

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
Katedra organické chemie



Syntéza derivátů pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinu

Bakalářská práce

Autor:	Pavλίna Horáková
Studijní program:	B1407 Chemie
Studijní obor:	Bioorganická chemie
Typ studia:	Bakalářské
Vedoucí práce:	RNDr. Petr Cankař, Ph.D.
Termín odevzdání práce:	7. 5. 2013

Prohlášení:

Já, Pavlína Horáková prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci zpracovala samostatně pod odborným dohledem RNDr. Petra Cankaře Ph.D. 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 byla má práce zpřístupněna v některé z knihoven Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne

.....
podpis

Poděkování:

Ráda bych zde poděkovala vedoucímu své bakalářské práce panu RNDr. Petru Cankařovi, PhD., za odborné vedení, cenné rady a připomínky, které mi při plnění zadaného úkolu poskytli.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora:	Pavčina Horáková
Název práce:	Syntéza derivátů pyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidinu
Typ práce:	Bakalářská
Pracoviště:	Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci
Školitel:	RNDr. Petr Cankař, Ph.D.
Rok obhajoby práce:	2013
Abstrakt:	Skupina derivátů pyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidinu byla připravena přímou metodou cyklokondenzací β-ketoesterů s 4-((3,5-diamino-1 <i>H</i> -pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolem. Dále byla zkoušena alternativní metoda přípravy těchto derivátů z dihydroderivátu. Jako modelová sloučenina byl vybrán 2-amino-3-((4-hydroxyfenyl)diazenyl)-5-(4-metoxyfenyl)-5,6-dihydropyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidin-7(4 <i>H</i>)-on, na kterém byly zkoušeny různé metody oxidace. Dosud provedené oxidace nevedly k přípravě 2-amino-3-((4-hydroxyfenyl)diazenyl)-5-(4-metoxyfenyl)pyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidin-7(4 <i>H</i>)-onu. Srovnání derivátů pyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidinů vzniklých přímou a alternativní metodou za účelem prokázání předpokládané regioselektivity obou cyklizačních reakcí zatím nebylo možné z důvodu nenalezení vhodných reakčních podmínek pro oxidaci u alternativní metody.
Klíčová slova:	pyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidiny, Claisenova kondenzace, β-ketoestery, oxidace, biologická aktivita, syntéza
Počet stran:	46
Počet příloh:	7
Jazyk:	Český

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Pavlína Horáková

Title: Synthesis of pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidine derivatives

Type of thesis: Bachelor

Department: Department of organic chemistry,
Faculty of Science, Palacký University Olomouc

Advisor: RNDr. Petr Cankař, Ph.D.

The year of presentation: 2013

Abstract: A Group of derivatives of pyrazolo [1,5-*a*] pyrimidine was prepared directly by a cyclocondensation of β -ketoesters with 4 - ((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)phenol. It was also tested an alternative method for the preparation of these derivatives via dihydroderivative. As a model compound was chosen 2-amino-3-((4-hydroxyphenyl)diazenyl)-5-(4-methoxyphenyl)-5,6-dihydropyrazolo[1,5-*a*]pyrimidine-7(4*H*)-one, which was treated under various oxidative methods. However no tested oxidation methods led to desire 2-amino-3-((4-hydroxyphenyl)diazenyl)-5-(4-methoxyphenyl)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7(4*H*)-one. The comparison of pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidine derivatives resulted via the direct and the alternative method to prove the expected regioselectivity of both cyclization reactions has not been possible due to the fact that suitable reaction conditions were not found for the oxidative step in the alternative method.

Keywords: pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidines, Claisen's condensation, β -ketoesters, oxidation, biological activity, synthesis

Number of pages: 46

Number of appendixes: 7

Language: Czech

1. ÚVOD	- 9 -
2. TEORETICKÁ ČÁST	- 10 -
2.1. Pyrazolo[1,5-<i>a</i>]pyrimidiny	- 10 -
2.1.1. Syntéza pyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidinu	- 10 -
2.1.1.1. Syntéza založená na reakci β -dikarbonylových sloučenin s 3,5-diaminopyrazolem	- 10 -
2.1.1.2. Syntéza založená na reakci 5-aminopyrazolu s kyselinou Meldrumovou	- 11 -
2.1.1.3. Multikomponentní kondenzace	- 12 -
2.1.2.1. Tautomerie	- 13 -
2.2. Claisenova kondenzace	- 13 -
2.2.1. Mechanismus	- 14 -
2.2.2. Tautomerie B-ketoesterů	- 15 -
2.3. Oxidace	- 16 -
2.3.1. 2,3 – Dichlor – 5,6 – dikyano – 1,4 – benzochinon (DDQ)	- 16 -
2.3.1.1. Dehydrogenace uhlovodíků pomocí DDQ	- 17 -
2.3.1.2. Dehydrogenace karbonylových sloučenin	- 18 -
2.3.2. Oxid manganičitý MnO ₂	- 18 -
2.3.2.1. Dehydrogenační a aromatizační reakce	- 19 -
2.3.3. Palladium na aktivním uhlí	- 19 -
2.3.3.1. Dehydrogenace	- 19 -
2.3.4. Síra	- 20 -
2.3.4.1. Dehydrogenační reakce pomocí síry	- 20 -
2.3.5. Dusičnan amonno-cerčitý (CAN)	- 21 -
2.4. Biologická aktivita derivátů pyrazolo[1,5-<i>a</i>]pyrimidinů	- 21 -
2.4.1. 11 β -HSD inhibitory	- 21 -
2.4.2. COX-2 selektivní inhibitory	- 22 -
2.4.3. Inhibitory CDK	- 23 -
2.4.4. Inhibitory viru hepatitidy typu C	- 24 -
2.4.5. Antischistosomika	- 24 -
3. PŘEHLED DOSAŽENÝCH VÝSLEDKŮ	- 26 -
3.1. Přehledné schéma připravených sloučenin	- 26 -
3.2. Příprava výchozích látek	- 27 -
3.2.1. Příprava [N-(4-hydroxyfenyl)hydrazono] malononitrilu (II)	- 27 -

3.2.2.	Příprava 4-((3,5-diamino-1 <i>H</i> -pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolu (III).....	- 28 -
3.3.	Příprava pyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidinů (V a-h) pomocí metody (A)	- 28 -
3.4.	Alternativní metoda (metoda B) přípravy pyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidinů.....	- 30 -
4.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	- 33 -
4.1.	[<i>N</i> -(4-Hydroxyfenyl)hydrazono] malononitril (II)	- 33 -
4.2.	[(<i>E</i>)-2-(3,5-Diamino-1 <i>H</i> -pyrazol-4-yl)diazenyl]fenol (III)	- 33 -
4.3.	2-Amino-3-[(<i>E</i>)-(hydroxyfenyl)diazenyl]-5-(4-methoxyfenyl)-5,6-dihydropyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidin-7(4 <i>H</i>)-on (VIII)	- 34 -
4.4.	2-Amino-3-[(<i>E</i>)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-5-(2-methoxyfenyl)pyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidin-7(4 <i>H</i>)-on (V a)	- 34 -
4.5.	2-Amino-3-[(<i>E</i>)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-5-(4-methoxyfenyl)pyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidin-7(4 <i>H</i>)-on (V b)	- 35 -
4.6.	2-Amino-5-(2-fluorfenyl)-3-[(<i>E</i>)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]pyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidin-7(4 <i>H</i>)-on (V c)	- 35 -
4.7.	2-amino-5-(3-fluorfenyl)-3-[(<i>E</i>)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]pyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidin-7(4 <i>H</i>)-on (V d)	- 36 -
4.8.	2-Amino-5-(4-fluorfenyl)-3-[(<i>E</i>)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]pyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidin-7(4 <i>H</i>)-on (VI e).....	- 37 -
4.9.	2-Amino-3-[(<i>E</i>)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-5-[3-trifluormethyl)fenyl]pyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidin-7(4 <i>H</i>)-on (V f)	- 37 -
4.10.	2-Amino-3-[(<i>E</i>)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-5-[4-trifluormethyl)fenyl]pyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidin-7(4 <i>H</i>)-on (V g)	- 38 -
4.11.	2-Amino-3-[(<i>E</i>)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-5-(4-nitrofenyl)pyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidin-7(4 <i>H</i>)-on (V h).....	- 38 -
5.	ZÁVĚR	- 39 -
6.	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	- 40 -

7. PŘÍLOHY	- 44 -
Příloha 1. Total Scan derivátu V a	- 44 -
Příloha 2. Total Scan derivátu V b	- 44 -
Příloha 3. Total Scan derivátu V c.....	- 44 -
Příloha 4. Total Scan derivátu V d	- 45 -
Příloha 5. Total Scan derivátu V e	- 45 -
Příloha 6. Total Scan derivátu V f	- 45 -
Příloha 7. Total Scan derivátu V g.....	- 46 -

1. Úvod

První pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidiny byly připraveny již v 50. letech 20. století. Bylo zjištěno, že některé deriváty pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinu je možné využít například jako COX-2 selektivní inhibitory⁶³, modulátory 11 β -HSD1 enzymu⁶¹, CDK inhibitory.⁶⁴⁻⁷¹

Cílem bakalářské práce bylo připravit deriváty pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinu přímou cyklizací 4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolu s různými β -ketoestery (**metoda A**) a následně prokázat, zda při cyklizaci dochází k ataku β -karbonylové skupiny amino skupinou s následným uzávěrem cyklu spojením esterové skupiny s endocyklickým pyrazolovým dusíkem.

Druhým syntetickým přístupem k vytvoření těchto derivátů byla multikomponentní reakce pyrazolu, Meldrumové kyseliny a derivátů benzaldehydu vedoucí k dihydro formě, která byla následně podrobena oxidaci různými oxidačními činidly (**metoda B**).

V literatuře je popsáno několik způsobů, jak syntetizovat pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidiny¹⁻⁶. Syntézy vycházejí většinou z 3-aminopyrazolu, který se podrobí reakci s různými látkami, jako jsou dikarbonylové sloučeniny, Meldrumová kyselina a jiné. V rešeržní části jsou popsány syntézy vztahující se k danému tématu. Dále jsou uvedeny možnosti oxidace heterocyklů, přípravy β -ketoesterů a biologická aktivita derivátů založených na pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinovém skeletu.

Záměrem praktické části bylo připravit různé deriváty pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinů reakcí pyrazolu s β -ketoestery, zhodnotit získané výsledky a najít vhodné podmínky a činidla pro oxidaci redukované formy tohoto derivátu. Srovnání derivátů pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinu vzniklých cyklizací β -ketoesterů s deriváty připravených alternativním nezávislým způsobem přes jejich redukované formy umožní prokázat předpokládanou regioselektivitu u obou cyklizačních reakcí.

Konkrétním případem této syntézy s asymetrickým β -ketoesterem (**Schéma 2.**) může být reakce diaminonitropyrazolu (**6**) s acetoacetátem v prostředí HCl/MeOH za horka. Kdy tedy jak již bylo řečeno, jsou možné dva produkty reakce (**8A a 8B**). V tomhle případě je ale možné říct, že první struktura (**8A**) je pravděpodobnější, jelikož v použitém kyselém prostředí bude iniciační krok zahrnovat primární aminoskupinu, ne NH skupinu pyrazolového kruhu. Při této reakci dochází k tvorbě enaminového intermediátu (**7**), který jak je pro enaminy charakteristické hydrolyzuje na sloučeninu **8A**.

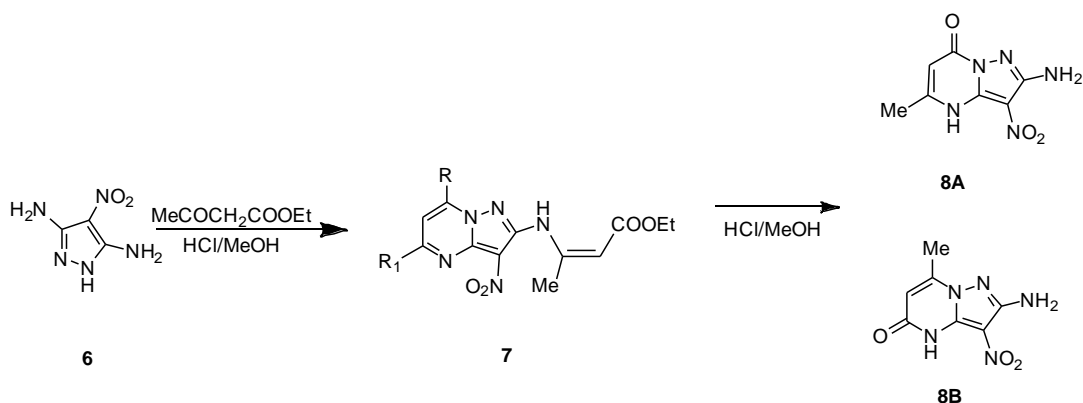


Schéma 2. Konkrétní případ syntézy s asymetrickým β -ketoesterem.

2.1.1.2. Syntéza založená na reakci 5-aminopyrazolu s kyselinou Meldrumovou

Další způsob, jak syntetizovat pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidiny, je reakcí aminopyrazolu s Meldrumovou kyselinou ($pK_{a1} 4,83$)², což je 2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dione (**11**). Meldrumovou kyselinu je možno připravit kondenzací kyseliny malonové (**9**) s acetonem (**10**) v anhydridu kyseliny octové, za přítomnosti katalytického množství kyseliny sírové. Tímto získáme požadovaný produkt jako bílou krystalickou látku³.

