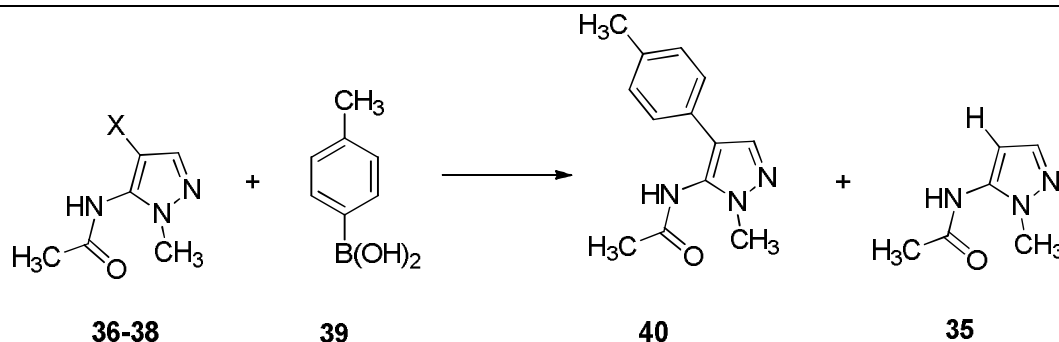
Jako nejschůdnější reakce ze všech pokusů se ukázala první reakce z výchozího pyrazolu obsahující chlor (Tab. I). I když reakce trvala 48 h, výsledky byly nejlepší z toho důvodu, že se spotřeboval všechen výchozí pyrazol **37**.

3.2.3 Optimalizace podmínek z jodovaného pyrazolu

Z připraveného pyrazolu obsahujícího jod **38** bylo provedeno celkem 5 reakcí. Vesměs byla měněna pouze reakční doba, ale v jednom případě bylo ekvimolární množství báze a boronové kyseliny zdvojnásobeno. I to však nijak zásadním způsobem neovlivnilo výtěžnost. Výhodou těchto reakcí bylo zejména to, že ani v jednom případě nezůstal ve směsi pyrazol obsahující jod **38**. Ovšem dehalogenace proběhla u všech pokusů, kde se pohybovala mezi 7-9 %. Produkt **40** byl ve směsi vždy obsažen mezi 91-92 %. Reakce byly zkoušeny v rozmezí od 22 h až po 79 h, výsledky se lišily vždy jen o 1-2 %.

Nejlepší podmínky, za kterých reakce probíhá, byly zvoleny podle reakcí derivátu pyrazolu s jodem **38**. Reakce by měla probíhat minimálně 48 hodin při teplotě 100 °C za stálého míchání. Jako báze byl použit K_2CO_3 ve 2 ekvimolárním množství vůči výchozímu pyrazolu. Ve stejném poměru také dána boronová kyselina, zdroj palladia XPhos Pd G2 a jako ligand XPhos v katalytickém množství. Jako rozpouštědla byla zvolena degasovaný destilovaný dioxan s čerstvě degasovanou vodou (Tab. I).

Tabulka I: Optimalizace podmínek



Experiment	Báze	Reakční čas [hod]	Pd	X	40 (%) ^a	36-38 (%) ^a	35 (%) ^a
1	Cs ₂ CO ₃	18 ^b	Pd(OAc) ₂ ^c	Br	24	67	9
2	Cs ₂ CO ₃	24	Pd(OAc) ₂ ^c	Br	88	10	2
3	Cs ₂ CO ₃	20	XPhos Pd G2	Br	61	31	8
4	Cs ₂ CO ₃ ^d	24	XPhos Pd G2	Br	55	44	1
5	Cs ₂ CO ₃	46	XPhos Pd G2	Br	62	38	0
6	K ₃ PO ₄	46	XPhos Pd G2	Br	44	45	11
7	Cs ₂ CO ₃	48	XPhos Pd G2 ^c	Br	69	5	2
8	K ₂ CO ₃	48	XPhos Pd G2 ^c	Br	75	4	0
9	K ₂ CO ₃	22	XPhos Pd G2 ^c	Br	75	17	8
10	K ₂ CO ₃	46	XPhos Pd G2 ^c	Br	80	9	11
11	K ₂ CO ₃	48	XPhos Pd G2 ^c	Cl	97	0	3
12	K ₂ CO ₃	22	XPhos Pd G2 ^c	Cl	87	6	7
13	K ₂ CO ₃	46	XPhos Pd G2 ^c	Cl	83	8	9
14	K ₂ CO ₃	48	XPhos Pd G2 ^c	I	92	0	8
15	K ₂ CO ₃	22	XPhos Pd G2 ^c	I	91	0	9
16	K ₂ CO ₃	46	XPhos Pd G2 ^c	I	92	0	8
17	K ₂ CO ₃ ^{d,e}	79	XPhos Pd G2 ^c	I	93	0	7
18	K ₂ CO ₃	78	XPhos Pd G2 ^c	I	92	0	8

Obecné podmínky: pyrazol **36-38** (0,5 mmol), boronová kyselina **39** (1 mmol), XPhos Pd G2 nebo Pd(OAc)₂ (1 mol. %), báze (1 mmol), 100 °C, ^a bylo stanoveno na základě HPLCMS analýzy, ^b byla použita teplota 90 °C, ^c byl přidán jako ligand XPhos (1 mol. %), ^d byly použity 4 ekvivalentní množství báze (2 mmol), ^e byly použity 4 ekvivalentní množství boronové kyseliny.

3.2.4 Shrnutí optimalizace

Z Tabulky I a zde publikovaných výsledků lze vypočítat jistý rozptyl v reprodukovatelnosti výsledků v čase a mezi sebou navzájem. Přesto se nezdá, že by tato odchylka ve stanovení relativního obsahu jednotlivých komponent podle HPLC analýzy, měla větší rozsah než 10 % a že by zásadně zkreslovala dosažené výsledky. Pravděpodobným a ospravedlnitelným důvodem pro nejednotnost výsledků je komplexnost Suzuki-Miyaurovy reakce a její závislost na množství faktorů (teplota, inertní atmosféra, samotné vzorkování na HPLC analýzu apod.).

Jako příklad můžeme porovnat experimenty 11 a 13 (Tab. I), kdy byl změněn jeden parametr, a to doba reakce, která se lišila pouze o 2 hodiny. I když při experimentu 13 se dodržovaly stejné zásady jako při experimentu 11, po integraci ploch z HPLC bylo zjištěno, že se ve směsi nachází o 6 % více dehalogenovaného pyrazolu **35**. Zároveň se ve směsi nacházel také z 8 % halogenovaný pyrazol **37**, což mohlo značit, že reakce neproběhla do konce. Pokud bychom ale tyto dva experimenty porovnali ještě s experimentem 12, zjistili bychom, že po 22h reakční době proběhla nejen dehalogenace ze 7 %, ale zároveň se v reakční směsi nachází i výchozí pyrazol **37**, který je obsažen z 6 %. To je o 2 % méně než při experimentu 13, přitom reakční doby byla o více jak polovinu kratší. Z toho důvodu můžeme říci, že výsledky reakcí jsou nejednotné za použití halogenovaného pyrazolu **37** pro Suzuki-Miyaurovu reakci.

Z výsledků v Tabulce I je patrné, že jod derivát **38** poskytoval přes 90 % konverzi reprodukovatelně (experimenty 15 – 18), a že reakce s tímto substrátem je poměrně robustní, a z toho důvodu byly podmínky z experimentu 14 použity pro přípravu následné série derivátů pyrazolů (kapitola 3.3, Tab. II).

3.3 Syntéza pyrazolů

První syntetizovaný pyrazol **40** (*p*-tolyl) byl získán přečištěním směsi obsahující spojené reakční směsi z optimalizace podmínek vytvářených z bromovaného pyrazolu **36**. Další látky byly získány syntézami z jodovaného pyrazolu **38** podle určených parametrů z optimalizace. Mezi vedlejší produkty, které při reakci vznikaly, patřil dehalogenovaný pyrazol **35**. V reakci se vždy lišila boronová kyselina, elektrofilem byl vždy pyrazol.

Látkou, kterou se podařilo připravit s 84 % výtěžkem, byl *o*-tolyl pyrazolový derivát **41**, jenž byl získán z pyrazolu a *o*-tolylboronové kyseliny **42**. Methylová skupina vykazuje

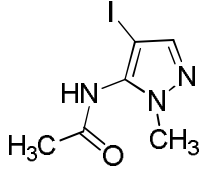
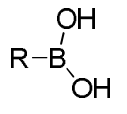
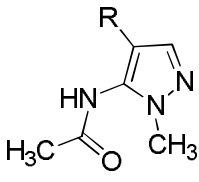
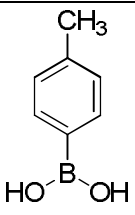
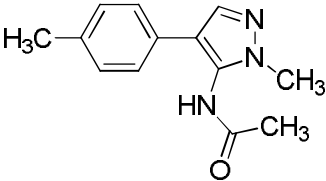
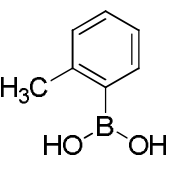
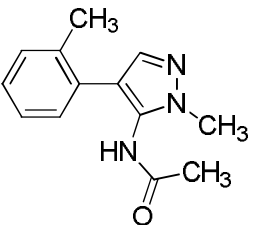
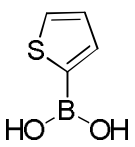
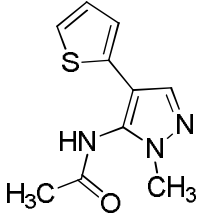
kladný indukční efekt a hlavně představuje určité sterické bránění reaktivního centra. Ukázalo se, že tato sterická zábrana reakci nevadí, což potvrzuje vysoký 84 % výtěžek produktu.

