

**UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI**  
**Přírodovědecká fakulta**  
Katedra organické chemie



Syntéza derivátů (*E*)-*N*-alkyl(aryl)-4-(2-  
((het)aryl)vinyl)-1*H*-pyrazol-3-karboxamidu

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

Autor: Bc. Daniel Toman

Studijní obor: Organická chemie

Vedoucí práce: Doc. RNDr. Petr Cankař, Ph.D.

Olomouc 2018

## **Poděkování**

Na tomto místě bych chtěl poděkovat zejména svému vedoucímu práce, Doc. RNDr. Petru Cankařovi, Ph.D. ze jeho odborné vedení, cenné rady a připomínky a za jeho čas, který mi v době vedení této práce věnoval. Dále pak chci vyjádřit svůj dík celému osazenstvu katedry organické chemie za vytvoření příjemného a přátelského pracovního prostředí. A v neposlední řadě chci poděkovat Adéle Voové za podporu a za všechen společný čas, strávený v laboratoři.

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně pod vedením doc. RNDr. Petra Cankáře, Ph.D., a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

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

V Olomouci, 9. 5. 2018

.....

Bc. Daniel Toman

## Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Bc. Daniel Toman

Název práce: Syntéza derivátů (*E*)-*N*-alkyl(aryl)-4-(2-((het)aryl)vinyloxy)-*1H*-pyrazol-3-karboxamidu

Typ práce: Diplomová

Pracoviště: Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

Školitel: doc. RNDr. Petr Cankař, Ph.D.

Rok obhajoby práce: 2018

### Abstrakt:

Stěžejním bodem diplomové práce byl vývoj syntézy vedoucí k potenciálně biologicky aktivních derivátů pyrazolu, které mohou inhibovat cyklin-dependentní kinázy. Klíčovými reakcemi, jež zahrnovala syntetická cesta vedoucí k cílovým derivátům, byly Suzuki-Miyauraova cross-couplingová reakce a aminolýza karboxylové skupiny po předchozí aktivaci, přičemž prekurzorem syntézy byl již dříve připravený, (*E*)-ethyl 4-(2-bromvinyloxy)-1-(2,4-dinitrofenyl)-*1H*-pyrazol-3-karboxylát. V práci jsou popsány všechny reakce, jež vedly k cílovým derivátům, včetně neúspěšných pokusů. V teoretické části pak byla vypracována rešerše, jež se zabývá problematikou palladiem katalyzovaných, cross-couplingových reakcí a metodami příprav amidů z karboxylových kyselin a popř. jejich derivátů.

Klíčová slova: pyrazoly, CDK inhibitory, Suzuki-Miyauraova cross-couplingová reakce, amidy

Počet stránek: 74

Jazyk: čeština

**Bibliographical identification:**

Author's first name and surname: Bc. Daniel Toman

Title: Synthesis of (*E*)-*N*-alkyl(aryl)-4-(2-((het)aryl)vinyl)-*1H*-pyrazole-3-carboxamide derivatives

Type of thesis: Diploma

Department: Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, Palacký University

Advisor: doc. RNDr. Petr Cankař, Ph.D.

The year of presentation: 2018

**Abstract:**

The diploma thesis was focused on the development of the synthesis leading to the pyrazole derivatives with potential CDK inhibition activity. Two main reactions in the synthetic route were Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction and amide coupling. Starting material was previously prepared (*E*)-ethyl 4-(2-bromovinyl)-1-(2,4-dinitrophenyl)-*1H*-pyrazole-3-carboxylate. There are described all of reactions which led to the target substances and also unsuccessful experiments and dead-end synthetic routes. In the theoretical part palladium catalysed cross-coupling reactions and methods of amide coupling were reviewed.

Keywords: pyrazoles, CDK inhibitors, Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction, amides

Number of pages: 74

Language: Czech

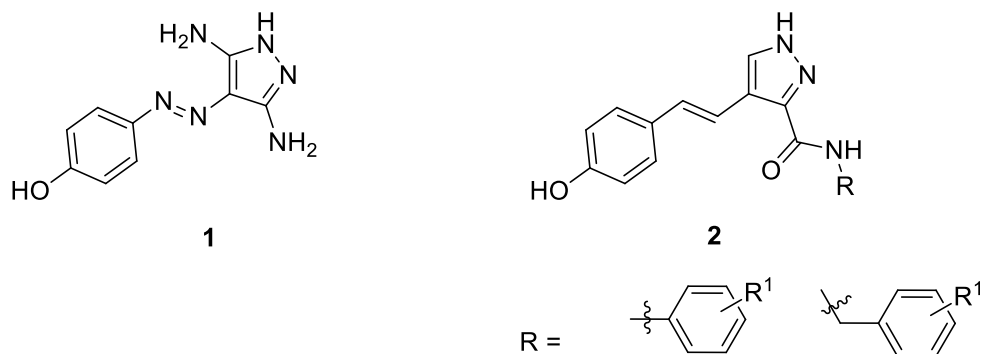
## OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD.....</b>	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>TEORETICKÁ ČÁST.....</b>	<b>9</b>
2.1	PALLADIEM KATALYZOVANÉ CROSS-COUPLOINGOVÉ REAKCE.....	9
2.1.1	<i>Reakční mechanismus.....</i>	10
2.1.2	<i>Kumada coupling.....</i>	12
2.1.3	<i>Negishiho reakce.....</i>	13
2.1.4	<i>Heckova reakce.....</i>	14
2.1.5	<i>Suzuki-Miyauraova cross-couplingová reakce.....</i>	15
2.2	PŘÍPRAVA AMIDŮ KARBOXYLOVÝCH KYSELIN.....	17
2.2.1	<i>Příprava amidů za pomoci tvorby acyl chloridů.....</i>	18
2.2.2	<i>Příprava amidů za pomoci CDI.....</i>	20
2.2.3	<i>Příprava amidů za pomoci tvorby anhydridů.....</i>	22
2.2.4	<i>Příprava amidů za pomoci T3P.....</i>	24
2.2.5	<i>Příprava amidů za katalýzy boronovými kyselinami.....</i>	25
2.2.6	<i>Příprava amidů z esterů karboxylových kyselin.....</i>	26
<b>3</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE.....</b>	<b>31</b>
3.1	PŘÍPRAVA VÝCHOZÍHO VINYL BROMIDU II.....	31
3.1.1	<i>Vilsmeier-Haackova reakce.....</i>	32
3.1.2	<i>Hunsdieckerova reakce.....</i>	35
3.2	PŘÍPRAVA CÍLOVÝCH SLOUČENIN.....	36
3.2.1	<i>Suzuki-Miyauraova cross-couplingová reakce.....</i>	37
3.2.2	<i>Deprotekce chránících skupin.....</i>	47
3.2.3	<i>Příprava potenciálně biologicky aktivních amidů.....</i>	53
<b>4</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....</b>	<b>59</b>
4.1	PŘÍPRAVA INTERMEDIÁTŮ.....	59
4.1.1	<i>Ethyl 1-(2,4-dinitrofenyl)-4-formyl-1H-pyrazol-3-karboxylát.....</i>	59
4.1.2	<i>(E)-ethyl 4-(2-bromvinyl)-1-(2,4-dinitrofenyl)-1H-pyrazol-3-karboxylát.....</i>	60
4.1.3	<i>(E)-4-(4-methoxystyryl)-1H-pyrazol-3-karboxylová kyselina.....</i>	61
4.1.4	<i>(E)-ethyl 1-(2,4-dinitrofenyl)-4-(4-hydroxystyryl)-1H-pyrazol-3-karboxylát.....</i>	61
4.1.5	<i>(E)-ethyl 4-(4-hydroxystyryl)-1H-pyrazol-3-karboxylát.....</i>	62
4.1.6	<i>(E)-4-(4-hydroxystyryl)-1H-pyrazol-3-karboxylová kyselina.....</i>	63
4.1.7	<i>4-(5,5-dimethyl-1,3,2-dioxaborinan-2-yl)pyridin.....</i>	63
4.2	PŘÍPRAVA CÍLOVÝCH LÁTEK.....	64
4.2.1	<i>Obecný postup přípravy cílových látek.....</i>	64

4.2.2	(E)-N-benzyl-4-(4-hydroxystyryl)-1H-pyrazol-3-karboxamid .....	65
4.2.3	(E)-4-(4-hydroxystyryl)-N-(4-methoxybenzyl)-1H-pyrazol-3-karboxamid .....	65
4.2.4	(E)-N-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ylmethyl)-4-(4-hydroxystyryl)-1H-pyrazol-3- karboxamid .....	66
4.2.5	(E)-4-(4-hydroxystyryl)-N-fenyl-1H-pyrazol-3-karboxamid .....	66
4.2.6	(E)-N-(4-bromobenzyl)-4-(4-hydroxystyryl)-1H-pyrazol-3-karboxamid .....	67
4.2.7	(E)-N-(3,4-dimethoxyfenyl)-4-(4-hydroxystyryl)-1H-pyrazol-3-karboxamid .....	67
4.2.8	(E)-4-(4-hydroxystyryl)-N-(4-methoxyfenyl)-1H-pyrazol-3-karboxamid .....	68
<b>5</b>	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>69</b>
<b>6</b>	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>71</b>

# 1 Úvod

Cyklin-dependentní kinázy jsou skupina enzymů, jež hrají nezbytnou roli v regulaci buněčného cyklu. Jejich inhibitory představují značný potenciál z hlediska přípravy nových protinádorových léčiv.<sup>1</sup>



Jedním ze známých derivátů pyrazolu, jež vykazuje biologickou aktivitu, jakožto inhibitor cyklin-dependentních kináz, je sloučenina **1**.<sup>1</sup> Tato struktura představuje velký potenciál z hlediska možnosti přípravy strukturních analog, jež by vykazovaly podobnou, či dokonce vyšší CDK inhibiční aktivitu.