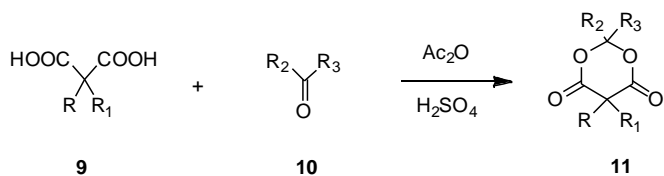


Schéma 3. Příprava kyseliny Meldrumové.

Příprava pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinu (**Schéma 4.**) se provádí například tak, že roztok Meldrumové kyseliny (**11**) a methyl orthoformátu (**12**) (1:5) je zahříván za refluxu 2,5 hodiny,

kdy dochází ke vzniku sloučeniny **13** a poté je ihned přidáno ekvimolární množství 5-amino-3-arylpirazolu (**14**), vztaženo na Meldrumovu kyselinu. Celá směs je zahřívána ještě 10 – 15 minut, ochlazena a vyloučený derivát 5-pyrazolylaminomethylenu (**15**) je zfiltrován. Cyklizace sloučeniny se provádí zahříváním za refluxu v nitrobenzenu po dobu 30 minut⁴ (**16**).

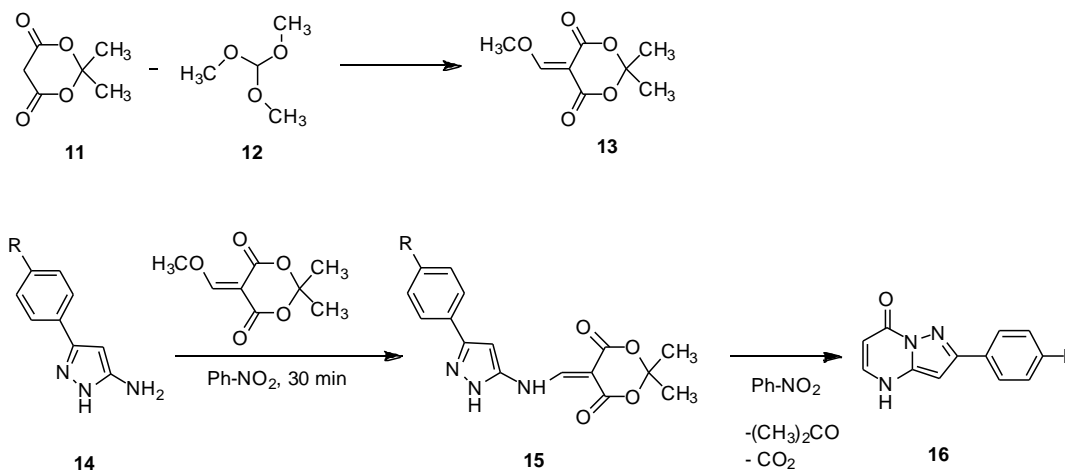
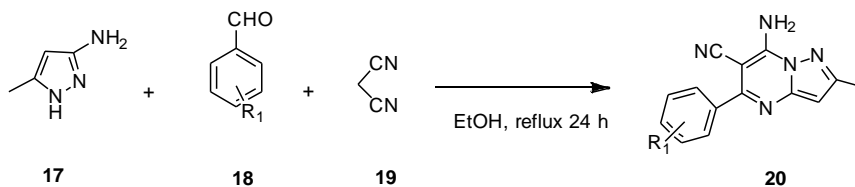


Schéma 4. Syntéza založená na reakci kyseliny Meldrumové s 5-aminopyrazolem.

2.1.1.3. Multikomponentní kondenzace

Multikomponentní kondenzační reakce zastávají významnou pozici mezi ostatními typy reakcí díky vysokým výtěžkům, jednoduchosti procedury a vysokým stupňům konverze⁵. Touto metodou je možné syntetizovat i pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidiny.

Příkladem syntézy (**Schéma 5.**) může být reakce tří-komponentní kondenzace 3-amino-5-methylpyrazolu (**17**) a aldehydu (**18**) v přítomnosti malononitrilu (**19**) za refluxu v ethanolu, bez použití katalyzátoru,⁶ za vzniku příslušného derivátu pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinu (**20**).



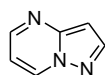
$R^1 = 4\text{-CH}_3, 4\text{-OCH}_3, 4\text{-Ph}, 4\text{-Cl}, 4\text{-Br}, 3\text{-OCH}_3, 2,4\text{-di-OCH}_3$

Schéma 5. Příklad multikomponentní reakce.

2.1.2. Vlastnosti

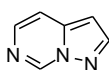
2.1.2.1. Tautomerie⁷

Dva ze čtyř základních pyrazolopyrimidinových systémů nevykazují tautomerii (**21**, **22**). Systém [3,4-*d*] existuje ve čtyřech NH - tautomerních formách (**23-26**) a je popsán i CH tautomer (**27**). [4,3-*d*] systém se vyskytuje ve dvou nenabitých (**27**, **28**) a třech zwitterionových NH – formách, kdy je zde zobrazena jen jedna reprezentativní forma (**30**), stejně tak u CH – forem (**31**). Nejčastěji je tento systém zobrazován jako struktura **28**.



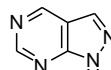
Pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin

21



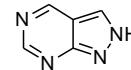
Pyrazolo[1,5-*c*]pyrimidin

22



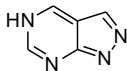
1H-Pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin

23



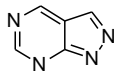
2H-Pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin

24



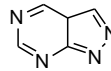
5H-Pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin

25



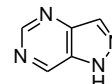
7H-Pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin

26



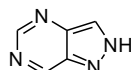
3aH-Pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin

27



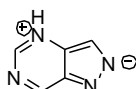
1H-Pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidin

28



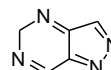
2H-Pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidin

29



zwitterionová forma

30



5H-Pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidin

31

Pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidiny oplývají dále nesčetnou biologickou aktivitou, které je věnována samostatná kapitola.

2.2. Claisenova kondenzace

Jelikož v experimentální části (kapitola 4), byla k syntéze pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinů použita metoda cyklokondenzace pyrazolu s různými β-ketoestery, je zde věnována jejich přípravě samostatná kapitola zaměřená na metodu Claisenovy kondenzace.

Díky tomu, že β-ketokyseliny jsou nestabilní, pracuje se spíše s jejich estery, které se připravují Claisenovou kondenzací. Tato metoda je pojmenována po německém chemikovi Ludwigu Claisenovi (1851 – 1930), který byl univerzitním profesorem v Kielu. Jeho jméno je

nejen spjata s kondenzací esterů, ale i s návrhem dvouhrdlé baňky, která se používá při destilaci ve vakuu.⁸

2.2.1. Mechanismus

Claisenova kondenzace je obecná metoda pro přípravu β -ketoesterů (3-oxoestery). Při této rovnovážné kondenzaci dochází ke vzájemné reakci dvou molekul esterů za působení báze (bezvodý alkoholát, popř. Na, K, NaH nebo kovové amidy - avšak takové, které nepůsobí amidačně – tedy například amid sodný). Ke kondenzaci se mohou použít i estery homologických kyselin, které mají v α poloze alespoň jeden vodíkový atom, jelikož jeho odštěpením reakce začíná. Hnací silou reakce je tvorba stabilizovaného aniontu β -ketoesteru⁹.

Mechanismus Claisenovy kondenzace (**Schéma 6.**) je podobný mechanismu aldolové kondenzace. Podstatou je nukleofilní acylová substituce v molekule esteru působením enolátu, který se vytvoří z druhé molekuly esteru.

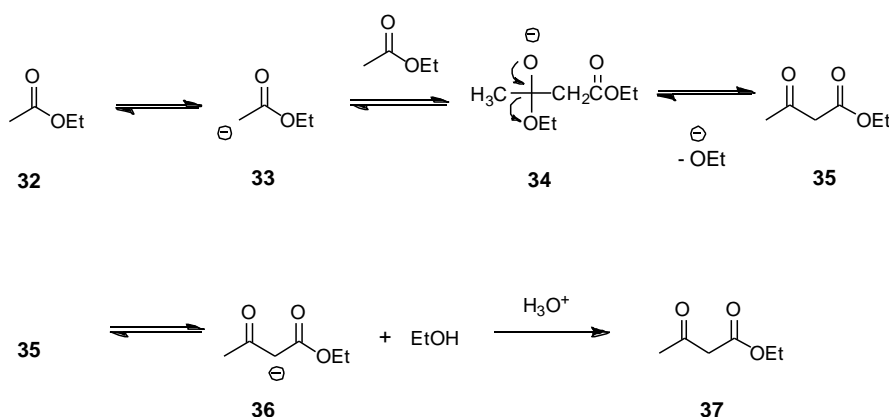


Schéma 6. Mechanismus Claisenovy kondenzace.

Reakce začíná tím, že báze z molekuly esteru (32) odštěpuje na α -uhlíku kyselý atom vodíku, za vzniku enolátu esteru (33). Nukleofilní adicí tohoto aniontu na druhou molekulu esteru vzniká tetraedrický meziprodukt (34), který je nestálý a proto se stabilizuje odštěpením ethoxidového iontu za vzniku ethyl-acetoacetátu (35). Odštěpený bazický ethoxid převádí β -ketoester na jeho enolát (36) a tím posouvá rovnováhu směrem k produktu. Přidání kyseliny na konci reakce vede k protonaci a tím ke konečnému produktu (37).⁸

Při kondenzaci dvou molekul esterů různých kyselin (**Schéma 7.**), které mají na α -uhlíku kyselý vodík, vznikají všechny 4 možné produkty kondenzace, což vede k tomu, že reakce má malý preparativní význam. Například společnou kondenzací ethyl esteru kyseliny

octové (**38**) a máselnanu ethylnatého (**39**) by formálně vznikla směs acetoctanu (**40**), butyryloctanu (**41**), acetylmáselnanu (**42**) a butyryl máselnanu ethylnatého (**43**).¹⁰

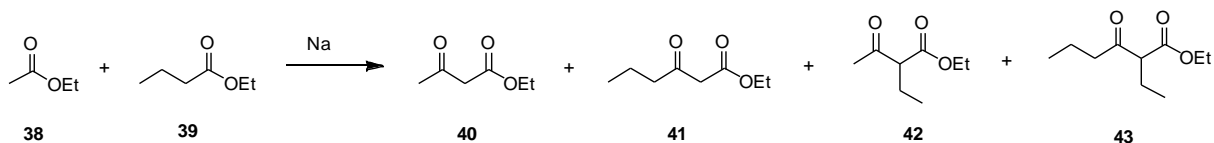


Schéma 7. Kondenzace dvou molekul esterů různých kyselin.

Ze sterických důvodů ale ve skutečnosti vzniknou jen první dvě sloučeniny s rovně probíhajícím řetězcem, jelikož by energie vznikajícího intermediátu byla příliš vysoká.

Pokud však jeden ze dvou esterů neobsahuje α -vodík, má reakce jednoznačný průběh a je možné ji použít k preparativním účelům.⁹

Praktickým příkladem této reakce může být syntéza dipivaloylmethanu (**Schéma 8.**) (2,2,6,6 – tetramethyl-3,5-heptandion) (**46**), který je průmyslově významnou sloučeninou. Reakce se provádí v DMF při 50°C za přítomnosti terc.butoxidu draselného (KO^tBu), pod dusíkovou atmosférou. Do vzniklé směsi je následně nakapán roztok pinakolonu (**44**) v DMF.¹¹

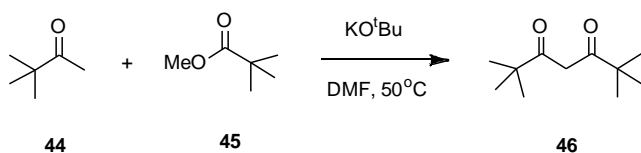


Schéma 8. Syntéza dipivaloylmethanu

Intramolekulární verze Claisenovy kondenzace je známá jako Dieckmanova kondenzace, která se místo jednoduchých esterů provádí s diestery, kdy mechanismus obou reakcí je obdobný.⁸

2.2.2. Tautomerie β -ketoesterů

Pro β -ketoestery je typická tautomerie. Některé jejich vlastnosti jsou charakteristické pro ketony, stejně tak i enoly.

Například acetocetan ethylnatý je rovnovážnou směsí enolformy (**47**) a ketoformy (**48**) (**Schéma 9.**) Vzájemný poměr obou forem je závislý na teplotě a zvláště na rozpouštědle.

S klesající polaritou rozpouštědla přibývá enolformy (**47**). Obsah enolformy v polárním rozpouštědle se zmenšuje díky tomu, že mezi molekulami rozpouštědla a molekulami β -ketoesteru se vytváří intermolekulární vodíkové můstky, což vede k její omezené tvorbě. Dochází ke je stabilizaci vlivem intramolekulárního vodíkového můstku.⁹



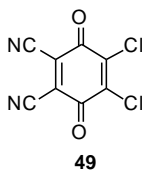
Schéma 9. Tautomerie acetoctanu ethylnatého.