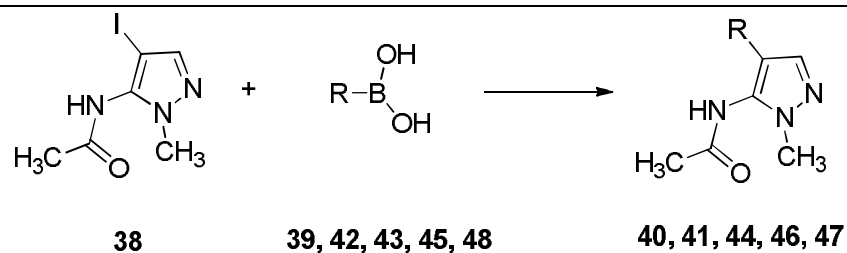
K další reakci byla použita 3-thienylboronová kyselina **43**. Produkt heteroaryl pyrazolový derivát **44** se podařilo připravit s 84 % výtěžností. Což ukazuje, že reakce je tolerantní i vůči některým heteroarylboronovým kyselinám. Tato robustnost je výhodná zejména z pohledu medicínální chemie, jelikož v této oblasti se často objevují heterocyklické motivy.

Reakcí 4-(trifluormethan)fenyl-boronové kyseliny **45** vznikl produkt halogenfenyl pyrazolový derivát **46** o výtěžnosti 58 %. Přítomnost trifluormethylové skupiny, vykazující silný záporný indukční efekt, můžeme nalézt také v některých léčivech jako je např. celecoxib (Celebrex) s nesteroidními protizánětlivými účinky, antidepressivum fluoxetin (Prozac), nebo inhibitor HIV reverzní transkriptázy efavirenz (Sustiva)³⁸. Pro naši reakci je však důležité, že silný záporný indukční efekt snižuje elektronovou hustotu kolem boru, a tudíž i nukleofilitu boronové kyseliny. To vysvětluje nižší, i když pořád dobrý výtěžek 58 %.

Poslední z připravených látek byl styryl pyrazolový derivát **47** s výtěžností 60 %. Připraven byl z *trans*-2-fenylvinylboronové kyseliny **48**. Relativně nižší výtěžek v tomto případě nedovedeme zatím vysvětlit. Pomocí ¹H NMR analýzy byla změřena interakční konstanta ³J_{HH} mezi CH=CH, která odpovídala hodnotě 16,5 Hz. Tato hodnota odpovídá *trans* (*E*) konfiguraci na dvojně vazbě. Tudíž bylo během reakce zachováno prostorové uspořádání výchozí boronové kyseliny **48**.

Tabulka II: Syntéza aminopyrazolů

 38	+	 39, 42, 43, 45, 48	 40, 41, 44, 46, 47
Boronová kyselina	Produkt	Výtěžek [%]	
 39	 40	70 % ^a	
 42	 41	84 % ^a	
 43	 44	84 % ^a	



Boronová kyselina	Produkt	Výtěžek [%]
<p>48</p>	<p>47</p>	60 % ^a
<p>45</p>	<p>46</p>	58 % ^a

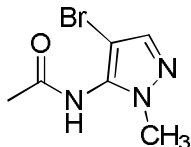
Obecné podmínky: pyrazol **1c** (0,5 mmol), boronová kyselina **2a-e** (1 mmol), reakční čas 22-72 h, báze (1 mmol), XPhos (1 mol. %), XPhos Pd G2 (1 mol. %), 100 °C, ^a izolovaný výtěžek po chromatografické separaci.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ÁST

Ke všem reakcím byly použity komerční sloučeniny běžně dostupné. Reakce náchylné na vzdušný kyslík nebo na vzdušnou vlhkost, byly prováděny pomocí inertní atmosféry dusíku spolu s vysušenými, či odvzdušněnými rozpouštědly. Reakce byly sledovány pomocí TLC nebo HPLC (systém UHPLC-MS, poskládaný z UHPLC chromatografu Accela spolu trojitým kvadrupólovým hmotnostním spektrometrem s označením TSQ Quantum Access (Thermo Scientific, CA USA) a s detektorem PDA; nebo systémem ACQUITY UPLC (Waters, USA) s hmotnostním spektrometrem s HESI (heated electrospray), s detektorem PDA a kvadrupólovým analyzátozem s detektorem QDA. Body tání byly stanoveny pomocí Koflerova bloku. Na NMR spektrometru značky JEOL ECA 400II o frekvenci 400 MHz byla pořízena protonová a uhlíková NMR spektra, případně 2D NMR spektra. K reziduálnímu rozpouštědлу (DMSO) byl vztažen chemický posun.

4.1 Příprava halogenaminopyrazolů

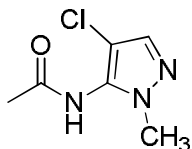
Acylace 1-methyl-1H-pyrazol-5-ylamin **34** a příprava derivátu pyrazolu s navázaným bromem (*N*-(4-brom-1-methyl-1H-pyrazol-5-yl)acetamid) **36**



K roztoku výchozího pyrazolu **34** (1,94 g, 20 mmol) se 40 ml rozpouštědla dichlormethanu byl přidán anhydrid kyseliny octové (2,172 ml, 23 mmol). Za laboratorní teploty a stálého míchání probíhala acylace 6 dní, poté směs vložena do ledové lázně a při teplotě 0-5 °C přidán Br₂ (1,134 ml, 22 mmol).

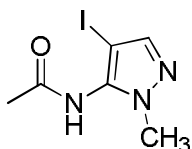
Reakce byla ukončena po 2 hodinách, směs zneutralizována Na₂S₂O₃·5H₂O (0,75 g, 3 mmol), Na₂CO₃ (roztok 2,2g v 50 ml H₂O) a extrahována ethylacetátem (3x40 ml). Organické fáze vysušeny bezvodým síranem sodným, přefiltrovány a odpařeny na rotační vakuové odparce. Rekrystalizace proběhla ze směsi rozpouštědel etylacetátu a toluenu. Byly získány bílé krystaly **36** (3,638 g, 83 %), b. t. 138 – 140 °C, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9.89 (s, 1 H), 7.52 (s, 1 H), 3.61 (s, 3 H), 2.08 (s, 3 H) ppm. ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 169.3, 137.6, 134.8, 89.1, 36.6, 22.5 ppm. HRMS(ESI): vypočteno pro C₆H₈BrON₃ [M+H]⁺ 217.9929, 219.9909; nalezeno 217.9926, 219.9903.

Acylace 1-methyl-1*H*-pyrazol-5-ylamin **34** a příprava derivátu pyrazolu s navázaným chlórem (*N*-(4-chlor-1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamid) **37**



Postup acylace proveden stejným způsobem jako předešlé deriváty výchozího pyrazolu **34** (1,94 g, 20 mmol) v 40 ml DCM s anhydridem kyseliny octové (2,172 ml, 23 mmol). Po 3 dnech přidán 2x *N*-chlorsukcinimid (2,804 g, 21 mmol) chlazen v ledové lázni. Následující den přidán *N*-chlorsukcinimid (2,804 g, 21 mmol). Roztok odpařen na VRO, přidán DCM a filtrován. Filtrát přečištěn chromatograficky (SiO₂, mobilní fáze DCM s 0-3 % MeOH). Postupnými filtracemi a krystalizací v DCM a petroletheru, H₂O, získány žluté krystalky **37** (0,423 g, 12 %), b. t. 127-132 °C, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9.91 (s, 1 H), 7.52 (s, 1 H), 3.60 (s, 3 H), 2.08 (s, 1 H) ppm. ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 169.37, 135.60, 133.16, 103.71, 36.54, 22.46 ppm. HRMS(ESI): vypočteno pro C₈H₈ClON₃ [M+H]⁺ 174.0429; nalezeno 174.0430

Acylace 1-methyl-1*H*-pyrazol-5-ylamin **34** a příprava derivátu pyrazolu s navázaným jódem (*N*-(4-jod-1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamid) **38**



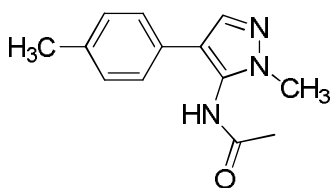
Acylace byla provedena stejným způsobem jako u předchozího derivátu pyrazolu s navázaným bromem **36**, pouze reakční čas zkrácen na 1 den. Výchozí pyrazol **34** (0,5 g, 5,15 mmol) acylován anhydridem kyseliny octové (0,585 ml, 6,18 mmol). Reakce ve dvou navážkách, první rozpuštěna v acetonitrilu (5 ml), druhá v dichlormethanu (5 ml), poté do každé směsi přidána navážka jódu (1,438 g, 5,665 mmol) a na druhý den znovu stejná navážka jódu. Směsi byly spojeny, zneutralizovány Na₂S₂O₃·5H₂O (0,75 g, 3 mmol), Na₂CO₃ (roztok 2,2g v 50 ml H₂O) a extrahovány dichlormethanem (2x 40 ml). Organické fáze vysušeny bezvodým síranem hořečnatým, přefiltrovány a zahuštěny. Surový produkt přečištěn chromatograficky (SiO₂, mobilní fáze dichlormethan s 0-2 % methanolu). Produkt **38** ve formě bílých krystalků (0,99 g, 36 %), b. t. 134 – 136 °C, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9.81 (s, 1 H), 7.48 (s, 1H), 3.63 (s, 3H), 2.07 (s, 3 H) ppm. ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 169.29, 141.88, 138.23, 57.38, 36.46, 22.49 ppm.

