

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA ORGANICKÉ CHEMIE



SYNTÉZA 1-ARYL-SUBSTITUOVANÝCH DERIVÁTŮ 4-((3,5-DIAMINO-1H-PYRAZOL-4-YL)DIAZENYL)FENOLU

Bakalářská práce

Autor:

Kateřina Janíková

Studijní program:

Chemie

Studijní obor:

Bioorganická chemie

Typ studia:

Prezenční

Vedoucí práce:

RNDr. Petr Cankař, Ph.D.

Termín odevzdání práce:

7. květen 2013

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce panu RNDr. Petru Cankařovi, Ph.D., za odborné vedení, cenné rady, připomínky a informace, které mi poskytl při vykonávání zadané práce.

Já, Kateřina Janíková, prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně pod odborným dohledem RNDr. Petra Cankáře, Ph.D. Veškerou použitou literaturu jsem uvedla na konci práce.

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

V Olomouci dne 7. 5. 2013

.....

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Kateřina Janíková
Název práce: Syntéza 1-aryl-substituovaných derivátů 4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolu
Typ práce: Bakalářská
Pracoviště: Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci
Vedoucí práce: RNDr. Petr Cankař, Ph.D.
Rok obhajoby práce: 2013

Abstrakt:

Cílem bakalářské práce bylo připravit sérii 1-aryl-substituovaných derivátů odvozených od 4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolu, které mohou být potencionálně biologicky aktivní na CDK. Syntéza těchto derivátů byla založena hlavně na aromatických nukleofilních substitucích. Předběžně byla zkoušena i Chan-Lam coupling reakce. Práce je rozdělena do několika kapitol. V teoretické části jsou popsány některé metody syntéz pyrazolů a jejich biologická aktivita, princip a mechanismus aromatické nukleofilní substituce a Chan-Lam coupling reakce. V diskuzi jsou vyhodnoceny jednotlivé experimenty a v poslední, experimentální části, jsou popsány jednotlivé postupy příprav.

Klíčová slova: pyrazol, aromatická nukleofilní substituce, Chan-Lam coupling

Počet stran: 54

Jazyk: Čeština

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Kateřina Janíková
Title: Synthesis of 1-Aryl-Substituted Derivatives of 4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)phenol
Type of thesis: Bachelor
Department: Department of Organic Chemistry, Faculty of Science
Palacký University, Czech Republic
Supervisor: RNDr. Petr Cankar, Ph.D.
The year of presentation: 2013

Abstract:

The aim of the thesis was to prepare a serie of 1-aryl-substituted derivatives of 4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)phenol which can be potentially biologically active against the CDK. Synthesis of these derivatives was predominantly based on the aromatic nucleophilic substitutions. Some preliminary attempts utilizing Chan-Lam coupling reaction were also carried out. The thesis is divided into several chapters. The theoretical part describes some synthetic methods leading to pyrazoles, biological activity of pyrazole derivatives, principle and mechanism of aromatic nucleophilic substitution, and Chan-Lam coupling reaction. In the discussion part are evaluated particular experiments. The experimental part describes the particular procedures of preparation.

Keywords: pyrazole, aromatic nucleophilic substitution, Chan-Lam coupling

Number of pages: 54

Language: Czech

Obsah

1. Úvod.....	8
2. Teoretická část.....	9
2.1 Pyrazoly	9
2.1.1 <i>Vlastnosti a reaktivita</i>	9
2.1.2 <i>Syntéza</i>	10
2.1.2.1 Syntézy založené na uzavírání kruhu	10
2.1.2.1.1 Reakce 1,3-dikarbonylových sloučenin s hydraziny	10
2.1.2.1.2 1,3-dipolární cykloadice diazoalkanů a nitriliminů	13
2.1.2.2 Syntézy založené na přeměně kruhu	14
2.1.2.3 Aromatizace	17
2.2 Aromatická nukleofilní substituce	19
2.2.1 <i>Mechanismus S_NAr</i>	19
2.2.1.1 Monomolekulární nukleofilní aromatická substituce S _N 1-Ar	20
2.2.1.2 Bimolekulární nukleofilní aromatická substituce S _N 2-Ar	21
2.2.1.3 Mechanismus eliminačně-adiční.....	22
2.3 Chan-Lam Coupling reakce	23
2.3.1 <i>Obecný mechanismus Chan-Lam coupling reakce</i>	23
2.3.1.1 Konkrétní příklad	24
2.3.2 <i>Syntéza heterocyklických sloučenin</i>	25
2.4 Biologická aktivita pyrazolů	27
3. Diskuze	30
3.1 Cykloadiční reakce	30
3.1.1 <i>Příprava výchozích látek</i>	31
3.1.1.1 Příprava [2-(4-hydroxyfenyl)hydrazinyliden]propandinitrilu II.....	31
3.1.1.2 Příprava 4-[(E)-(3,5-diamino-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl]fenolu III	31
3.1.2 <i>Příprava 4-[(E)-(3,5-diamino-1-fenyl-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl]fenolu IV</i>	32
3.1.3 <i>Příprava 2-amino-3-[(E)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]pyrazolo[1,5-a]chinazolin-5(4H)-onu V</i>	32
3.2 Aromatické nukleofilní substituce	34
3.2.1 <i>Příprava derivátů odvozených od pyrazolu III</i>	35
3.3 Chan-Lam coupling reakce	37

4. Experimentální část.....	39
4.1 [2-(4-hydroxyfenyl)hydrazinyliden]propandinitril (II)	39
4.2 4-[(E)-(3,5-diamino-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl]fenol (III).....	40
4.3 4-[(E)-(3,5-diamino-1-fenyl-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl]fenol (IV).....	40
4.4 2-amino-3-[(E)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]pyrazolo[1,5-a]chinazolin-5(4H)-on (V)	41
4.5 4-[(E)-[3,5-diamino-1-(9H-purin-6-yl)-1H-pyrazol-4-yl]diazenyl]fenol (VII d)	41
4.6 4-[(E)-[3,5-diamino-1-(4,5-dichlor-2-nitrofenyl)-1H-pyrazol-4-yl]diazenyl]fenol (VII e)	42
4.7 4-[(E)-[3,5-diamino-1-(6-chlor-5-nitropyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-4-yl]diazenyl]fenol (VII f)	42
4.8 4-[(E)-[3,5-diamino-1-[2-nitro-4-(trifluormethyl)fenyl]-1H-pyrazol-4-yl]diazenyl]fenol (VII g)	43
4.9 4-[(E)-[3,5-diamino-1-(2,4-dinitrofenyl)-1H-pyrazol-4-yl]diazenyl]fenol (VII h ₂) ..	44
5. Závěr.....	45
6. Seznam použité literatury	46
7. Přílohy	50

1. Úvod

Pyrazoly patří mezi významné 5čtené heterocyklické systémy. Sloučeniny obsahující pyrazolový cyklus mohou mít různé biologické a terapeutické účinky.¹ Mezi jejich nejvýznamnější biologické vlastnosti patří protinádorové, protizánětlivé, antimikrobiální, antibakteriální účinky a účinky zaměřené proti viru HIV.²

Cílem bakalářské práce bylo připravit sérii 1-aryl-substituovaných derivátů 4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolu **3**. Tyto deriváty je možné syntetizovat pomocí reakce hydrazonu malononitrilu **1** s monosubstituovaným derivátem hydrazinu nebo arylací s využitím aromatické nukleofilní substituce či Chan-Lam coupling reakce z pyrazolu **2** (Schéma 1).

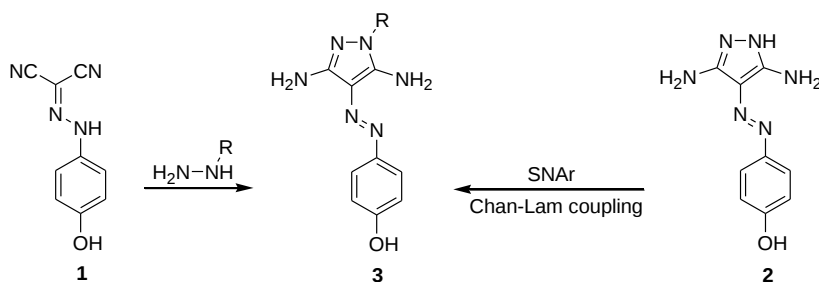


Schéma 1

V teoretické části je popsáno několik způsobů příprav pyrazolů a jejich derivátů, biologická aktivita vybraných derivátů, princip aromatické nukleofilní substituce a Chan-Lam coupling reakce. Záměrem experimentální části bylo nejprve ověřit metodiky cyklizační reakce, najít optimální podmínky dané syntézy a zhodnotit vliv substituce derivátů hydrazinu na cyklizační reakci. Dalším úkolem bylo připravit nové deriváty pyrazolů, a to pomocí aromatické nukleofilní substituce a Chan-Lam coupling reakce.

2. Teoretická část

2.1 Pyrazoly

Pyrazoly patří do skupiny pětičlenných heterocyklických dusíkatých sloučenin. Ve své struktuře obsahují tři atomy uhlíku a dva atomy dusíku na sousedních pozicích.³

Pyrazoly byly rozsáhle studovány především v několika posledních desetiletích jako významná třída heterocyklických sloučenin. Nadále se jim věnuje velká pozornost, a to jak pro jejich farmaceutický, tak i pro zemědělský přínos.⁴ Pyrazoly se dále používají také jako barviva, kosmetická barviva a potravinářská aditiva.⁵

2.1.1 Vlastnosti a reaktivita

Aromaticita pyrazolů se výrazně liší v závislosti na tom, jaké substituenty jsou připojeny k cyklu.³ Nesubstituované pyrazoly mohou existovat ve třech tautomerních formách (Schéma 2).

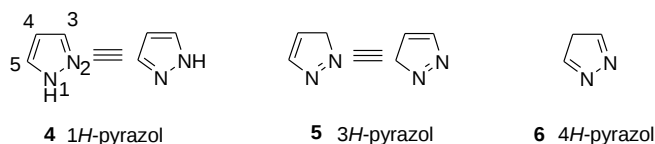


Schéma 2

Z těchto tří tautomerních forem má ovšem jen 1H-pyrazol **4** aromatický charakter. 3H-pyrazoly **5** a 4H-pyrazoly **6** se získávají jako primární produkty cyklizačních reakcí a jsou izolovány jako 3,3 a 4,4- disubstituované deriváty.⁶

Pyrazoly podléhají substitučním reakcím, a to zejména elektrofilním v poloze 4. U pyrazolu jsou substituční elektrofilní reakce znesnadňovány tím, že atom dusíku přitahuje elektrony a brání tak elektrofilní substituci na uhlíkatou část molekuly. Většina elektrofilních reakcí probíhá v silně kyselém prostředí, tím dochází k protonizaci atomu dusíku a vytváří se kladný náboj, který znesnadňuje další elektrofilní atak. Pyrazoly, stejně jako další heterocykly s dvěma atomy dusíku, jsou v silně kyselém prostředí stálé.

Z mezomerních stavů pyrazolu vyplývá, že pokud elektrofilní substituce probíhat bude, tak na pozici 4 (Schéma 3).⁷

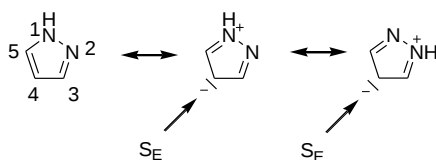


Schéma 3

Aromatické nukleofilní substituce budou podrobněji probrány v kapitole 2.2.

2.1.2 Syntéza

Existuje celá řada metod, kterými mohou být pyrazoly připraveny. V této kapitole, která se těmito syntézami zabývá, budou vybrány pouze některé.

Syntézy můžeme rozdělit do třech základních skupin. Jedná se o syntézy založené na uzavírání kruhu, přeměně kruhu a aromatizaci heterocyklických sloučenin.

2.1.2.1 Syntézy založené na uzavírání kruhu

Pyrazoly lze připravit celou řadou reakcí. Běžně používané metody syntéz pyrazolů jsou založené buď na kondenzaci hydrazinů s 1,3-dikarbonylovými sloučeninami⁸ a jejich 1,3-dielektrofilními ekvivalenty zahrnujícími α,β -nenasycené aldehydy a ketony⁹ nebo na intermolekulární 1,3-dipolární cykloadici diazoalkanů a nitriliminů s alkeny a alkyny.¹⁰ Nevýhodou těchto příprav je například špatná reaktivita a regioselektivita, ale také možná detonace substrátů, což představuje určité omezení jejich praktického použití v praxi.¹¹

2.1.2.1.1 Reakce 1,3-dikarbonylových sloučenin s hydraziny

Pravděpodobně nejrozšířenější a nejobecnější metodou syntézy pyrazolů je reakce 1,3-dikarbonylových sloučenin s hydraziny. Vysoká reaktivita mnoha 1,3-dikarboxylových sloučenin vedla k použití přiměřeně chráněných prekurzorů, jako jsou *O,O*-acetal. Při těchto reakcích mohou být použity nesubstituované hydraziny nebo jeho deriváty, kterými jsou například alkylhydraziny, arylhydraziny a acylhydraziny. Výtěžky těchto reakcí jsou obecně vysoké a experimentální postupy jednoduché. Kondenzace hydrazinů s 1,3-dikarbonylovými sloučeninami se obvykle provádí v polárních protických rozpouštědlech, jakou jsou alkoholy

nebo směs vody a alkoholu. V mnoha případech se reakční směs vaří pod zpětným chladičem v přítomnosti minerální kyseliny nebo kyseliny octové.

O,O-Acetaly 1,3-dikarboonylových sloučenin se používají k přípravě celé řady derivátů pyrazolů. Například 1,1,3,3-tetraalkoxypropány se používají k přípravě 3,4,5-trisubstituovaných pyrazolů a 1,1,3,3-tetraalkoxybutany poskytují 3-methyl-substituované pyrazoly. Reakce se provádí ve vodě, ve směsi voda-ethanol nebo v ethanolu při teplotě 0-100°C a v přítomnosti minerální kyseliny, dihydrochloridu hydrazinu nebo dihydrosulfátu. Může být použit hydrazin, fenyldiazin, 2-, 3- nebo 4-nitrofenylhydrazin.¹²⁻¹⁴

Zahříváním ekvimolárního množství 1,1,3,3-tetraethoxypropanu **7** a arylhydrazinu v 95% ethanolu vznikají s dobrou výtěžností odpovídající 1-arylpirazoly **8** (Schéma 4).^{12,13}

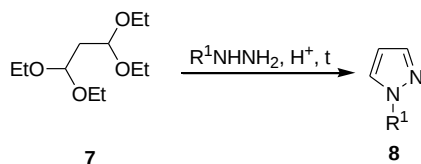


Schéma 4

Substituované malonaldehydy **9** se používají k přípravě 3,5-nesubstituovaných pyrazolů **10** (Schéma 5). Reakce se obvykle provádí v ethanolu za přítomnosti minerální kyseliny jako katalyzátoru. Reakce probíhá s výtěžkem 92%, pokud je na pozici R¹ CH₂CH₂OH a na R² vodík.¹⁵

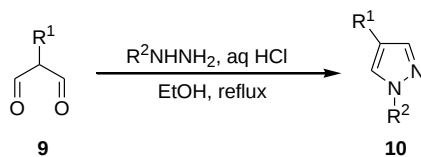


Schéma 5

Velmi častou metodou přípravy 1*H*-pyrazolů **12** je reakce β-diketonů **11** s hydrazinem (Schéma 6). Při reakci se používá hydrazin nebo jeho různé deriváty, například alkyl-, aryl-, heteroaryl a acylhydrazin. Reakce se provádí ve vodě, ethanolu, ve směsi voda-ethanol nebo v kyselině octové při teplotě v rozmezí 0-100°C. Pokud se používají soli hydrazinu, pak se do reakční směsi musí přidat báze.^{16,17}



The reaction scheme shows the synthesis of 2,4-diaminobenzonitrile (16) from 2,4-diaminobenzonitrile (14) and 2,4-diaminobenzonitrile (15). The reaction involves the reaction of 2,4-diaminobenzonitrile (14) with 2,4-diaminobenzonitrile (15) to form 2,4-diaminobenzonitrile (16). The reaction is catalyzed by 4 N₂H₄ and produces 2 NH₃ as a byproduct.

Chemical structures shown:

- 14**: 2,4-diaminobenzonitrile (NC-C₆H₃(NH₂)₂-CN)
- 15**: 2,4-diaminobenzonitrile (NC-C₆H₃(NH₂)₂-CN)
- 16**: 2,4-diaminobenzonitrile (NC-C₆H₃(NH₂)₂-CN)

Schéma 7

N#CC=C(N)Nc1ccccc1
 $\xrightarrow{\text{R}^1\text{NHNH}_2}$
N#CC1=C(N)N(NC(=O)c2ccccc2)N1

18 **19**

Schéma 8

2.1.2.1.2 1,3-dipolární cykloadice diazoalkanů a nitriliminů

1,3-dipolární cykloadiční reakce jsou jedny z nejpoužívanějších při přípravě substituovaných pyrazolů.²¹ Jako 1,3-dipóly se používají diazoalkany, nitriliminy a hydrazony.