2.3. Oxidace

Oxidovat cyklické sloučeniny lze nejlépe dehydrogenací cyklu pomocí různých činidel, jako jsou například MnO_2 , síra, DDQ, CAN, CdCl_2 , BaMnO_4 , Pd na aktivním uhlí. Několika z nich se dále budeme zabývat, kde budou probrány zejména dehydrogenační a aromatizační reakce.¹²

2.3.1. 2,3 – Dichlor – 5,6 – dikyano – 1,4 – benzochinon (DDQ)

DDQ (**44**) je dodáván ve formě žluté krystalické látky, velmi dobře rozpustné v ethyl acetátu a THF, méně však v dichlormethanu, benzenu či dioxanu a ve vodě je zcela nerozpustný. Je tedy využitelný jako silné oxidační činidlo zejména pro dehydrogenace za účelem utvoření aromatických systému α a β – nenasycených karbonylových sloučenin¹³ a dále je schopný oxidovat hydroxy skupiny na karbonylové sloučeniny¹⁴.



Chinony jsou silnými oxidovadly díky svému vysokému oxidačnímu potenciálu, což dovoluje jejich široké využití za relativně mírných podmínek. Z této třídy DDQ představuje nejuniverzálnější činidlo díky tomu, že vykazuje vysokou oxidační schopnost a zároveň je relativně stabilní. Reakce by měly být prováděny v inertních rozpouštědlech, jako jsou benzen, toluen, dioxan, THF, avšak dioxan je nejpreferovanější, díky nízké rozpustnosti redukované formy hydrochinonového produktu^{13,14}.

2.3.1.1. Dehydrogenace uhlovodíků pomocí DDQ

Mechanismus, kterým chinony zprostředkovávají dehydrogenaci sloučenin, zahrnuje rychlost určující krok a to takový, kdy dochází k přenosu hydridového iontu z uhlovodíku, následované rychlým přenosem protonů, vedoucí ke vzniku hydrochinonu. Dehydrogenace je tedy závislá na stupni stabilizace vznikajícího karbokationtu¹⁵.

DDQ je zejména efektivním aromatizačním činidlem a je často první volbou při dehydrogenaci jak jednoduché, tak komplexní heteroaromatické cyklické sloučeniny.^{17,18} Například tetrahydronaftalen (**50**) je schopný zoxidovat na naftalen a tím ho aromatizovat.¹⁶ Při dehydrogenacích katalyzovaných chinony jsou skeletální přesmyky neobvyklé, ale je možné je pozorovat při aromatizaci 1,1 – dimethyltetrahydronaftalenu (**52**), kdy dochází k 1,2 – metylovému posunu (**53**).¹⁹ Přesmyky mohou nastat také při aromatizaci steroidů, avšak v tomto případě je vyžadována delší reakční doba.²⁰

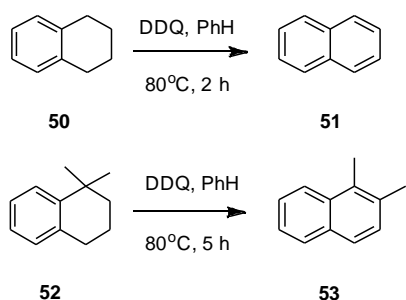


Schéma 10. Příklady dehydrogenačních reakcí, zprostředkovaných DDQ.

Dalším využitím tohoto oxidovadla je jeho použití jako dehydrogenační činidlo pro pyrroly,²¹ parazoly,^{22,23} thiazoly,²⁴ pyrimidiny,²⁵ pyraziny,²⁶ indoly,²⁷ furany²⁸ a jiné. Užitečnou aplikací DDQ (**Schéma 11**) je opětovná rearomatizace (**56**) dusíkatých heterocyků (**54**) po nukleofilní adici na C = N vazbu (**55**).²⁵

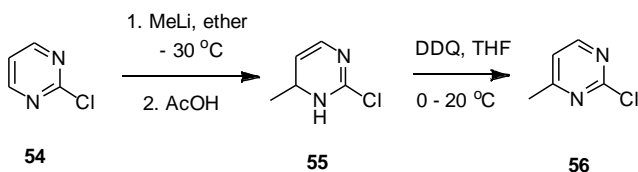


Schéma 11. Rearomatizace dusíkatých heterocyklů.

2.3.1.2. Dehydrogenace karbonylových sloučenin

DDQ a jiné chinony s vysokým oxidačním potenciálem jsou univerzálními činidly pro přípravu α,β -nenasycených karbonylových sloučenin,²⁹ tedy reakce, která si získala své místo v chemii 3-keto steroidů. Regioselektivita dehydrogenace je vysoce závislá na výchozí geometrii steroidu (**Schéma 12**).¹⁴ Při trans konformaci vodíků na steroidním cyklu (**57**) dochází k 9, 10 dehydrogenaci (**58**), oproti tomu při cis uspořádání (**59**) dochází k 6, 7 dehydrogenaci (**60**).

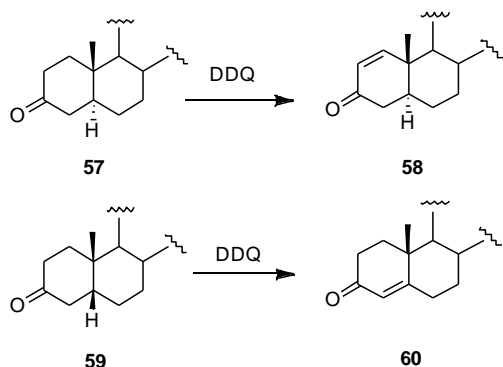


Schéma 12. Možnosti směru dehydrogenace u 3-keto steroidů.

2.3.2. Oxid mangančitý MnO_2

Oxid mangančitý je tmavě hnědý prášek, nerozpustný ve vodě, využitelný v organických syntézách pro oxidaci například heterocyklických^{30,31} a nasycených alkoholů,^{32,33} oxidativní štěpení 1,2 – diolů,³⁴ hydrataci nitrilů na amidy³⁵ a dále pro dehydrogenační a aromatizační reakce.³⁶

Struktura a reaktivita aktivních MnO_2 , užívaných jako oxidační činidlo v organických syntézách, úzce závisí na metodě jejich přípravy, jelikož tyto oxidy jsou nestechiometrické (MnO_x ; $1,93 < x < 2$).^{37,38,39} Aktivní MnO_2 je tedy možné připravovat z $KMnO_4$ buď za bazických,⁴⁰ či kyselých podmínek,⁴¹ pyrolýzou $MnCO_3$,⁴² nebo je také možné připravit vysoce účinný MnO_2 z $KMnO_4$ pomocí $MnCl_2 \cdot 4H_2O$.⁴³

Při oxidacích organických sloučenin oxidem mangančitým jsou také důležité podmínky provedení reakce. Výběr rozpouštědla je velmi důležitý - například primární nebo sekundární alkoholy jsou nevhodné, jelikož mají silný deaktivující efekt díky kompetici se substrátem navázaným na MnO_2 .⁴¹ Reakční doba se může pohybovat řádově v desítkách minut, až

k několika dnům v závislosti na povaze substrátu a aktivitě MnO_2 .^{42,44} Lze ji zkrátit zvýšenou teplotou reakční směsi, avšak na úkor selektivity oxidace.⁴⁵

2.3.2.1. Dehydrogenační a aromatizační reakce

MnO_2 je široce využíván pro realizaci různých dehydrogenačních a aromatizačních reakcí, je využitelný například pro aromatizaci dihydropyrazolu (**61**).⁴⁶ V některých případech může dehydrogenace také nastat jako boční reakce, což je možné například při hydrataci nitrilů (**63**).³⁵ (Schéma 13.)

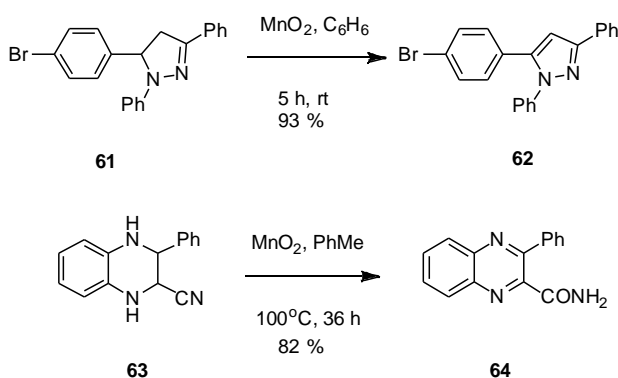


Schéma 13. Příklady využití MnO_2 pro aromatizace a dehydrogenace.

2.3.3. Palladium na aktivním uhlí

Palladium je nejčastěji používáno ve formě peletek, nebo černého prášku obsahujícího 0,5 – 30 wt % Palladia. S jeho používáním je spojeno několik bezpečnostních opatření a to například takové, že při filtraci nesmí filtrační koláč vyschnout, nebo že Pd/C musí být rozmícháno v organickém rozpouštědle pod inertní atmosférou dusíku, jelikož palladium na aktivním uhlí je schopno zapálit páry rozpouštědla nad reakční směsí. Katalytické systémy obsahující palladium se nejčastěji používají pro katalýzu hydrogenací alkenů, alkynů, ketonů, nitrilů, heterocyklických aromátů, epoxidů, hydrazinů a jiných.¹²

2.3.3.1. Dehydrogenace

Pd/C je rovněž efektivní dehydrogenační činidlo, za vysokých teplot poskytující karbocyklické a heterocyklické aromatické sloučeniny.^{47,48} Palladiem na uhlíku bylo možné například převést enon (**65**) na fenol (**66**).⁴⁹ Dále například derivát methoxycyklohexanu (**67**) poskytuje anisylový produkt (**68**) při dehydrogenaci katalyzované palladiem⁵⁰.

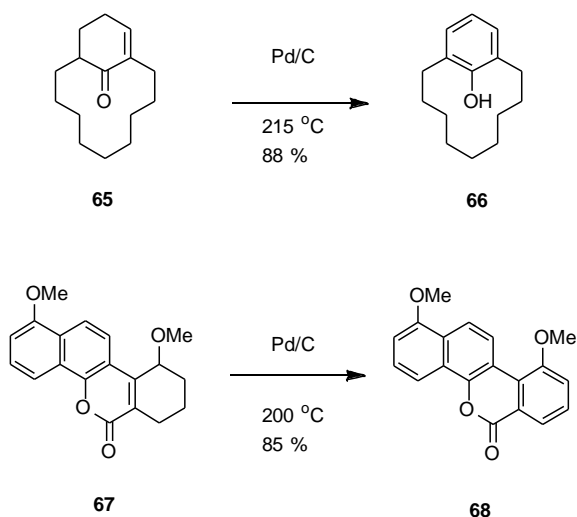


Schéma 14. Příklady využití Pd/C pro dehydrogenace.

2.3.4. Síra

Síra je mírným oxidačním činidlem, používaným pro dehydrogenace různých typů organických sloučenin,⁵¹ kdy jako rozpouštědlo je možné použít sirouhlík, benzen nebo toluen. Dalším využitím síry může být in situ generace karbonylsulfidu O=C=S z oxidu uhelnatého pro syntézu thiokarbamátů a jiných derivátů.⁵²

2.3.4.1. Dehydrogenační reakce pomocí síry

Síra je většinou oxidovadlem prvního výběru při dehydrogenacích hydroaromatických sloučenin, jelikož je jednou z nejjednodušších a nejdostupnějších sloučenin používaných pro oxidace. Heterocyklické sloučeniny, jako například dihydropyrazol (**69**), nebo tetrahydropyridin (**71**) jsou dobrým substrátem pro dehydrogenace zprostředkované sírou. (Schéma 15).^{53,54}

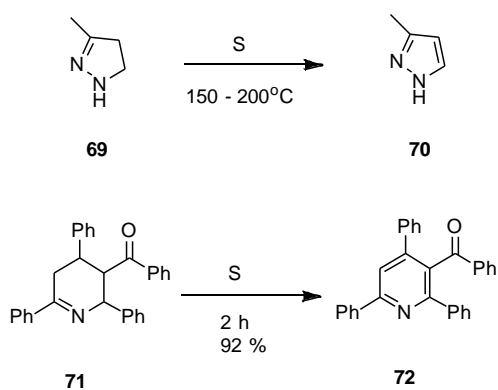


Schéma 15. Příklady dehydrogenací heterocyklických sloučenin zprostředkovaných sírou.

2.3.5. Dusičnan amonno-ceričitý (CAN)

Dusičnan amonno-ceričitý je oranžová, krystalická látka sumárního vzorce $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$, který je použitelný jako oxidační činidlo pro širokou řadu funkčních skupin,^{55,56,57} mezi které patří například alkoholy, fenoly, ethery, karbonyly, nitroalkany a organokovové sloučeniny. Dále je využitelný pro oxidativní štěpení organokovových sloučenin⁵⁸ a oxidativní halogenace.⁵⁹

Například při oxidaci dithioacetalů (**73**) s CAN reakce dává vzniknout příslušné karbonylové skupině (**74**).⁶⁰

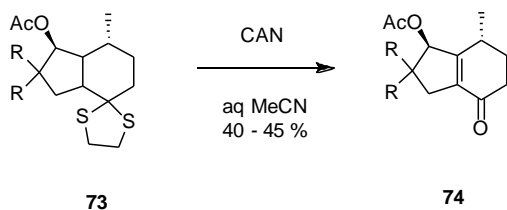


Schéma 16. Oxidace dithioacetalů.

2.4. Biologická aktivita derivátů pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinu

V uplynulých cca 30 letech³ je těmto sloučeninám věnována velká pozornost díky jejich nesčetným biologickým vlastnostem. O tom svědčí i počet publikované literatury. Díky většímu počtu typů biologických aktivit, je tato kapitola rozčleněna do více podkapitol.