4.2 Syntéza aminopyrazolů

Obecná příprava *N*-(1-methyl-4-(aryl/heteroaryl/styryl)-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamid **40**, **41**, **44**, **46**, **47**

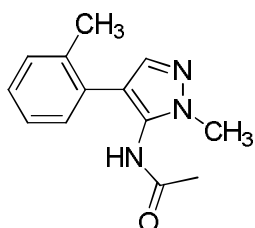
Halogenovaný pyrazol (1 mmol), uhličitan draselný (2 mmol), boronová kyselina (2 mmol), XPhos (5 mg, 10 μmol), XPhos Pd G2 (8 mg, 10 μmol) se v tlakové zkumavce uzavřou septem a zajistí se inertní atmosféra dusíkem. Směs se rozpustí v dioxanu (3 ml) a degasované H₂O (1 ml). Reakce probíhá za stálého míchání na olejové lázni za optimalizovaných podmínek (100 °C, 2 dny). Po dokončení reakce se zahuštěná směs čistí chromatograficky na gradientové koloně (SiO₂, DCM s MeOH). Odparek se krystalizuje v DCM s petroletherem, jestliže se produkt vyloučí jako olej, rozpouštědla jsou odpařena na RVO a dosušena za hlubokého vakua.

N-(1-methyl-4-(*p*-tolyl)-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamid **40**



Produkt získán z reakčních směsí zjodovaných pyrazolů **38** s kyselinou *p*-tolyl boronovou **39**, na kterých byla prováděna optimalizace podmínek. Směsi extrahovány 2x destilovanou vodou, vysušeny bezvodým síranem hořečnatým, přefiltrovány, spojeny a odpařeny. Čištěny chromatograficky gradientovou kolonou (SiO₂, 0-2 % MeOH v DCM). Rekrystalizace v DCM s petroletherem získány bílé krystaly **40** (0,349 g, 70 %), b. t. 147-148 °C, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9.88 (s, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.37 (d, *J* = 8,0 Hz, 2 H), 7.18 (d, *J* = 8,0 Hz, 2 H), 3.61 (s, 3 H), 2.29 (s, 3 H), 2.10 (s, 3 H) ppm. ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 170.02, 135.99, 135.30, 132.21, 129.34, 129.28, 125.87, 115.70, 35.45, 22.60, 20.73 ppm. HRMS (ESI): vypočteno pro C₁₃H₁₅ON₃ [M+H]⁺ 230.1288; nalezeno 230.1289

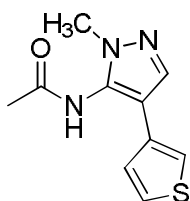
N-(1-methyl-4-(*o*-tolyl)-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamid **41**



Produkt připraven podle obecného postupu z výchozího jodovaného pyrazolu **38** s *o*-tolyl boronovou kyselinou **42**. Směs čištěna chromatograficky (SiO₂, mobilní fáze DCM s 0-3 % MeOH). Získán světle hnědý olej **41** (0,1923 g, 84 %), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9.72

(s, 1 H), 7.50 (s, 1 H), 7.26 – 7.10 (m, 4 H), 3.63 (s, 3 H), 2.22 (s, 3 H), 2.00 (s, 3 H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ = 169.9, 137.6, 135.9, 133.3, 131.6, 130.2, 129.7, 126.9, 125.7, 115.3, 35.7, 22.4, 20.2 ppm. HRMS(ESI): vypočteno pro $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{ON}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 230.1288; nalezeno 230.1289.

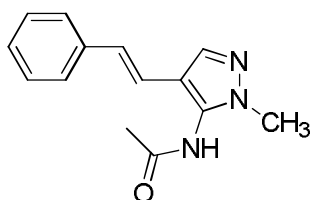
***N*-(1-methyl-4-(3-thienyl)-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamid 44**



Reakce pyrazolu **38** s 3-thienylboronovou kyselinou **43** podle obecného postupu. Čištěno chromatograficky (SiO_2 , DCM s MeOH 0-4 %). Získán světle hnědý olej, jenž byl metanolem s vodou a následně sušen mrazem (lyofilizace). Produkt **44** získán jako bílé krystalky (0,185 g, 84 %), b. t.

111-113 °C, ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 9.90 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.56 (dd, J = 5.0, 3.0 Hz, 1H), 7.48 (dd, J = 3.0, 1.3 Hz, 1H), 7.32 (dd, J = 5.0, 1.3 Hz, 1H), 3.61 (s, 3H), 2.13 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ = 169.8, 136.1, 132.4, 132.1, 126.2, 126.1, 118.7, 111.8, 35.5, 22.6 ppm. HRMS (ESI): vypočteno pro $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{OSN}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 222.0696; nalezeno 222.0696

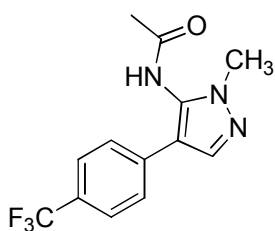
***N*-(1-methyl-4-styryl-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamid 47**



Připraveno podle obecného postupu z jodovaného pyrazolu **38** a *trans*-2-fenylvinylboronové kyseliny **48** a přečištěno chromatograficky (SiO_2 , 0-3 % MeOH v DCM). Rekrystalizace DCM a petroletherem, odpařeno přidán MeOH a poté 5 mg aktivního uhlí. Směs přefiltrována, k filtrátu přidána destilovaná voda, vypadané bílé krystalky **47**

vysušeny pod lampou (0,144 g, 60 %), b. t. 108-109 °C, ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 9.91 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.47 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.34 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 7.21 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 16.5 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 16.5 Hz, 1H), 3.60 (s, 3H), 2.14 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ = 169.5, 137.5, 135.1, 133.9, 128.7, 126.9, 125.7, 125.4, 118.1, 113.4, 35.7, 22.7 ppm. HRMS (ESI): vypočteno pro $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 242.1288; nalezeno 242.1288.

***N*-(1-methyl-4-(4-(trifluormethyl)fenyl)-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamid 46**



Obečným postupem byla provedena reakce výchozího jodovaného pyrazolu **38** s 4-(trifluormethyl)fenylboronovou kyselinou **45**. Směs byla přečištěna chromatograficky (SiO₂, 0-3,5 % MeOH v DCM). Surový produkt rekrystalizován DCM s petroletherem. Pod UV lampou vysušeny získané bílé krystalky **46** (0,211 g, 58 %), b. t. 141-142 °C, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10.02 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.73 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H), 7.70 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H), 3.65 (s, 3H), 2.13 (s, 3H) ppm. ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 169.9, 136.6, 136.5, 133.2, 126.4 (q, *J* = 32 Hz), 126.2, 125.6 (q, *J* = 4 Hz), 124.5 (q, *J* = 271 Hz), 114.3, 35.5, 22.6 ppm. HRMS (ESI): vypočteno pro C₁₃H₁₂F₃N₃O [M + H]⁺ 284.1005; nalezeno 284.1004.

5 ZÁV R

Při řešení bakalářské práce bylo jedním z prvních a hlavních úkolů optimalizovat Suzuki-Miyaurovu cross-coupling reakci. Nejdříve bylo nutné připravit sérii halogenovaných derivátů pyrazolu **36-38**, na kterých by probíhala modelová Suzuki reakce. Pro určení optimálních podmínek byl použit v největší míře bromovaný derivát pyrazolu **36**, vzhledem k jeho snadné přípravě a vysokému výtěžku. Po zjištění ideálního katalytického systému, rozpouštědla, vhodné báze, teploty a reakční doby, byly reakce vyzkoušeny i na dalších halogenovaných pyrazolech. Následně byl jako nejvhodnější vybrán jodovaný pyrazolový derivát **38** díky velice dobré reprodukovatelnosti reakcí s vysokými výtěžky. Pro optimalizaci podmínek Suzuki-Miyaurovy reakce byla vybrána *p*-tolyl boronová kyselina **39**, která nevykazovala žádné sterické bránění ani přítomnost skupiny, atomu či násobné vazby náchylné k reakci. Po optimalizaci byly provedené reakce z výchozího jodovaného pyrazolu **38**. Následnými reakcemi byla syntetizována řada celkem pěti nových derivátů pyrazolu **40, 41, 44, 46, 47**. Prvním z nich byl *p*-tolyl pyrazolový derivát **40**, který byl získán přečištěním směsí z optimalizace reakce. Jako další se podařilo připravit sloučeninu **41** z *o*-tolyl boronové kyseliny **42**, která vykazovala určité sterické bránění reaktivního centra. I přesto se ukázalo, že toto bránění nemělo zásadní vliv na reakci a podařilo se izolovat 84 % derivátu **41**. U třetí sloučeniny (heteroaryl pyrazolový derivát **44** připravený z 3-thienylboronové kyseliny **43**) se díky 84 % výtěžku zjistilo, že reakce je tolerantní i k některým heteroarylboronovým kyselinám. Předposlední látkou byl styryl pyrazolový derivát **47** připravený z *trans*-2-fenylvinylboronové kyseliny **48**. Jeho nízký 60 % výtěžek zatím nelze nijak vysvětlit. Díky interakční konstantě změřené pomocí ¹H NMR se zjistilo, že v produktu byla zachována konfigurace dvojně vazby taková, jaká byla u výchozí boronové kyseliny **48** tj. *trans* (E). Jako poslední byl připraven halogenfenyl pyrazolový derivát **46**, jehož nižší výtěžnost 58 % lze vysvětlit silným indukčním efektem, který vyvolává trifluormethylová skupina.