Tato práce si dává za cíl přípravu jednoho typu těchto strukturních analog **2**, konkrétně se jedná o záměnu azo skupiny za vinylový můstek a záměnu amino skupiny v poloze 3 pyrazolu, za karboxamidovou skupinu, obsahující arylový substituent.

Výchozí látkou pro přípravu látek **2** byl již dříve připravený (*E*)-ethyl 4-(2-bromvinyl)-1-(2,4-dinitrofenyl)-*1H*-pyrazol-3-karboxylát a syntetická cesta zahrnovala 2 klíčové reakce, jimiž byly Suzuki-Miyauraova cross-couplingová reakce a příprava amidu z karboxylové kyseliny.

V teoretické části byla poté vypracována rešerše, jež se zabývá problematikou palladiem katalyzovaných, cross-couplingových reakcí a různými metodami aktivace karboxylové kyseliny pro přípravu amidů.



## 2 Teoretická část

Teoretická část je rozdělena na dvě části. Ta první se věnuje problematice palladiem katalyzovaných, cross-couplingových reakcí a jsou zde popsány nejvýznamnější jmenné reakce, jež se využívají pro přípravu vazeb uhlík-uhlík, včetně samostatné podkapitoly, věnující se reakčnímu mechanismu.

Druhá část se věnuje různým syntetickým metodám, jež se uplatňují v syntéze amidů z karboxylových kyselin.

### 2.1 Palladiem katalyzované cross-couplingové reakce

Před 50 lety v době, kdy palladium teprve pomalu nacházelo svou úlohu v organické syntéze, byla tvorba vazby uhlík-uhlík dosažitelná pouze za pomoci stechiometrických reakcí reaktivních elektrofilů s nukleofily, jako byly například Wittigova reakce, či Knoevenagelova kondenzace. Z toho důvodu byl v pozdních 60. letech 20. století nesmírně významný objev katalytických vlastností palladia na poli tvorby vazby uhlík-uhlík a v následujících letech pak jeho další výzkum umožnil zavedení dnes v organické syntéze již naprosto nepostradatelných, cross-couplingových reakcí.<sup>2</sup>

Na velikost významu palladiem katalyzovaných, cross-couplingových reakcí poukazuje rovněž fakt, že v roce 2010, byla pánům Heckovi, Negishimu a Suzukimu, jež jsou objevitelé do dnešní doby asi tří nejvýznamnějších reakcí tohoto typu, udělena Nobelova cena za chemii.<sup>2</sup>

Do dnešní doby je známo na 72 typů tranzitními kovy (převážně palladiem) katalyzovaných cross-couplingových reakcí, jež se již neomezují pouze na tvorbu vazeb uhlík-uhlík.<sup>3</sup> Z hlediska reagujících partnerů, lze šířeji sumarizovat nejznámější typy palladiem katalyzovaných, cross-couplingových reakcí na několik typů. Tím prvním typem je Pd-katalyzovaná olefinace halogen derivátu **3**. Příkladem takovéto reakce je Heckova reakce a může být obecně znázorněna podle schématu:<sup>2</sup>

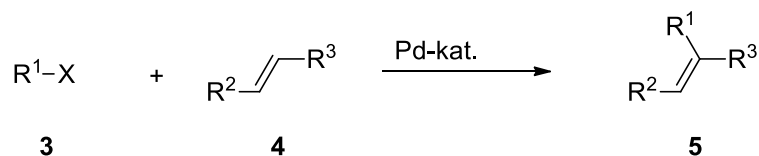


Schéma 1

Druhý typ Pd-katalyzovaných cross-couplingových reakcí pak namísto olefinu **4**, vyžaduje organokovovou sloučeninu **6**, a patří zde například Negishiho, Kumada, Suzuki-Miyauraova, Hiyamaova a Stilleho reakce.<sup>2</sup>

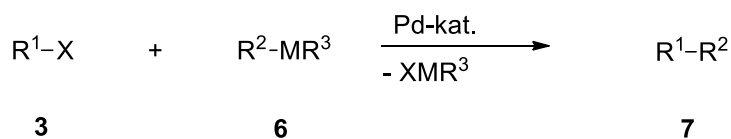


Schéma 2

Tímto výčet druhů cross-couplingových reakcí samozřejmě nekončí, avšak reakce jiného typu již dalece přesahují téma diplomové práce, proto jim nebude dále věnována pozornost.

### 2.1.1 Reakční mechanismus

Reakční mechanismus Pd-katalyzovaných cross-couplingových reakcí lze zjednodušeně rozdělit na tři klíčové reakce. Těmi jsou oxidativní adice, transmetalace a redukční eliminace s jistými rozdíly v případě Heckovy reakce, kde transmetalaci nahrazuje syn-adice a následná eliminace beta-hydridu.<sup>2, 3, 4</sup>

Pro ilustrativní reakci dle schématu níže lze mechanismus shrnout následovně:

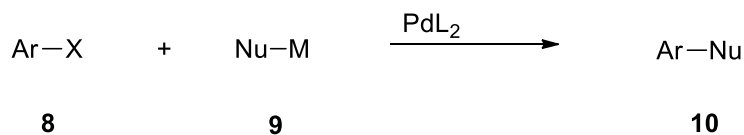


Schéma 3

V prvním kroku dochází k oxidativní adici aryl halogenidu **8** na obvykle 14 elektronový Pd<sup>0</sup>L<sub>2</sub> komplex (L = monodentátní fosfinový ligand) a vytvoření σ-arylpalladium(II) komplexu (*trans*-ArPd<sup>2</sup>XL<sub>2</sub>). V dalším kroku dochází k nukleofilnímu útoku na vzniklý *trans*-ArPd<sup>2</sup>XL<sub>2</sub> komplex, tzv. transmetalaci. Posledním krokem je

reduktivní eliminace, při které dochází k obnově  $\text{Pd}^0\text{L}_2$  katalyzátoru a tvorbě vazby uhlík-uhlík.<sup>5</sup>

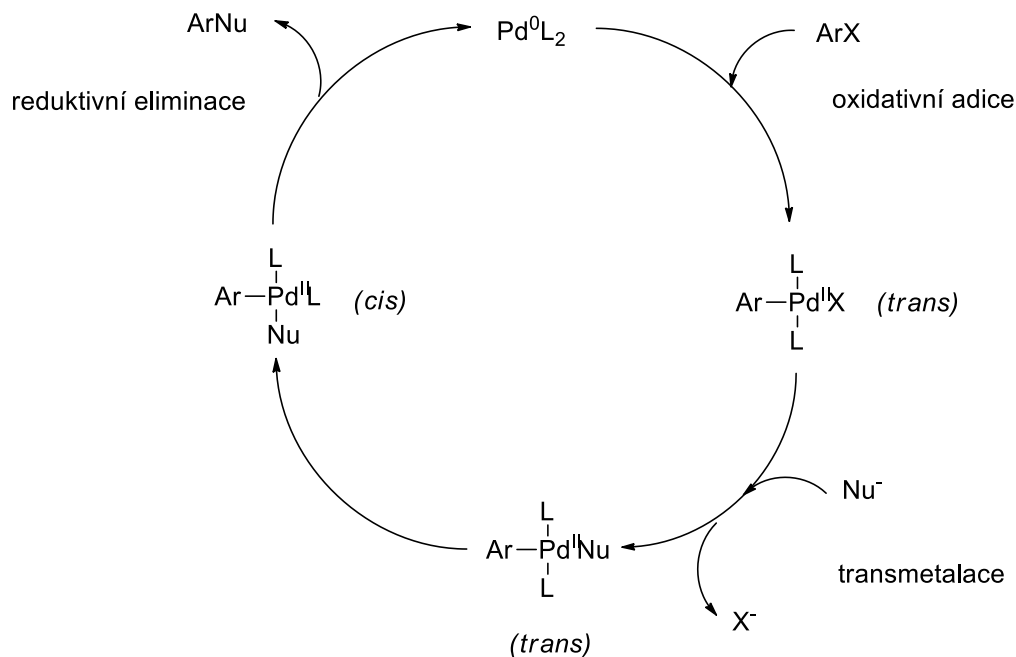


Schéma 4

Reakční mechanismus pro ilustrativní Heckovu reakci:

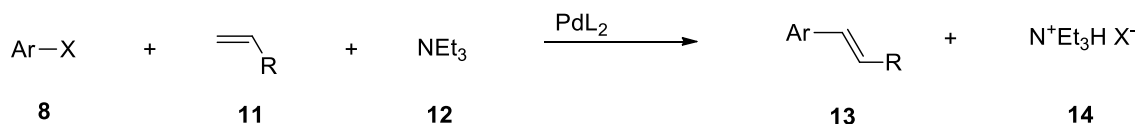
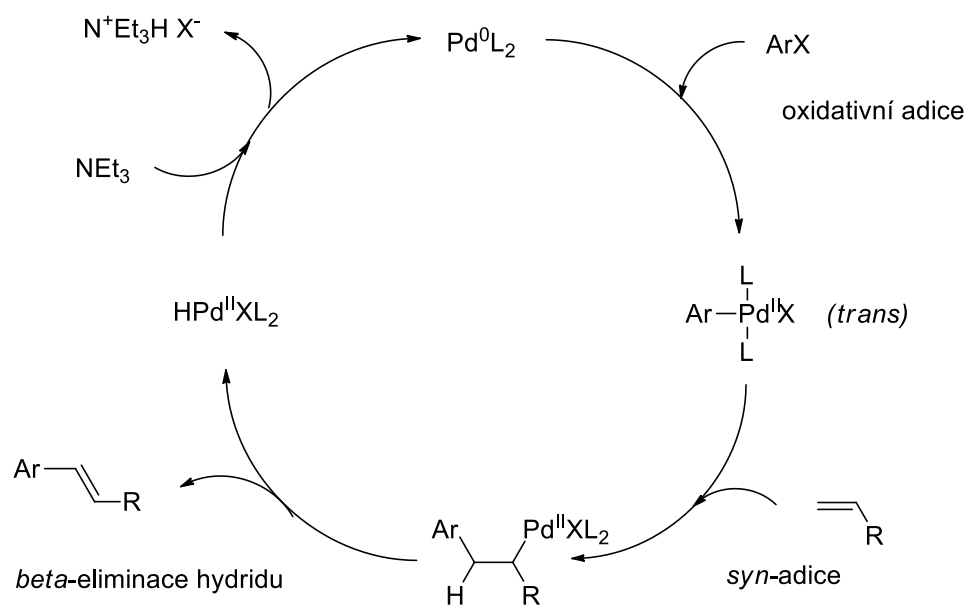


Schéma 5

se tedy liší v transmetalacním kroku, který je nahrazen *syn*-adicí  $\text{ArPd}^2\text{XL}_2$  komplexu na výchozí alken a následné beta-eliminaci hydridu za vzniku olefinu **13** v konfiguraci *trans*.<sup>5</sup>



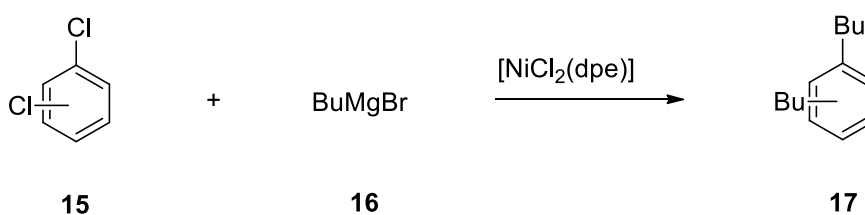
Reaktivita organokovové sloučeniny **9**, se řídí obecným pravidlem, že čím vyšší je elektronegativita kovu, tím nižší je její reaktivita. Tím pádem jsou kupříkladu organokovové sloučeniny alkalických kovů a Grignardova činidla značně reaktivnější v cross-couplingových reakcích než příslušná, organozinečnatá činidla, či boronové kyseliny. V případě Heckovy reakce pak samozřejmě namísto organokovu **9** vystupuje olefin **11**. Pro tvorbu vazby C-C jsou v dnešní době nejvíce populární boronové kyseliny a tím pádem Suzuki-Miyauraova cross-couplingová reakce je značně upřednostňována. Jejich popularitě se mohou rovnat pouze substráty Heckovy reakce **11**, jež neobsahují žádný kov. Tato popularita vychází z faktu, že boronové kyseliny jsou sice drahé, avšak stabilní a nevyžadují skladování pod inertní atmosférou. Navíc může být Suzuki-Miyauraova cross-couplingová reakce prováděna za přítomnosti vody a v některých případech i za laboratorní teploty. Heckova reakce pak obvykle vyžaduje drastičtější reakční podmínky, což je daní za to, že její substráty neobsahují kov.<sup>2</sup>

### 2.1.2 Kumada coupling

První zmínka o komplexech tranzitních kovů katalyzujících, cross-couplingové reakce se datuje již do 60. let 20. století. V roce 1972 pak publikoval Kumada práci, v níž popsal přípravu nenasycených sloučenin, jež zahrnovala cross-couplingovou reakci mezi vinyl a aryl halogenidy a Grignardovými činidly, za katalýzy komplexy niklu.<sup>6</sup>

Kumada ve své práci formálně navázal na poznatky, které již dříve publikovali Tamura a Kochi, jež demonstrovali, že v organických rozpouštědlech rozpustné komplexy mědi, stříbra a železa, mohou sloužit jako účinné katalyzátory pro cross-couplingovou reakci Grignardových sloučenin s alkyl halogenidy.<sup>7</sup> Jejich reakční podmínky ovšem jen obtížně hledaly uplatnění v syntetické praxi, neboť při nich docházelo k nezanedbatelnému množství vedlejších reakcí, jež zahrnovaly homo-coupling, či disproportionační reakce.

Reakční podmínky, jež použil Kumada, obecně zahrnovaly použití dichlorodiorganonikelnatého komplexu, přičemž nejvyšší katalytické aktivity bylo dosaženo použitím komplexu  $[\text{NiCl}_2(\text{dpp})_2]$ , v němž je obsažen difenylfosfin, jakožto bidentátní ligand. Jako nejvýhodnějším rozpouštědlem se pak ukázal být diethylether. Největším přínosem této metody byla možnost přípravy různě substituovaných *n*-dibutylbenzenů **17**, vždy s příslušného dichlorobenzenu **15** a butylmagnesiumbromidu **16**.<sup>6</sup>



*Schéma 7*

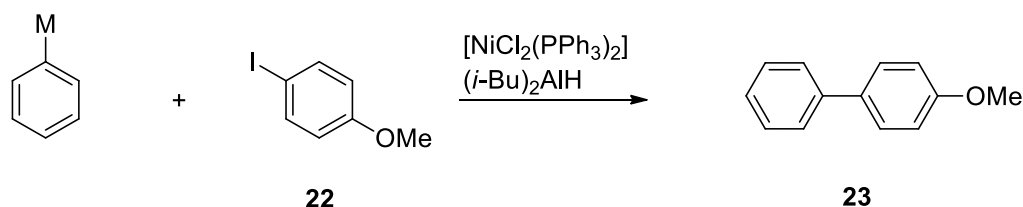
Zcela nezávisle na této práci publikoval roku 1972 Corriu přípravu bifenyľů a *trans*-stillbenů s využitím cross-couplingové reakce aryl nebo *trans*-vinyl halogenidu s aryl, resp. alkyl magnesium bromidy, za katalýzy různými  $\text{Ni}^{\text{II}}$  solemi, přičemž jako nejvýhodnější se v jeho případě jevil  $\text{Ni}(\text{acac})_2$ .<sup>8</sup>

Ačkoliv Corriu popsal zcela nezávisle ten samý typ cross-couplingové reakce ve stejném roce jako Kumada, byla pojmenována pouze po druhém jmenovaném, tedy Kumada coupling.