2.4.1. 11 β -HSD inhibitory

Jedna z možností, jak deriváty pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinu využít, je jako modulátory aktivity 11 β -hydroxysteroidní dehydrogenázy 1 (11 β -HSD1), což je enzym, který katalyzuje vznik glukokortikoidů v některých tkáních a jsou tedy využitelné pro léčbu metabolického syndromu, diabetu typu 2, dyslipidemie, obesity, hypertenze a jiných kardiovaskulárních onemocnění.

Tyto deriváty s požadovanou biologickou aktivitou je možné připravit klasicky reakcí 5-aminopyrazolu s 1,3 – dikarbonylovou sloučeninou. Například směs 1-benzoylacetonu (**75**) a ethylesteru 5-amino-1*H*-pyrazol-3-karboxylové kyseliny (**76**) je zahřívána na 140 °C za použití mikrovlnného záření po dobu 2h. Po ochlazení se směs chromatograficky přečistí za vzniku produktů (**77A a 77B**).⁶¹

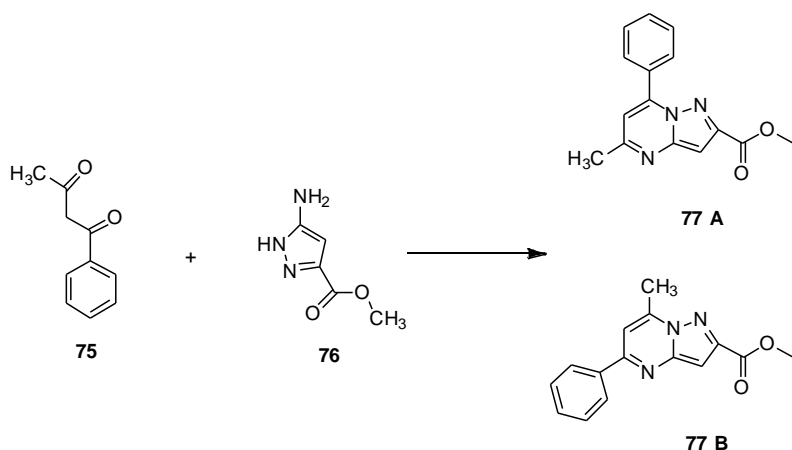


Schéma 17. Příprava 11 β -HSD inhibitorů.

2.4.2. COX-2 selektivní inhibitory

COX-2 je indukční enzym, který se tvoří v místě zánětlivé tkáně. Pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidiny lze využít tedy jako protizánětlivé agens, které nemají tolik nežádoucích vedlejších účinků jako nesteroidní antiflogistika.⁶²

Bylo zjištěno, že nejlepší biologickou aktivitu vykazují 6,7 – disubstituované deriváty, kdy nejlepší potenciál jako COX-2 selektivní inhibitor vykazuje 6,7 – dimethylovaný derivát, přesně 3-(4-fluorofenyl)-6,7-dimethyl-2-(4-methylsulfonylfenyl)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin (**81**), který bylo možné připravit například tak, že směs aminu (**79**) a 3-methyl-4-methoxy-3-buten-2-onu (**80**) byla refluxována za přítomnosti kyseliny chlorovodíkové po dobu 4 hodin. Po zakoncentrování rozpouštědla a přečištění byla sloučenina získána ve formě bílé pevné látky.⁶³

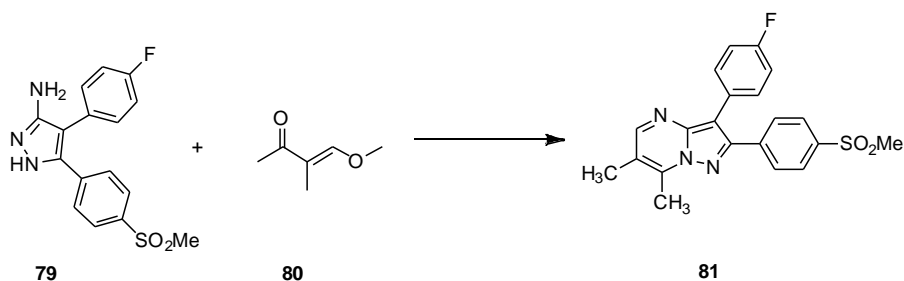


Schéma 18. Příprava COX-2 selektivních inhibitorů.

2.4.3. Inhibitory CDK

Příčinou vzniku všech rakovinných bujení u člověka je ztráta kontroly nad buněčným cyklem. Tato ztráta kontroly je často spojována s abnormální aktivací cyklin-dependentních kináz (CDK), což jsou ve skutečnosti serin/threonin kinázy, které po navázání na cyklinové proteiny jsou schopny fosforylace a tím pádem i regulace buněčného cyklu.⁶⁴

Pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidiny jako purinová analoga jsou považovány za chemicky a farmakologicky významné sloučeniny⁶⁵ a již byla publikována jejich cytotoxicita.⁶⁶⁻⁷¹

Tyto inhibitory bylo například možné připravit (**Schéma 19.**) cyklizací 3-amino-4-ethylpyrazolu (**82**) s dimethyl malonátem (**83**) v bazickém prostředí, následované chlorací za vzniku derivátu (**84**). Dále po reakci s 3-(aminomethyl)pyridin N-oxid monohydrochloridem za bazických podmínek (**85**) následovala reakce s aminoalkoholem a vzniklé sloučeniny byly testovány na biologickou aktivitu.

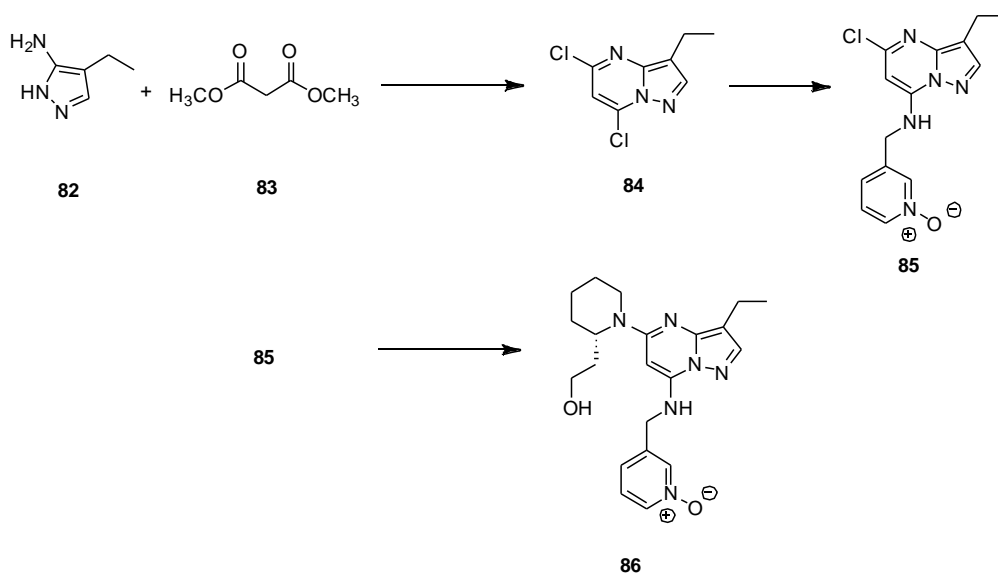


Schéma 19. Syntéza Dinaciclibu.

V této studii nejlepší vlastnosti vykazoval derivát, který měl v poloze 5 piperidin ethylalkohol připojený přes piperidinový dusík⁶⁹ (**86**). Tento derivát byl dále podroben II. fázi klinických testů. Dnes je znám pod názvem Dinaciclib. Dle ClinicalTrials.gov se v dnešní době Dinaciclib nachází v III. fázi klinických zkoušek, které budou probíhat až do roku 2016.

2.4.4. Inhibitory viru hepatitidy typu C⁷²

Ve světě je asi 200 milionu pacientů nakažených chronickým typem hepatitidy – typem C. HCV virus, patřící do rodu Flaviviridae, je patogenem způsobující chronická onemocnění jater, mezi nimi i cirhózu a rakovinu jater. Jelikož u tohoto viru dochází k rychlému vzniku mutací, díky kterým je virus odolný proti léčbě, je nutné se stále věnovat vývoji nových bezpečnějších a potenciálně účinných léčiv proti HCV viru.

Pyrazolopyrimidiny jsou proti HCV potenciálně aktivní ve formě 7-aminopyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinů, které je možné syntetizovat z aminopyrazolů (**90**), připravených ve dvoukrokové syntéze z nitrilů (**87**). Nitrily za přítomnosti NaH v ethanolu reagují s ethyl esterem (**88**) za vzniku odpovídajícího α -kyanoketonového intermediátu (**89**), který po cyklizaci s hydrazinem poskytuje aminopyrazol (**90**). Následně reakcí s β -ketoesterem (**91**) vzniká požadovaný pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin (**92**). Chlorace pomocí POCl₃ poskytne intermediát (**93**) vhodný pro aromatické nukleofilní substituce s různými aminy, kdy dochází ke vzniku cílových sloučenin (**94**).

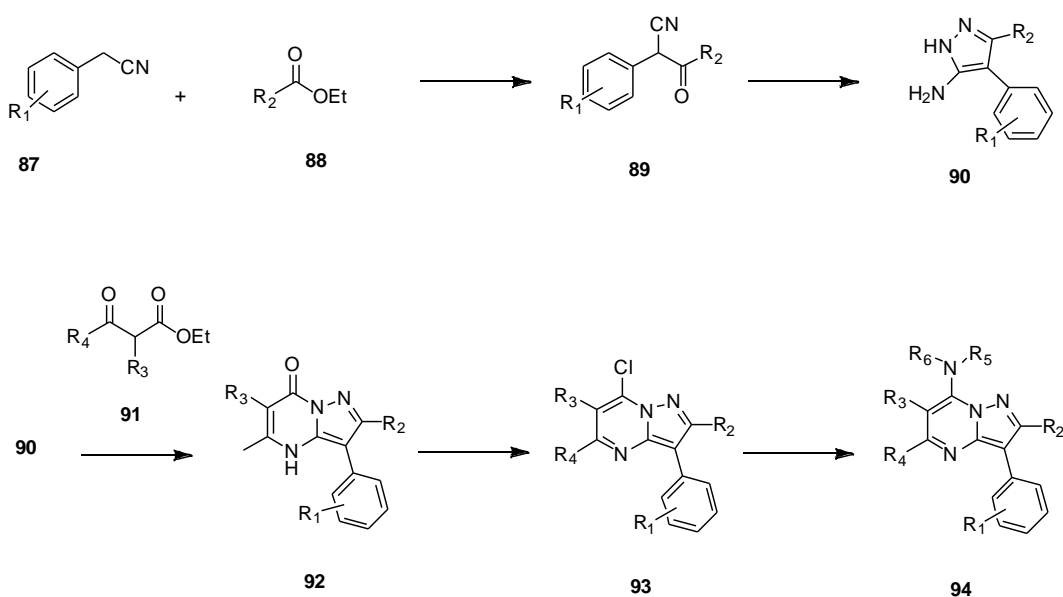


Schéma 20. Příprava HEP C inhibitorů.

2.4.5. Antischistosomika

Schistosomoza je tropické onemocnění, způsobené krevními motolicemi rodu Schistosoma (krevnička). Tato motolice je 7 – 20 mm dlouhý červ, bílé až našedlé barvy, kdy

po proniknutí larvy (cercariae) kůží do těla hostitele, putuje krevním řečištěm přes plíce, až do místa, kde se usadí a vyvine se z něj plnohodnotný jedinec. Dle druhu Schistosomy může být onemocnění buď jaterní, střevní, nebo urinální.⁷³ Toto parazitické onemocnění je považováno za jedno z nejhůře léčitelných, proto byla věnována značná pozornost vývoji účinných chemoterapeutik.

7-Hydroxypyrazolo[1,5-*a*]pyrimidiny (**98**) jsou zajímavá antiparazitika. Je možné je připravit kondenzací odpovídajícího 5-aminopyrazolu (**95**) s 3-ethoxy-3-oxoprop-1-en-1-olátem sodným (**96**) nebo betaketoesterem (**97**). Tyto deriváty je možné dále nachlorovat pomocí POCl₃ v přítomnosti N,N-dimethylalaninu za vzniku příslušných 7-chlorpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinů (**99**), a ty dále reakcí s thiomočovinou v ethanolu poskytují korespondující 7-merkaptopyrazolo[1,5-*a*]pyrimidiny⁷⁴ (**100**).

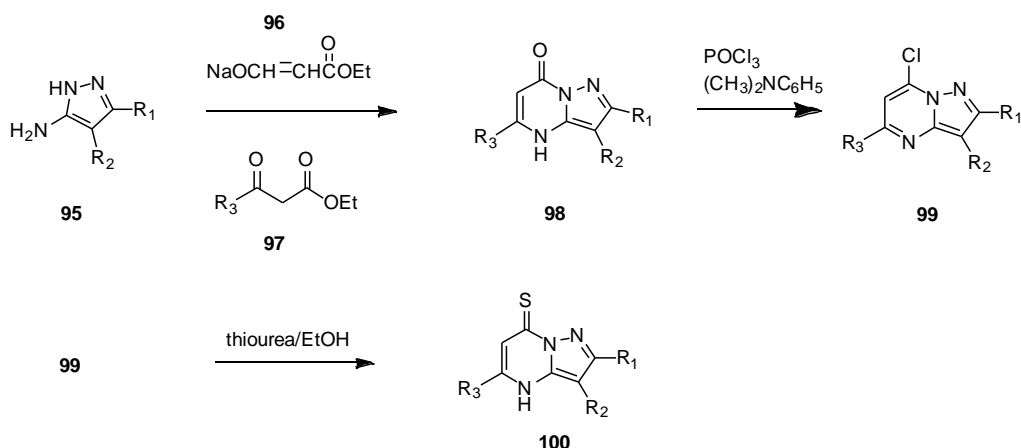


Schéma 21. Příprava antiparazitik.