Všech pět produktů bylo získáno ve vysoké čistotě a jsou popsány v experimentální části pomocí NMR, HRMS a bodu tání. Zkoumání biologické aktivity připravených látek nebylo předmětem této bakalářské práce. Hlavní cíl byl naplněn a bylo zjištěno, že Suzuki-Miyaurova reakce má velký potenciál v diverzifikaci derivátů pyrazolu. Získané informace v rámci řešení

závěrečné práce mohou posloužit pro další rozvinutí organokovové chemie v oblasti pyrazolů i jiných heterocyklů.

6 SUMMARY

During solving the thesis was one of the first major tasks to optimize the Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction. At the first place it was necessary to prepare a serie of halogenated pyrazole derivatives **36-38**, at which should Suzuki's reaction take place. Brominated pyrazole derivative **36** was used to determine the optimal conditions in the greatest extent, due to its ease of preparation and high yield. After finding the ideal catalyst system, solvent, suitable base, temperature and reaction time, reactions were tried with another halogenated pyrazole. Then was chosen iodinated pyrazole derivative **38** as the most suitable, due to a very good reproducibility of the reaction with high yields. To optimize the conditions of the Suzuki-Miyaura reaction was selected p-tolyl boronic acid **39** which doesn't showed any presence of steric hindrance, neither group, atom or multiple bonds susceptible to reaction. Reactions were performed using iodinated pyrazole **1c**, just after optimization from previous step. By subsequent reactions were synthesized a serie of five new pyrazole derivatives **40, 41, 44, 46, 47**. The first of these was a p-tolyl pyrazole derivative **40**, which was obtained by purifying the mixture from the optimization of the reaction. As another managed to prepare compound was **41** from o-tolyl boronic acid **42** which showed some steric hindrance of the reactive center. Although it was shown, that the steric hindrance had not a major influence on the reaction, and isolating of 84% derivatives was accomplished **41**. The third compound heteroaryl pyrazole derivative **44** was prepared from 3-thienylboronic acid **43** and it was found through 84% yield, that the reaction is tolerant to some heteroarylboronic acids. The penultimate compound was styryl pyrazole derivative **47** prepared from *trans*-2-fenylvinylboronové acids **48**. We can not currently explain its low 60% yield yet. By coupling constant measured by ¹H NMR was revealed, that the product retained the same double bonds configuration as it was in the starting boronic acid **48** namely *trans* (E). The last derivative was prepared halogenphenyl pyrazole derivative **46**. Its lower yield (58%) can be explained by the strong inductive effect, which was induced by trifluoromethyl- group.

All five products were obtained in high purity and are described in the experimental part by means of NMR, HRMS and melting point. Investigation of the biological activity of these compounds was not the subject of this thesis. The main objective has been accomplished and it was found that the Suzuki-Miyaura reaction has great potential in the diversification of the pyrazole derivatives. The information obtained by solving this thesis can serve to further development of organometallic chemistry in the area of pyrazoles and the other heterocycles.

7 LITERATURA

1. Yerragunta, V.; Suman, D.; Swamy, K.; Anusha, V.; Patil, P.; Naresh, M. Pyrazols and Its Biological Activity. *PharmaTutor* **2014**, 2 (1), 40.
2. Horák, R. Syntéza a charakterizace fluorovaných derivátů 3-acyl-4-amino-1-arylpirazolů, Středoškolská odborná činnost, Univerzita Pardubice, Pardubice **2008**.
3. Ajay Kumar, K.; et al. Pyrazoles: Synthetic Strategies and Their Pharmaceutical Applications - An Overview. *Int.J.PharmTech Res.* **2013**, 5 (4), 1474.
4. Celebrex 200 Mg. *Farmaceutika*. [online]. [2015] [cit. 2015-12-11]. Dostupné z: <http://farmaceutika.info/celebrex-200-mg>.
5. Celecoxib versus diklofenak plus omeprazol a krvácení z vředu. *Zdravotnictví + medicína*. [online]. [2015] [cit. 2015-12-11]. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/celecoxib-versus-diklofenak-plus-omeprazol-a-krvaceni-z-vredu-151382>.
6. Cammack, R.; et al. Oxford dictionary of biochemistry and molecular biology. *New York: Oxford university press.* **2006**.
7. Cahill, K.; Ussher, M.; et al. Cannabinoid type 1 receptor antagonists (rimonabant) for smoking cessation. *Cochrane database of systematic reviews* **2007**.
8. Kytril 2Mg – Příbalový leták. *Příbalový-leták.info - seznam dostupných léků* [online]. Copyright © [2017] [cit. 23-02-2017]. Dostupné z: <https://pribalovy-letak.info/kytril-2-mg>.
9. Rashad, A. E.; Hegab, M. I.; Abdel-Megeid, R. E.; Micky, J. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 7102–7106.
10. El-Sabbagh, O. I.; Baraka, M. M.; Ibrahim, S. M.; Pannecouque, P.; Andrei, G.; Snoeck, R.; Balzarini, J.; Rashad, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44, 3746–3753.
11. Abdel-Aziz, M.; Abuo-Rahma, G. E. A.; Hassan, A. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44, 3480–3487.
12. Radi, S.; Salhi, S.; Radi, A. *Bentham Science Publishers Ltd.* **2010**, 7, 27–30.
13. Balsamo, A.; Coletta, I.; Guglielmotti, A.; Landolfi, C.; Mancini, F.; Martinelli, A.; Milanese, C.; Minutolo, F.; Nencetti, S.; Orlandini, E.; Pinza, M.; Rapposelli, S.; Rossello, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, 38, 157–1684.

14. Bekhit, A. A.; Ashour, H. M. A.; Abdel-Ghany, Y. S.; Bekhit, A. D. A.; Baraka, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 456–463.
15. Chandra, T.; Garg, N.; Lata, S.; Saxena, K. K.; Kumar, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 1772–1776.
16. Zheng, L.; Wub, L.; Zhao, B.; Dong, W.; Miao, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 1957–1962.
17. Titěra, D.; Veselý, V.; Hajšlová, J.; Maštovská, K. Otravy včel pesticidy. *Veterinářství* **2003**, *53*, 152–154.
18. Penthioopyrad – zcela nová účinná látka z nové generace fungicidů. Dupont. [online]. [2015] [cit. 2015-12-11]. Dostupné z: <http://www.dupont.cz/vyrobky-a-sluzby/ochrana-rostlin/video/penthioopyrad.html>.
19. Miyaura, N.; Suzuki, A. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457–2483.
20. Miyaura, N.; Yamada, K.; Suzuki, A. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *36*, 3437–3440.
21. Miyaura, N.; Suzuki, A. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, *19*, 866.
22. Amatore, Ch.; Jutand, A.; Le Duc, G. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 2492–2503.
23. Miyaura, N.; Yanagi, T.; Suzuki, A. *Synth. Commun.* **1981**, *11*, 513–519.
24. a) Suzuki, A. *Pure Appl. Chem.* **1985**, *57*, 1749–1758. b) Suzuki, A. *Pure Appl. Chem.* **1991**, *63*, 419–422. c) Miyaura, N.; Suzuki, A. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457–2483. d) Miyaura, N. *Adv. Organomet. Chem.* **1998**, *6*, 187–243. e) A. Suzuki, J. *Organomet. Chem.* **1999**, *576*, 147 – 168; Suzuki, A. *J. Organomet. Chem.* **1999**, *576*, 147–168. f) Miyaura, N. *J. Organomet. Chem.* **2002**, *653*, 54–57. g) Alonso, F.; Beletskaya, I. P.; Yus, M. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 3047–3101.
25. Watanabe, T.; Miyaura, N.; Suzuki, A. *Synlett* **1992**, 207–210.
26. a) Fauvarque, J. F.; Pflüger, F.; Troupel, M. *J. Organomet. Chem.* **1981**, *208*, 419–427. b) Amatore, C.; Pflüger, F. *Organometallics* **1990**, *9*, 2276–2282.
27. a) Doherty, A. M. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 1493. b) Ray, A.; Hegde, L.G.; Chugh, A.; Gupta, J. B. *Drug Discov. Today* **2000**, *5*, 455.
28. Rosso, V. W.; Lust, D. A.; Bernot, P. J.; Grosso, J. A.; Modi, S. P.; Rusowicz, A.; Sedergran, T. C.; Simpson, J. H.; Srivastava, S. K.; Humora, M. J.; Anderson, N. G. *Org. Process Res. Dev.* **1997**, *1*, 311.
29. Roglans, A.; Pla-Quintana, A.; Moreno-Mañas, M. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 4622–4643.