Reakce diazomethanu **21** s alkyny **20** se provádí v diethyletheru při teplotě v rozmezí 0-20°C a to po dobu jedné hodiny až několik dní (Schéma 9).

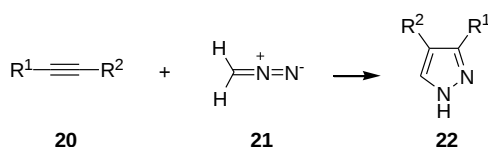


Schéma 9

Disubstituované diazomethany **24** poskytují při reakci s alkyny **23** deriváty 3*H*-pyrazolu **25** (Schéma 10). Reakce disubstituovaného diazomethanu se musí provádět ve tmě, aby se zabránilo vedlejší fotochemické reakci, a někdy se také pracuje v inertní atmosféře. Nevýšší výtěžky poskytovaly reakce, kde na pozici R^1 byla trimethylsilylová nebo trifenylsilanová skupina a na pozici R^2 vodík. Výtěžky těchto dvou reakcí byly nad 99%.^{22,23}

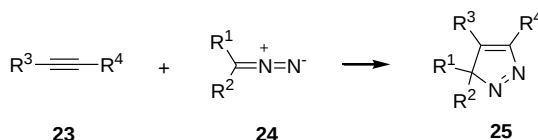


Schéma 10

Nitriliminy jako 1,3-dipóly reagují s alkyny za vzniku pyrazolů.²⁴ Při těchto reakcích jsou velmi důležité strukturální faktory. Skupiny, které jsou připojené na trojnou vazbu, výrazně ovlivňují reaktivitu. Například difenylnitrilimin poskytuje s ethynem 1,3-difenyl-1*H*-pyrazol. Reakce se provádí při 20°C s výtěžkem 81%. Ovšem při reakci s hex-1-ynem vzniká 5-butyl-1,3-difenyl-1*H*-pyrazol při teplotě 75°C a s výtěžkem pouze 24%.²⁵ Elektronakceptorové skupiny připojené k uhlíku nebo dusíku nitriliminu snižují reaktivitu.²⁶ Cykloadice může vést ke tvorbě dvou izomerů pyrazolu **28** a **29** (Schéma 11).²⁷

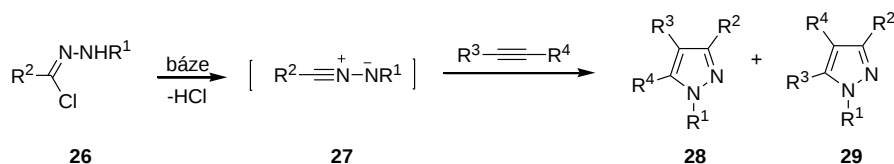


Schéma 11

Dalším zajímavým typem přípravy pyrazolů jsou reakce hydrazonů s 1,2-dikarbonylovými sloučeninami. Reakcí alkyl- nebo arylhydrazonů 31 s 1,2-dikarbonylovými sloučeninami 30, jako je α -oxoaldehyd nebo β -diketon, vznikají pyrazol-4-oly 32 (Schéma 12). Pokud je pozice R¹ obsazena methylem, R² a R³ fenylem, pak reakce poskytuje výtěžek 86%.²⁸

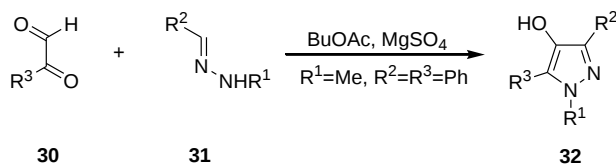
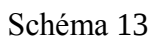


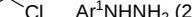
Schéma 12

2.1.2.2 Syntézy založené na přeměně kruhu

Různé heterocyklické sloučeniny, zejména acyl-substituované heterocykly jsou vlastně cyklická analoga 1,3-dikarbonylových sloučenin nebo jejich syntetických ekvivalentů. To z nich dělá vhodné substráty pro přípravu pyrazolů. Ve většině případů jsou syntézy pyrazolů z vhodných substituovaných heterocyklů úzce spojeny s přípravou pyrazolů z 1,3-dikarbonylových sloučenin s deriváty hydrazinu.²⁴

Prvním příkladem přeměny cyklu je jeho rozšíření. Patří zde syntézy z tříčlenných heterocyklů a karbocyklů. Příkladem těchto příprav jsou syntézy z cyklopropanů. 2-Acetoxy-1,1-dichlorcyklopropan 33 reaguje s hydraziny za vzniku substituovaných pyrazolů 34 (Schéma 13). Nejvyšší výtěžek poskytuje reakce, kdy na pozici R¹ je přítomen methyl a na pozici R² a R³ vodík.²⁹





Ar^1NHNH_2 (2 ekv.), 170–200°C
 $\text{Ar}^1=\text{Ph}$ 72%
 $\text{Ar}^1=4\text{-ClCH}_2\text{C}_6\text{H}_4$ 57%
 $\text{Ar}^1=4\text{-AcOCH}_2\text{C}_6\text{H}_4$ 89%
 $\text{Ar}^1=4\text{-HOCH}_2\text{C}_6\text{H}_4$ 74%

Schéma 14

Mezi další používané heterocycklické sloučeniny patří aziridiny. 2-Acylaziridiny **37** a fenylhydrazin reagují za tvorby hydrazonů, které mohou být v některých případech izolovány.³¹ Cyklizují za vzniku 1-fenyl-4,5-dihydropyrazol-4-aminů,³² které eliminují aminoskupinu za vzniku 1-fenylpyrazolů **38** (Schéma 15).³³

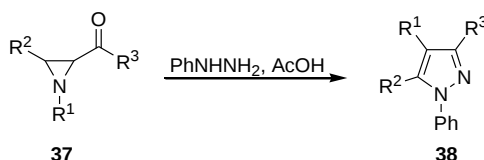


Schéma 15

Metoda přípravy pyrazolů syntézou z furanů představuje reakci, při které je zachována velikost cyklu a dochází pouze k záměně heteroatomu.

Série derivátů obsahující buď tetrahydrofuran nebo furanon mohou být úspěšně používány jako prekurzory syntézy pyrazolů. Deriváty furanu jsou v podstatě chráněnou formou 1,3-dikarbonylových sloučenin. 3-(Diethoxymethyl)-2-ethoxytetrahydrofuran **39** může být považován za cyklický acetal odpovídající 1,3-dikarbonylové sloučeniny a je přeměněn reakcí s dihydrochloridem hydrazinu na 4-(2-hydroxyethyl)-1*H*-pyrazol **40** (Schéma 16). Tato reakce dosahuje výtěžnosti až 92%.¹⁵

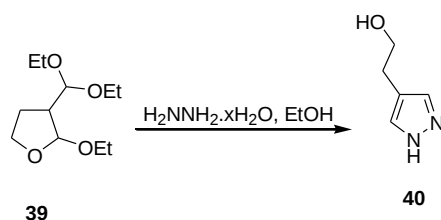


Schéma 16

Dalšími prekurzory přípravy pyrazolů mohou být deriváty dihydro- a tetrahydropyrrolů. Například 2-(dikyanomethylen)pyrrolidiny **41** reagují s hydrazin hydrátem za vzniku 5-amino-3-(3-aminopropyl)pyrazol-4-karbonitrilů **42** (Schéma 17).³⁴

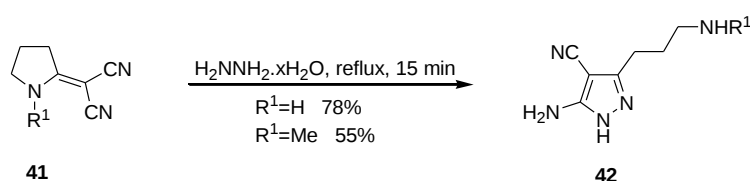


Schéma 17

Isoxazoly nesubstituované na pozici 3 reagují s hydraziny v přítomnosti báze, kterou je hydroxid draselný nebo ethoxid sodný a štěpením vazby O-N tvoří pyrazol-5-aminy. Například z 5-methylisoxazolu **43** dochází ke vzniku 3-methyl-1-fenyl-1H-pyrazol-5-aminu **45** (Schéma 18).³⁵

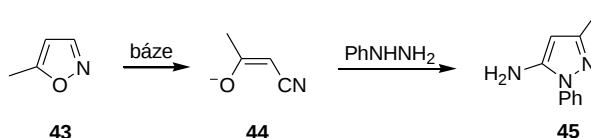


Schéma 18

Jako další pětičlenné heterocyklické sloučeniny pro přípravu pyrazolů se používají oxazoly, isothiazoly, imidazoly, oxadiazoly, thiadiazoly, triazoly a tetrazoly.

Dalším druhem transformace cyklu je jeho zkracování (kontrakce). Při těchto reakcích se využívají šestičlenné cykly.

Jako první můžeme uvést syntézy, při kterých se vychází z pyranů. Například 3-acetyl-4-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-on **46** je transformován zahříváním s hydrazinem v benzenu

nejprve za vzniku příslušného hydrazonu **47**, který se zahříváním ve směsi kyseliny octové v ethanolu přeskupuje na 4-(3-hydroxybut-2-enoyl)-5-methylpyrazol-3-ol **48** (Schéma 19).³⁶

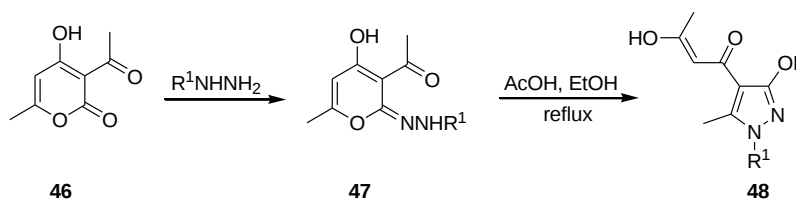


Schéma 19

Pyrimidiny, zejména s polárními substituenty připojenými k N-C dvojným vazbám, reagují s hydrazin hydrátem za tvorby derivátů pyrazolu. Pyrimidin a jeho alkyl-substituované deriváty reagují ve vodných roztocích za vysokých teplot (130-190°C).³⁷ Například při reakci s 5-nitropyrimidinem **49** probíhající při teplotě 100°C vzniká 4-nitro-1*H*-pyrazol **52** (Schéma 20).³⁸

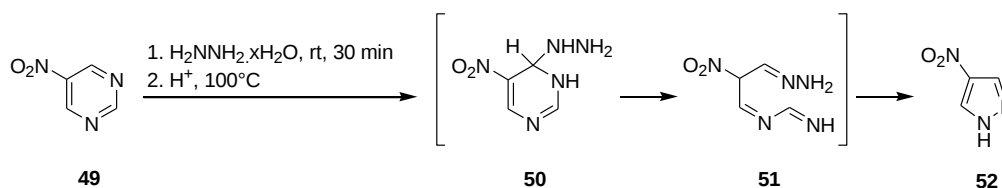


Schéma 20

Další šestičlenné heterocyklické sloučeniny, které můžeme použít při syntéze pyrazolů a jeho derivátů jsou pyridiny, 1,3-dioxany, 1,3-oxaziny, pyridaziny, 1,2,6-thiadiaziny a tetraziny. Je možné zkracovat i sedmičlenné heterocykly jako je 1*H*-1,5-diazepin a 1,3,4-thiadiazepin.

2.1.2.3 Aromatizace

Aromatizace představuje další velkou skupinu metod, jak připravit pyrazoly a jeho deriváty. Nejvýznamnější je především dehydrogenace dihydropyrazolů, a to různými oxidačními činidly. Mezi nejčastěji používaná činidla se řadí *p*-chloranil, *o*-chloranil, jod, brom, síra a selen, oxid olovičitý, oxid manganičitý, kyselina chromová, peroxid vodíku a mnoho dalších.²⁴

Jako konkrétní příklad uvedeme dehydrogenaci dihydropyrazolů **53** *p*-chloranilem (Schéma 21). Reakce je prováděná v inertním rozpouštědle, jako je xylen, 1,3,5-trichlorbenzen nebo jiná vysoce vroucí rozpouštědla. Reakční směs se nechá refluxovat po dobu několika hodin za vzniku pyrazolů. Při této reakci se dosahuje velmi dobrých výtěžků (80-99%).²⁷

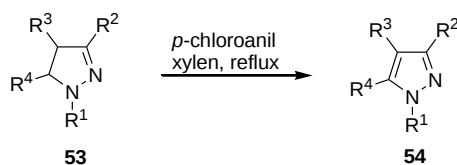


Schéma 21

Dalším způsobem aromatizace je eliminace například dehydratací 4,5-dihydropyrazol-4-olů **55**. Reakce je zahájena s thionylchloridem (Schéma 22), ale může se použít také jod, brom nebo tosylchlorid. Reakce se provádí s přidavkem báze, kterou je pyridin v benzenu ochlazeném na 0°C.³⁹

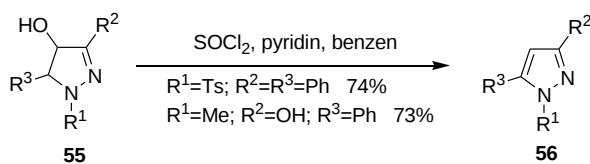


Schéma 22

Posledním způsobem je aromatizace přesmykem. 3,3-Disubstituované 3*H*-pyrazoly mohou **57** být přeskupeny za vzniku aromatických 1*H*-pyrazolů **58**, a to buď zvýšením teploty nebo kyselou či zásaditou katalýzou.⁴⁰ Jsou dva typy přeskupení. [1,5] Přeskupení substituentu z pozice 3 na uhlík C4 a [1,5] přeskupení substituentu z pozice 3 na dusík N2 (Schéma 23).⁴¹

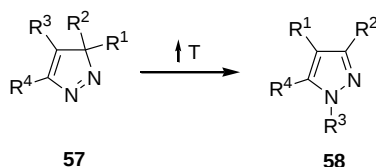


Schéma 23

2.2 Aromatická nukleofilní substituce

Pyrazoly podléhají celé řadě reakcí. Doposud byly u pyrazolů podrobněji prozkoumány pouze reakce acylační. Jedním z cílů této práce je zjistit, jak se pyrazoly chovají při substitučních reakcích. Následující kapitola se věnuje obecnému principu a mechanismu aromatické nukleofilní substituce.

Aromatická nukleofilní substituce je reakce, při které dochází k adici nukleofilu na elektronově chudý aromatický systém s následnou eliminací odstupující skupiny.

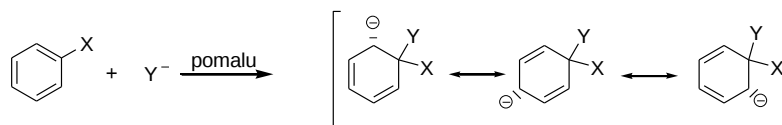
Arylhalogenidy samy o sobě nepodléhají nukleofilním substitucím. Nukleofilní substituce na halogenaromátu probíhá poměrně snadno, jen pokud jsou na aromatickém kruhu navázány elektronakceptorní substituenty v polohách *ortho* nebo *para* vzhledem k odstupující skupině. Elektronakceptorní substituenty jsou například nitroskupina, kyanoskupina nebo karbonylová skupina a odstupující skupinou je nejčastěji halogen.⁴²

Jsou známy tři základní mechanismy nukleofilní aromatické substituce. Prvním je mechanismus monomolekulární (S_N1 -Ar), dále nejčastější bimolekulární mechanismus (S_N2 -Ar) a poslední je tzv. eliminačně-adiční mechanismus, při kterém vznikají jako meziprodukty aryny.⁴³

2.2.1 Mechanismus S_N Ar

Mechanismus aromatické nukleofilní substituce se skládá ze dvou kroků (Schéma 24).⁴⁴

1. krok



2. krok

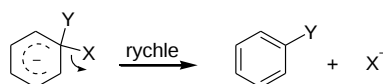


Schéma 24

První krok je obvykle, ale ne vždy ten, který určuje rychlost reakce. Atakující skupina (nukleofil) tvoří vazbu se substrátem, poskytuje meziproduct a nakonec dojde k uvolnění odstupující skupiny.⁴⁴ Stálé meziproducty aromatické nukleofilní substituce se mohou izolovat pouze tehdy, je-li nukleofilita obou aniontů X a Y přibližně stejná a dostatečně velká.⁴³

Pravděpodobně nejpřesvědčivější příklad izolace meziproductu **60** je při reakci 2-ethoxy-1,3,5-trinitrobenzenu (ethyl pikrát) **59** a methoxidového iontu (Schéma 25).⁴⁵ Intermediát tohoto typu se nazývá Meisenheimerův nebo Meisenheimer-Jacksonův komplex.⁴⁶

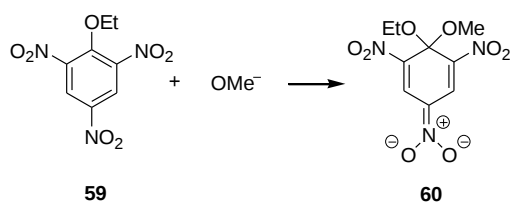


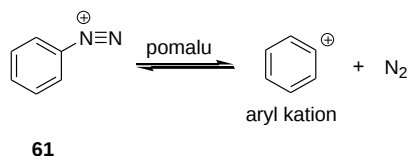
Schéma 25

Rostoucí elektronegativita X je příčinou snižování elektronové hustoty v místě ataku, a tím dochází k rychlejšímu navázání nukleofilu. Skutečnost, že fluor je z halogenů nejlépe odstupující skupina v aromatické nukleofilní substituci je důkazem toho, jak se tato substituce liší od nukleofilní substituce alifatické, kde je fluor nejhůře odstupující skupinou.⁴⁴

2.2.1.1 Monomolekulární nukleofilní aromatická substituce $S_N1\text{-Ar}$

Nejlepší příklad monomolekulární nukleofilní aromatické substituce je rozklad diazoniové soli **61** (Schéma 26).⁴⁴ Tato reakce probíhá velmi dobře v protických rozpouštědlech, a to zejména ve vodě, ethanolu a methanolu.