### 2.1.3 Negishiho reakce

O několik let později, roku 1977 publikoval Negishi svou práci, v níž popsal cross-couplingovou reakci organozinečnatých sloučenin aryl halogenidy, za katalýzy komplexy Ni a Pd.<sup>9, 10</sup>

Organozinečnaté sloučeniny se v tomto typu reakcí ukázaly být o něco výhodnější než organokovové sloučeniny alkalických kovů, resp. kovů alkalických zemin. To Negishi demonstroval, když přímo porovnal reaktivitu fenyllithia **18**, fenylnesium bromidu **19**, fenyl zinkchloridu **20** a fenyl diisobutylalanu **21** s p-jodanisolem **22**, za katalýzy 5 mol. % katalyzátoru, připraveného in-situ reakcí  $[\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2]$  s diisobutylaluminium hydridem.<sup>10</sup>



M = Li **18**; MgBr **19**; ZnCl **20**; (i-Bu)<sub>2</sub>Al **21**

*Schéma 8*

V tomto přímém srovnání se jako zcela nevýhodné ukázalo použití fenyllithia **18**, z toho důvodu, že při jeho použití docházelo snadno k výměně lithia za halogen, tím pádem v reakci docházelo ke vzniku všech tří možných produktů. V případě ostatních tří organokovů byly výtěžky relativně vysoké. V případě Mg **19** - 71 %, Al **21** - 72 %, nejvíc pak v případě Zn **20** - 87 % a ačkoliv se rozdíly mezi výtěžky v těchto tří případech nemusí zdát velké, organozinečnatá **20** sloučenina poskytla další výhodu v tom, že při jejím použití docházelo ke vzniku pouhých 3 % bifenyly, zatímco u organohorečnaté **19** a organohlinité **21** sloučeniny jej vznikalo 16 - 25 %.<sup>10</sup>

Negishi ve své práci zkoušel jako katalyzátory různé komplexy Ni a Pd, přičemž katalýza komplexy Ni obvykle vedla ke kratšímu reakčnímu času. Komplexy Pd však poskytovaly jednu velkou výhodu oproti Ni, a to toleranci nitro skupiny ve struktuře výchozího aryl halogenidu, jež zcela inhibovala katalytickou schopnost Ni.<sup>10</sup>

#### 2.1.4 Heckova reakce

Dalším typem tranzitními kovy katalyzovanou reakcí je tzv. Heckova reakce. V originálním pojetí se jedná o Pd-katalyzovanou reakci dvojně vazby sloučeniny vinylového typu s aryl, heteroaryl, či vinyl halogenidem (nejčastěji Br nebo I) v prostředí slabé báze (nejčastěji octan, uhličitan nebo sekundární, či terciární amin). Halogenderiváty, obsahující atomy vodíku na beta-uhlíku, jež snadno eliminují (alkyl

halogenidy), nemohou být v Heckově reakci využity, neboť poskytují pouze olefin, vzniklý eliminací těchto atomů vodíku.<sup>11</sup>

Ačkoliv reakce sama o sobě nevyžaduje bezvodé, či anaerobní podmínky, je výhodné zamezit kontaktu reakční směsi se vzdušným kyslíkem, pokud jsou použity arylfosfiny jako součást katalyzátoru.<sup>11</sup>

Obecně může být reakce znázorněna pomocí následujícího schématu:

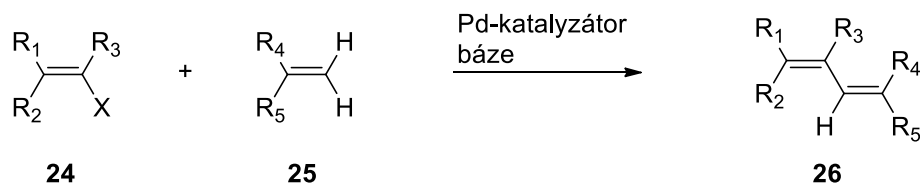


Schéma 9

Reakci popsal jako první Mizoroki už v roce 1971.<sup>12</sup> Ten ve svojí práci popsal arylaci olefinů pomocí jodobenzenu, za katalýzy chloridem paladnatým, případně palladiem na aktivním uhlí, v prostředí octanu draselného.

Reakci nezávisle na Mizorokim objevil i Heckův tým a své výsledky publikovali roku 1972.<sup>13</sup> Heck, navzdory faktu, že reakci popsal až jako druhý v pořadí, ve své práci popsal daleko širší uplatnění této metody. Kromě reakce jodobenzenu s olefiny popsal olefinace různých halogenidů arylového, benzylového a styrylového typu, za katalýzy octanem paladnatým, popř. palladiem na aktivním uhlí.

### 2.1.5 Suzuki-Miyauraova cross-couplingová reakce

Roku 1979 publikovali autoři Miyaura a Suzuki práci, v níž popsali Pd katalyzovanou cross-couplingovou reakci 1-alkenylboranů **27** s 1-alkenyl a 1-alkynyl halogenidy **28**.<sup>14</sup>

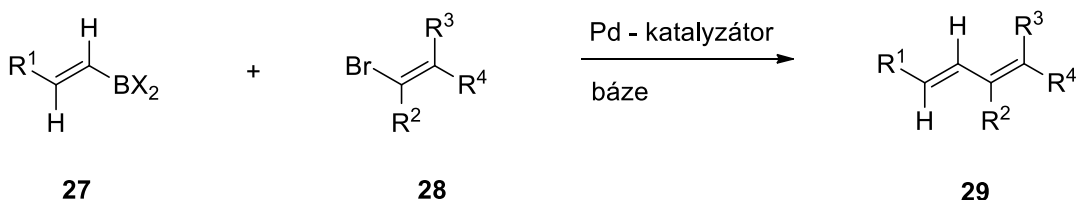


Schéma 10

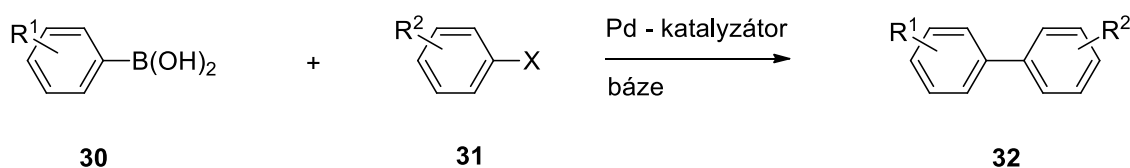
Autoři takto vysoce stereoselektivně připravili řadu (*E,E*) a (*E,Z*) – konjugovaných dienu **29**.

V modernějším pojetí se namísto alkenyl(aryl) boranů využívají boronové kyseliny, popř. jejich deriváty.

Mezi hlavní výhody Suzuki-Miyauraovy cross-couplingové reakce patří vysoká stabilita boronových kyselin jak na vzduchu, tak ve vodě a jejich nízká toxicita v porovnání s činidly, jež se užívají v jiných cross-couplingových reakcích.<sup>15</sup> Boronové kyseliny jsou vysoce elektrofilní, avšak organické substituenty vázané na atom boru jsou slabé nukleofily, což limituje jejich použití. Nicméně značného zvýšení jejich nukleofility lze dosáhnout vazbou negativně nabitě báze na atom boru.<sup>16</sup>

Mezi nevýhody Suzuki-Miyauraovy cross-couplingové reakce pak patří zejména nereaktivita alkyl halogenidů a pak také malá reaktivita aryl chloridů. Tu však lze do značné míry vyřešit použitím vhodného katalyzátoru.<sup>15</sup>

Kromě již zmíněné regioselektivní přípravy konjugovaných dienů, jež publikoval Suzuki již v roce 1979 je tato reakce hojně využívána pro přípravu bifenyľů.<sup>17, 18, 19</sup>



*Schéma 11*

Mezi další případy aplikace Suzuki-Miyauraovy cross-couplingové reakce lze zmínit reakce alkyl boranů a jejich derivátů.