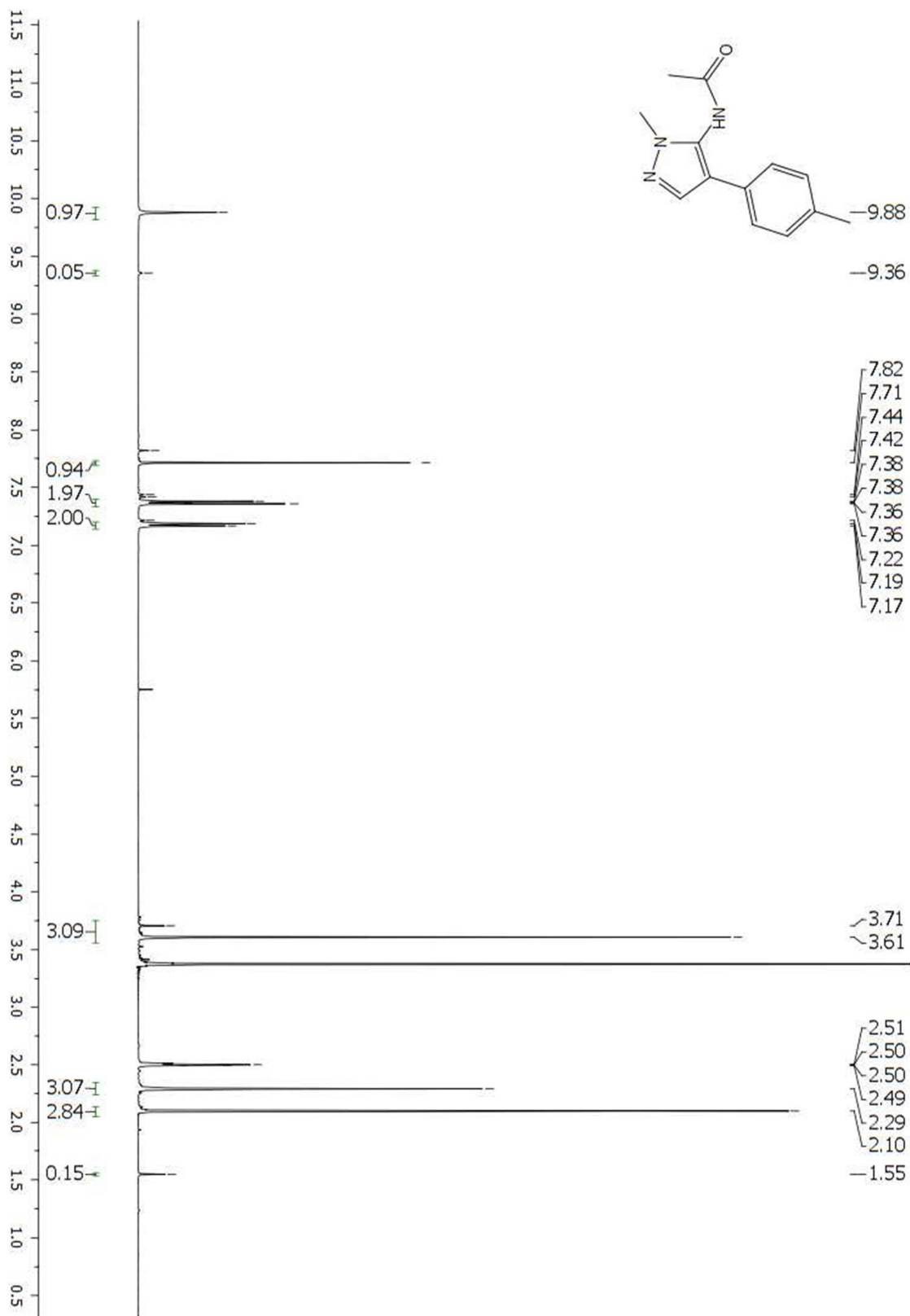
30. Taylor, R. H.; Felpin, F. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2911–2914.
31. Felpin, F.; Fouquet, E.; Zakri, C. *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 2559–2565.
32. Felpin, F.; Fouquet, E.; Zakri, C. *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 649–655.
33. Rossy, C.; Fouquet, E.; Felpin, F. *Synthesis* **2011**, 37–41.
34. Le Callonnec, F.; Fouquet, E.; Felpin, F. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2646–2649.
35. Urben, P. G. *Bretherick's Handbook of Reactive Chemical Hazards*, Elsevier, Amsterdam, **2007**.
36. Bassan, E.; Ruck, R. T.; Dienemann, E.; Emerson, K. M.; Humphrey, G. R.; Raheem, I. T.; Tschaen, D. M.; Vickery, T. P.; Wood, H. B.; Yasuda, N. *Org. Process Res. Dev.* **2013**, *17*, 1611–1616.
37. Colleville, A. P.; Horan, R. A. J.; Tomkinson, N. C. O. *Org. Process Res. Dev.* **2014**, *18*, 1128–1136.
38. Yale, H. L. The Trifluoromethyl Group in Medical Chemistry. *J. Med. Chem.* **1959**, *1* (2), 121–133.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOL

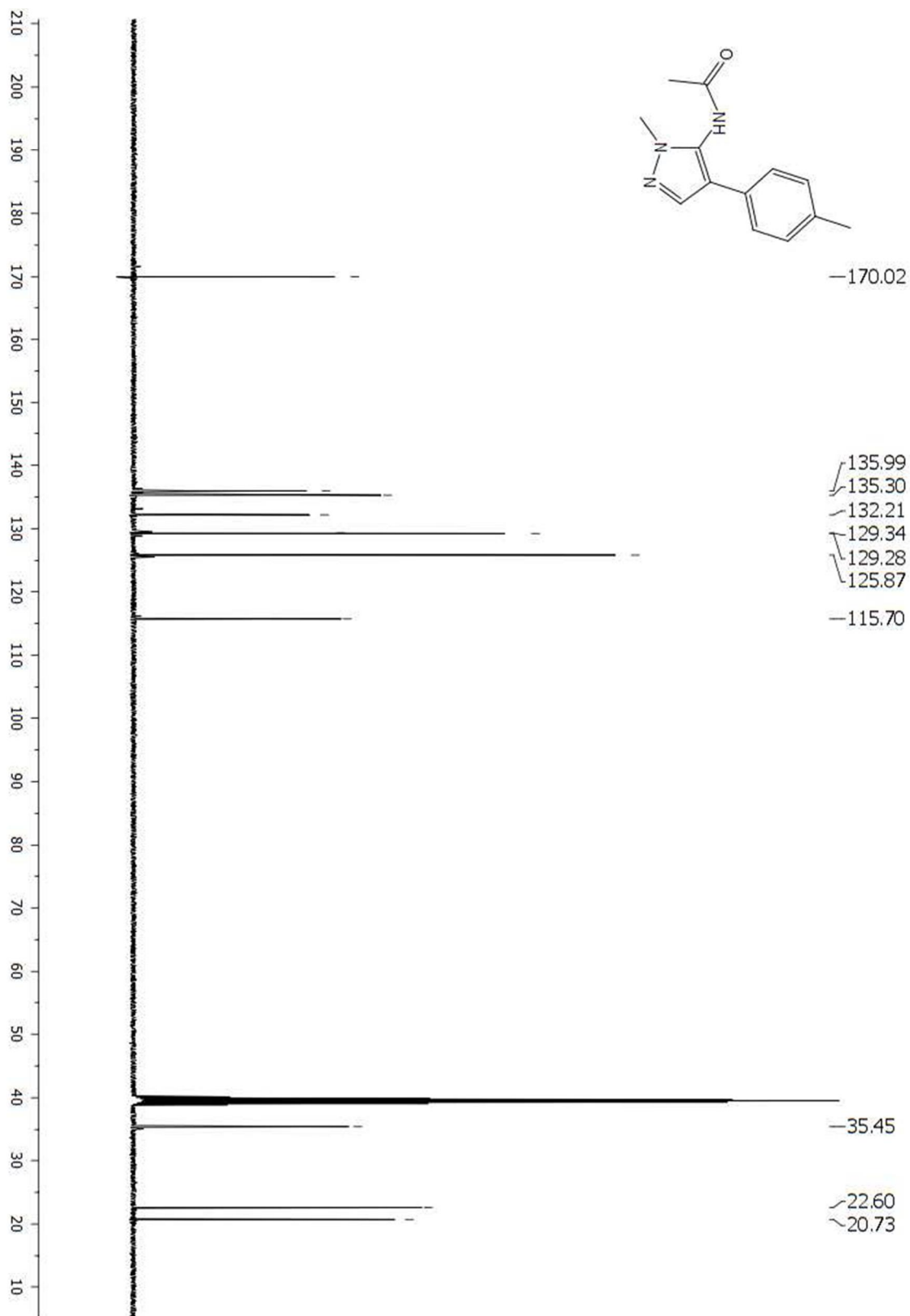
Ar	Aryl
CO	Karbonyl
CO ₂ Et	Ethylkarboxylát
COX-1	Konstitutivní forma cyklooxygenázy
COX-2	Inducibilní forma cyklooxygenázy
DCM	Dichlormethan
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
Et	Ethyl
EtOH	Ethanol
GABA	Gama aminomáselná kyselina
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
NCS	<i>N</i> -chlorsukcinimid
OMe	Methoxy
Pd(OAc) ₂	Octan palladnatý
Ph	Fenyl
PPh ₃	Trifenylfosfin
PTZ	Pentylentetrazol
Tf	Trifluonmethansulfonát
XPhos	2-Dicyklohexylfosfino-2',4',6'-triisopropylbifenyl
XPhos Pd G2	Chlor(2-dicyklohexylfosfino-2',4',6'-triisopropyl-1,1'-bifenyl)[2-(2'-amino-1,1'-bifenyl)]palladium(II)