1. krok



2. krok

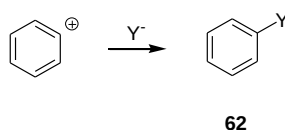


Schéma 26

Rozklad aryldiazoniové soli v protickém rozpouštědle je reakcí prvního řádu, a proto rychlost této reakce není závislá na koncentraci aniontu Y^- , který doprovází diazoniový kation.⁴³

2.2.1.2 Bimolekulární nukleofilní aromatická substituce S_N2-Ar

Aromatické nukleofilní substituce ovšem ve většině případů probíhají mechanismem bimolekulárním. Jedná se o reakci druhého řádu, z čehož vyplývá, že její rychlost je závislá na koncentraci jak výchozí aromatické látky, tak i na koncentraci nukleofilního činidla.

Pokud použijeme silné nukleofilní činidlo, pak reakce probíhá mnohonásobně rychleji, než když použijeme slabé nukleofilní činidlo.

Jak již bylo zmíněno, bimolekulární aromatická nukleofilní substituce je usnadňována substituenty, které odčerpávají elektrony z místa substituce. Nejlepšími elektronakceptorovými substituenty jsou v tomto případě nitroskupiny, a to v polohách *ortho* a *para*. Například 2,4,6-trinitrochlorbenzen reaguje s vodou, amoniakem, aminy a alkoholy velmi dobře (Schéma 27), 2,4-dinitrochlorbenzen reaguje s těmito nukleofilními činidly pomaleji a mononitrochlorbenzen reaguje velmi pomalu (Schéma 28).⁴³

Mechanismus nukleofilní aromatické substituce při reakci 2,4,6-trinitrochlorbenzenu **63** s primárním aminem popisuje uvedené schéma (Schéma 27). V první řadě dochází k adici aminu na aromatické jádro za vzniku Meisenheimerova komplexu **64** následovano přenosem protonu a eliminací odstupující skupiny (proton a odstupující skupina se mohou spojit).⁴⁷

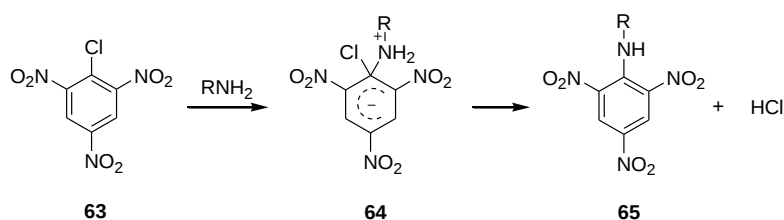


Schéma 27

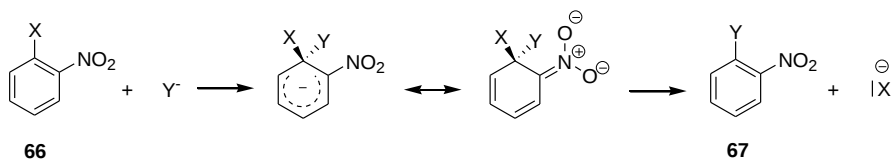


Schéma 28

2.2.1.3 Mechanismus eliminačně-adiční

Některé reakce při aromatických nukleofilních substitucích neprobíhají klasickým adičně-eliminačním mechanismem, ale probíhají mechanismem eliminačně-adičním.

Halogenbenzeny, které nemají elektronakceptorové skupiny, za běžných podmínek s nukleofily nereagují. Chlorbenzen sice může reagovat například s vodou, ale pouze za vyšších teplot a tlaků. Tato reakce opět probíhá ve dvou krocích, ovšem v opačném pořadí než u předchozích reakcí (Schéma 29).⁴²

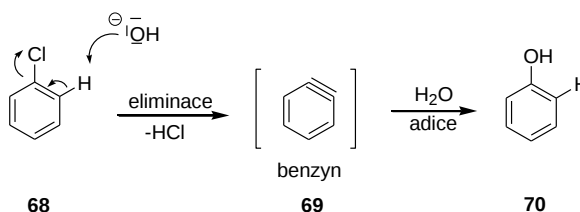


Schéma 29

Nejdříve se působením báze eliminuje HCl z chlorbenzenu **68** za vzniku reaktivního meziprojektu benzynu **69** a v druhém kroku pak dochází k adici vody na benzyn za vzniku produktu **70**.

Další reakcí, kterou byl potvrzen benzynový mechanismus je reakce brombenzenu se silnou bází a amidem draselným rozpuštěným v kapalném amoniaku (Schéma 30). Pro prokázání mechanismu byl využit brombenzen **71** značený v poloze 1 izotopem uhlíku ^{14}C . V produktu se pak tento značený atom nachází jak na uhlíku nesoucím aminoskupinu **73**, tak na uhlíku v poloze *ortho* **74**. Z toho vyplývá, že reakce probíhá přes symetrický meziprodukt, ve kterém jsou uhlíky C1 a C2 ekvivalentní. Jediná struktura, která tomuto požadavku odpovídá je benzyn **72**.⁴²

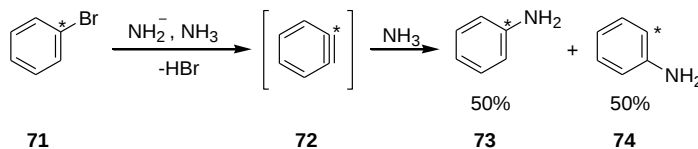


Schéma 30

Tento eliminačně-adiční mechanismus existuje také u heterocyklických aromatických sloučenin a naftalenů.⁴³

2.3 Chan-Lam Coupling reakce

Při Chan-Lam coupling reakci dochází ke vzniku vazby aryl uhlík-heteroatom, a to reakcí arylboronové kyseliny se sloučeninami obsahujícími NH- nebo OH- skupinu. Těmito sloučeninami mohou být fenoly, aminy, aniliny, amidy, imidy, sulfonamidy a další. Reakce je indukována stechiometrickým množstvím Cu(II) nebo katalytickým množstvím mědi reoxidovaným atmosférickým kyslíkem (Schéma 31). Chan-Lam coupling reakce má mnoho výhod, mezi které patří například to, že mohou být prováděny při pokojové teplotě a za přítomnosti vzduchu. Velmi důležitá je přítomnost báze, která podporuje tvorbu nové vazby uhlík-dusík nebo uhlík-kyslík. Touto bází je nejčastěji pyridin nebo triethylamin. Jako rozpouštědlo se při těchto reakcích používá dichlormethan, dichlorethan, dioxan, acetonitril nebo methanol.⁴⁸

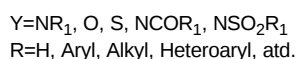
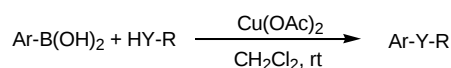


Schéma 31

2.3.1 Obecný mechanismus Chan-Lam coupling reakce

Arylboronová kyselina nejprve podléhá transmetalaci s komplexem **E** za vzniku boronové kyseliny a meziprojektu **A**, který následně koordinuje NH nebo OH substrát (ArX) tvořící komplex **B**. V přítomnosti kyslíku komplex **B** podléhá oxidaci za vzniku předpokládaného Cu (III) meziprojektu **C**, který reduktivní eliminací poskytuje požadovaný produkt a komplex **D**. Komplex **D** může být znovu přeměněn v přítomnosti kyslíku a vody na bis-μ-hydroxo Cu(II) komplex **E** (Schéma 32).⁴⁸

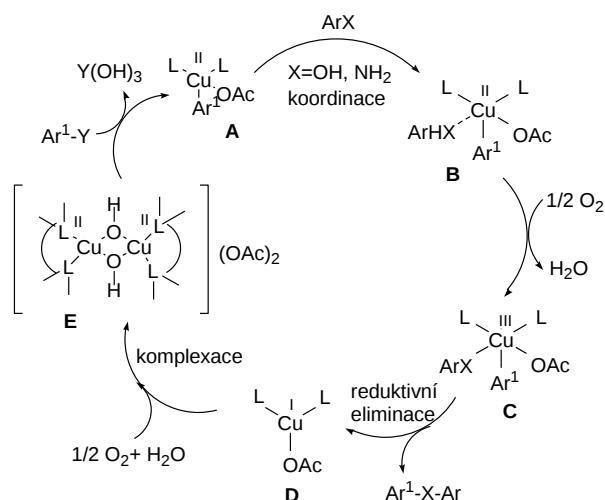


Schéma 32

2.3.1.1 Konkrétní příklad

Nejprve dochází k deprotonaci aminu a koordinaci aminu k Cu(II). V dalším kroku dochází k transmetalaci, oxidaci Cu(II) na Cu(III) kyslíkem a nakonec k reaktivní eliminaci Cu(III) na Cu(I) za vzniku produktu. Přímá reaktivní eliminace Cu(II) na Cu(0) probíhá také, ale velmi pomalu (Schéma 33).⁴⁹

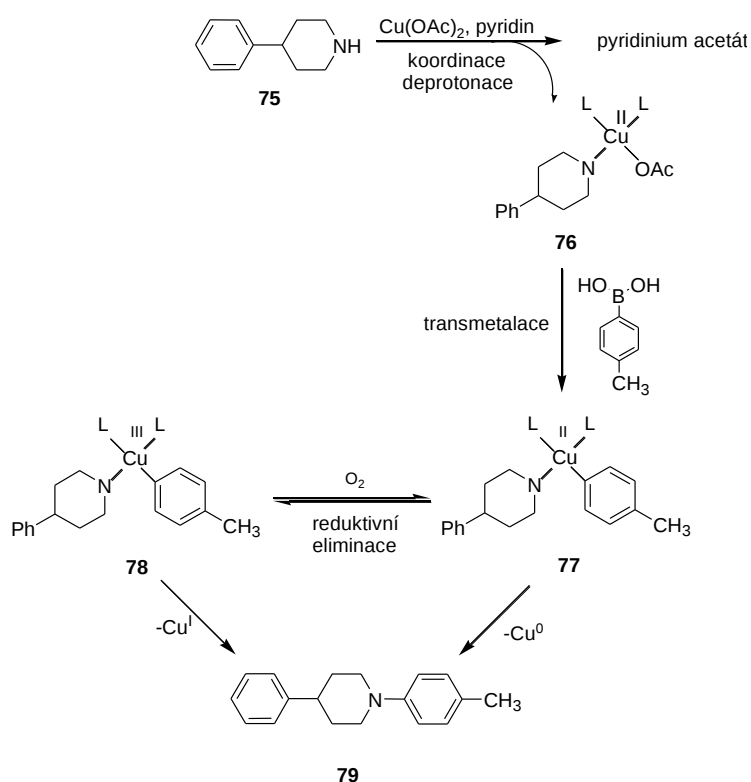


Schéma 33

2.3.2 Syntéza heterocyklických sloučenin

Chan a kolektiv⁵⁰ se snažili rozvíjet nové metodiky přípravy arylovaných sloučenin obsahujících NH- a OH- skupiny z fenyloboronové kyseliny za mírných podmínek (Schéma 34).

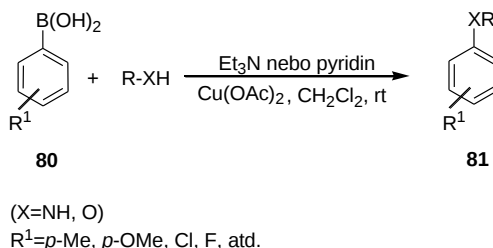


Schéma 34

Předběžné výsledky ukázaly, že tato reakce je použitelná pro širokou škálu substrátů a je velmi tolerantní k některým citlivým funkčním skupinám. Výtěžek reakce je závislý na povaze substrátu a na substituentu boronové kyseliny. Dalším důležitým faktorem ovlivňujícím výtěžek reakce je volba báze (triethylamin vs. pyridin).⁴⁸

Lam a kolektiv⁵¹ také objevili metodiku arylace řady heteroarenu obsahujících NH-skupinu, a to právě s použitím arylboronové kyseliny a octanu měďnatého (Schéma 35).

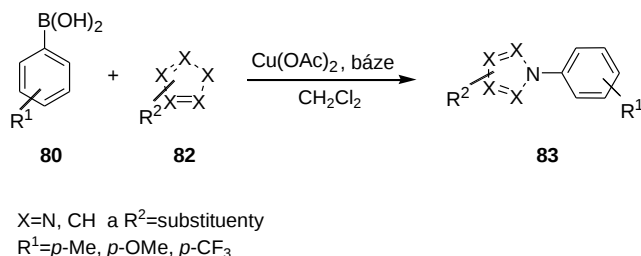


Schéma 35

Při reakci reagují 2.0 ekv. arylboronové kyseliny **80** a pyridinu, 1.0 ekv. heteroarenu **82** v dichlormethanu s následným přidavkem 1.5 ekv. bezvodého octanu měďnatého a 4 Å molekulového síta. Reakční směs se nechala míchat při pokojové teplotě a za přístupu vzduchu 2 dny.⁵¹

V této studii se vyzkoušely reakce tří odlišných arylboronových kyselin (*p*-trifluormethylfenyl, *p*-tolyl a *p*-methoxyfenyl) majících jak elektrony odtahující, tak elektrony dodávající kruhy s heteroareny, imidazolem **84** a pyrazolem **85**. Výtěžky těchto reakcí byly

dobré, což vypovídá o tom, že tato reakce může tolerovat arylboronové kyseliny lišící se v elektronové povaze (Schéma 36).⁴⁸

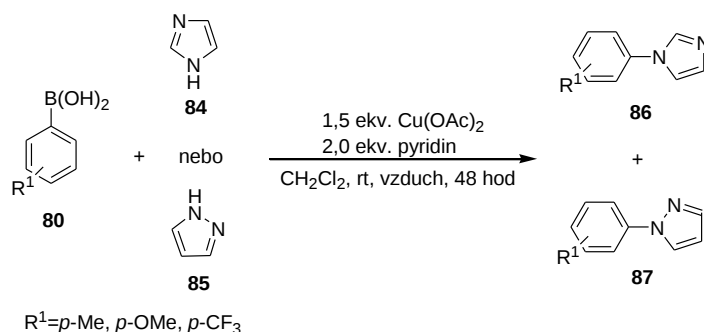


Schéma 36

Skupina heteroarenů obsahujících různý počet dusíků byla zkoumána použitím *p*-tolylboronové kyseliny, určující syntetický rozsah této coupling reakce. Výtěžky těchto reakcí byly dobré pro více nukleofilní heterocykly, jako je pyrazol, imidazol, indazol a benzimidazol, zatímco výtěžky méně nukleofilních heterocyklů byly nižší.⁴⁸

Použitím většího množství octanu měďnatého a báze než je 1,5 a 2 ekv. nebylo prokázáno zvětšení výtěžků. Jako rozpouštědlo se využívá především dichlormethan, 1,4-dioxan, *N*-methylpyrrolidinon, tetrahydrofuran a dimethylformamid, zatímco ethylacetát, toluen a dimethylsulfoxid se téměř nepoužívají. Při použití methanolu dokonce vůbec produkt nevzniká. Místo arylboronové kyseliny se může *N*-arylace za použití octanu měďnatého provádět taky s aryltrialkylstannany, ovšem výtěžky reakcí jsou mnohem nižší.⁵¹

Chan-Lam coupling reakce neslouží pouze k *N*-arylaci sloučenin, ale pokud se místo arylboronové kyseliny použije alkylboronová kyselina, tak dochází k *N*-alkylaci.