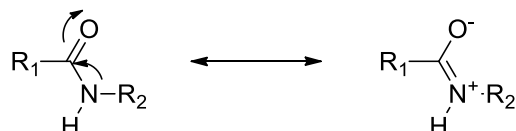
Alkyl borany představují skupinu látek, jež mohou být snadno připraveny hydroborací alkenů podle Markovnikova pravidla často v kvantitativním výtěžku, což z nich činí potenciálně výhodná činidla pro Suzuki-Miyauraovu cross-couplingovou reakci.<sup>20</sup>

Jednou z možností jak docílit reakce alkyl boranů s aryl a alkenyl halogenidy je jejich derivatizace na *B*-alkyl-9-borabicyklo[3.3.1]nonany. Autorům této metody se podařilo efektivně provést cross-couplingovou reakci těchto činidel s velkou škálou aryl a alkenyl halogenidů, za katalýzy PdCl<sub>2</sub>(dppf). Reakce byla v případě aryljodidů a arylbromidů nejvíce efektivní za použití silných bází jako NaOH, či NaOMe. V případě využití alkenylbromidů se autorům více osvědčily slabší báze, jako K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.<sup>20</sup>



## 2.2 Příprava amidů karboxylových kyselin

Amidy patří po boku esterů, acyl halogenidů, anhydridů a nitrilů mezi nejběžnější funkční deriváty karboxylových kyselin. Z hlediska reaktivity jsou z výše jmenovaných nejméně reaktivní z důvodu výraznému zapojení elektronového páru atomu dusíku do konjugace se sousedním acylovým zbytkem, což znesnadňuje nukleofilní acylové substituce.<sup>21</sup>

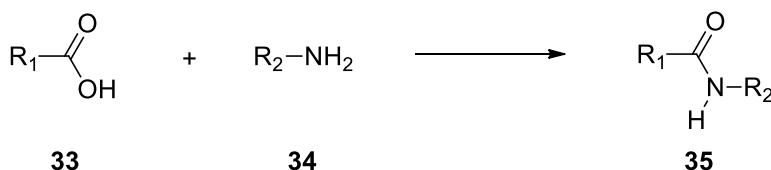


*Schéma 12*

Atom dusíku v tomto uspořádání rovněž ztrácí svůj pyramidální charakter uspořádání vazeb, jež má v aminech a zčásti přechází z  $sp^3$  hybridizace na hybridizaci  $sp^2$ . To má za následek, že atomy vázané v amidické vazbě leží v rovině a samotná vazba C-N má částečný charakter dvojné vazby.<sup>21</sup>

Amidová vazba sama o sobě je nezbytnou součástí živých organismů a jejich biologických procesů. Uplatňují se například v proteinech, téměř ve všech známých enzymech, protilátkách, produkovaných imunitním systémem, či stavebních jednotkách, jako je např. kolagen. Kromě toho mají amidy zcela nepostradatelné postavení v medicíně, kdy se uvádí, že takřka 25 % známých léčiv obsahuje amidovou vazbu.<sup>22</sup>

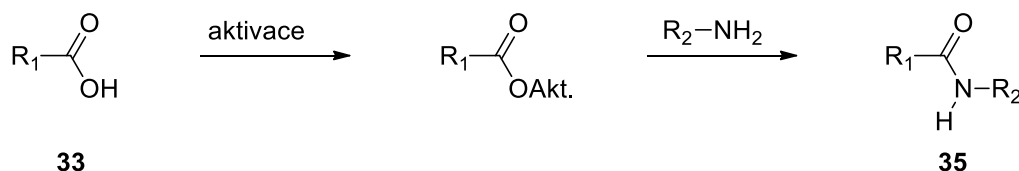
Ačkoliv je přímá syntéza amidů **35** z karboxylových kyselin **33** možná, není příliš uplatňována z důvodu nutnosti použití velmi drastických reakčních podmínek, což ji velmi limituje zejména při použití na teplotně méně stabilní substráty. Díky faktu, že tento postup nevyžaduje použití rozpouštědla a k veškeré konverzi výchozí látky na produkt dochází za velmi krátkou dobu, jedná se i navzdory svým negativům mezi ekonomicky a časově nejvýhodnější metodou.<sup>23</sup>



*Schéma 13*

Optimální reakční podmínky pro přímou tvorbu amidů **35** z karboxylové kyseliny **33** a aminu **34** zahrnují teplotu v rozmezí 160 – 180 °C a reakční čas mezi 10 – 30 minutami. Nezbytné je z reakční nádoby kontinuálně odstraňovat vznikající vodu, jež by posunovala rovnováhu směrem k výchozím látkám. Z hlediska použitelnosti by měly mít oba reakční komponenty body tání pod 200 °C. Pakliže není splněna tato podmínka, je konverze výchozích látek na produkt obvykle velmi malá i po velmi dlouhé reakční době, kupříkladu 2,4-dimethylanilin a tereftalová kyselina poskytují pouze 4 % konverzi při teplotě 180 °C i po 18 hodinách.<sup>23</sup>

Díky těmto limitujícím faktorům, je z hlediska praktičnosti v naprosté většině případů nezbytné, pro tvorbu amidu z karboxylové kyseliny **33** provést její, tzv. aktivaci.<sup>22</sup>



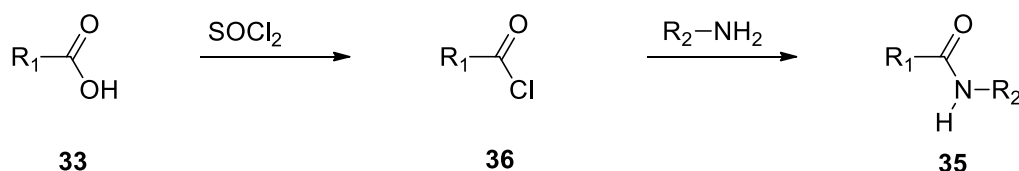
*Schéma 14*

Tu lze provést mnoha způsoby, některé z nich budou zmíněny v následujících podkapitolách.

### 2.2.1 Příprava amidů za pomoci tvorby acyl chloridů

Mezi nejjednodušší a zároveň nejekonomičtější způsoby aktivace karboxylové kyseliny **33** patří její převedení na acyl chlorid **36**. Jedná se obvykle o dvoustupňový proces, kdy je karboxylová kyselina **33** nejprve převedena na příslušný acyl chlorid **36**, jež poté reakcí s aminem poskytne příslušný amid **35**.<sup>22</sup>

To lze znázornit podle schématu:



*Schéma 15*

Nejběžnějším halogenačním činidlem, jež se pro převedení karboxylové kyseliny **33** na její chlorid **36** používá, je  $\text{SOCl}_2$ .<sup>24, 25</sup> Dále se lze setkat např. s  $(\text{COCl})_2$  (oxalyl chloridem)<sup>26, 27</sup>,  $\text{POCl}_3$ ,<sup>28</sup>  $\text{PCl}_3$ <sup>29</sup> a popř. s  $\text{PCl}_5$ .<sup>30</sup>

Mechanismus tvorby acyl chloridu **36** lze znázornit např.:<sup>22</sup>

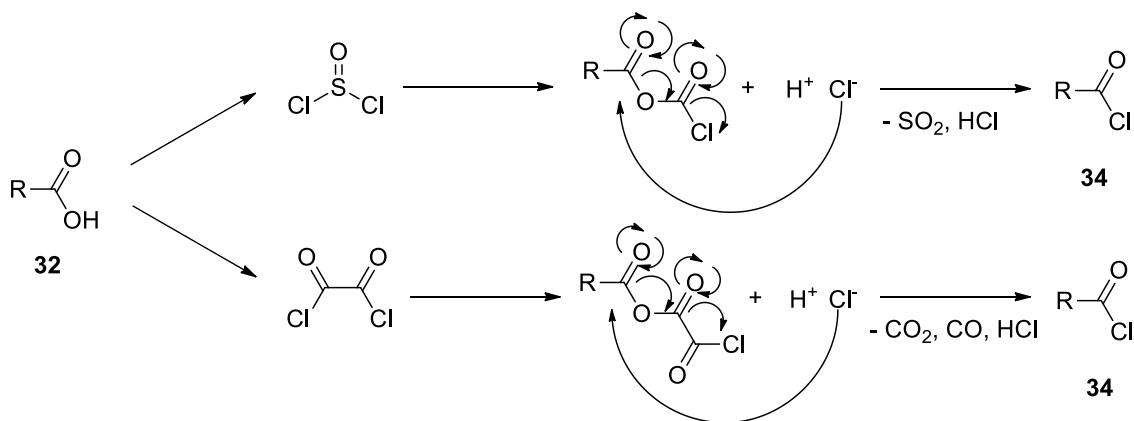


Schéma 16

Reakci lze často urychlit přidáním katalytického množství DMF.<sup>31</sup>

Mezi značné nevýhody použití běžných chloračních činidel se řadí to, že během tvorby acyl chloridu **36** vzniká jako vedlejší produkt  $\text{HCl}$ , což může vést k hydrolyze kyselých labilních skupin v molekule výchozí karboxylové kyseliny **33**. Tento problém lze vyřešit použitím trichlortriazinu **37** jako chloračního činidla v kombinaci s triethylaminem.<sup>31</sup>