9 P ÍLOHY ó NMR spektra

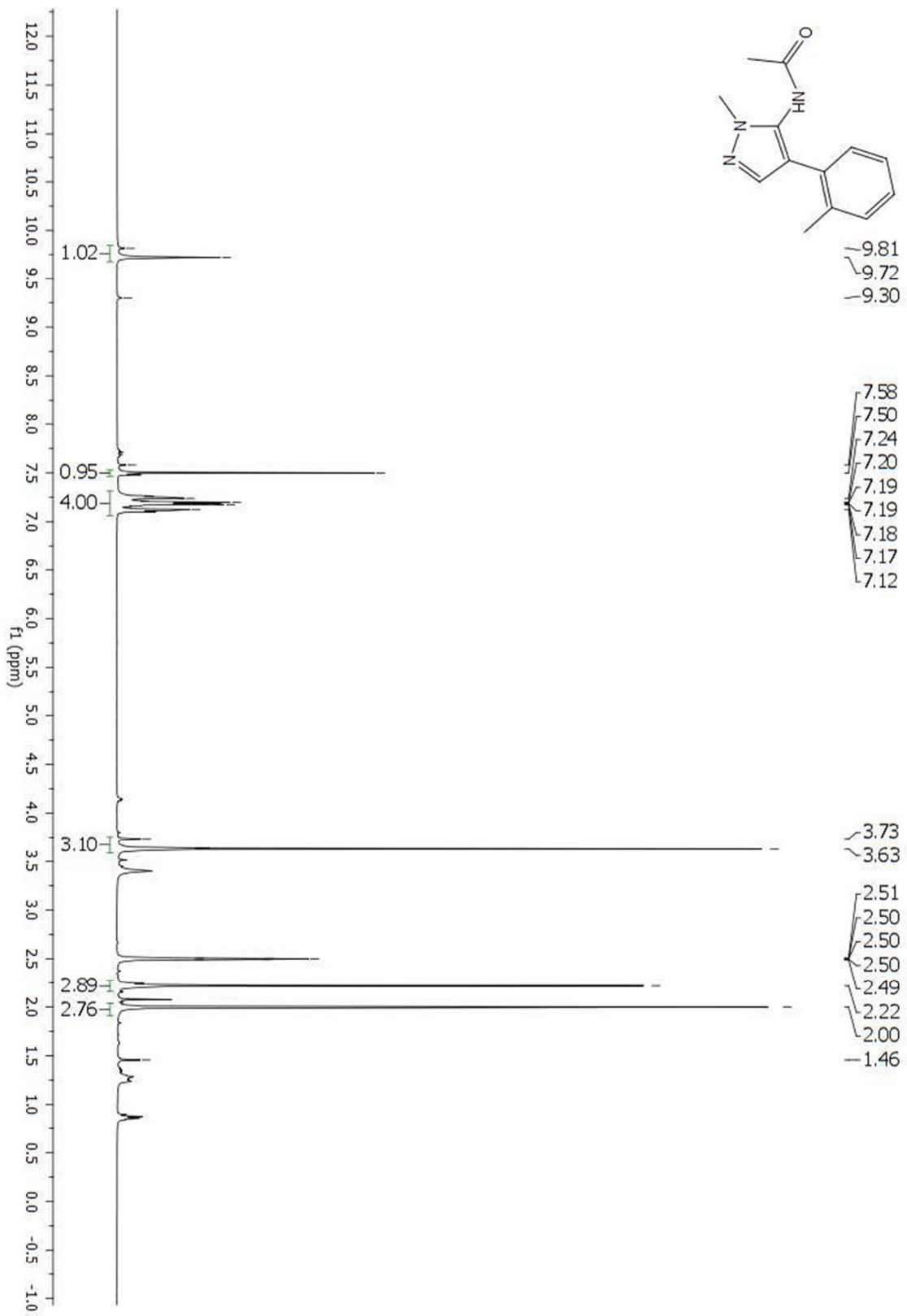
NMR spektrum *N*-(1-methyl-4-(*p*-tolyl)-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamidu 40



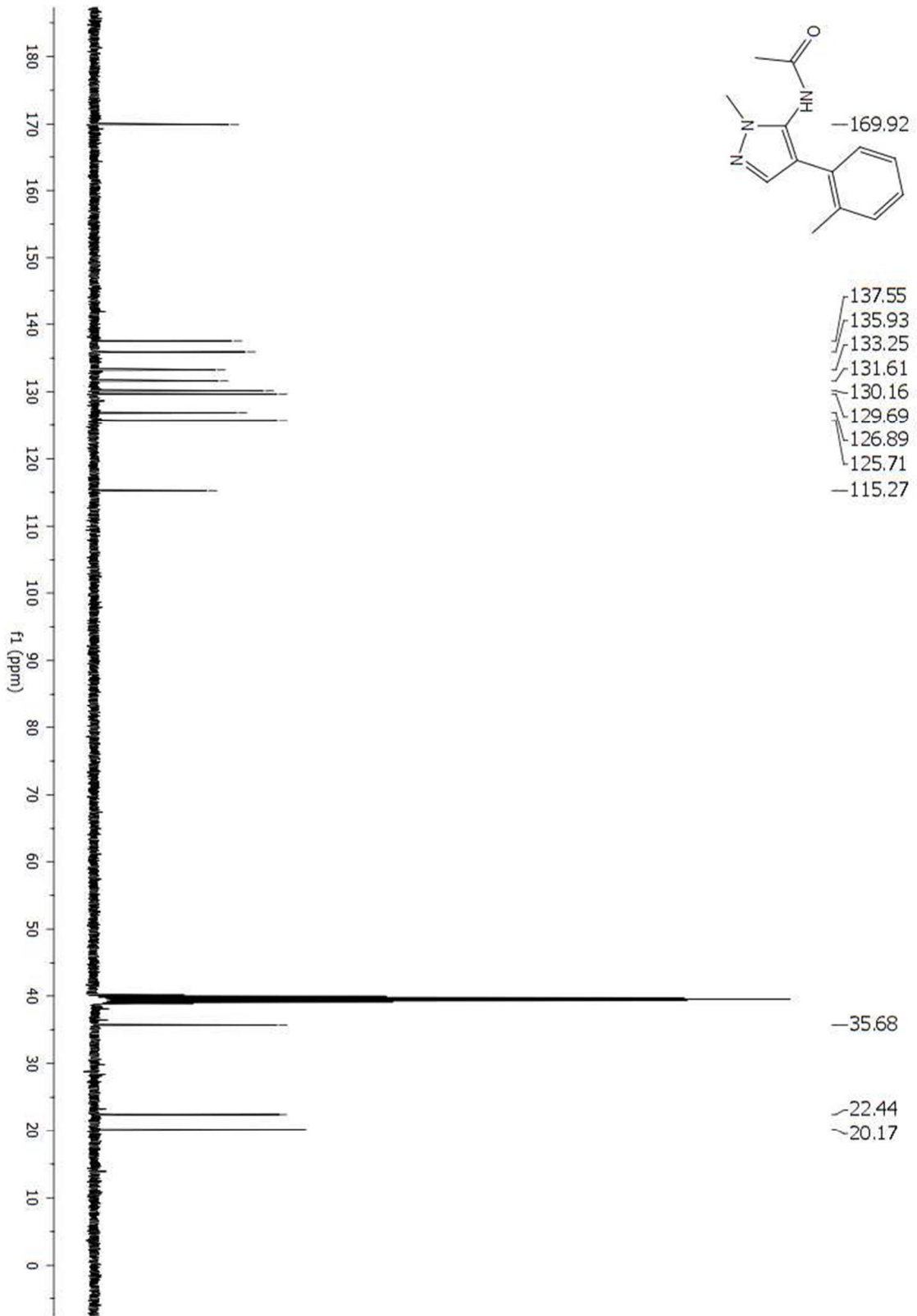
NMR spektrum *N*-(1-methyl-4-(*p*-tolyl)-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamidu 40