Přípravou 1-substituovaných-3-aminopyrazolů pomocí Chan-Lam coupling reakce se zabýval Ji N. a kolektiv.⁵² Vycházeli z toho, že 1*H*-3-aminopyrazoly jsou relativně levné a snadno komerčně dostupné sloučeniny. Aminoskupinu jednoduše ochránili vytvořením odpovídajícího pyrrolopyrazolu⁵³ a tyto sloučeniny pak mohly být při Chan-Lam coupling reakci přímo alkylované na pozici 1.⁵⁰

Připravený pyrrolopyrazol **88** nechali reagovat s komerčně dostupným cyklopropyltrifluorboritanem draselným v přítomnosti octanu měďnatého, 2,2'-bipyridinu a uhličitanu sodného v dichlorethanu při zvýšené teplotě za vzniku 1-cyklopropyl-3-

aminopyrazolu **89** s výtěžkem 56% (Schéma 37).^{54,55} Výtěžku 99% se dosáhlo, když na pozici R¹ a R² byl přítomen cyklopropyl.

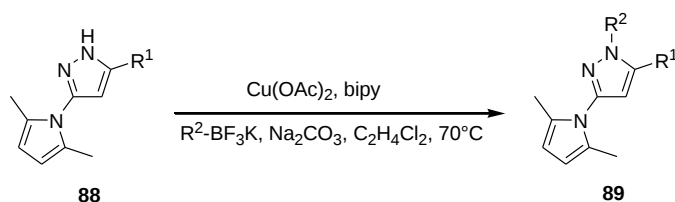


Schéma 37

2.4 Biologická aktivita pyrazolů

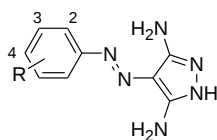
Pro syntetické chemiky jsou pyrazoly oblíbenou skupinou látek, a to zejména pro jejich rozmanité a účinné biologické vlastnosti⁴ zahrnující analgetické,⁵⁶ antibakteriální,⁵⁷ antidepresivní,⁵⁸ protizánětlivé,⁵⁹ antimikrobiální,⁶⁰ antivirové,⁶¹ antihypertenzní,⁶² protirakovinné⁶³ účinky a další. Tato kapitola je věnována jen některým derivátům pyrazolů a jejich aktivitě.

Proteinkinázy jsou důležitou skupinou lékových cílů farmaceutického průmyslu a to k léčbě proliferčních poruch, jako je rakovina a různé záněty.⁶⁴ Před několika lety bylo prokázáno, že deriváty 4-(fenyldiazenyl)-1*H*-pyrazol-3,5diaminů jsou ATP-kompetitivními inhibitory cyklin-dependentních kináz CDK2 a CDK9.⁶⁵

Tyto cyklin-dependentní kinázy (CDK) představují rodinu serin/threonin proteinkináz, které hrají klíčovou roli v regulaci buněčného dělení. Jednotlivé CDK fosforylují různé substráty v různých jednotlivých fázích buněčného cyklu, a proto jsou klasifikovány jako G1 (CDK4 a CDK6-D cykliny, CDK2-cyklin E), S (CDK2-cyklin A, CDK1-cyklin A) a G2/M (CDK1-cyklin B) fázově-specifické CDK.^{66,67}

Některé CDK hrají důležitou roli nejen v regulaci buněčného cyklu, ale i v jiných fyziologických procesech. Například CDK2 a CDK9 regulují proces transkripce.⁶⁸

Skupina autorů, Kryštof V. a kolektiv, objevila novou skupinu látek, které mohou snižovat katalytickou aktivitu CDK2-cyklin E. Z publikované skupiny látek se ukázala jako nejúčinnější sloučenina **90k**.⁶⁸



90

a R=H

b R₄=CH₃

c R₄=F, **d** R₄=Cl, **e** R₄=Br, **f** R₄=I

g R=2-CH=CH-CH=CH-3

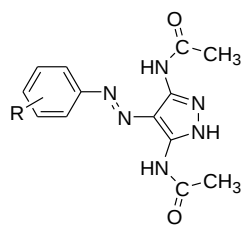
h R₂=NO₂, **i** R₃=NO₂

j R₃=OH, **k** R₄=OH; **l** R₂=CH₂OH

Byla vytvořena malá knihovna derivátů, které byly různě substituovány na benzenovém jádře. Následně byly sloučeniny testovány na biologickou aktivitu. 4-Halogenfenyl deriváty **90c-90f** měly stejnou inhibiční aktivitu jako **90a**. Nepolární 4-methylfenyl derivát **90b** snižoval aktivitu velmi málo a ostatní nepolární substituenty měly rovněž stejnou aktivitu jako **90a**, např. naftalen-1-yl **90g**. Na základě těchto výsledků se předpokládalo, že velké substituenty by mohly být dobrými CDK2 inhibitory. Tento předpoklad se ovšem ukázal chybným, a to především, pokud byly objemné substituenty navázány v *para* poloze. Dále byl fenyl substituován pomocí malých polárních substituentů, jako jsou nitro, hydroxy a karboxylová skupina. Nejefektivnější byly deriváty s hydroxy a nitro skupinou, naproti tomu deriváty s navázaným karboxylem aktivitu ztratily.

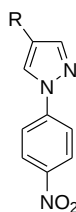
Nejlepší inhibiční aktivitu CDK2 vykazovaly deriváty **90a**, **90h**, **90i**, **90j**, **90k** a **90l**. Poté byly tyto látky testované také proti CDK1, CDK4, CDK7 a CDK9. Ukázalo se, že působí na všechny tyto CDK nejen na CDK2.⁶⁸

Další významnou skupinou těchto látek jsou 4-(substituované fenylazo)-3,5-diacetamido-1*H*-pyrazoly **91**, které vykazují aktivitu antimikrobiální. Tyto látky byly testovány proti bakteriím: *B.cereus*, *S.Aureus*, *M. Luteus*, *E.coli*, *C.Albicans*. Nejlepší výsledky byly získány pro látku substituovanou v poloze 2 chlorem a podobný efekt měl také derivát substituovaný chlorem v poloze 4. Deriváty substituované v poloze 3 chlorem ovšem aktivitu nevykazovaly. V porovnání s různými substituenty právě 2-chlor a 4-chlor deriváty vykazovaly nejlepší aktivitu a dokonce aktivitu srovnatelnou s antibiotiky jako ampicillin, tetracyklin a erytromycin proti *E. coli* a *B. cereus*. Ukázalo se, že chlor je důležitý v metabolismu těchto mikroorganismů, avšak rovněž důležitou roli hraje poloha tohoto substituentu.⁶⁹

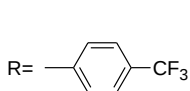


91

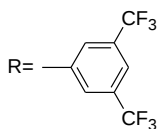
N-arylpirazolo deriváty **92a-92d** a **93a-93c** byly testovány na cytotoxickou aktivitu in vitro proti lidským nádorovým liniím.⁷⁰



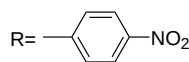
92



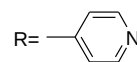
92a



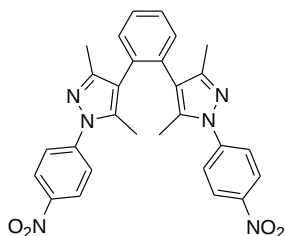
92b



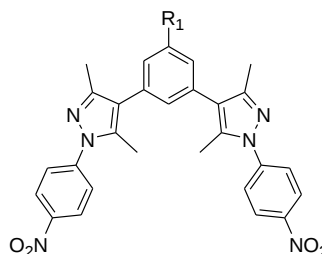
92c



92d



93a



93b: R¹=H

93c: R¹=OC₈H₁₇

Nejefektivnější derivát pyrazolu byl **93c**, který má alkoxy skupinu v pozici 5 fenylového kruhu. Inhibice buněčného růstu byla vyšší než u *cis*-platiny. Také deriváty monopyrazolu **92a** a **92b**, mající trifluormethylovou skupinu na fenylovém kruhu, vykazovaly lepší cytotoxicitu než *cis* platina.⁷⁰

Existuje celá řada dalších derivátů pyrazolů, které vykazují různou biologickou aktivitu. Například deriváty 3-(4-chlorfenyl)-4-substituovaného pyrazolu působí jako antituberkulotika a mají také antimikrobiální účinek.⁷¹

3. Diskuze

3.1 Cykloadiční reakce

V první části práce bylo úkolem připravit sérii 1-substituovaných-4-(aryldiazenyl)-1*H*-pyrazol-3,5-diaminů. Syntézy vycházely z reakce mezi hydrazonem malononitrilu **II** a monosubstituovanými deriváty hydrazinu. V první řadě byl připraven hydrazon malononitrilu **II** z *p*-aminofenolu **I**. Pro přípravu pyrazolů byl použit hydrazin hydrát **a**, fenyldiazin **b** a hydrochlorid kyseliny 2-hydrazinobenzoové **c** (Schéma 38).

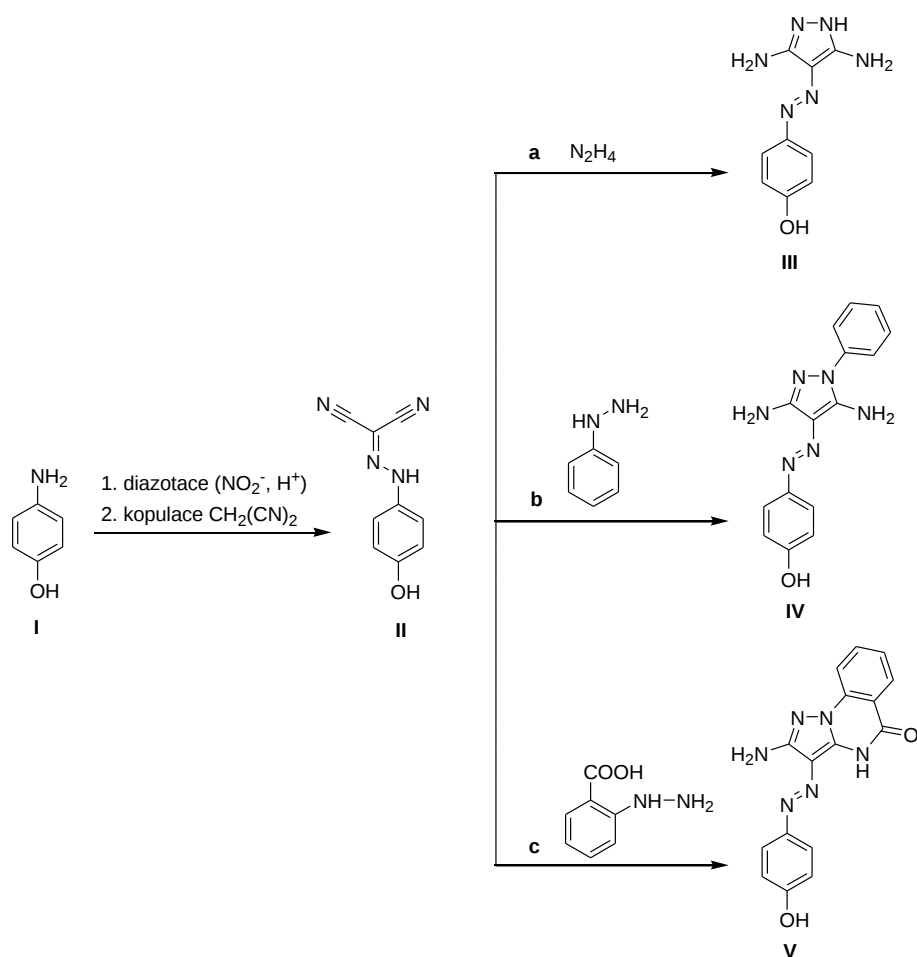


Schéma 38

3.1.1 Příprava výchozích látek

3.1.1.1 Příprava [2-(4-hydroxyfenyl)hydrazinyliden]propandinitrilu II

Hydrazon **II** je výchozí látkou pro přípravu pyrazolu **III**, **IV** a pyrazolochinazolinu **V**. Příprava hydrazonu **II** je založena na reakci *p*-aminofenolu **I** rozpuštěného ve vodě a kyselině chlorovodíkové s roztokem dusitanu sodného, kdy dochází k diazotaci a vzniku diazoniové soli. Tento roztok pak reaguje s kopulačním roztokem, kterým je roztok malonodinitrilu ve vodě s octanem sodným (Schéma 39). Reakce se musí provádět za neustálého chlazení, protože aromatické diazoniové soli jsou relativně stabilní ve vodných roztocích za nízkých teplot, jinak se rozkládají. Výtěžek reakce činil 80,1%.

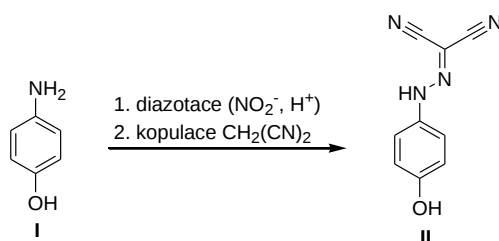


Schéma 39

3.1.1.2 Příprava 4-[(*E*)-(3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl]fenolu III

Při reakci hydrazonu **II** s hydrazin hydrátem vznikl pyrazol **III**, který je výchozí sloučeninou pro aromatické nukleofilní substituce a pro Chan-Lam coupling reakci. Hydrazon **II** byl rozpuštěn v methanolu a poté byl přidán 1,5 ekv. hydrazin hydrátu **a** (Schéma 40). Reakční směs se nechala refluxovat 4 hod a poté bylo odpařeno rozpouštědlo na rotační vakuové odparce. Vzniklý produkt byl rekrystalizován z vody. Reakce byla provedena tři krát s výtěžky 81,3%, 89,7% a 89,7%.

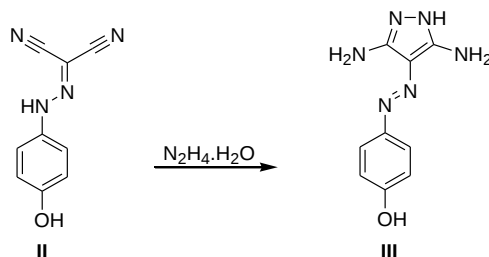


Schéma 40

3.1.2 Příprava 4-[(E)-(3,5-diamino-1-fenyl-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl]fenolu IV

Reakcí hydrazonu **II** s fenyldiazinem **b** byl připraven pyrazol **IV**, který představuje referenční vzorek pro případný produkt v Chan-Lam coupling reakci. Hydrazon **II** byl rozpuštěn v methanolu a poté byl přidán 1,5 ekv. fenyldiazinu **b** (Schéma 41). Reakční směs se nechala refluxovat po dobu 4 hod, poté bylo odpařeno rozpouštědlo na rotační vakuové odparce a produkt byl rekrystalizován z vody. Výtěžek reakce činil 72,4%.

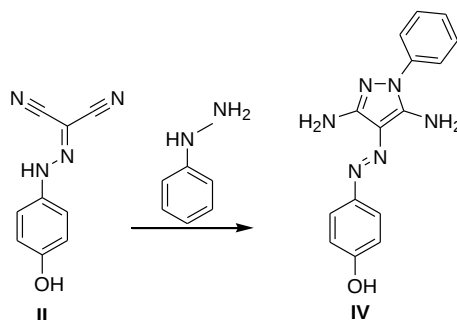


Schéma 41

3.1.3 Příprava 2-amino-3-[(E)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]pyrazolo[1,5-a]chinazolin-5(4H)-onu V

Pyrazolochinazolin **V** byl připraven reakcí hydrazonu **II** s hydrochloridem kyseliny 2-hydrazinobenzoové **c** (Schéma 42). Cílem této reakce bylo vyzkoušet, jak se bude chovat substituovaný fenyldiazin, který nese v *ortho* poloze skupinu schopnou cyklizace s aminou skupinou na pyrazolovém jádře.

Hydrazon **II** byl rozpuštěn v methanolu, poté bylo přidáno 1,5 ekv. hydrochloridu kyseliny 2-hydrazinobenzoové **c** a uhličitanu draselného. Reakční směs se nechala refluxovat po dobu 4 hod a poté byla provedena analýza. V reakční směsi byl pozorován nezreagovaný pyrazol **III**, produkt **V** vznikal pouze v malém množství, a proto byla přidána další báze. Po přidání 5 ekv. triethylaminu se směs nechala refluxovat další hodinu. Methanol byl odpařen a odparek rozpuštěn ve vodě. Nakonec byl ke směsi přidán roztok chloridu amonného, přičemž došlo k vysrážení produktu. Před filtrací sraženiny bylo předpokládáno, že se jedná o kyselinu **VI**, avšak LC-MS analýza ukázala, že již došlo také k cyklizaci. Reakce byla tímto postupem provedena dvakrát s výtěžky 55,1% a 60,5%.