Při této studii bylo zjištěno, že nejlepší antischistosomální aktivitu mají 7-merkaptopyrazolo[1,5-*a*]pyrimidiny (**100**). Zejména 2 sloučeniny, kde u první R₁, R₂, R₃ = H a u druhé R₁ = H, R₂ = 3-CH₃C₆H₄, R₃ = H.

Pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidiny vykazují krom těchto zmíněných biologických aktivit i mnoho dalších a to například, že působí jako kalciový antagonist - jsou tedy využitelné pro léčbu osteoporózy;⁷⁵ dále jako inhibitory rhinoviru,⁷⁶ nebo inhibitory c-Src kinázy.⁷⁷

3. Přehled dosažených výsledků

3.1. Přehledné schéma připravených sloučenin

Prvním cílem této práce byla příprava derivátů pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinu (**V a-h**) a to reakcí 4-(3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenylfenolu (**III**) s danými β -ketoestery (**IV a-h**) (**Schéma 22, metoda A**), mezi které patřily: ethyl (2-methoxybenzoyl)-acetát (**a**), ethyl 3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropionát (**b**), ethyl (2-fluorobenzoyl)-acetát (**c**), ethyl (3-fluorobenzoyl)-acetát (**d**), methyl 4-fluorobenzoyl-acetát (**e**), methyl 3-(trifluoromethyl)-benzoylacetát (**f**), methyl 4-(trifluoromethyl)-benzoylacetát (**g**), ethyl 4-nitrobenzoyl-acetát (**h**).

Dalším cílem této práce bylo ověřit regiosektivitu cyklizační reakce pyrazolu (**III**) s β -ketoestery (**IV a-h**) pomocí alternativní nezávislé syntézy (**Schéma 22, metoda B**). Pro modelovou reakci byl zvolen 4-methoxybenzaldehyd (**VII**). Multikomponentní reakcí pyrazolu (**III**), Meldrumové kyseliny (**VI**) a 4-methoxybenzaldehydu (**VII**) byla získána redukováná forma (**VIII**) pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinu. Následnou oxidací dihydropyrimidinového cyklu by měl vzniknout heterocyklický systém pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinu (**V**), který vzniká přímou reakcí s β -ketoestery (**metoda A**).

Vznik polohových izomerů v hranatých závorkách (**Schéma 22.**) nebyl předpokládán na základě podobných reakcí uvedených v literatuře¹.

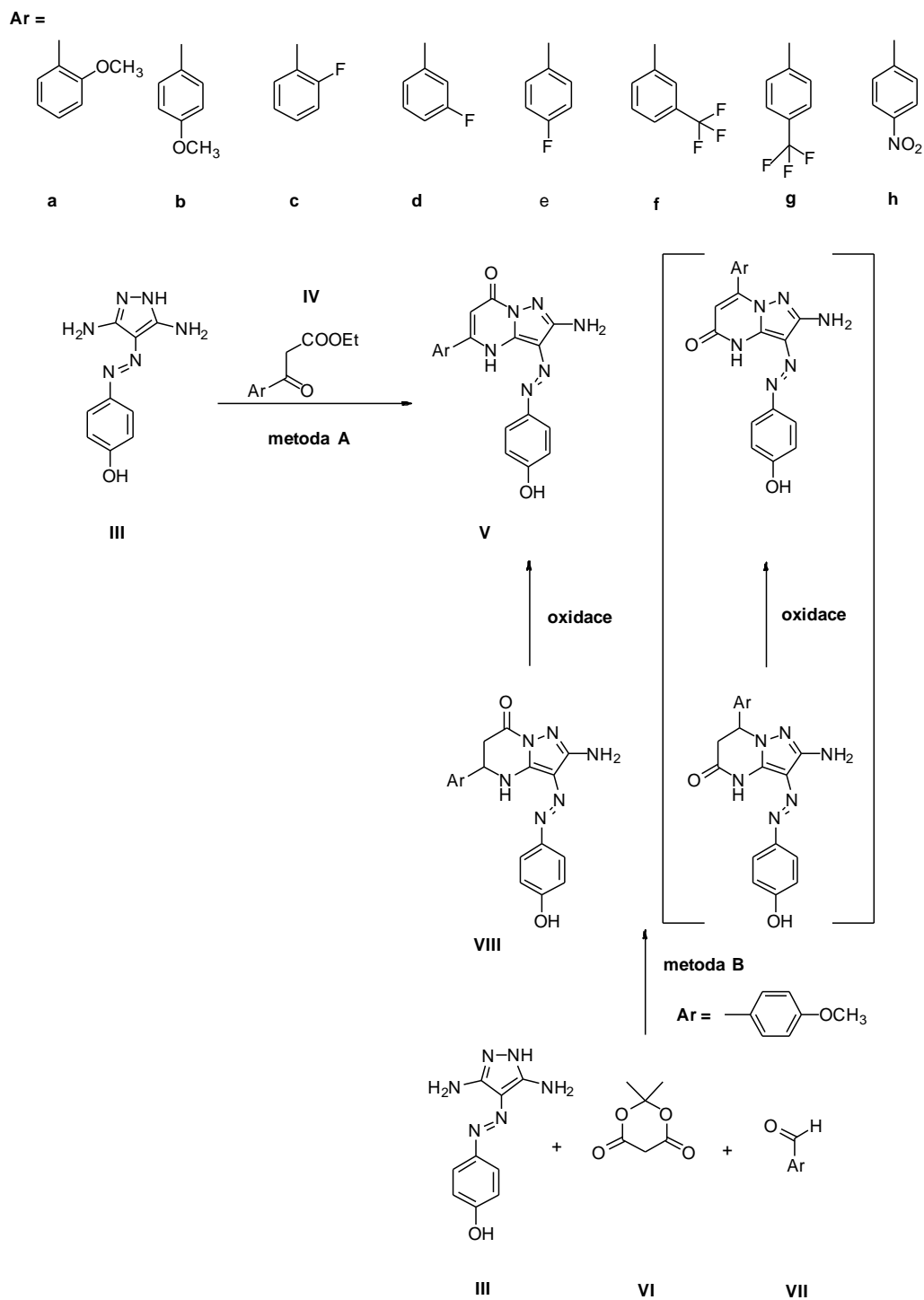


Schéma 22. Přehled připravených derivátů.

3.2. Příprava výchozích látek

3.2.1. Příprava [N-(4-hydroxyfenyl)hydrazono] malononitrilu (II)

K syntéze [N-(4-hydroxyfenyl)hydrazono] malononitrilu (II) byla použita metoda využívající diazotace *p*-aminofenolu a následná kopulace s malondinitrilem.

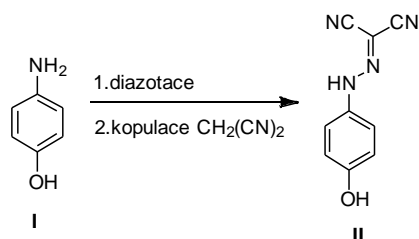


Schéma 23. Příprava [N-(4-hydroxyfenyl)hydrazono] malononitridu

p-Aminofenol (**I**) byl rozpuštěn ve vodě za přídavku kyseliny chlorovodíkové a následně byl diazotován roztokem dusitanu sodného ve vodě. Během tohoto procesu je nutné chlazení z důvodu možnosti rozkladu diazoniové soli. Vzniklá diazoniová sůl byla přímo bez izolace ponechána reagovat s malondinitrilem za neustálého chlazení. Vyloučený hydrazon (**II**) byl dále použit jako výchozí surovina pro přípravu pyrazolu (**III**).

3.2.2. Příprava 4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolu (**III**)

Pyrazol (**III**) byl připraven z hydrazonu (**II**) reakcí s monohdrátem hydrazinu v methanolu za refluxu po dobu 4 hodin. Následně bylo rozpouštědlo odpařeno a produkt rekrystalizován z vody.

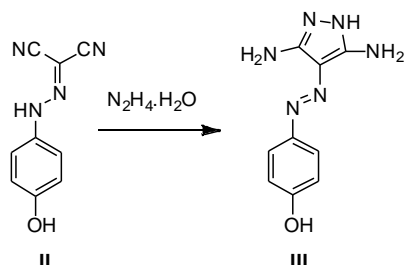


Schéma 24. Příprava 4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolu.

3.3. Příprava pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinů (V a-h) pomocí metody (A)

Ze syntetického hlediska je cyklokondenzační reakce β-ketoesterů s aminopyrazoly nejvhodnější metoda pro přípravu příslušných derivátů pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinu. V závislosti na chemicko-fyzikálních vlastnostech reaktantů a periferní substituci vznikajícího pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinového heterocyklického systému jsou volena vhodná rozpouštědla pro cyklokondenzační reakci.

Tabulka 1. Přehled výtěžků a způsobů izolace u jednotlivých derivátů.

Derivát	Výtěžek [%]	Způsob izolace
V a	64	rekrytalizace
V b	80	filtrace
V c	81	filtrace
V d	78	filtrace
V e	66	filtrace
V f	55	rekrytalizace
V g	71	rekrytalizace
V h	64	filtrace

Byl proveden i pokus o přípravu redukované formy pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinu redukcí násobné vazby mezi uhlíkovými atomy 5 a 6 pomocí borohydridu sodného, kdy jako modelová sloučenina byl zvolen 2-amino-3-[(*E*)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-5-(4-methoxyfenyl)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7(4*H*)-on (**V b**). Derivát **V b** byl rozpuštěn společně s borohydridem v THF a 48 hodin míchán za pokojové teploty. Tento pokus o přípravu byl však neúspěšný.

3.4. Alternativní metoda (metoda B) přípravy pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinů

Alternativní syntetický přístup (**metoda B**) se skládá ze dvou reakčních kroků. V prvním kroku byla připravena redukovaná forma 5,6-dihydropyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7(4*H*)-onu (**VIII**). Ve druhém kroku musí být redukovaný pyrimidinový cyklus oxidován (oxidace vazby mezi uhlíkovými atomy 5 a 6) na pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinový heterocyklický systém.

Díky znalosti regiosektivity cyklizace multikomponentní reakce (**metoda B**) potvrzené rentgeno-strukturální analýzou⁷⁸ a následného srovnání cyklizačních produktů metody A a B by pak bylo možné dodatečně podpořit předpoklad, že primární atak při cyklokondenzaci (**metoda A**) nastává na aminoskupině navázané pyrazolu v poloze 5, nikoliv na endocyklickém dusíkovém atomu v parazolovém cyklu.

Pro přípravu výchozí látky pro oxidace (**VIII**) byla využita multikomponentní reakce. Směs pyrazolu (**III**), Meldrumové kyseliny (**VI**) a *p*-anisaldehydu (**VII**) po rozpuštění

v ethanolu, byla refluxována několik hodin. Během refluxu došlo k vyloučení žluté sraženiny, která po ochlazení na pokojovou teplotu byla odsáta a promyta ethanolem. Tato redukovaná forma (**VIII**) byla používána dále jako výchozí látka pro oxidace.

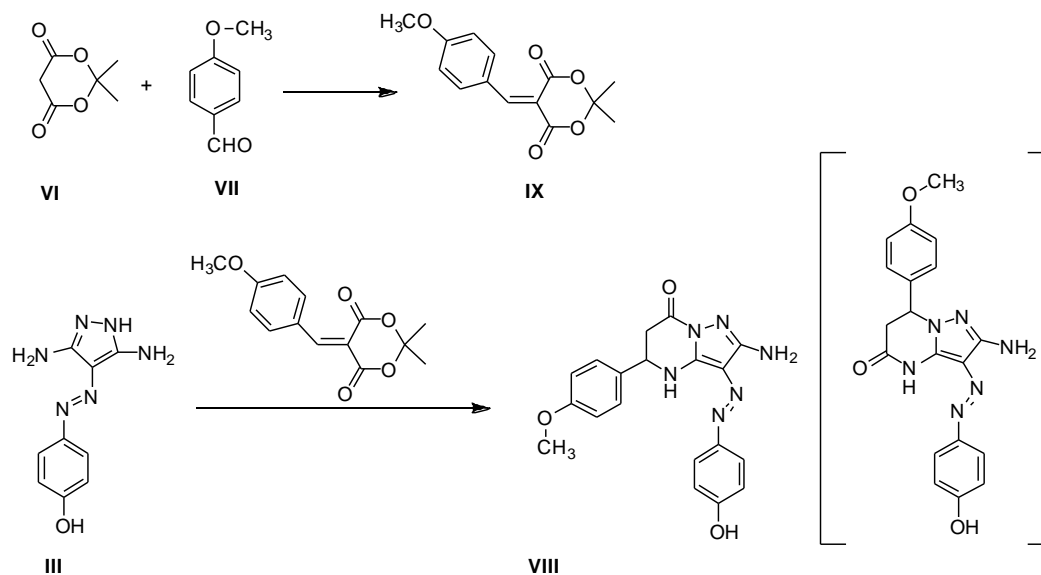


Schéma 26. Příprava 2-amino-3-((4-hydroxyfenyl)diazenyl)-5-(4-metoxyfenyl)-5,6-dihydropyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7(4*H*)-onu (**VIII**).