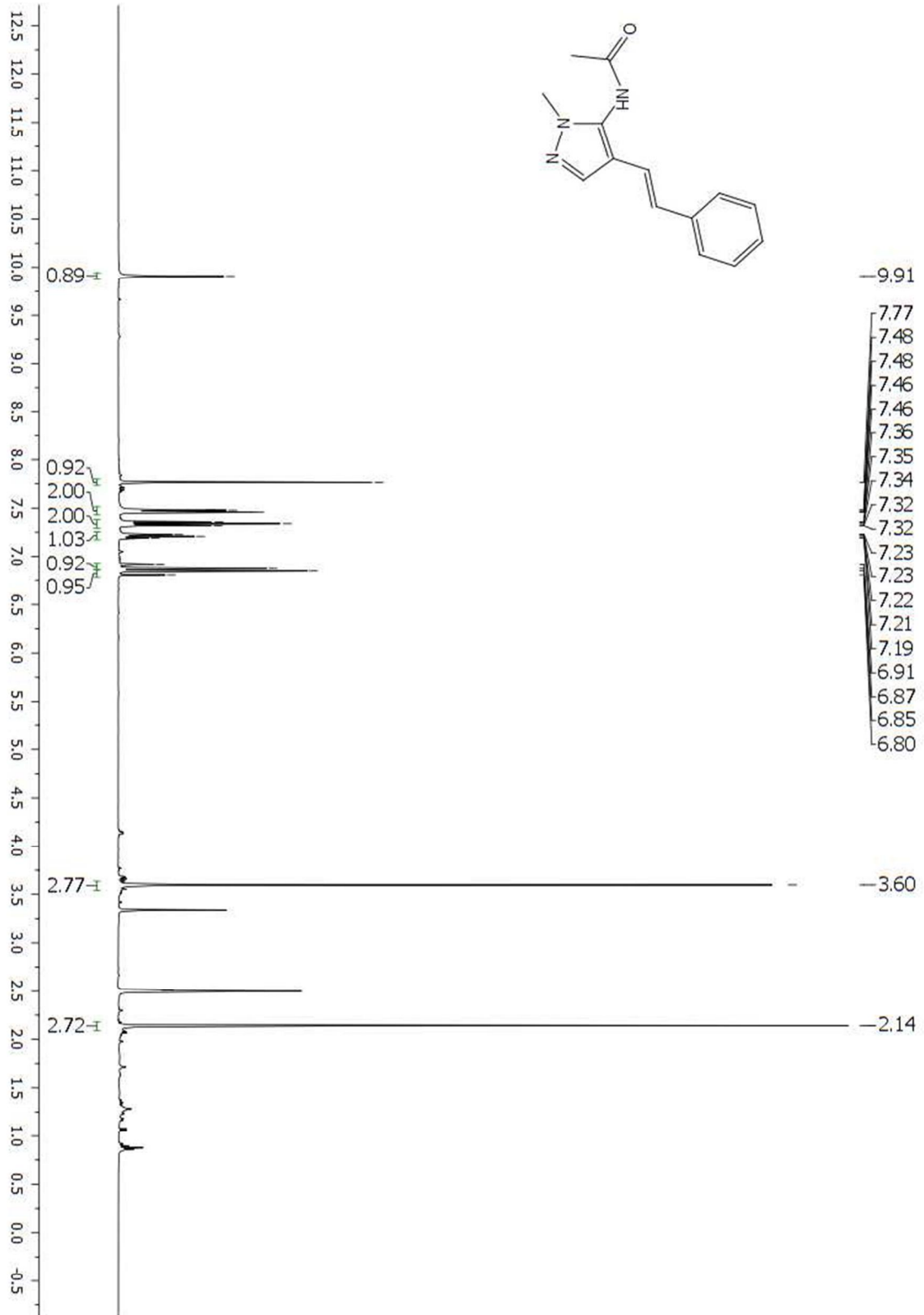
NMR spektrum *N*-(1-methyl-4-(*o*-tolyl)-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamidu 41



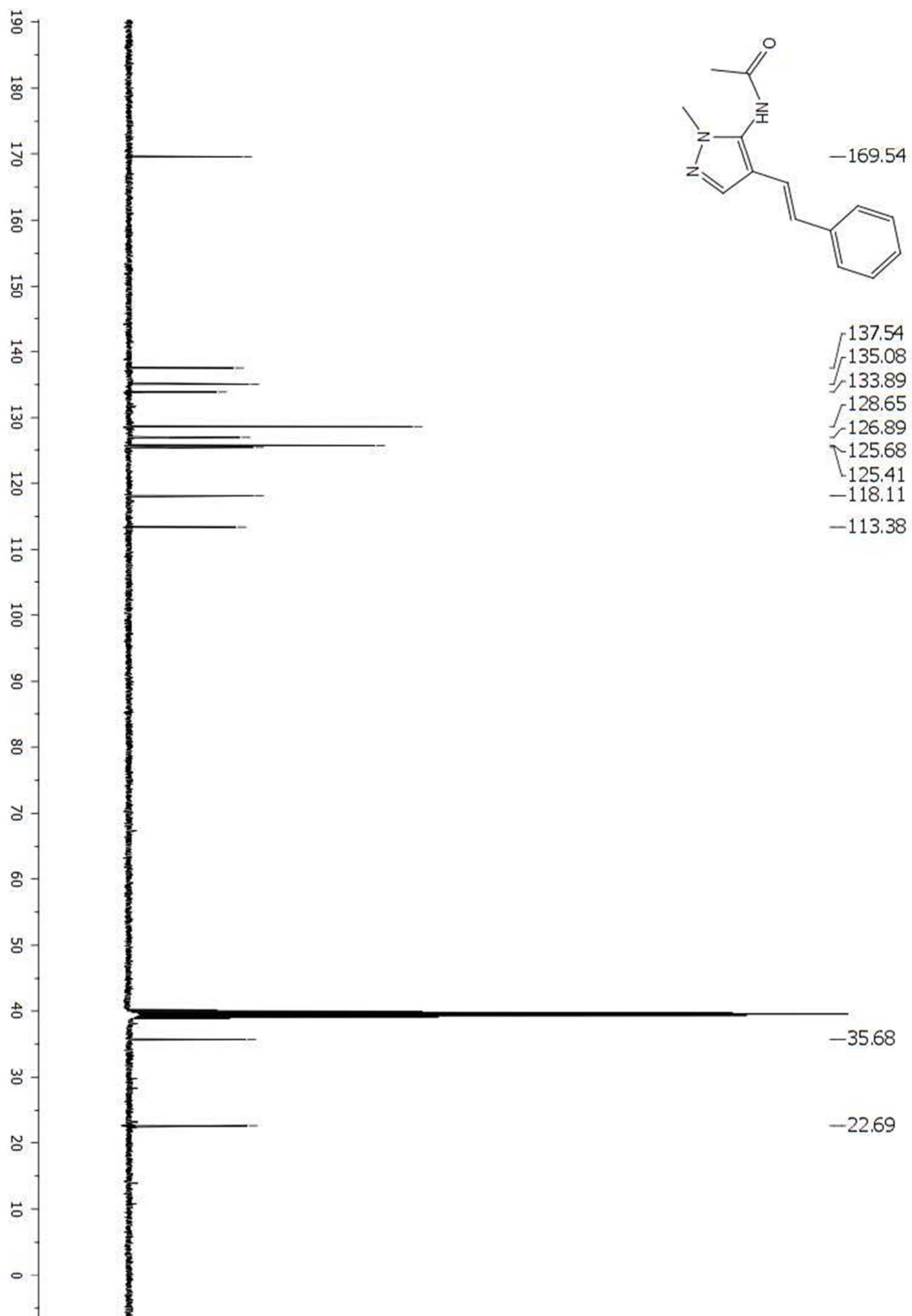
NMR spektrum *N*-(1-methyl-4-(*o*-tolyl)-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamidu 41



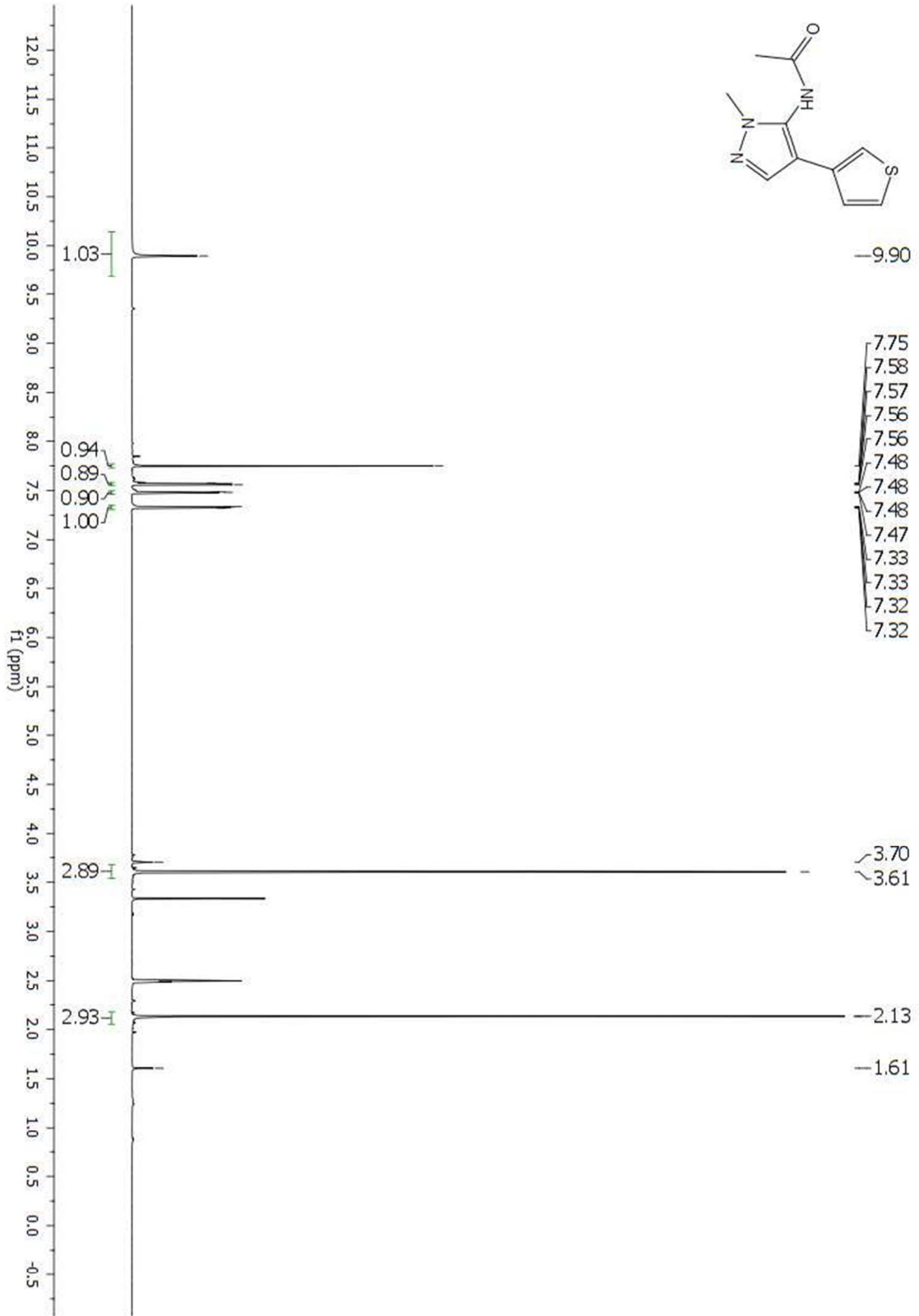
NMR spektrum *N*-(1-methyl-4-styryl-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamidu 47