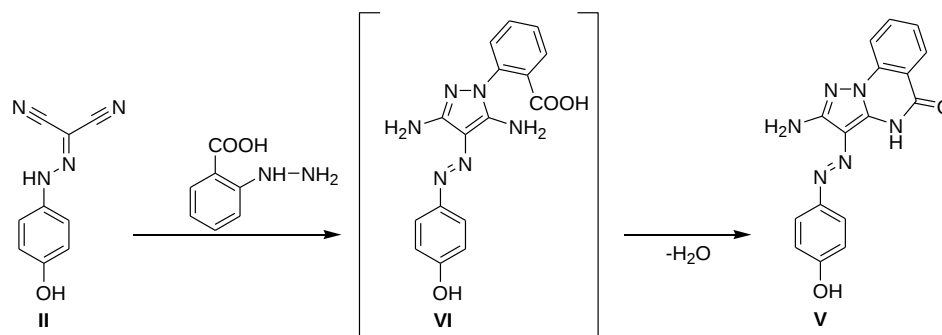


Schéma 42

Reakce byla opakována několikrát. Při prvním experimentu byl použit jako báze pouze uhličitan draselný. Po 4 hodinách refluxu ovšem došlo ke vzniku složité směsi, která kromě jiného obsahovala malé množství látek **VI** a **V**. Nedostatečná bazická katalýza uhličitanu draselného mohla být způsobena jeho velmi omezenou rozpustností v methanolu, proto byl ke směsi přidán triethylamin, který je v methanolu zcela rozpustný. Vznik produktu **V** byl pozorován přednostně, došlo tedy zároveň k cyklokondenzační reakci za vzniku sloučeniny **V**. Při dalším pokusu se jako báze použil octan sodný, ovšem produkt **V** vznikal jen ve velmi malém množství a pomalu. Dále se použil pouze triethylamin nebo se přidal najednou triethylamin společně s uhličitanem draselným, ale výsledky byly stejně neúspěšné jako při použití octanu sodného.

Další derivát hydrazinu, který se použil při reakci s hydrazonem **II** byl 4-nitrofenylhydrazin. U této reakce se předpokládalo, že nitro derivát fenyldiazonu podléhá méně ochotně k cyklizaci na pyrazol. Tento předpoklad byl následně potvrzen.

Při prvním experimentu se jako rozpouštědlo použil methanol. Reakce probíhala velmi pomalu a navíc docházelo ke vzniku složité směsi. Proto byla reakce vyzkoušena i v jiných rozpouštědlech jako je kyselina octová nebo isopropanol. V kyselině octové reakce neprobíhala vůbec a v isopropanolu probíhala nejrychleji, ovšem po pár hodinách došlo ke vzniku izomerů a dalších látek. Ověřování cyklizace s 4-nitrofenylhydrazinem bylo pozastaveno z důvodu vzniku komplikovanější směsi. Pro hledání optimálních reakčních podmínek bylo potřeba více času, jenž byl věnován jiným experimentům.

3.2 Aromatické nukleofilní substituce

Jestliže aryl skupina arylhydrazino derivátů komplikuje cykloadiční reakci vlivem elektronových posunů, je schůdnější napřed vystavět pyrazolový cyklus a ten dále arylovat. Z tohoto důvodu byla další část práce věnována aromatickým nukleofilním substitucím. Výchozí látkou při těchto reakcích byl pyrazol **III**.

Cílem těchto reakcí bylo prozkoumat, na jakou část molekuly bude substituce probíhat. V první fázi šlo o přípravu čistých derivátů, případně o analýzu reakčních směsí, ze kterých se mohla odhadnout reaktivita. Z doposud získaných výsledků se předpokládá, že substituce probíhá na endocyklickém dusíku na základě analogie s acylačními reakcemi.

Při substitučních reakcích byl použit 6-chlorpurin **d**, 1,2-dichlor-4-fluor-5-nitrobenzen **e**, 4,6-dichlor-5-nitropyrimidin **f**, 1-fluor-2-nitro-4-(trifluormethyl)benzen **g**, 2,4-dinitrofluorbenzen **h**, 2,4-dinitrochlorbenzen **i**, 4-chlor-2-fluor-5-nitrobenzoová kyselina **j** a 2-nitrofluorbenzen **k** (Schéma 43).

Reakce s látkami **d-h** byly úspěšné, zatímco při reakcích se sloučeninami **i-k** vznikaly komplikovanější směsi nebo reakce vůbec neprobíhaly a z tohoto důvodu byly pozastaveny.

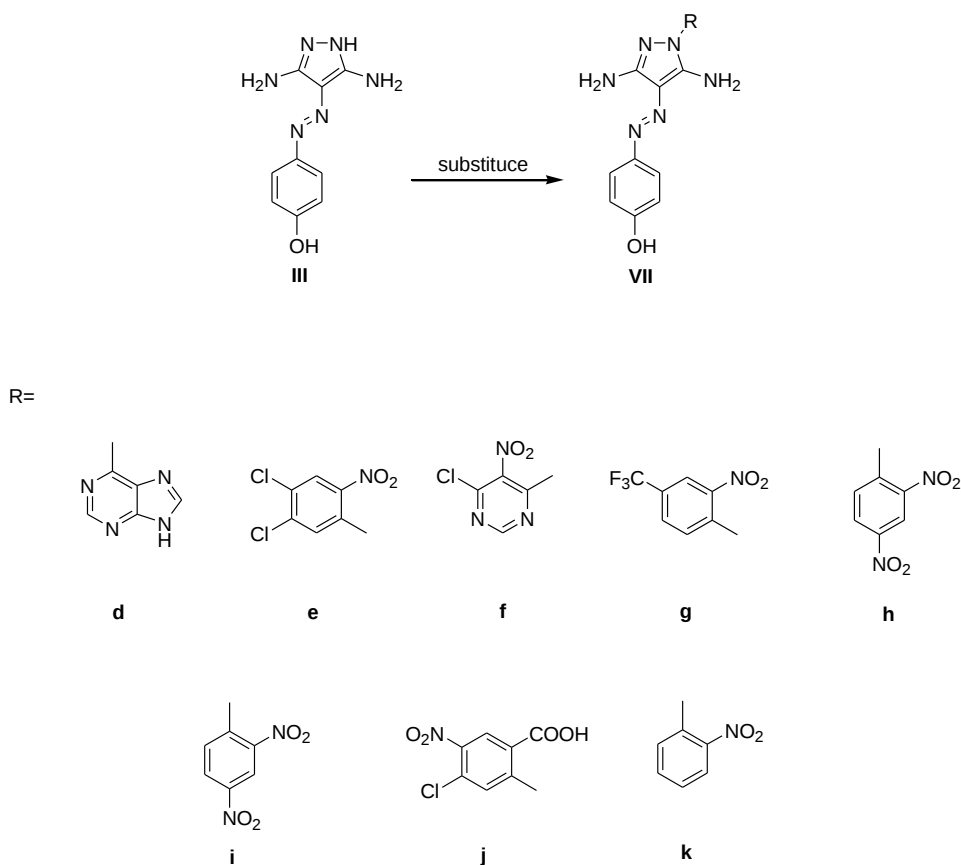


Schéma 43

3.2.1 Příprava derivátů odvozených od pyrazolu III

Reakce pyrazolu **III** s 6-chlorpurinem **d** a 2,4-dinitrofluorbenzenem **e** byla nejdříve provedena v methanolu. Reakce neprobíhaly, nebo jen velmi pomalu, a proto bylo vybráno rozpouštědlo s vyšším bodem varu. Takovýmto rozpouštědlem je například ethylenglykolmonomethylether s bodem varu 125°C. Vzhledem k velmi dobrému průběhu těchto dvou reakcí bylo toto rozpouštědlo použito i při dalších aromatických nukleofilních substitucích.

Pyrazol **III** byl nejdříve rozpuštěn v ethylenglykolmonomethyletheru, poté bylo přidáno ekvivalentní množství látek **d-g** a báze, kterou byl triethylamin (Schéma 44). Reakční směs se nechala refluxovat, poté bylo odpařeno rozpouštědlo na rotační vakuové odparce a odparek byl rekrystalizován z methanolu s přidavkem vody. Výtěžky těchto reakcí jsou uvedeny v tabulce společně s přehledem doby, po kterou se směs refluxovala (Tab.1).

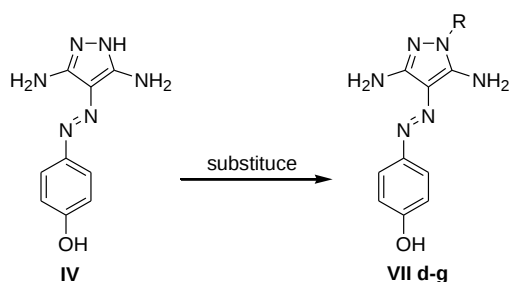


Schéma 44

Tab. 1 Přehled doby refluxu a výtěžků pro jednotlivé reakce VII d-g.

Produkt	Doba refluxu [hod]	Výtěžek 1 [%]	Výtěžek 2 [%]
VII d	7	35,7	-
VII e	4	62,9	62,2
VII f	2	67,7	87,5
VII g	5	99,2	99,5

Při reakci pyrazolu **III** s 2,4-dinitrofluorbenzenem **h** byl postup obdobný jako u předešlých reakcí. Nejdříve byl pyrazol **III** rozpuštěn v ethylenglykolmonomethyletheru a poté bylo přidáno ekvivalentní množství látky **h** a triethylaminu a směs se nechala refluxovat (Schéma 45). Po 4 hodinách refluxu byl v reakční směsi přítomen nezreagovaný pyrazol **III**, dva isomery monosubstituovaného pyrazolu **VII h₁** (ve schématu uveden pouze jeden izomer) a jeden disubstituovaný pyrazol **VII h₂**. Vzhledem k přítomnosti nezreagovaného pyrazolu byl přidán malý nadbytek 2,4-dinitrofluorbenzenu **h** a triethylaminu. Po přidavku těchto látek byl v reakční směsi přítomen pouze jeden mono- a jeden disubstituovaný derivát pyrazolu. Tyto dva produkty byly od sebe izolovány pomocí sloupcové chromatografie. Monosubstituovaný derivát pyrazolu **VII h₁** se po určité době začal rozkládat, zatímco disubstituovaný pyrazol **VII h₂** byl stabilní. Výtěžek reakce byl velmi malý, v řádu mg, proto reakce nebyla z preparativního hlediska účinná.

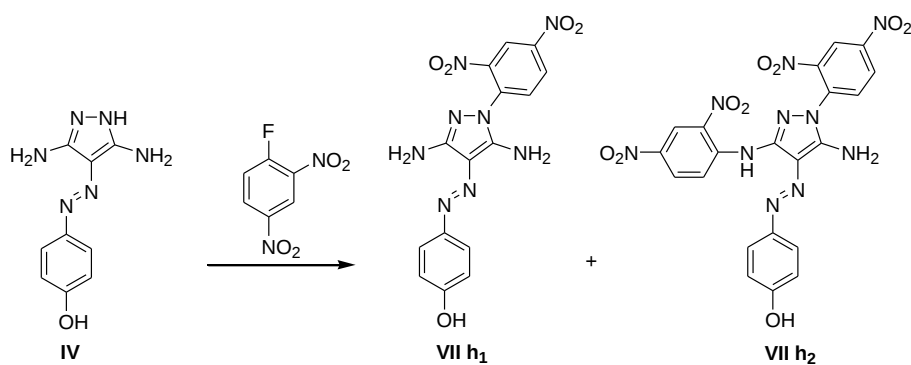


Schéma 45

Reakce byla provedena ještě jednou, a to s tím rozdílem, že po 4 hodinách refluxu byl k reakční směsi přidán další 1 ekvivalent látky **h** a triethylaminu. Při tomto postupu ovšem vznikaly další izomery i jiné látky, a proto byla tato reakce pozastavena.

Reakce pyrazolu **III** s 2,4-dinitrochlorbenzenem **i** byla provedena nejdříve za varu v methanolu. Reakce neprobíhala, a proto se vyzkoušela za varu v ethylenglykolmonomethyletheru. V druhém rozpouštědle reakce probíhala, ovšem pomalu a za vzniku několika různých izomerů. Při použití 4-chlor-2-fluor-5-nitrobenzoové kyseliny **j** reakce vůbec neprobíhala. V případě použití 2-nitrofluorbenzenu **k** reakce probíhala, ale opět velmi pomalu. Z těchto důvodů byly tyto experimenty přerušeny.

3.3 Chan-Lam coupling reakce

Poslední část práce byla věnována Chan-Lam coupling reakci. Cílem bylo předběžně vyzkoušet, zda lze touto metodou připravit nové deriváty hydrazonu **II** a pyrazolu **III** a případně dále prozkoumat, zda by došlo k arylaci na OH- či NH- skupině.

Při prvním pokusu byl 1.0 ekv. hydrazonu **II** rozpuštěn v dichlormethanu a následně byl do reakční směsi přidán 1.0 ekv. monohydrátu octanu měďnatého, 1.0 ekv. fenyloboronové kyseliny **VIII**, 5.0 ekv. báze, kterou byl pyridin a molekulové síto (Schéma 46). Reakční směs se nechala míchat při pokojové teplotě dva dny. Dichlormethan je rozpouštědlo s nízkým bodem varu, a proto se při pokojové teplotě odpařil. Z tohoto důvodu se reakce zopakovala, s tím rozdílem, že po několika hodinách míchání byl přidán další podíl dichlormethanu a Erlenmayerova baňka se zazátkovala. V reakční směsi ovšem nebyl pozorován očekávaný produkt, a proto byla reakce pozastavena.

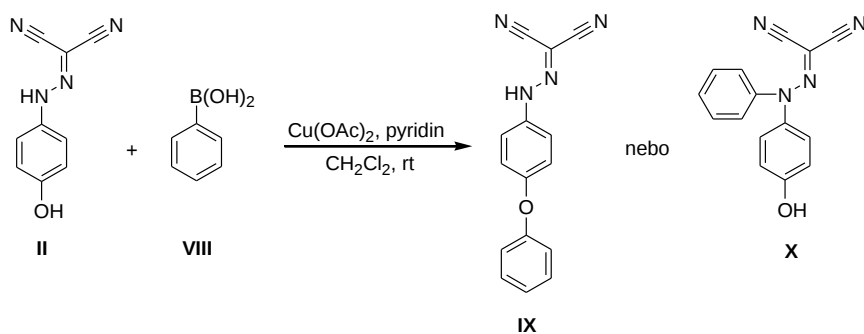


Schéma 46

Při reakci s pyrazolem **III** byl přidán nadbytek kyseliny fenyloboronové **VIII** a jako rozpouštědlo byl použit acetonitril (Schéma 47). Ostatní podmínky reakce byly zachovány. Tato reakce ovšem byla opět neúspěšná. Došlo ke vzniku komplikovanější směsi, ve které byla nezreagovaná kyselina fenyloboronová, ale očekávaný produkt nikoliv.

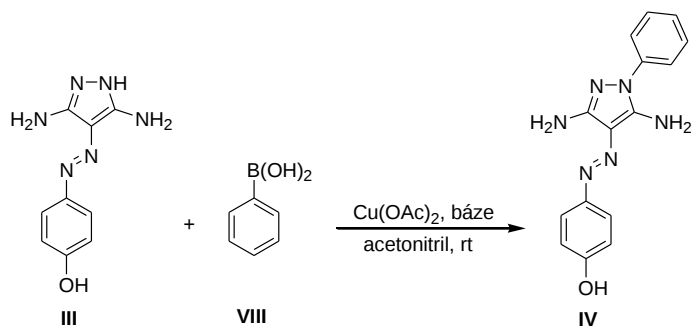


Schéma 47

Při posledním experimentu byl 1.0 ekv. pyrazolu **III** rozpuštěn v acetonitrilu a následně byl do vzniklé směsi přidán 1.5 ekv. kyseliny fenyloboronové **VIII** a 1.0 ekv. oxidu měďného (předem připravený reakcí monohydrátu octanu měďnatého s hydrazin hydrátem). Reakční směs se rozdělila na tři podíly. Do prvního podílu nebyla přidána báze, do druhého se přidalo 5.0 ekv. triethylaminu a do posledního podílu 5.0 ekv. pyridinu. Takto připravené reakční směsi se nechaly míchat přibližně týden, přičemž byly průběžně odebírány vzorky na analýzu.