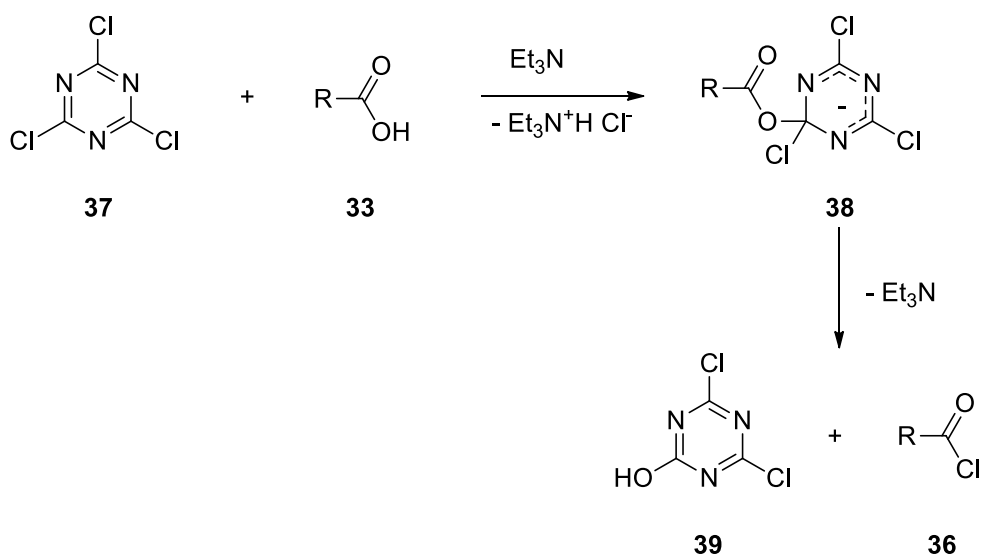


Schéma 17

Při této metodě dojde nejprve ke vzniku aktivovaného esteru **38**, jež následně poskytne příslušný acyl chlorid **36**. Vznikající HCl je neutralizována pomocí triethylaminu. Reakce běží za laboratorní teploty a vedlejší produkt v podobě 4,6-dichloro-2-hydroxytriazinu **39** se sráží z reakční směsi, tím pádem jej lze velmi jednoduše odstranit a získat čistý acyl chlorid **36**.<sup>31</sup>

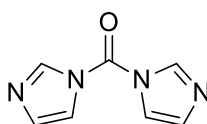
Samotná reakce acyl chloridu **36** s aminem **34**, jež vede ke tvorbě amidu karboxylové kyseliny **35**, obvykle vyžaduje přítomnost nenukleofilní báze, jako je např. triethylamin, popř. diisopropylethylamin k neutralizaci vznikající HCl a provádí se nejčastěji v suchých rozpouštědlech, ačkoliv jsou známy i případy, kdy jsou acyl chloridy **36** stabilní i ve vodném prostředí, či za přítomnosti NaOH.<sup>22</sup>

Reakci acyl chloridu **36** s aminy **34** lze značně urychlit přidáním práškového zinku. Za jeho přítomnosti lze připravit amidy karboxylových kyselin **33** ve vysokém výtěžku za laboratorní teploty v řádu minut.<sup>32</sup>

Další metodou, jak urychlit reakci acyl chloridu **36** s aminem **34** je využití 4-(dimethylamino)pyridinu (DMAP). S jeho lze připravit amidy **35** opět za laboratorní teploty a ve vysokém výtěžku.<sup>32</sup>

## 2.2.2 Příprava amidů za pomoci CDI

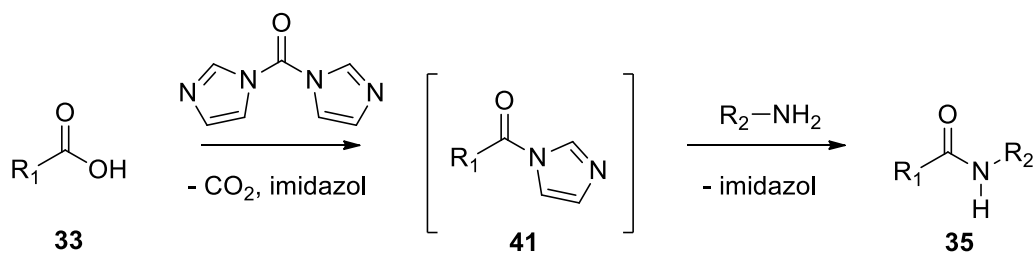
Dalším způsobem, jak může být aktivována karboxylová kyselina **33** je její reakce s karbodiimidazolem (CDI) **40**.<sup>33</sup>



**40**

*Schéma 18*

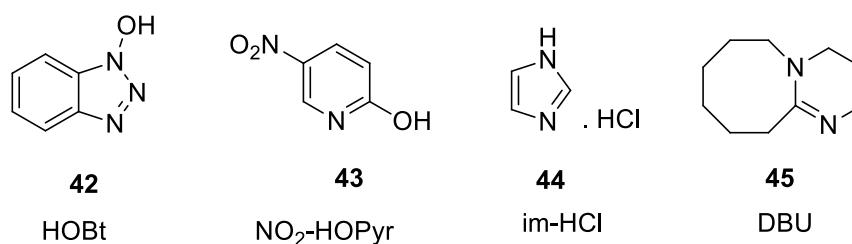
Syntéza amidů **35** touto metodou je obvykle provedena tzv. „one pot,“ kdy je karboxylová kyselina **33** nejprve převedena na reaktivní acyl imidazol **41**. Do reakční směsi je poté přidán příslušný amin **34**, což vede ke vzniku amidu **35**. Jako vedlejší produkty se při této reakci uvolňují 1 ekvivalent CO<sub>2</sub> a 2 ekvivalenty imidazolu.<sup>34</sup>



*Schéma 19*

Aktivovaný meziprodukt v podobě acyl imidazolu **41** je obvykle stabilnější než příslušný acyl chlorid **36**, což se někdy projevuje negativně v jeho reaktivitě, kdy tvorba amidů **31** ze stericky bráněných karboxylových kyselin **33** a stericky bráněných aminů **34** je někdy touto cestou velmi neefektivní. Z toho důvodu byla vyvinuta různá aditiva, jež reakci acyl imidazolu **41** s aminem **34** urychlují. Nejběžnějším z nich je 1-hydroxybenzotriazol (HOBt) **42**, jehož nevýhody ovšem spočívají ve vysoké ceně a jeho explozivních vlastnostech.<sup>34</sup>

Z toho důvodu jsou na trhu v dnešní době k dostání i jiná aditiva, jako např. 2-hydroxy-5-nitropyridin (NO<sub>2</sub>-HOPyr) **43**,<sup>35</sup> imidazol hydrochlorid (im-HCl) **44**<sup>36</sup> nebo 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) **45**,<sup>34</sup> jež jsou levnější, vykazují obdobné katalytické vlastnosti a jsou stabilnější, na rozdíl od HOBt **42** nevykazují explozivní vlastnosti.



*Schéma 20*

Využití CDI **40** jako aktivačního činidla pro přípravu amidů karboxylových kyselin **33** má oproti acyl chloridům **36** značnou výhodu v tom, že se při přípravě příslušných acyl imidazolů **41** negeneruje nežádoucí HCl, proto není potřeba do reakční směsi přidávat bázi. Acyl imidazoly **41** naopak reagují dokonce s hydrochloridy příslušných aminů **34**.<sup>37</sup> Tato metoda našla významné uplatnění v laboratorní syntéze peptidů a může být dokonce převedena do průmyslového měřítka.<sup>22</sup>

### 2.2.3 Příprava amidů za pomoci tvorby anhydridů

Další metodou, jak může být aktivována karboxylová kyselina **33** pro reakci s příslušnými aminy **34** je její převedení na anhydrid karboxylové kyseliny **46**. Anhydridy karboxylových kyselin **46** jsou funkční deriváty, jež snadno reagují s celou řadou nukleofilů jako jsou alkoholy, thioly, či aminy. V literatuře jsou popsány postupy, jež zahrnují syntézu amidů **35** jak ze symetrických, tak ze směsných anhydridů, využívající k jejich tvorbě nejrůznější činidla.<sup>22</sup>

Jednou z variant je tvorba symetrických anhydridů z karboxylové kyseliny **46** za pomoci karbodiimidů **47**. Obecný mechanismus tvorby anhydridů **46** touto cestou lze znázornit např.:<sup>38</sup>