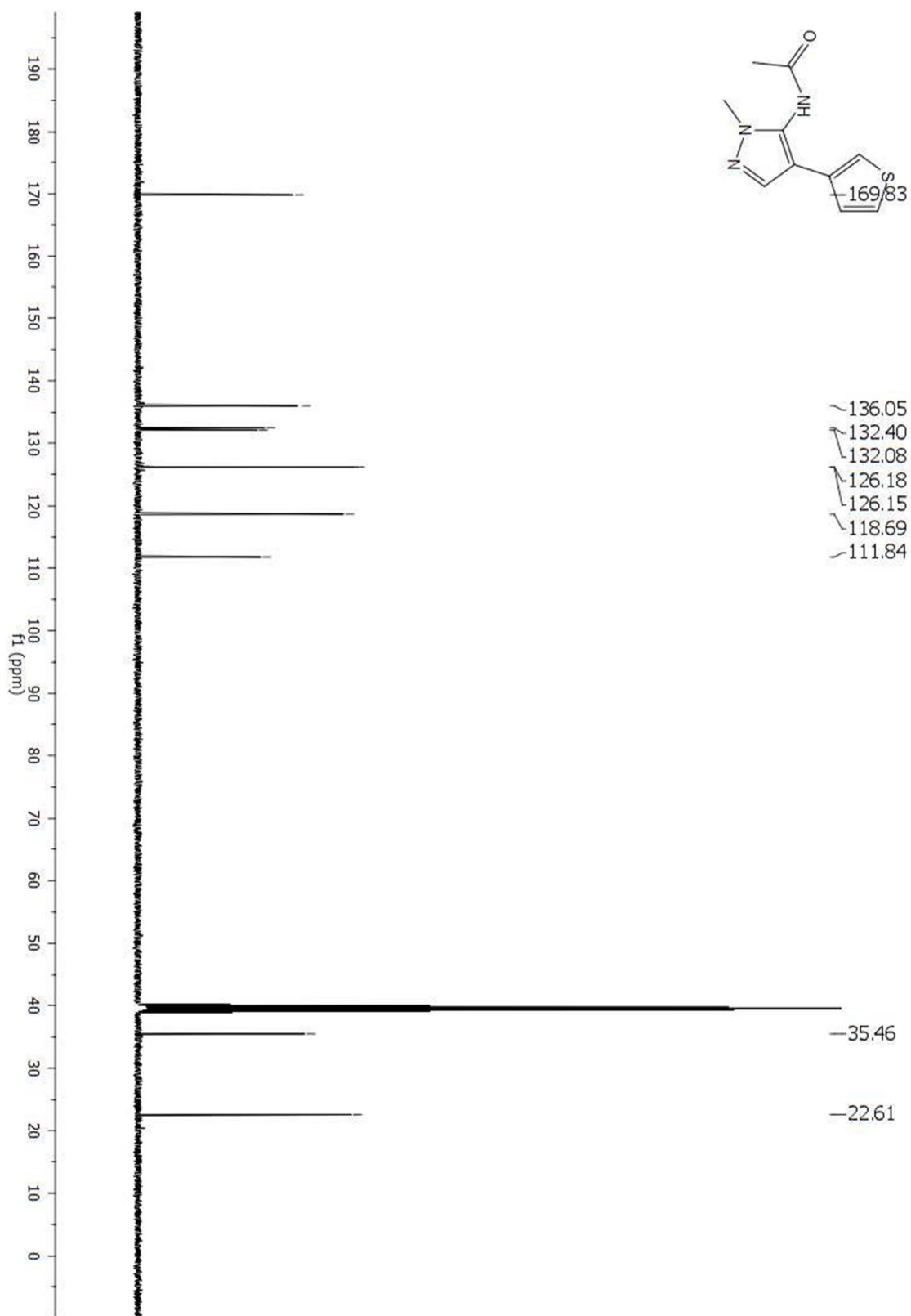
NMR spektrum *N*-(1-methyl-4-styryl-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamidu 47



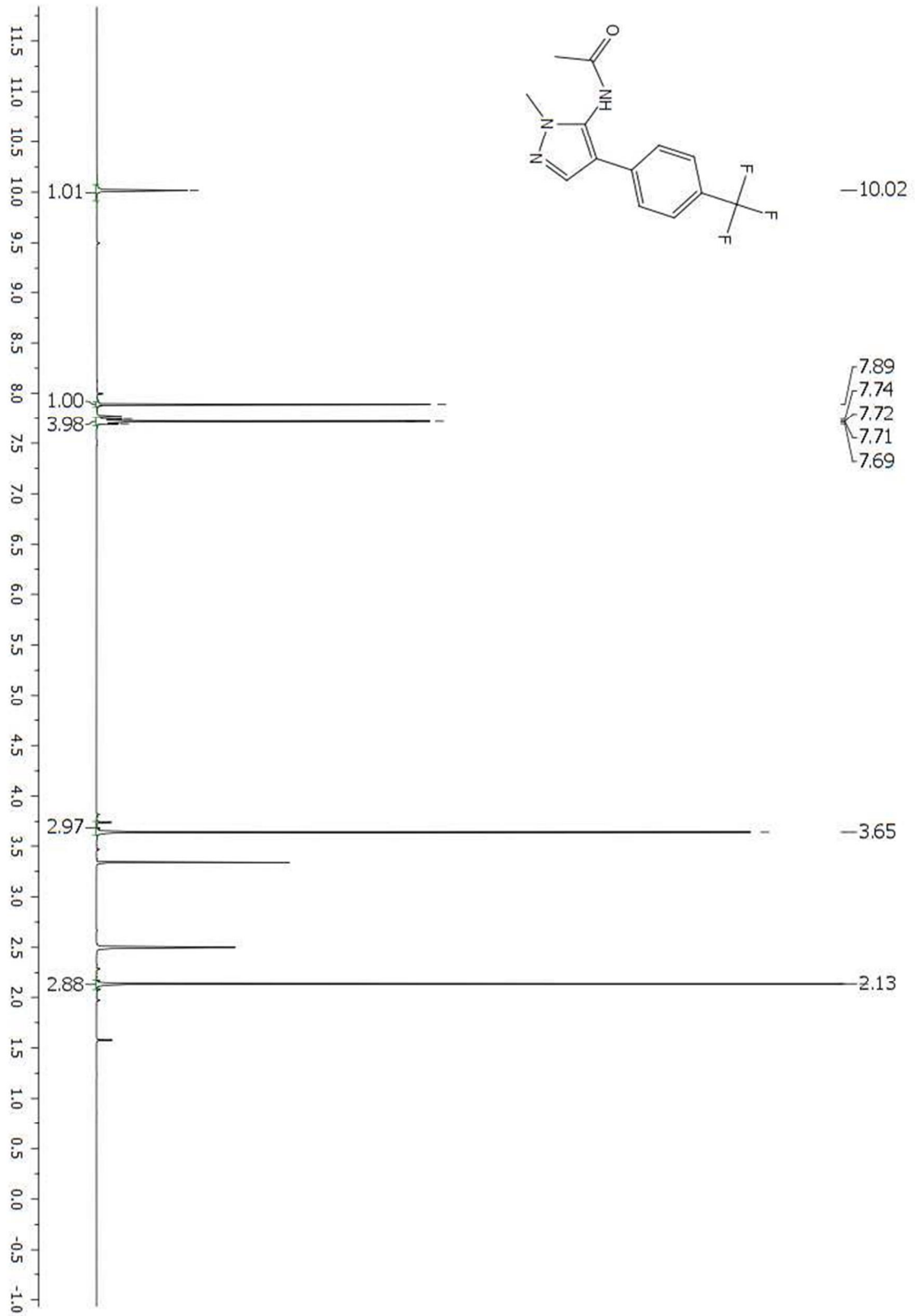
NMR spektrum *N*-(1-methyl-4-(3-thienyl)-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamidu 44



NMR spektrum *N*-(1-methyl-4-(3-thienyl)-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamidu 44



NMR spektrum *N*-(1-methyl-4-(4-(trifluormethyl)fenyl)-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamidu 46



NMR spektrum *N*-(1-methyl-4-(4-(trifluormethyl)fenyl)-1*H*-pyrazol-5-yl)acetamidu 46