U všech provedených experimentů nebyl pozorován požadovaný produkt. V reakční směsi byla pouze nezreagovaná kyselina fenyloboronová a látky, které nebyly identifikovány. Z časových důvodů se nadále v Chan-Lam coupling reakci nepokračovalo.

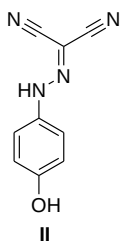
Při dalším studiu této problematiky by se měla vyzkoušet jiná rozpouštědla a množství přidané báze. Dále by se mělo ověřit, zda bezvodé prostředí a pořadí přidávaných látek, ovlivňuje průběh reakce.

4. Experimentální část

Všechny používané výchozí suroviny jsou komerčně dostupné a byly použity bez čištění.

LC-MS spektra byla měřena 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). ^1H a ^{13}C NMR spektra byla měřena v $\text{DMSO-}d_6$ při 25°C na spektrometru Varian 400 FT NMR.

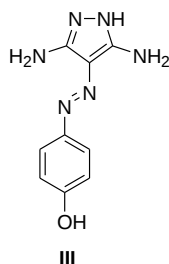
4.1 [2-(4-hydroxyfenyl)hydrazinyliden]propandinitril (II)



p-Aminofenol (8,73 g; 80 mmol) byl rozpuštěn za horka ve vodě (100 ml) a koncentrované kyselině chlorovodíkové (35 ml). Vzniklý roztok byl ochlazen ledem na přibližně $7-8^\circ\text{C}$. Dusitan sodný (5,52 g; 80 mmol) byl rozpuštěn ve vodě (20 ml) a tento roztok se opět ochladil na $7-8^\circ\text{C}$. Následně byl roztok dusitanu sodného za současného míchání a chlazení přidán do roztoku hydrochloridu. Vzniklá diazoniová sůl se nechala za současného chlazení 20 minut míchat.

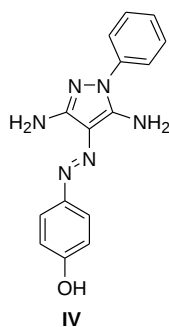
Malondinitril (5,81 g; 88 mmol) byl rozpuštěn ve vodě (500 ml), byl přidán bezvodý octan sodný (70 g) (kopulační roztok) a do tohoto kopulačního roztoku byl přidán roztok diazoniové soli. Reakční směs byla chlazená a míchaná po dobu 60 minut a poté byla dána na dva dny do lednice. Vyloučená pevná látka zlaté barvy byla odsáta, promyta vodou a vysušena na vzduchu. Výtěžek reakce činil 11,945 g (80,1%). MS (APCI): $m/z = 184,9$ $[\text{M-H}]^-$.

4.2 4-[(*E*)-(3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl]fenol (III)



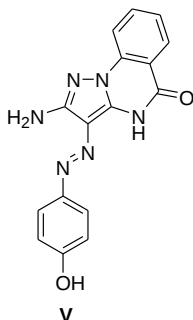
Hydrazon (2 g; 10,75 mmol) byl rozpuštěn v methanolu (100 ml). K tomuto roztoku byl přidán hydrazin monohydrát (0,80 ml; 16,125 mmol). Reakční směs se nechala refluxovat po dobu 4 hod. Poté byla reakční směs ochlazená na laboratorní teplotu, methanol byl odpařen na rotační vakuové odparce a vzniklý produkt byl rekrystalizován z vody (200 ml). Reakční směs byla nechána přes noc v lednici. Vyloučená sraženina žluté barvy byla odsáta, promyta malým množstvím vody a vysušena volně na vzduchu. Výtěžek reakce činil 1,91 g (81,3%). MS (APCI): $m/z = 219,0$ $[M+H]^+$.

4.3 4-[(*E*)-(3,5-diamino-1-fenyl-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl]fenol (IV)



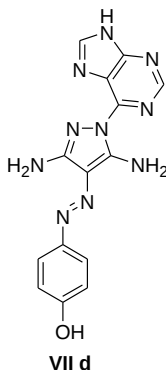
Hydrazon (186,2 mg; 1 mmol) byl rozpuštěn v methanolu (5 ml). K roztoku byl přidán fenylhydrazin (150 μ l; 1,5 mmol) a reakční směs se nechala refluxovat po dobu 5 hod. Poté byla reakční směs ochlazená na laboratorní teplotu a methanol byl odpařen na rotační vakuové odparce. Vyloučená sraženina oranžovohnědé barvy byla odsáta, promyta malým množstvím vody a vysušena volně na vzduchu. Výtěžek reakce činil 213,1 mg (72,4%). MS (APCI): $m/z = 295,1$ $[M+H]^+$.

4.4 2-amino-3-[(*E*)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]pyrazolo[1,5-a]chinazolin-5(4*H*)-on (V)



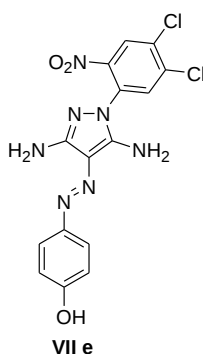
Hydrazon (186,2 mg; 1mmol) byl rozpuštěn v methanolu (5 ml). K roztoku byl přidán hydrochlorid kyseliny 2-hydrazinobenzoové (284,4 mg; 1,5 mmol) a uhličitan draselný (207,3 mg; 1,5 mmol). Reakční směs se nechala refluxovat po dobu 4 hod. Poté byl přidán triethylamin (0,63 ml; 5 mmol) a opět se směs nechala refluxovat po dobu 1 hod. Methanol byl odpařen na rotační vakuové odparce a sraženina byla rozpuštěna v 10 ml vody. K tomuto roztoku byl přidán chlorid amonný (160,5 mg; 3 mmol) rozpuštěný v minimálním množství vody. Vyloučená sraženina oranžovohnědé barvy byla odsáta, promyta vodou a vysušena volně na vzduchu. Výtěžek reakce činil 174,8 mg (60,5%). ^1H NMR (400 MHz; DMSO – d_6): δ 9,88 (bs; 1H); 8,13 (dd; $J=7,8$ a 1,2 Hz; 1H); 7,89-7,79 (m; 4H); 7,41 (td; $J=7,4$ a 1,2 Hz; 1H); 6,85 (d; $J=9$ Hz; 2H); 6,54 (s; 2H). ^{13}C NMR (100 MHz; DMSO- d_6): 158,9; 158,6; 149,5; 146,1; 137,2; 135,3; 128,1; 124,3; 123,3; 116,2; 115,5; 113,8; 112,0. MS (APCI): m/z = 321,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

4.5 4-[(*E*)-[3,5-diamino-1-(9*H*-purin-6-yl)-1*H*-pyrazol-4-yl]diazenyl]fenol (VII d)



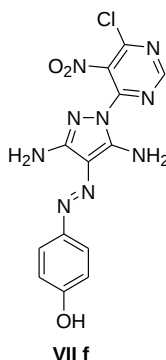
Pyrazol (109,1 mg; 0,5 mmol) byl rozpuštěn v ethylenglykolmonomethyletheru (5 ml). K roztoku byl přidán 6-chlorpurin (77,3 mg; 0,5 mmol) a triethylamin (70 μ l; 0,5 mmol). Reakční směs se nechala refluxovat po dobu 7 hod, poté byla přidána voda (25 ml) a směs se nechala přes noc v lednici. Vyloučená sraženina hnědé barvy byla odsáta, promyta vodou a vysušena volně na vzduchu. Výtěžek reakce činil 60,1 mg (35,7%). MS (APCI): m/z = 337,1 $[M+H]^+$.

4.6 4-*[(E)-[3,5-diamino-1-(4,5-dichlor-2-nitrofenyl)-1H-pyrazol-4-yl]diazenyl]*fenol (VII e)



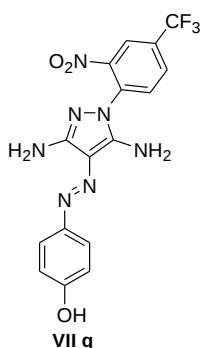
Pyrazol (109,1 mg; 0,5 mmol) byl rozpuštěn v ethylenglykolmonomethyletheru (5 ml). K roztoku byl přidán 1,2-dichlor-4-fluor-5-nitrobenzen (105 mg; 0,5 mmol) a triethylamin (70 μ l; 0,5 mmol). Reakční směs se nechala refluxovat po dobu 4 hod. Ethylenglykolmonomethylether byl odpařen na rotační vakuové odparce. Vzniklý produkt byl rekrystalizován z methanolu s přidavkem vody. Vyloučená sraženina hnědé barvy byla odsáta, promyta vodou a vysušena volně na vzduchu. Výtěžek reakce činil 128,4 mg (62,9%). MS (APCI): m/z = 409,9 $[M+H]^+$.

4.7 4-*[(E)-[3,5-diamino-1-(6-chlor-5-nitropyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-4-yl]diazenyl]*fenol (VII f)



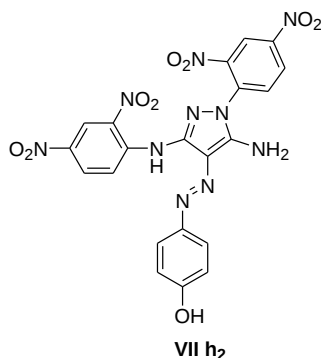
Pyrazol (109,1 mg; 0,5 mmol) byl rozpuštěn v ethylenglykolmonomethyletheru (5 ml). K roztoku byl přidán 4,6-dichlor-5-nitropyrimidin (96,7 mg; 0,5 mmol) a triethylamin (70 μ l; 0,5 mmol). Reakční směs se nechala refluxovat po dobu 2 hod. Ethylenglykolmonomethylether byl odpařen na rotační vakuové odparce. Vzniklý produkt byl rekrystalizován z methanolu s přidavkem vody. Vyloučená sraženina hnědé barvy byla odsáta, promyta vodou a vysušená volně na vzduchu. Výtěžek reakce činil 164,3 mg (87,5%). MS (APCI): $m/z = 376,0$ $[M+H]^+$.

4.8 4-[(E)-{3,5-diamino-1-[2-nitro-4-(trifluormethyl)fenyl]-1H-pyrazol-4-yl}diazenyl]fenol (VII g)



Pyrazol (109,1 mg; 0,5 mmol) byl rozpuštěn v ethylenglykolmonomethyletheru (5 ml). K roztoku byl přidán 1-fluor-2-nitro-4-(trifluormethyl)benzen (70 μ l; 0,5 mmol) a triethylamin (70 μ l; 0,5 mmol). Reakční směs se nechala refluxovat po dobu 5 hod. Ethylenglykolmonomethylether byl odpařen na rotační vakuové odparce. Vzniklý produkt byl rekrystalizován z methanolu s přidavkem vody. Vyloučená sraženina hnědočerné barvy byla odsáta, promyta vodou a vysušená volně na vzduchu. Výtěžek reakce činil 202,1 mg (99,1%). MS (APCI): $m/z = 408,0$ $[M+H]^+$.

4.9 4-{{(E)-[3,5-diamino-1-(2,4-dinitrofenyl)-1H-pyrazol-4-yl]diazenyl}fenol (VII h₂)



Pyrazol (109,1 mg; 0,5 mmol) byl rozpuštěn v ethylenglykolmonomethyletheru (5 ml). K roztoku byl přidán 2,4-dinitrofluorbenzen (63,3 μ l; 0,5 mmol) a triethylamin (70 μ l; 0,5 mmol). Reakční směs se nechala refluxovat po dobu 1 hod, poté byl přidán opět 2,4-dinitrofluorbenzen (10 μ l) a triethylamin (10 μ l) a směs se nechala opět refluxovat po dobu 1 hod. Ethylenglykolmonomethylether byl odpařen na rotační vakuové odparce a poté byl přidán methanol, který byl následně také odpařen na rotační vakuové odparce. Produkt byl vysrážen z methanolu s přídavkem vody.

Došlo ke vzniku mono- a disubstituovaného pyrazolu. Pomocí sloupcové chromatografie byly tyto dva produkty od sebe odděleny. Jako mobilní fáze byla použita směs chloroformu a methanolu v poměru 40:1. Výtěžek byl velmi malý v řádu mg. MS (APCI): $m/z = 551,0 [M+H]^+$.

5. Závěr

Cílem bakalářské práce bylo studium cyklizační reakce, aromatické nukleofilní substituce a Chan- Lam coupling reakce.

V teoretické části byly popsány vybrané způsoby příprav pyrazolového cyklu, biologická aktivita vybraných derivátů pyrazolu, mechanismus a princip aromatické nukleofilní substituce a Chan-Lam Coupling reakce. Předmětem praktické části bylo připravit hydrazon **II**, který představoval výchozí látku pro přípravu pyrazolů **III**, **IV** a **V**. Pyrazol **III** byl následně použit jako výchozí látka při aromatických nukleofilních substitucích a Chan-Lam coupling reakci. Reakcí hydrazonu **II** a fenyhydrazinu **b** vznikl pyrazol **IV**, který představoval referenční vzorek pro případný produkt v Chan-Lam coupling reakci. Dále se při cyklizační reakci použil hydrochlorid kyseliny 2-hydrazinobenzoové **c** za vzniku pyrazolochinazolinu **V**. Tato reakce byla zajímavá v tom, že neproběhla pouze cyklizace za vzniku kyseliny **VI**, ale zároveň došlo k cyklokondenzační reakci za vzniku produktu **V**. U reakce s 4-nitrofenylhydrazinem šlo o ověření předpokladu, že tato sloučenina bude méně ochotně cyklizovat za vzniku pyrazolů.

U aromatických nukleofilních substitucí bylo cílem prozkoumat reaktivitu diaminopyrazolového systému a zjistit, na kterou část molekuly pyrazolu bude substituce probíhat. Zatím nelze ze získaných experimentálních výsledků jednoznačně potvrdit, že aromatická nukleofilní substituce probíhá dominantně na endocyklický pyrazolový dusík. Nicméně lze předpokládat na základě analogie s acylačními reakcemi, že substituce bude probíhat na zmíněném dusíku.

Předmětem studia Chan-Lam coupling reakce bylo vyzkoušet, zda reakce na substrátech **II** a **III** probíhá a jestli dojde k *O*- nebo *N*-arylaci sloučenin **II** a **III**. Při prvních pokusech, které byly provedeny, nebyl pozorován požadovaný produkt. U provedených experimentů se jako rozpouštědlo použil dichlormethan a acetonitril a jako báze triethylamin a pyridin. Z časových důvodů se v Chan-Lam coupling reakci nepokračovalo. Při dalším studiu této problematiky by bylo zajímavé vyzkoušet jiná rozpouštědla, poměry a pořadí přidávaných látek.