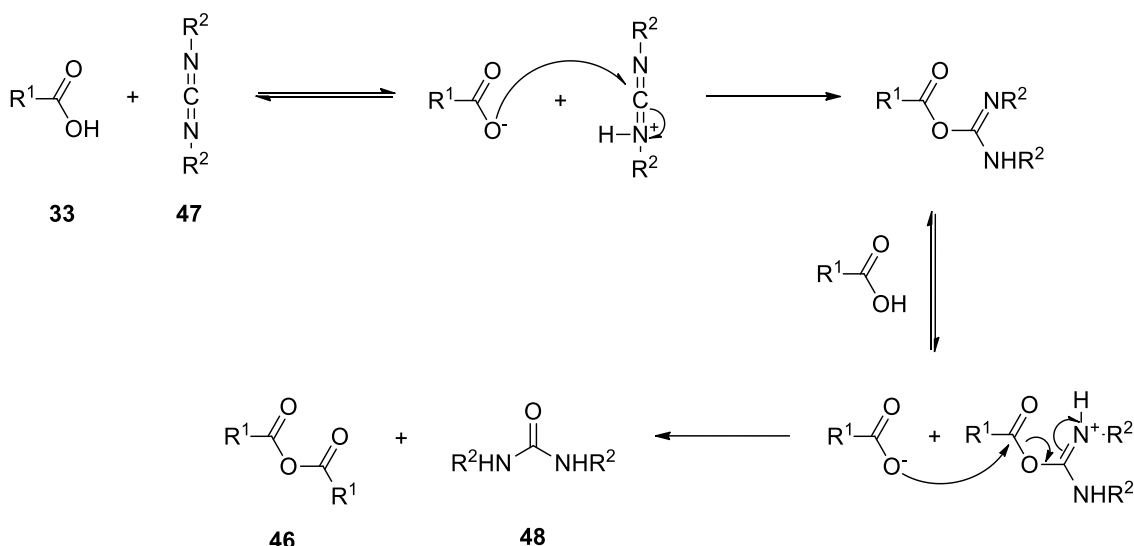


Schéma 21

Anhydridy **46** vznikají jako hlavní produkty, pokud jsou použity alifatické karbodiimidy **47**. V případě použití aromatických karbodiimidů jsou hlavním produktem této reakce N-acyl deriváty močoviny. Reakce je také závislá na typu použité karboxylové kyseliny **33**. Rychlost reakce stoupá, čím je nižší pK<sub>A</sub> příslušné karboxylové kyseliny **33**.<sup>38</sup>

Z hlediska komerční dostupnosti se lze v literatuře setkat nejčastěji s dicyklohexylkarbodiiminem (DCC) jako činidlem pro tvorbu amidů.<sup>39, 40</sup> Největším omezením této metody je fakt, že pouze 0,5 ekvivalentu výchozí kyseliny **33** je převedeno

na cílový amid **35**, z tohoto důvodu je tato metoda velmi neefektivní, pokud je výchozí kyselina **33** cenná.<sup>22</sup>

Tento problém lze vyřešit převedením karboxylové kyseliny **33** na směsný anhydrid, avšak obvykle je velmi problematické docílit toho, aby při následné reakci s aminem **34** docházelo ke vzniku žádoucího amidu **35**.<sup>22</sup> Jedním z příkladů z literatury, kde toho bylo dosaženo je během syntézy endothelinového antagonisty ABT-627, kdy autoři v jednom z kroků syntézy připravili amid **52** z karboxylové kyseliny **49**, jež byla aktivována na směsný anhydrid pivalové kyseliny **50**. Jeho následná reakce s aminem **51** poskytla požadovaný amid **52** ve výtěžku 70 %.<sup>41</sup>

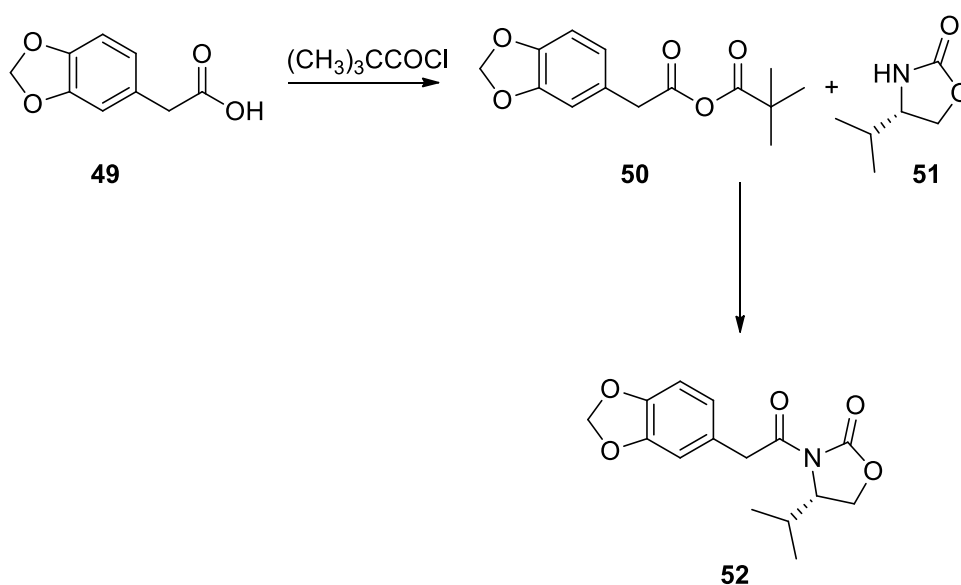


Schéma 22

Další možností je využití směsných anhydridů kyseliny uhličité **53**, ve kterém se obě elektrofilní centra liší svou reaktivitou, tím pádem dochází ke vzniku pouze jednoho z možných amidů **35**. V následujícím případě je elektrofilní centrum A mnohem reaktivnější než elektrofilní centrum B.<sup>22</sup>

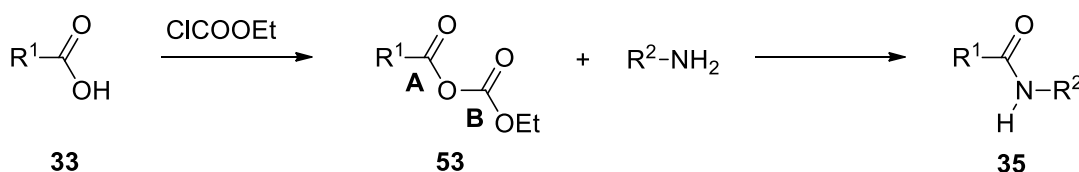
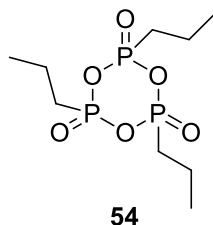


Schéma 23

## 2.2.4 Příprava amidů za pomoci T3P

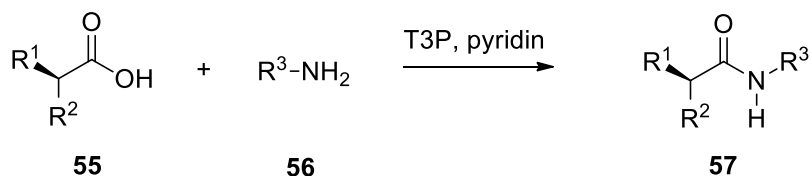
Jedním z dalších činidel, jež lze využít pro aktivaci karboxylové kyseliny je anhydrid n-propanfosfonové kyseliny (T3P) **54**.<sup>42</sup>



*Schéma 24*

Toto činidlo **54** má vedle dalších několik nesporných výhod. Vedlejší produkty, jež se vytvářejí při jeho použití jsou ve vodě rozpustné látky, jež mohou být snadno odstraněny z reakční směsi bez nutnosti čištění pomocí chromatografie. T3P **54** je navíc dobře komerčně dostupné ve formě 50 % roztoků v různých organických rozpouštědlech. Tyto komerčně dostupné roztoky jsou velmi stabilní, málo toxické, nejsou příliš drahé a jsou snadno manipulovatelné pro „one pot“ syntézu amidů **35**.<sup>42</sup>

Jako velmi výhodné se T3P **54** jeví při aktivaci karboxylových kyselin, jež obsahují na  $\alpha$ -uhlíku chirální centrum **55**. Takovéto karboxylové kyseliny **55** často během aktivačního kroku racemizují zejména díky deprotonaci na  $\alpha$ -uhlíku, přičemž tento efekt se převážně týká těch látek, kde je vzniklý karboaniont stabilizován pomocí hyperkonjugace. Právě při použití T3P **54** v kombinaci s vhodnou bází (např. pyridin, nebo 2,6-lutidin) k téměř žádné racemizaci na  $\alpha$ -uhlíku nedochází a lze tak připravit chirální amidy **57** ve vysoké optické čistotě.<sup>42</sup>