Tabulka 2. Výtěžky reakce

Množství [mmol]	Doba refluxu [hod]	Výtěžek [%]
1	7,5	58
5	20,15	57

Po úspěšné přípravě redukované formy (**VIII**) byly zahájeny pokusné oxidace pyrimidinového cyklu. Pro předběžné zmapování základních reakčních (oxidačních) podmínek vedoucích potencionálně k produktu (**V b**) bylo testováno několik oxidačních činidel (**Tabulka 3.**) Jelikož výchozí sloučenina (**VIII**) obsahuje k oxidaci poměrně citlivou skupinu (azo skupina, amino skupina), nemohlo být vybráno jakékoliv oxidační činidlo.

Tabulka 3. Přehled použitých oxidovadel za daných podmínek

Oxidovadlo	Rozpouštědlo	Podmínky
DDQ	THF	reflux 24 h
DDQ	pyridin	reflux 4 h
DDQ	pyridin	reflux 72 h, 3 ekv. DDQ
Pd/C	DMF	reflux 9,5 h
CAN	THF	reflux 4 h
CAN	THF	míchání rt 4 h
MnO ₂	CH ₃ COOH	reflux 4,5 h
MnO ₂	pyridin	reflux 4,5 h
S	pyridin	reflux 4 h
Pb(CH ₃ COO) ₄	CH ₃ COOH	míchání rt 4 h

Avšak dle LC/MS analýzy žádný z pokusů o oxidaci nebyl úspěšný i přesto, že vznikem dvojné vazby by došlo ke vzniku konjugovaného systému násobných vazeb mezi oxo skupinou na uhlíku 7 a vzniklou dvojnou vazbou heterocyklu. Využití uvedených oxidovadel pro dehydrogenace heterocyklů bylo popsáno v mnoha publikacích.¹²⁻⁶⁰ Pro oxidaci redukovaného pyrimidinového cyklu bude potřeba patrně silnějších oxidačních podmínek. Další pokusy nebyly provedeny z časových důvodů.

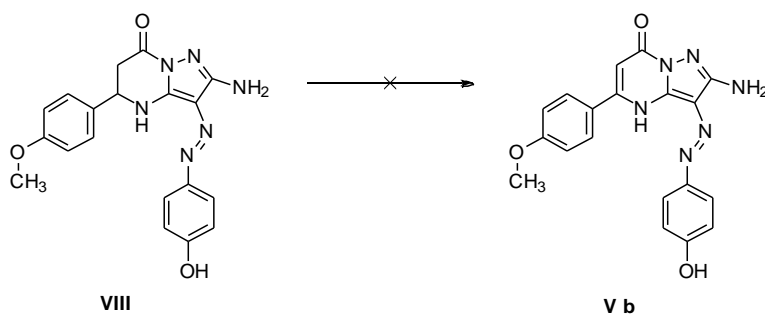
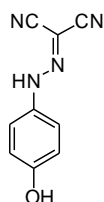


Schéma 27. Zkoumaná oxidace.

4. Experimentální část

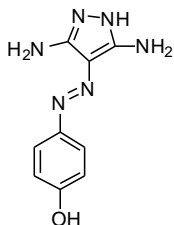
Všechny používané výchozí suroviny jsou komerčně dostupné. Komerční činidla byla použita bez čištění. LC/MS analýzy byly provedeny na UHPLC-MS systému, skládající se z UHPLC chromatografu Accela s fotodiodovou řadou a trojitým kvadrupólovým hmotnostním spektrometrem TSQ Quantum Access (Thermo Scientific, CA, USA). NMR ^1H a ^{13}C byla měřena v DMSO – d_6 při 25°C na spektrometru Varian 400 FT NMR.

4.1. [N-(4-Hydroxyfenyl)hydrazono] malononitril (II)



p-Aminofenol (**I**) (8,73 g; 0,08 mol) byl rozpuštěn za přídavku kyseliny chlorovodíkové (35 ml) ve vodě (100 ml) za pokojové teploty. Poté byla směs chlazená na ledové lázni ($0-5^\circ\text{C}$). Následně byl do roztoku přidán za chlazení a míchání po kapkách roztok dusitanu sodného (5,52 g) v ledové vodě (20 ml). Vzniklá diazoniová sůl byla za chlazení a míchání ponechána 30 minut a poté byla směs po částech vlita do roztoku malondinitrilu (5,81 g) a bezvodého octanu sodného (70 g) ve vodě (500 ml), který byl ochlazený (5°C). Po hodině míchání a současného chlazení byla směs ponechána dva dny v lednici. Vzniklá zlatá krystalická látka byla odsáta, promyta a vysušená na vzduchu. Bylo získáno 12,42 g (83 %). MS-APCI (m/z): 187,15 $[\text{M} + 1]^+$

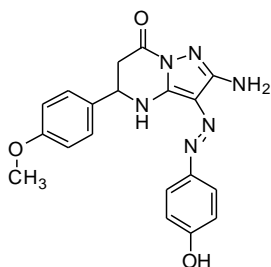
4.2. [(E)-2-(3,5-Diamino-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl]fenol (III)



Celý výtěžek (12,42 g) hydrazonu (**II**) byl suspendován ve MeOH (200 ml) a ke směsi byl přidán hydrazin hydrát (5,5 ml). Poté se reakční směs nechala 4 hodiny refluxovat. Po ukončení refluxu a ochlazení na pokojovou teplotu bylo rozpouštědlo (MeOH) odpařeno na rotační vakuové odparce. Produkt byl rekrystalizován z vody (1000 ml). Po vyloučení byla

lesklá zlatá krystalická látka odsáta, promyta vodou a vysušena na vzduchu. Bylo získáno 11,75 g (81 %). MS-APCI (m/z): 219,22 [M + 1]⁺

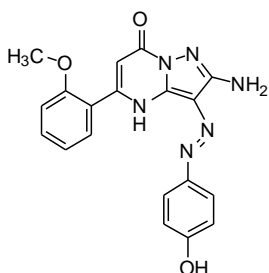
4.3. 2-amino-3-((4-hydroxyfenyl)diazenyl)-5-(4-metoxyfenyl)-5,6-dihydropyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7(4H)-on (VIII)



Směs pyrazolu (**III**) (218,2 mg; 1 mmol), Meldrumové kyseliny (**VI**) (144,1 mg; 1 mmol) a *p*-anisaldehydu (**VII**) (136,1 mg; 1 mmol) byla rozpuštěna v ethanolu (5 ml) a refluxována 7,5 hodiny. Během refluxu došlo k vyloučení žluté sraženiny, která po ochlazení na pokojovou teplotu byla odsáta a promyta ethanolem. Po vysušení na vzduchu bylo získáno 218,8 mg (58 %).

Stejná reakce byla provedena ještě v 5 mmol množství, kde bylo získáno 1,90 g (57 %). Analýza MS-APCI (m/z): 379,38 [M + 1]⁺

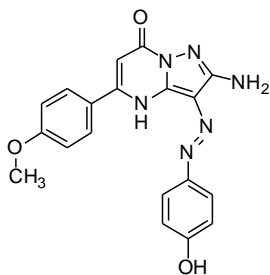
4.4. 2-Amino-3-[(E)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-5-(2-methoxyfenyl)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7(4H)-on (V a)



Pyrazol (**III**) (109,1 mg; 0,5 mmol) byl rozpuštěn v pyridinu (5 ml). Po přidání ethyl (2-methoxybenzoyl)-acetátu (**IV a**) (111,1 mg; 0,5 mmol) byla celá směs refluxována 24 hodin. Jelikož stále nedošlo ke zreagování veškerého pyrazolu (**III**), byl přidán ještě další ekvivalent ethyl (2-methoxybenzoyl)-acetátu (**IV a**). Po dalších 24 hodinách refluxu byl

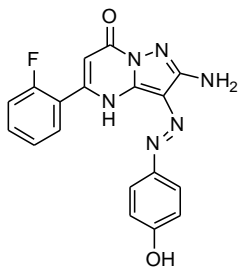
pyridin odpařen na RVO. Odparek byl rekrystalizován z ethanolu. Bylo získáno 120,1 mg (64 %). MS-APCI (m/z): 377,37 [M + 1]⁺

4.5. 2-Amino-3-[(E)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-5-(4-methoxyfenyl)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7(4H)-on (V b)



Pyrazol (**III**) (218,2 mg; 1 mmol) byl rozpuštěn v pyridinu (7 ml). Po přidání ethyl – 3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropionátu (**IV b**) (222,2 mg; 1 mmol) byla celá směs refluxována 72 hodin. Jelikož nedošlo po 3 dnech ke zreagování veškerého pyrazolu (**III**), byl přidán další ekvivalent 3-oxopropionátu (**IV b**). Po dalších 24 hodinách refluxu byla vzniklá vínově červená sraženina odsáta, promyta ethanolem a sušena. Bylo získáno 301,2 mg (80 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): 12,74 (bs, NH, 1H); 9,83 (bs, OH, 1H); 7,89 (d, *j* = 8,8 Hz, 2H); 7,69 (d, *j* = 8,8 Hz, 2H); 7,10 (d, *j* = 9,2 Hz, 2H); 6,88 (d, *j* = 9,2 Hz, 2H); 6,73 (bs, NH₂, 2H); 6,29 (s, 1H); 3,84 (s, 3H). ¹³C NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): 161,2; 157,7; 154,9; 152,2; 142,2; 141,1; 129,0; 125,9; 121,1; 115,8; 115,6; 114,2; 100,4; 55,4. MS-APCI (m/z): 377,37 [M + 1]⁺

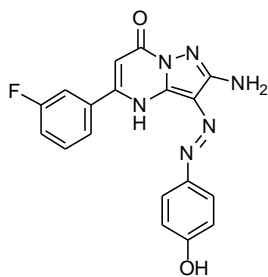
4.6. 2-Amino-5-(2-fluorfenyl)-3-[(E)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7(4H)-on (V c)



Pyrazol (**III**) (218,2 mg; 1 mmol) byl rozpuštěn v pyridinu (10 ml). Po přidání ethyl (2-fluorobenzoyl)-acetátu (**IV c**) (210,2 mg; 1 mmol) byla celá směs refluxována 72 hodin.

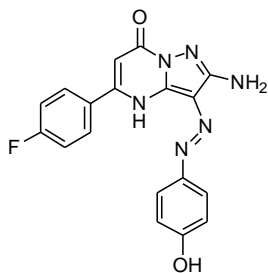
Jelikož nedošlo po 3 dnech ke zreagování veškerého pyrazolu (**III**), byl přidán ještě další ekvivalent ethyl (2-fluorobenzoyl)-acetátu (**IV c**). Po dalších 24 hodinách refluxu byla vzniklá tmavě hnědá sraženina odsáta, promyta ethanolem a vysušena. Bylo získáno 293,6 mg (81 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 12,86 (bs, NH, 1H); 9,85 (s, OH, 1H); 7,83 (td, $j = 7,7$ Hz a 1,8 Hz, 1H); 7,69 (d, $j = 8,8$ Hz, 2H); 7,63 (m, 1H); 7,41 (m, 2H); 6,86 (d, $j = 8,8$ Hz, 2H); 6,71 (bs, NH₂, 2H); 6,14 (s, 1H). ^{13}C NMR (400 MHz, DMSO- d_6): U ^{13}C NMR spektra docházelo ke štěpení signálů atomem fluoru, tudíž bylo obtížné čtení spektra, jelikož některé signály byly na úrovni šumu. MS-APCI (m/z): 365,33 [M + 1]⁺

4.7. 2-amino-5-(3-fluorofenyl)-3-[(E)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7(4H)-on (V d)



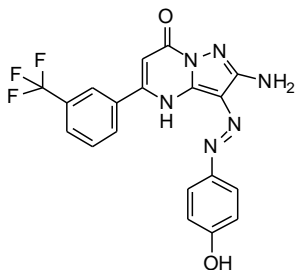
Pyrazol (**III**) (109,1 mg; 0,5 mmol) byl rozpuštěn v pyridinu (5 ml). Po přidání ethyl (3-fluorobenzoyl)-acetátu (**IV d**) (105,1 mg; 0,5 mmol) byla celá směs refluxována 24 hodin. Jelikož stále nedošlo ke zreagování veškerého pyrazolu (**III**), byl přidán ještě další ekvivalent ethyl (3-fluorobenzoyl)-acetátu (**IV b**). Po dalších 24 hodinách refluxu byla vzniklá červenohnědá sraženina odsáta, promyta ethanolem a sušena. Bylo získáno 142,2 mg (78 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 12,83 (bs, 1H); 9,82 (s, 1H); 7,85 (m, 2H); 7,65 (d, $j = 8,8$ Hz, 2H); 7,60 (td, $j = 8,1$ Hz a 6,1 Hz, 1H); 7,39 (td, $j = 8,6$ Hz a 2,6 Hz, 1H); 6,89 (d, $j = 8,8$ Hz, 2H); 6,84 (bs, 2H); 6,52 (s, 1H). U ^{13}C NMR spektra docházelo ke štěpení signálů atomem fluoru, tudíž bylo obtížné čtení spektra, jelikož některé signály byly na úrovni šumu. MS-APCI (m/z): 365,33 [M + 1]⁺