6. Seznam použité literatury

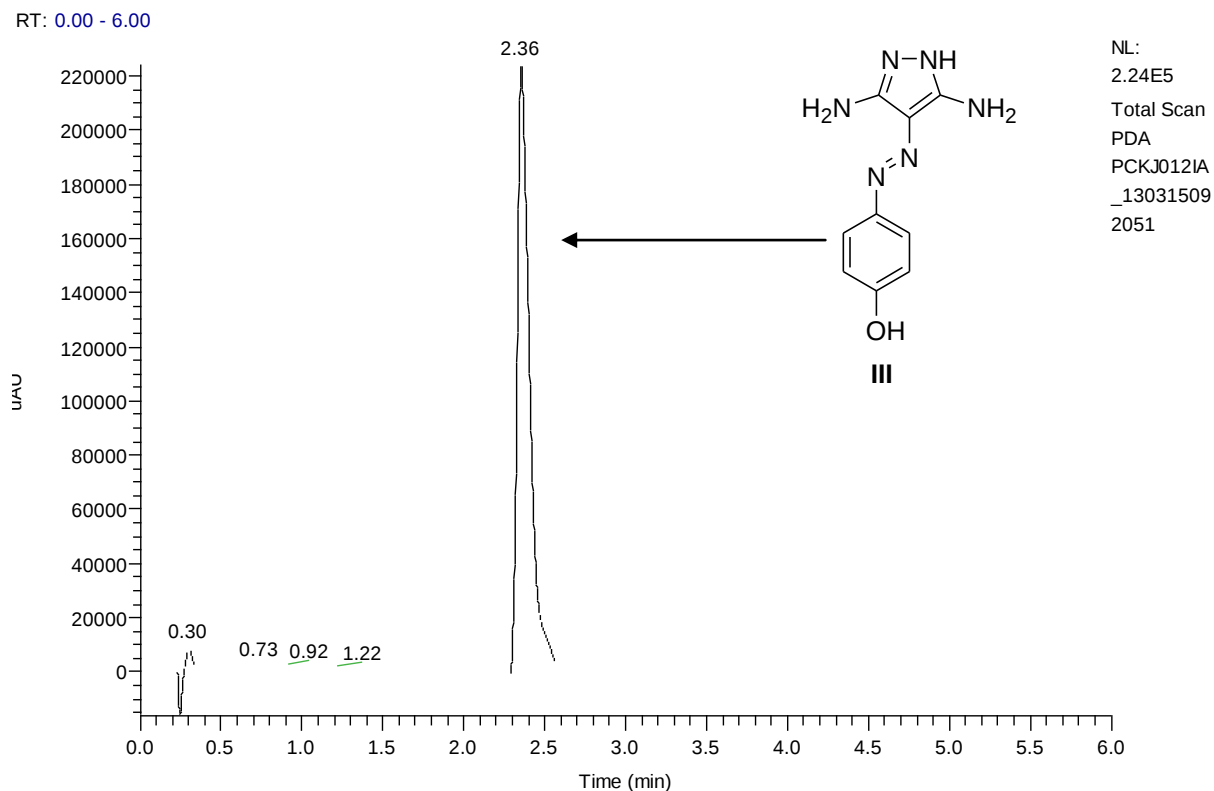
1. Deng, X.; Mani, N. S. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1307.
2. Turan-Zitouni, G.; Sivaci, M.; Kilic, F. S.; Erol, K. *J. Med. Chem.* **2001**, *36*, 685.
3. Von Ragué Schleyer, P.; Mearker, C.; Dransfeld, A.; Jiao, H. van Eikema Hommes, N. J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6317.
4. Zora, M.; Kivrak, A. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 9379.
5. Schmidt, A.; Dreger A. *Curr. Org. Chem.* **2011**, *15*, 1423.
6. Sammes, M. P.; Katritzky, A. R. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1983**, *34*, 1.
7. Červinka O., Dědek V., Ferles M. *Organická chemie*; SNTL: Praha 1991.
8. Huang, Y. R.; Katzenellenbogen, J. A. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2833.
9. Garcia, H.; Iborra, S.; Miranda, M. A. *Heterocycles* **1991**, *32*, 1745.
10. Nakano, Y.; Hamaguchi, M.; Nagai, T. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 5912.
11. Felding, J.; Kristensen, J.; Bjerregaard, T.; Sander, L.; Vedsø, P.; Begtrup, M. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4196.
12. Jones, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 3994.
13. Finar, I. L.; Hurlock, R. J. *J. Chem. Soc.* **1957**, 3024.
14. Franke, W.; Kraft, R. *Chem. Ber.* **1953**, *86*, 797.
15. Jones, R. G.; Mann, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 4048.
16. Wiley, R. H.; Hexner, P. E. *Org. Synth. Coll. Vol. IV.* **1963**, 351.
17. Von Rothenburg, R. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1894**, *27*, 1097.
18. Cankař, P.; Wiedermannová, I.; Slouka, J. *Acta Universitatis Palackianae Olomucensis, Facultas Rerum Naturalium, Chemica.* **2002**, *41*, 7.
19. Freeman, F. *Chem. Rev.* **1969**, *69*, 591.
20. Elnagdi, M. H.; Allah, S. O. A. *J. Prakt. Chem.* **1973**, *315*, 1009.
21. Padwa, A., Pearson, W. H. Eds. *Synthetic Applications of 1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry toward Heterocycles and Natural Products*; John Wiley and Sons: New York, 2002.
22. Atherton, J. H.; Fields, R. *J. Chem. Soc. C.* **1968**, 1507.
23. Guillermin, G.; Honore, A. L.; Veinard, L.; Pourcelot, G.; Benaim, J. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1973**, 2739.
24. Stanovnik, B.; Svete, J. *Science of Synthesis*, **2002**, *12*, 15.

25. Huisgen, R.; Knupfer, H.; Sustmann, R.; Wallbillich, G.; Weberndörfer, V. *Chem. Ber.* **1967**, *100*, 1580.
26. Huisgen, R.; Adelsberger, K.; Aufderhaar, E.; Knupfer, H.; Wallbillich, G. *Monatsh. Chem.* **1967**, *98*, 1618.
27. Fliege, W.; Grashey, R.; Huisgen, R. *Chem. Ber.* **1984**, *117*, 1194.
28. Begtrup, M.; Nytoft, H. P. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.* **1985**, 81.
29. Parham, W. E.; Dooley, J. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 985.
30. Finar, I. L.; Godfrey, K. E. *J. Chem. Soc.* **1954**, 2293.
31. Wartski, L.; Wakselman, C.; Escudero, A. S. *Tetrahedron Lett.* **1970**, 4193.
32. Nagel, D. L.; Cromwell, N. H. *J. Heterocycl. Chem.* **1974**, *11*, 1093.
33. Cromwell, N. H.; Hoeksema, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 716.
34. Pätzelt, M.; Liebscher, J. *J. Heterocycl. Chem.* **1991**, *28*, 1257.
35. Bell, F. *J. Chem. Soc.* **1941**, 285.
36. Elguero, J.; Martínez, A.; Singh, S. P.; Grover, M.; Tarar, L. S. *J. Heterocycl. Chem.* **1990**, *27*, 865.
37. Van der Plas, H. C.; Jongejan, H. *Tetrahedron Lett.* **1967**, 4385.
38. Van der Plas, H. C.; Jongejan, H.; Koudijs, A. *J. Heterocycl. Chem.* **1978**, *15*, 485.
39. Padwa, A. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 1274.
40. Hüttel, R.; Franke, K.; Martin, H.; Riedl, J. *Chem. Ber.* **1960**, *93*, 1433.
41. Majchrzak, M. W.; Jefferson, E.; Warkentin, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 2449.
42. McMurry, J. *Organická chemie*; Vutium: Brno, 2007.
43. Červinka, O. a kol. *Mechanismy organických reakcí*; SNTL: Praha, 1981.
44. March, J. *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*; John Wiley and Sons: 1992.
45. Meisenheimer, J. *Liebigs Ann. Chem.* **1902**, *323*, 205.
46. Strauss, M. J. *Chem. Rev.* **1970**, *70*, 667.
47. Gandler, J. R.; Setiarahardjo, I. U.; Tufon, Ch.; Chen, Ch. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 4169.
48. Rao, K. S.; Wu, T.-S. *Tetrahedron.* **2012**, *68*, 7735.
49. Chan, D. M. T.; Monaco, K. L.; Li, R.; Bonne, D.; Clark, C. G.; Lam, P. Y. S. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 3863.
50. Chan, D. M. T.; Monaco, K. L.; Wang, R. P.; Winters, M. P. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2933.

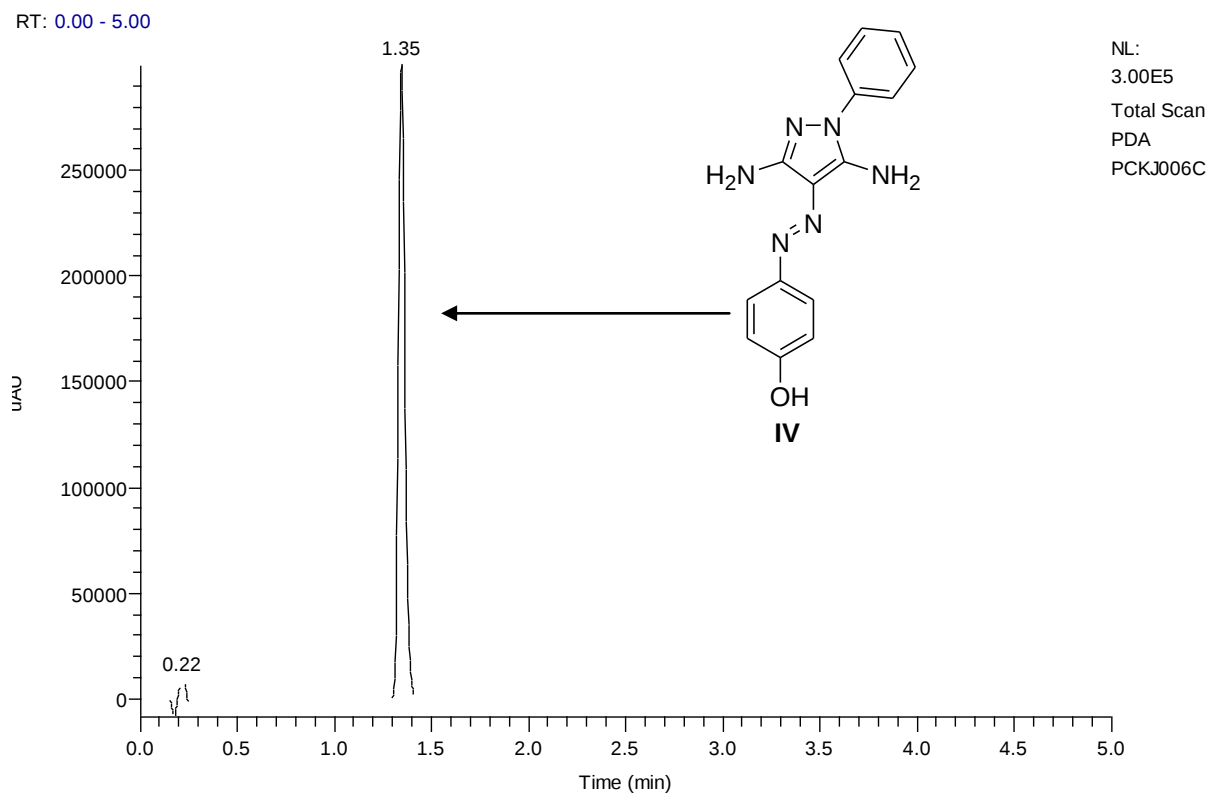
51. Lam, P. Y. S.; Clark, C.G.; Saubern, S.; Adams, J.; Winters, M. P.; Chan, D. M. T.; Combs, A. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 2941.
52. Ji, N.; Meredith, E.; Liu, D. Adams, Ch. M.; Artman III, G. D.; Jendza, K. C.; Ma, F.; Mainolfi, N.; Powers, J. J.; Zhang, Ch. *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 6799.
53. Breukelman, S. P.; Meakins, G. D.; Tirel, M. D. *J. Chem. Soc., Chem Commun.* **1982**, 800.
54. Bénard, S.; Neuville, L.; Zhu, J. *J. Org.Chem.* **2008**, 73, 6441.
55. Molander, G. A.; Figueroa, R. *Aldrichim. Acta* **2005**, 38, 49.
56. Lan, R.; Liu, Q.; Fan, P.; Lin, S.; Fernando, S. R.; McCallion, D.; Pertwee, R.; Makriyannis, A. *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 769.
57. Castagnolo, D.; Manetti, F.; Radi, M.; Bechi, B.; Pagano, M.; De Logu, A.; Meleddu, R.; Saddi, M.; Botta, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, 17, 5716.
58. Moore, K. W.; Bonner, K.; Jones, E. A.; Emms, F.; Leeson, P. D.; Marwood, R.; Patel, S.; Rowley, M.; Thomas, S.; Carling, R. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 1285.
59. Nargund, L. V. G.; Hariprasad, V.; Reddy, G. R. N. *J. Pharm. Sci.* **1992**, 81, 892.
60. Singh, S. P.; Naithani, R.; Aggarwal, R.; Prakesh, O. *Indian J. Heterocycl. Chem.* **1992**, 11, 27.
61. Ouyang, G.; Cai, X. J.; Chen, Z.; Song, B. A.; Bhadury, P. S.; Yang, S.; Jin, L. H.; Xue, W.; Hu, D. Y.; Zeng, S. J. *Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 10160.
62. Almansa, C.; Gomez, L. A.; Cavalcanti, F. L.; Arriba, A. F.; Rafanell, J. D.; Form, J. G. *J. Med. Chem.* **1997**, 40, 547.
63. Stauffer, S. R.; Katzenellenbogen, J. A. *J. Comb. Chem.* **2000**, 2, 318.
64. Fabbro, D.; Ruetz, S.; Buchdunger, E.; Cowan-Jacob, S. W.; Fendrich, G.; Liebetanz, J.; Mestan, J.; O'Reilly, T.; Traxler, P.; Chaudhuri, B.; Fretz, H.; Zimmermann, J.; Meyer, T.; Caravatti, G.; Furet, P.; Manley, P. W. *Pharmacol. Ther.* **2002**, 93, 79.
65. Schütznerová, E.; Popa, I.; Kryštof, V.; Koshino, H.; Trávníček, Z.; Hradil, P.; Cankař, P. *Tetrahedron* **2012**, 68, 3996.
66. Morgan, D. O. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **1997**, 13, 261.
67. Sherr, C. J. *Science* **1996**, 274, 1672.
68. Kryštof, V.; Cankař, P.; Fryšová, I.; Slouka, J.; Kontopidis, G.; Džubák, P.; Hajdúch, M.; Srovnal, J.; de Azevedo, W. F.; Orság, M.; Paprskářová M.; Rolčík J.; Látr A.; Fischer P.M.; Strnad M. *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 6500.
69. Kinali-Demirci, S.; Demirci, S.; Kurt, M. *Spectrochim. Acta.* **2013**, 106, 12.

70. Xu, S.; Li, S.; Tang, Y.; Zhang, J.; Wang, S.; Zhou, C.; Li, X. *Med. Chem. Res.* **2013**.
71. Pathak, R. B.; Chovatia, P. T.; Parekh, H. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 5129.