4.8. 2-Amino-5-(4-fluorfenyl)-3-[(E)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7(4H)-on (V e)



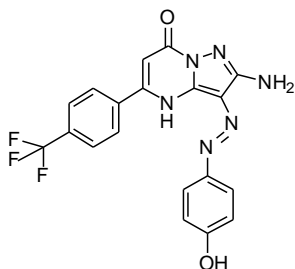
Pyrazol (**III**) (109,1 mg; 0,5 mmol) byl rozpuštěn v pyridinu (10 ml). Po přidání methyl 4-fluorbenzoyl-acetátu (**IV e**) (98,1 mg; 0,5 mmol) byla celá směs refluxována 24 hodin. Jelikož stále nedošlo ke zreagování veškerého pyrazolu (**III**), byl přidán ještě další ekvivalent methyl 4-fluorbenzoyl-acetátu (**IV e**). Po dalších 24 hodinách refluxu byla vzniklá tmavě hnědá sraženina odsáta, promyta ethanolem a vysušena. Bylo získáno 120,4 mg (66 %). MS-APCI (m/z): 365,33 [M + 1]⁺

4.9. 2-Amino-3-[(E)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-5-[3-trifluormethyl]fenyl]pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7(4H)-on (V f)



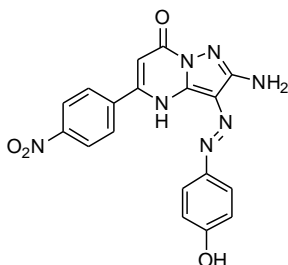
Pyrazol (**III**) (109,1 mg; 0,5 mmol) byl rozpuštěn v pyridinu (10 ml). Po přidání methyl 3-(trifluoromethyl)-benzoylacetátu (**IV f**) (123,1 mg; 0,5 mmol) byla celá směs refluxována 24 hodin. Jelikož stále nedošlo ke zreagování veškerého pyrazolu (**III**), byl přidán ještě další ekvivalent methyl 3-(trifluoromethyl)-benzoylacetátu (**IV f**). Po dalších 24 hodinách refluxu byl pyridin odpařen na RVO. Odparek byl rekrystalizován z ethanolu. Bylo získáno 114,5 mg (55 %) červenozlaté sraženiny, která byla analyzována MS-APCI (m/z): 415,34 [M + 1]⁺

4.10. 2-Amino-3-[(E)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-5-[4-trifluormethyl)fenyl]pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7(4H)-on (V g)



Pyrazol (**III**) (109,1 mg; 0,5 mmol) byl rozpuštěn v pyridinu (10 ml). Po přidání methyl 4-(trifluoromethyl)-benzoylacetátu (**IV g**) (123,1 mg; 0,5 mmol) byla celá směs refluxována 24 hodin. Jelikož stále nedošlo ke zreagování veškerého pyrazolu (**III**), byl přidán ještě další ekvivalent methyl 4-(trifluoromethyl)-benzoylacetátu (**IV g**). Po dalších 24 hodinách refluxu byl pyridin odpařen na RVO. Odparek byl rekrystalizován z ethanolu. Vzniklá zelenozlatá látka byla analyzována. Bylo získáno 147,1 mg (71 %). MS-APCI (m/z): 415,34 [M + 1]⁺

4.11. 2-Amino-3-[(E)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-5-(4-nitrofenyl)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7(4H)-on (V h)



Pyrazol (**III**) (218,2 mg; 1 mmol) byl rozpuštěn v pyridinu (10 ml) a po přidání ethyl 4-nitrobenzoyl-acetátu (**IV h**) (237,2 mg; 1 mmol) byla celá směs refluxována 24 hodin. Jelikož nedošlo ke zreagování veškerého pyrazolu (**III**), byl přidán ještě další ekvivalent ethyl 4-nitrobenzoyl-acetátu (**IV h**). Po dalších 24 hodinách refluxu byla vzniklá tmavě hnědá sraženina odsáta, promyta ethanolem a sušena. Bylo získáno 250,1 mg (64 %) MS-APCI (m/z): 392,34 [M + 1]⁺ Izolovaný derivát nebyl díky své špatné rozpustnosti analyzován. Jeho vznik byl prokázán pouze v surové směsi.

5. Závěr

V teoretické části byly přehledně shrnuty základní metody syntézy pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinů a stejně tak i jejich biologická aktivita. Dále příprava β -ketoesterů, které byly používány jako jedna z výchozích látek pro kondenzaci s pyrazolem (**III**) a metody oxidace cyklických sloučenin.

Podařilo se připravit celkem 8 derivátů pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinu (**V a-h**) přímou cyklokondenzační reakcí (**metoda A**) pyrazolu (**III**) s β -ketoestery (**IV a-h**). Jako cyklizační medium se osvědčil pyridin, který dobře rozpouštěl výchozí sloučeniny a svým bazickým charakterem podporoval cyklizaci. Z časových důvodů se podařilo naměřit základní NMR spektra jen u některých pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinů (**V b-d**). Pro jednoznačné určení průběhu cyklokondenzační reakce je třeba změřit 2D NMR spektra.

Při pokusech o přípravu derivátů pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinu (**V**) alternativní metodou (**metoda B**) nebylo možné deriváty připravit. Pro modelovou reakci byla vybrána příprava redukované formy pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinu (**VIII**), na které byly následně zkoušeny různé oxidační podmínky. Z časových důvodů se zatím nepodařilo najít vhodné oxidační podmínky vedoucí k cílovým pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinům.

Z důvodu neúspěšného dokončení syntézy pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinů (**V**) alternativní metodou (**metoda B**) přes jejich redukovanou formu nebylo možné srovnat cyklizační produkty obou metod. V důsledku toho se nepodařilo prokázat regiosektivitu cyklizace metody A pomocí metody B.

Připravená řada pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidinů (**V a-h**) bude poskytnuta pro testování biologické aktivity zejména jako potencionální inhibitory CDK a některých nádorových buněčných linií.

6. Seznam použité literatury

1. Makarov V.A., Solov'eva N.P, Granik V.G.; *Chem. Heterocyc. Compd.* **1997**, 33, 553-542.
2. Pihlaja K., Seilo M.; *Acta. Chem. Scand.*; **1968**, 22, 3053.
3. Meldrum A. N.; *J. Chem. Soc.*; **1948**, 70, 3426.
4. Saitz, C., Julian C., Cañete A.; *J. Heterocyclic Chem.*, **1998**, 35, 61.
5. Zhu J., Bienayme H.; *Multicomponent reactions*; Wiley-VCH: Weinheim, 2005.
6. Rahmati A.; *C. R. Chimie*, **2012**, 15, 647-652.
7. Elnagdi, M. E.; Elmoghayar, M. R. H. *Adv.Heterocycl. Chem.* **1987**, 41, 320-321.
8. McMurry, J. *Organická chemie*; Hlavní ed. čes. překladu Jiří Svoboda, Praha: VŠCHT, 2007.
9. Červinka, O.; Dědek, V.; Ferles, M. *Organická chemie*; SNTL – Nakladatelství technické literatury: Praha, 1970.
10. Wichterle, O.; *Organická chemie*; Nakladatelství Československé akademie věd: Praha, 1955.
11. Nandukar N. S., Bhanushali M. J., Patil D. S., Bhanage B. M.; *Synthetic Commun.*; **2007**, 37, 4111-4115.
12. Burke, S. D.; Danhaiser, R. L. (Editoři) *Handbook of reagents for organic synthesis. Oxidizing and Reducing agents*; Wiley: Chichister, 1999.
13. Jackman, L. M., *Adv. Org. Chem.* **1960**, 2, 329.
14. Walker, D.; Hiebert, J. D. *CRV* **1967**, 67, 153.
15. Fu, P. P.; Harvey, R. G. *CRV* **1978**, 78, 317.
16. Braude, E. A.; Brook, A. G.; Linstead, R. P. *JCS* **1954**, 3569.
17. Muller, J. F.; Cagniant, D.; Cagniant, P. *BSF* **1972**, 4364.
18. Diederick, F.; Staab, H. A. *AG(E)* **1978**, 17, 372.
19. Braude, E. A.; Jackman, L. M.; Linstead, R. P.; Lowe, G. *JCS* **1960**, 3123.
20. Brown, W.; Turner, A. B. *JCS(C)* **1971**, 2566.
21. Padwa, A.; Haffmanns, G.; Tomas, M. *JOC* **1984**, 49, 3314.
22. Bousquet, E. W.; Moran, M. D.; Harmon, J.; Johnson, A. L.; Summers, J. C. *JOC* **1975**, 40, 2208.
23. Padwa, A.; Nahm, S.; Sato, E. *JOC* **1978**, 43, 1664.
24. Gilgen, P.; Heimgartner, H.; Schmid, H. *HCA* **1974**, 57, 1382.
25. Harden, D. B.; Mokrosz, M. J.; Streckowski, L. *JOC* **1988**, 53, 4137.

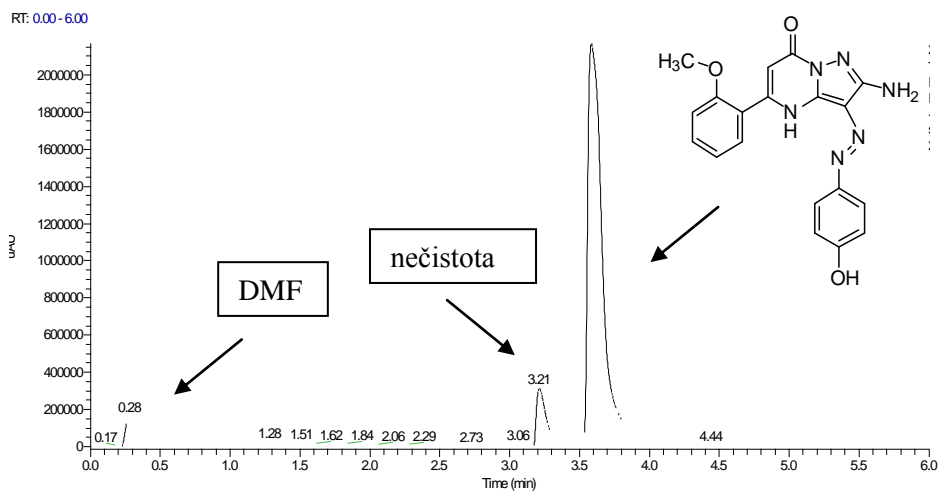
26. Blake, K. W.; Porter, A. E. A.; Sammers, P. G. *JCS(PI)* **1972**, 2494.
27. Hayakawa, K.; Yasukouchi, T.; Kanematsu, K. *TL* **1986**, 27,1837.
28. Piozzi, F.; Venturella, P.; Bellino, A. *OPP* **1971**, 3, 223.
29. Buckle, D. R.; Pinto, I. L. *COS* **1991**, 7, 119.
30. Hight, R. J.; Wildman, W. C. *JACS* **1955**, 77, 4399.
31. Hänsel, R.; Su, T. L.; Schulz, J. *CB* **1977**, 110, 3664.
32. Crombie, L.; Crossley, J. *JCS* **1963**, 4983.
33. Harrison, L. T. *Proc. Chem. Soc. London* **1964**, 110.
34. Ohloff, G.; Giersch, W. *AG* **1973**, 85, 401.
35. Taylor E. C.; Maryanoff, C. A.; Skotnicki, J. S. *JOC* **1980**, 45, 2512.
36. Mashraqui, S.; Keehn, P. *SC* **1982**, 12, 637.
37. Hudlicky, M. *Oxidations in Organic Chemistry*; American Chemical Society: Washington, 1990.
38. Fatiadi, A. J. *In Organic Synthesis by Oxidation with Metal Compounds*; Plenum: New York, 1986.
39. Fatiadi, A. J. *JCS(B)* **1971**, 889.
40. Attenburrow, J.; Cameron, A. F. B.; Chapman, J. H.; Evans, R. M.; Hems, B. A.; Jansen, A. B. A.; Walker, T. *JCS* **1953**, 2189.
41. Mattocks, A. R. *JCR(S)* **1977**, 40.
42. Harfenist, M.; Bavley, A.; Lazier, W. A. *JOC* **1954**, 19, 1608.
43. Fatiadi, A. J. *S* **1976**, 65 a 133.
44. Gritter, R. J.; Wallace, T. J. *JOC* **1959**, 24, 1051.
45. Sondheimer, F.; Amendolla, C.; Rozenkratz, G. *JACS* **1953**, 75, 5930 a 5932.
46. Bratnagar, I.; George, M. V. *T* **1986**, 24, 1293.
47. Backvall, J. E.; Plobeck, N. A. *JOC* **1990**, 55, 4528.
48. Pelcman, B.; Gribble, G. W. *TL* **1990**, 31, 2381.
49. Nelson, P. H.; Nelson, J. T. *S* **1991**, 192.
50. Hua, D. H.; Saha, S.; Maeng, J. C.; Bensoussan, D. *SL* **1990**, 4, 233.
51. Gill, N. S.; Lions, F. *JACS* **1950**, 72, 3468.
52. Konishi, K.; Nishigushi, I.; Hirashima, T. *S* **1984**, 254.
53. Granberg, I. L.; Kost, A. N. *JGU* **1958**, 28, 3102.
54. Hitchings, G. H.; Russell, P. B.; Whittaker, N. *JCS* **1956**, 1019.
55. Richardson, W. H. *In Oxidation in Organic Chemistry*, Wiberg, K. B., Ed.; Academic: New York, 1965; Část A.

56. Ho, T. –L. *S* **1973**, 347.
57. Ho, T. –L. *In Organic Syntheses by Oxidation with Metal Compounds*, Mijs, W. J.; de Jonge, C. R. H. I., Eds., Plenum: New York, 1986.
58. Casey, C. P.; Brunsvold, W. R. *JOM* **1975**, 27, 840.
59. Asakura, J.; Robins, M. J. *JOC* **1990**, 55, 4928.
60. Lansbury, P. T.; Zhi, B. *TL* **1988**, 29, 179.
61. Andersen, H. S.; Kampen, G. C. T.; Christensen, I. T.; Mogensen, P. J.; Larsen, A. R. Patent WO 2004/089471 A2.
62. Willoughby, D. A.; Moore, A. R.; Colville-Nash, P. R. *The Lancet* **2000**, 355, 646-648.
63. Almansa, C.; de Arriba, A. F.; Cavalcanti, F. L.; Gomez, L. A.; Miralles, A.; Merlos, M.; Garcia-Rafanell, J.; Forn, J. *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 350-361.
64. Parouch, K.; Dwyer, M. P.; Alvarez, C.; Brown, C.; Chan, T.-Y.; Doll, R. J.; Keertika, K.; Knutson, C.; McKittrick, B.; rivera, J.; Rossman, R.; Tucker, G.; Fischmann, T.; Hruza, A.; Madison, V.; Nomeir, A. A.; Wang, Y.; Kirschmeier, P.; Lees, E.; Parry, D.; Sgambellone, N.; Seghezzi, W.; Schultz, L.; Shanahan, F.; Wiswell, D.; Xu, X.; Zhou, Q.; James, R. A.; Paradkar, V. M.; Park, H.; Rokosz, L. R.; Stauffer, T. M.; Guzi, T. J. *ACS Med. Chem. Lett.* **2010**, 1, 204-208.
65. El-Enany, M. M.; Kamel, M. M.; Khalil, O. M.; El-Nassan, H. B. *Eur. J. Chem.* **2011**, 2 (3), 331-336.
66. Fraley, M. E.; Rubino, R. S.; Hoffman, W. F.; Hambaugh, S. R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12, 3537-3541.
67. Gopalsamy, A.; Yang, H.; Ellingboe, J. W.; Tsou, H.; Zhang, N.; Honores, E.; Powell, D.; Miranda, M.; McGinnis, J. P.; Rabindran, S. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 1591-1594.
68. Li, J.; Zhao, Y. F.; Zhao, X. L.; Yuan, X. Y.; Gong, P. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2006**, 339, 593-597.
69. Parouch, K.; Dwyer, M. P.; Alvarez, C.; Brown, C.; Chan, T.; Doll, R. J.; Keertika, K.; Knutson, C.; McKittrick, B.; Rivera, J.; Rossman, R.; Tucker, G.; Fischmann, T. O.; Hruza, A.; Madison, V.; Nomeir, A. A.; Wang, Y.; Lees, E.; Parry, D.; Sgambellone, N.; Seghezzi, W.; Schultz, L.; Shanahan, F.; Wiswell, D.; Xu, X.; Zhou, Q.; James, R. A.; Paradkar, V. M.; Park, H.; Rokosz, L. R.; Stauffer, T. M.; Guzi, T. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 6220-6223.

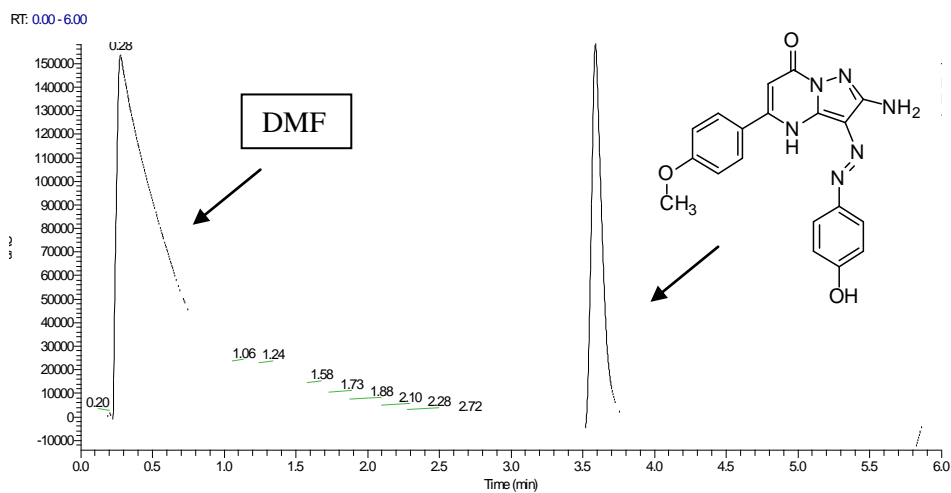
70. Dwyer, M. P.; Paruch, K.; Alvarez, C.; Doll, R. J.; Keertikar, K.; Duca, J.; Fischmann, T. O.; Hruza, A.; Madison, V.; Lees, E.; Parry, D.; Seghezzi, W.; Sgambellone, N.; Shanahan, F.; Wiswell, D.; Guzi, T. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 6216-6219.
71. Powell, D.; Gopalsamy, A.; Wang, Y. D.; Zhang, N.; Miranda, M.; McGinnis, J. P.; Rabindran, S. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 1641-1645.
72. Hwang, J. Y.; Windisch, M. P.; Jo, S.; Kim, K.; Kong, S.; Kim, H. C.; Kim, S.; Kim, H.; Lee, M. E.; Kim, Y.; Choi, J.; Park, D. -S.; Park, E.; Kwon, J.; Nam, J.; Ahn, S.; Cechetto, J.; Kim, J.; Liuzzi, M.; No, Z.; Lee, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 7297-7301.
73. Gryseels, B.; Polman, K.; Clerinx, J.; Kestens, L. *Lancet* **2006**, 368, 1106-1118.
74. Senga, K.; Novinson, T.; Wilson, H. R. *J. Med. Chem.* **1981**, 24, 610-613.
75. Yoshida, M.; Mori, A.; Inaba, A.; Oka, M.; Makino, H.; Yamaguchi, M.; Fujita, H.; Kawamoto, T.; Goto, M.; Kimura, H.; Baba, A.; Yasuma, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 8501-8511.
76. Baxter, A.; Chambers, M.; Edfelt, F.; Edman, K.; Freeman, A.; Johansson, C.; King, S.; Morley, A.; Petersen, J.; Rawlis, P.; Spadola, L.; Thong, B.; Van de Poël, H.; Williams, N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21, 777-780.
77. Mukaiyama, H.; Nishimura, T.; Kobayashi, S.; Komatsu, Y.; Kikuchi, S.; Ozawa, T.; Kamada, N.; Hideki, O.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 19, 909-921.
78. Soukromé sdělení (nepublikované výsledky) Mgr. Lukáše Jedináka.

7. Přílohy

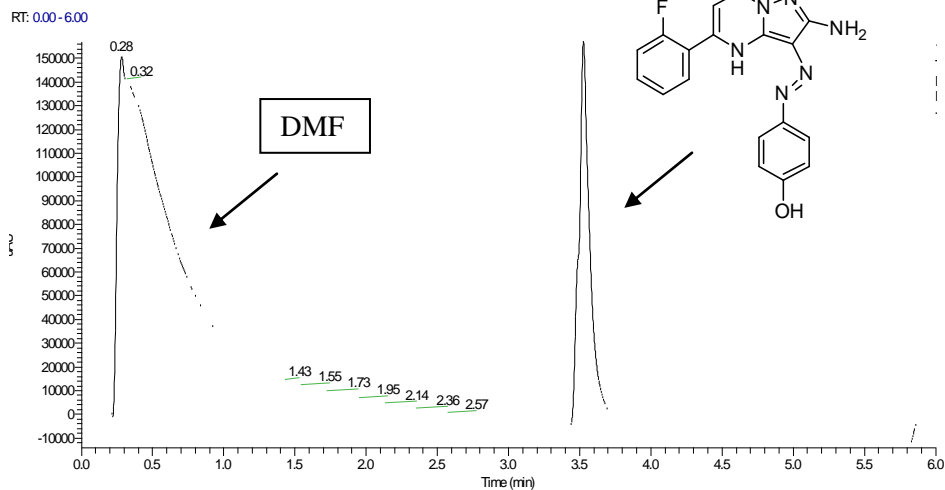
Příloha 1. Total Scan derivátu V a



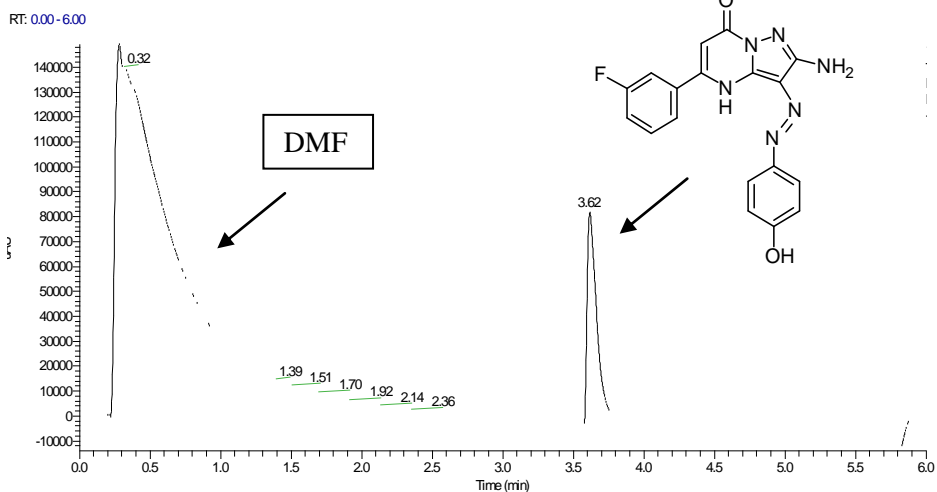
Příloha 2. Total Scan derivátu V b



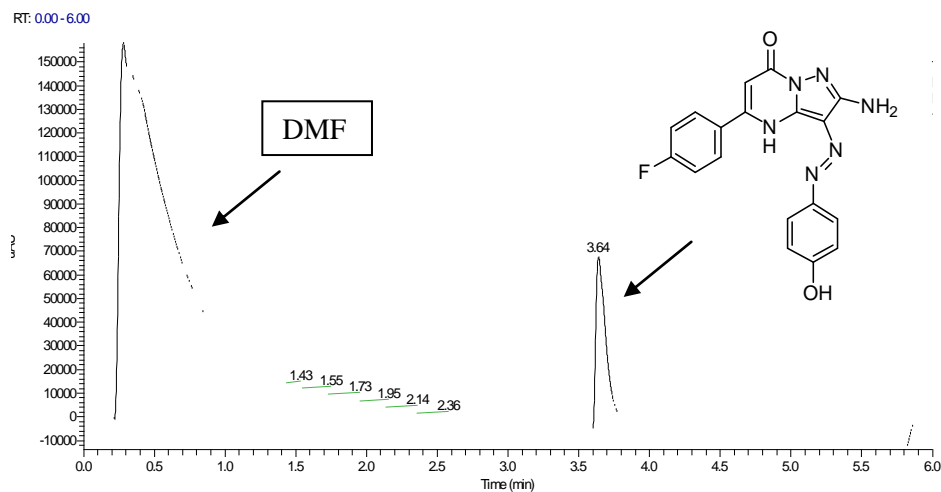
Příloha 3. Total Scan derivátu V c



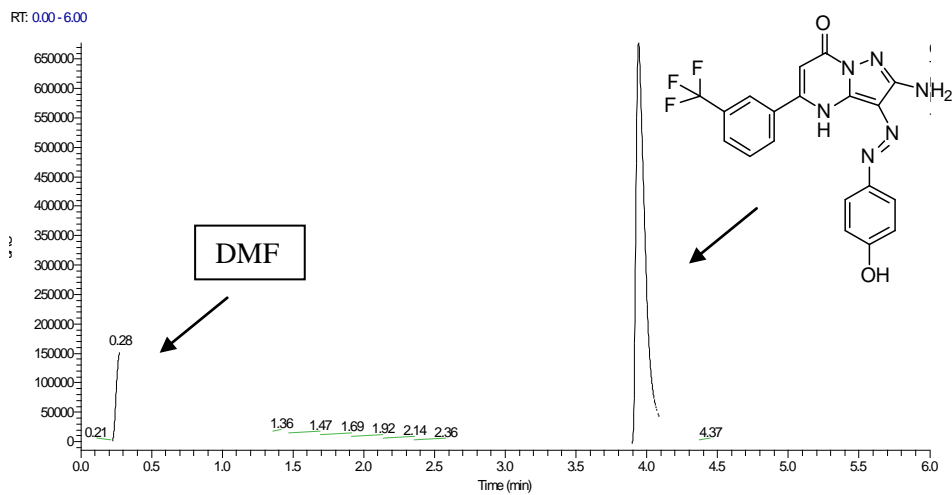
Příloha 4. Total Scan derivátu V d



Příloha 5. Total Scan derivátu V e



Příloha 6. Total Scan derivátu V f



Příloha 7. Total Scan derivátu V g