7. Přílohy

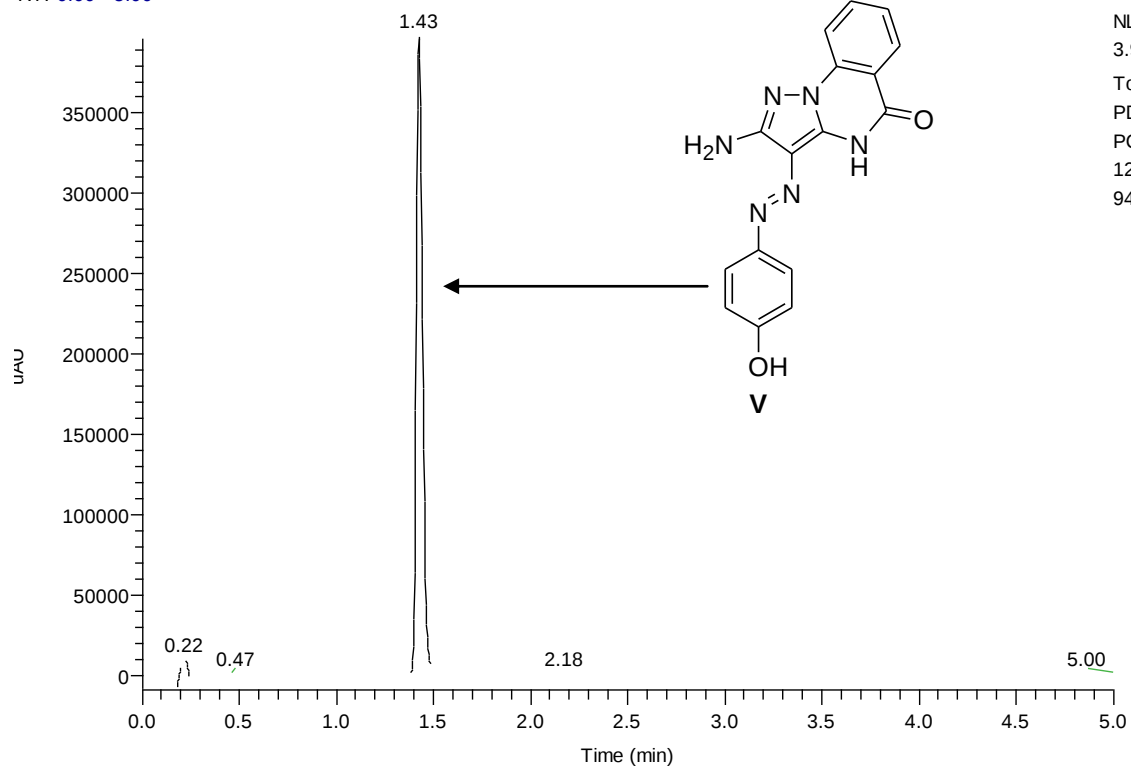


Příloha 1



Příloha 2

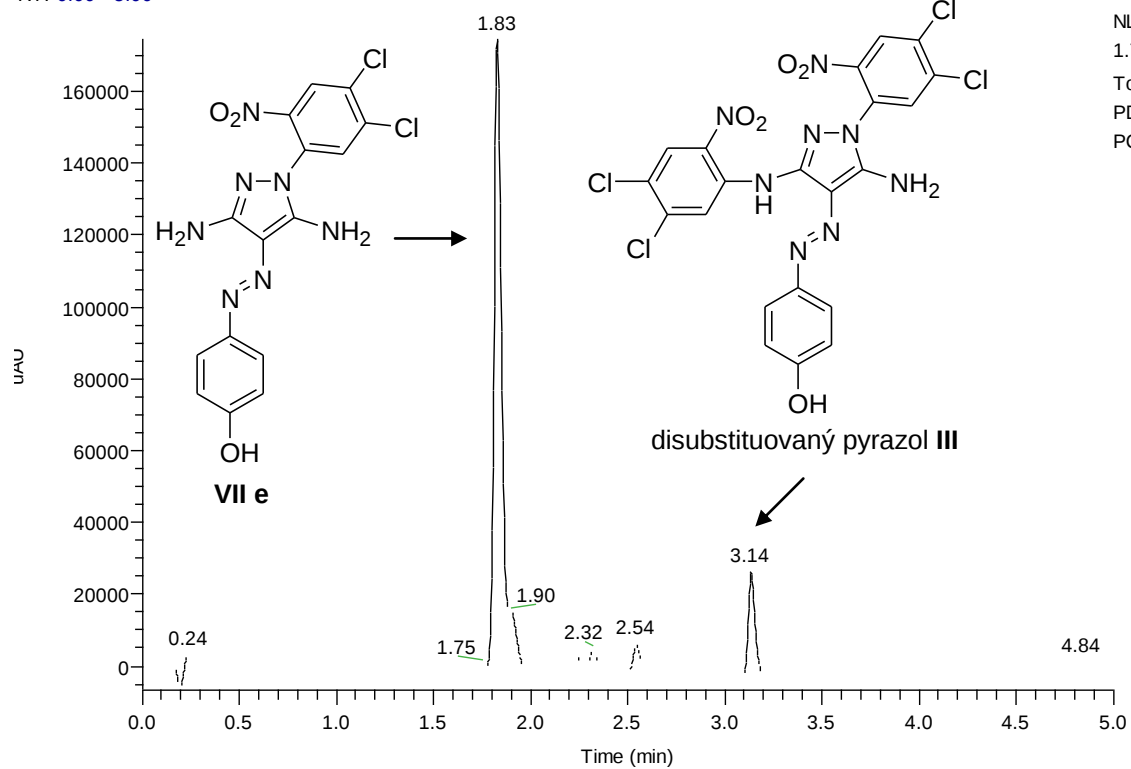
RT: 0.00 - 5.00



NL:
3.97E5
Total Scan
PDA
PCKJ007D_
120905131
945

Příloha 3

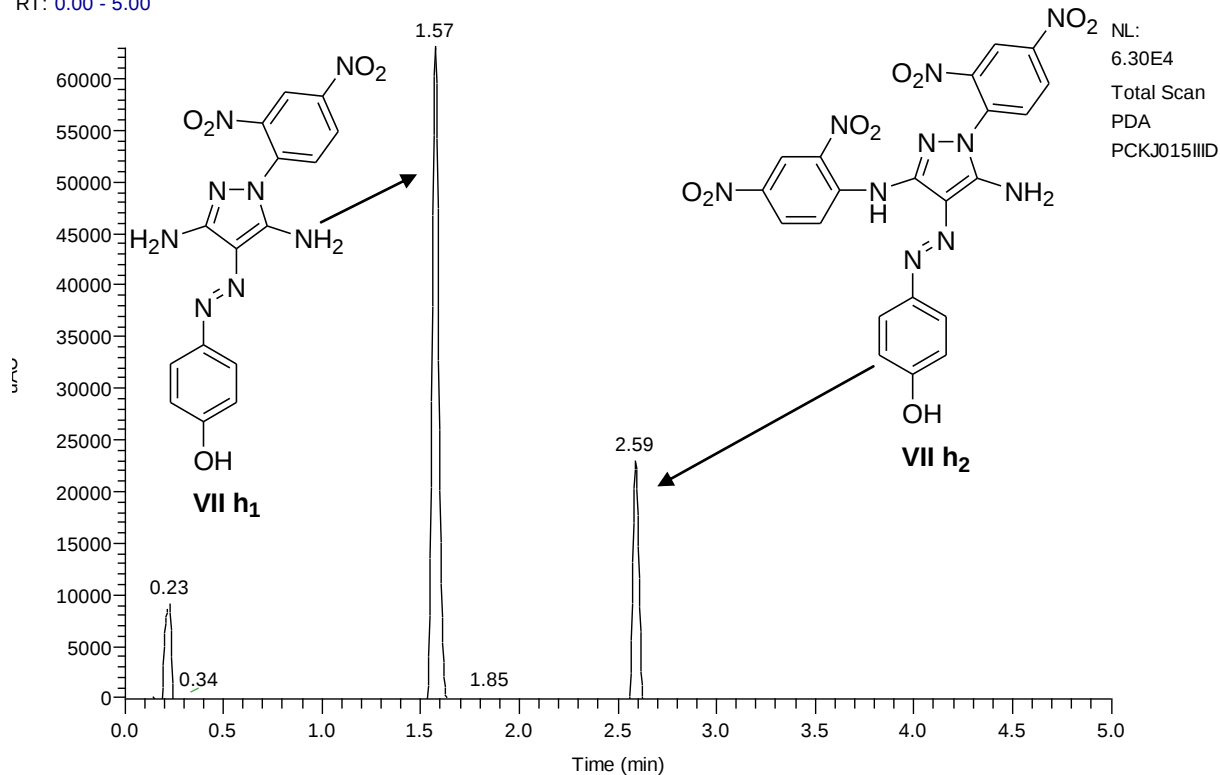
RT: 0.00 - 5.00



NL:
1.75E5
Total Scan
PDA
PCKJ023E

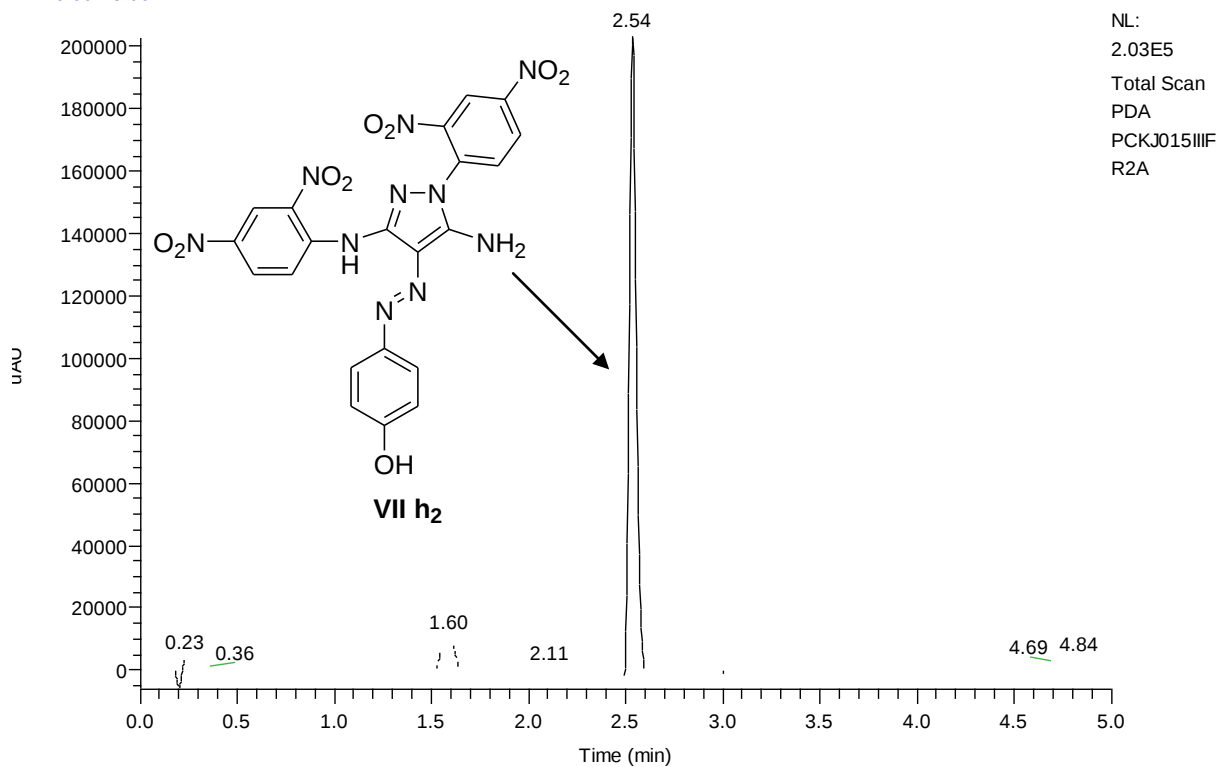
Příloha 4

RT: 0.00 - 5.00

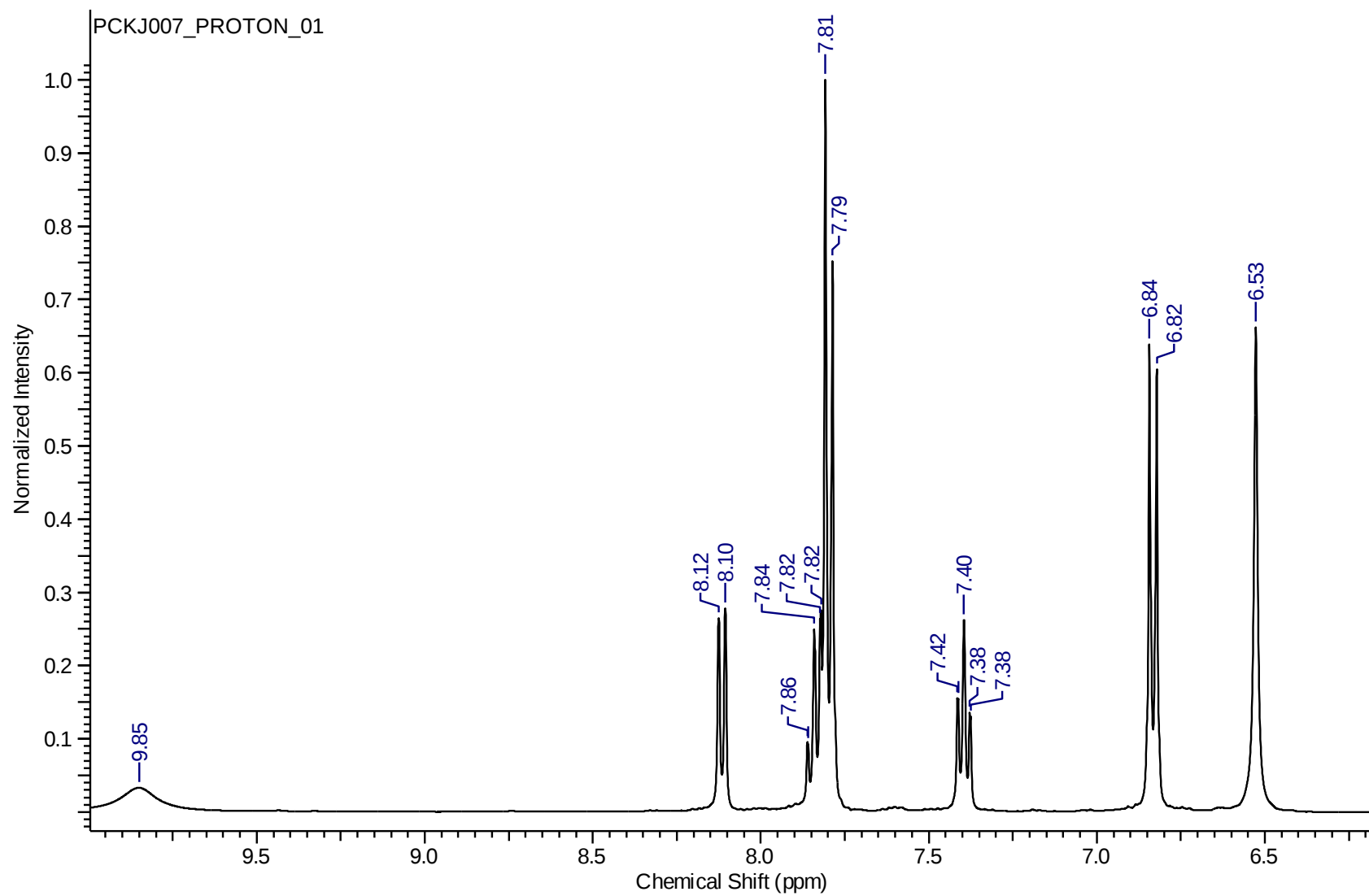


Příloha 5 Reakční směs před sloupcovou chromatografií.

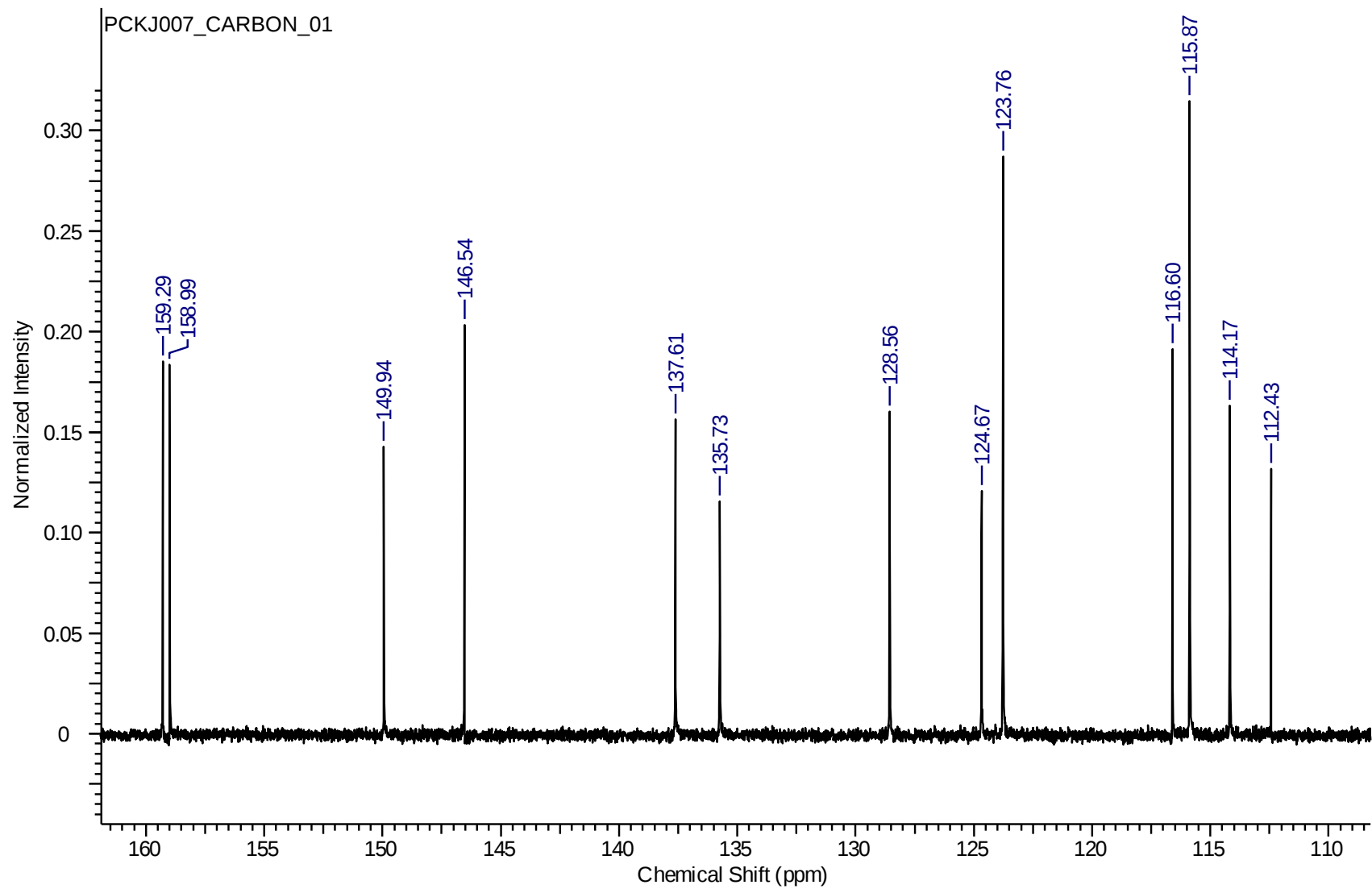
RT: 0.00 - 5.00



Příloha 6 Izolovaný produkt VII h₂ po sloupcové chromatografii.



Příloha 7 2-amino-3-[(*E*)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]pyrazolo[1,5-*a*]chinazolin-5(4*H*)-on (V) ^1H NMR.



Příloha 8 2-amino-3-[(*E*)-(4-hydroxyfenyl)diazenyl]pyrazolo[1,5-*a*]chinazolin-5(4*H*)-on (V) ^{13}C NMR.