*Schéma 25*

Mezi další výhody T3P **54** patří, že nevyžaduje použití bezvodých rozpouštědel a lze jej použít i v syntéze v kilogramovém měřítku.<sup>42</sup>



## 2.2.5 Příprava amidů za katalýzy boronovými kyselinami

Další metodou, jež lze využít pro syntézu amidů **35** z karboxylových kyselin **33**, je využití aryl boronových kyselin, jež obsahují dezaktivující substituenty, jako katalyzátoru.<sup>43</sup>

Jako nejúčinnější se z hlediska katalytické aktivity jeví aryl boronové kyseliny, jež obsahují *m*- a *p*- dezaktivující substituenty, za azeotropního refluxu v nepolárních rozpouštědlech typu toluen, anisol nebo xylen. Naopak aryl boronové kyseliny s *o*-substitucí pak dosahují horší katalytické aktivity než samotná kyselina benzenboronová, a to i v případě, že dezaktivující substituenty v poloze *o*- jsou málo stericky objemné. Nejlepší katalytické aktivity pak lze dosáhnout s použitím 3,4,5-trifluorobenzenboronové kyseliny.<sup>43</sup>

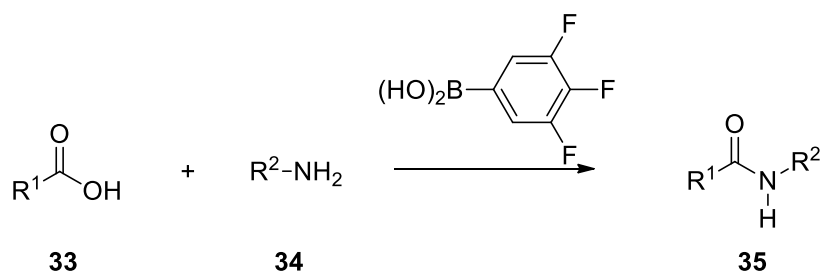


Schéma 26

Obrovskou výhodou této metody je fakt, že se aryl boronové kyseliny používají pouze v katalytickém množství (1 – 5 mol %), navíc jsou komerčně dostupné a stabilní na vzduchu. Metoda je použitelná pro přípravu celé škály primárních a sekundárních amidů **35**.<sup>43</sup> Pravděpodobný mechanismus působení aryl boronových kyselin lze znázornit např.:<sup>43</sup>

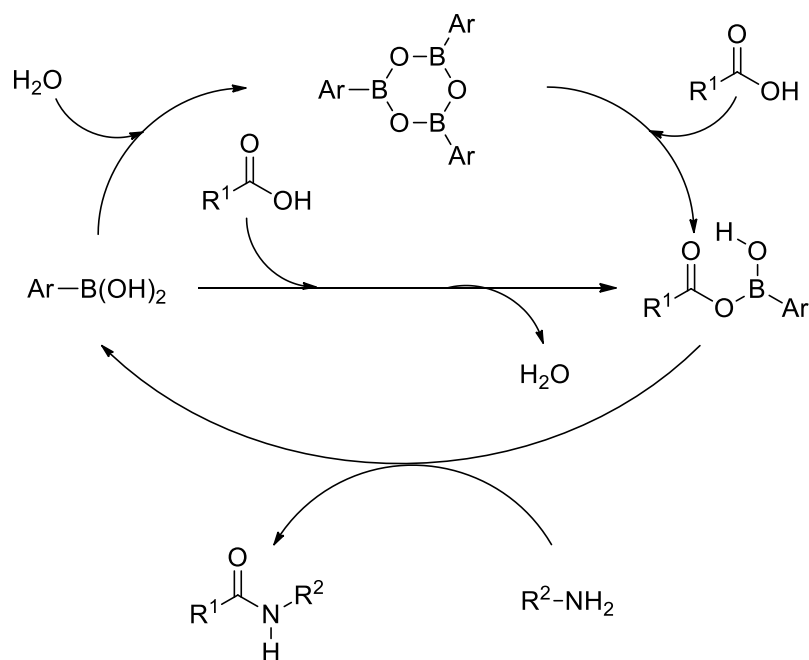


Schéma 27

Obdobnou katalytickou aktivitu rovněž vykazují pyridinyl boronové kyseliny a zejména jejich *N*-alkyl soli. Mezi nimi se jako nejvíce efektivní katalyzátory jeví *N*-alkyl-4-pyridinium jodidy, jež vykazují vysokou katalytickou aktivitu při syntéze amidů. Mezi značné nevýhody těchto solí však patří jejich nízká tepelná stabilita, jež komplikuje jejich případné použití.<sup>44</sup>

Problém s tepelnou stabilitou však může být vyřešen, jsou-li tyto soli vázány na polystyrenovou pryskyřici. Takto na pevné fázi vázané katalyzátory **58** vykazují vysokou katalytickou aktivitu, vysokou tepelnou stabilitu a lze je opakovaně používat zhruba 5x, než nastane výrazný pokles jejich katalytické aktivity.<sup>44</sup>

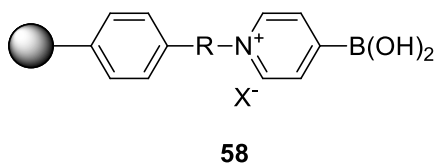


Schéma 28

## 2.2.6 Příprava amidů z esterů karboxylových kyselin

Aminolýza esterů karboxylových kyselin **58** je v naprosté většině případů velmi pomalá a neefektivní reakce. Výjimku z tohoto pravidla představují estery obsahující dobře odstupující skupiny jako jsou například nitrofenyl, thiofenyl, vinyl, hydroxylaminy a *N*-hydroxyimidy.<sup>45</sup>

V literatuře však navzdory tomu byla popsána i řada příprav, využívající k syntéze amidů **35** i méně reaktivní, tzv. dezaktivované estery **59**, z nich některé budou shrnuty v této podkapitole.

Jednou z možností, jak urychlit obvykle velmi pomalou reakci mezi esterem karboxylové kyseliny **59** a aminem **34** je použití silné báze jako katalyzátoru. V literatuře jsou popsány například přípravy amidů **35** za katalýzy amidem sodným,<sup>46</sup> hydridem sodným,<sup>47</sup> či methanolátem sodným.<sup>48</sup>

Poměrně zajímavě se jeví metoda, při níž autoři použili jako katalyzátor 10 molárních procent kyanidu sodného za poměrně mírných podmínek v methanolu při 50 °C. Autoři takto například připravili methylamid *N*-ethyl prolinu **62** v poměrně vysokém výtěžku. Příprava složitějších alifatických amidů touto metodou v článku popsána není.<sup>49</sup>

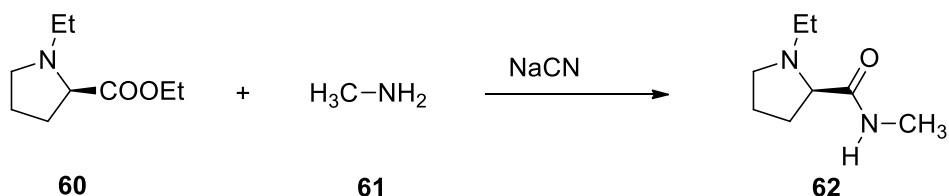
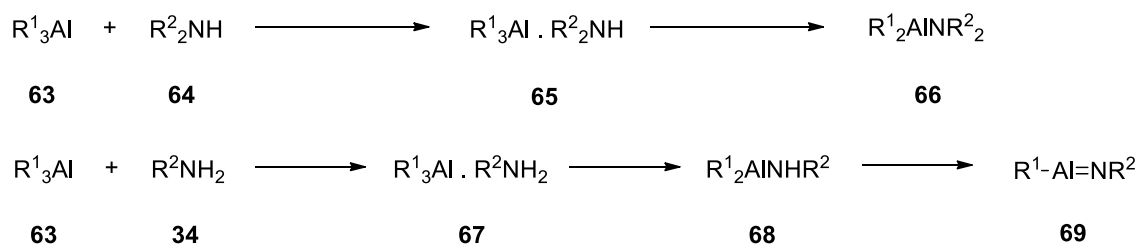


Schéma 29

Další zajímavou metodou, jež deklaruje přípravu amidů karboxylových kyselin **35** z jejich ethyl esterů za velmi mírných reakčních podmínek a minimem toxických odpadů (tzv. „green conditions“), je za katalýzy 2 ekvivalenty *tert*-butanolátu draselného v technickém THF, jež obsahuje cca. 0,2 % vody. Autorům se touto metodou podařilo připravit řadu amidů **34**, zejména z derivátů kyseliny benzoové a anilinů, za laboratorní teploty a za přístupu vzduchu s reakčními časy, jež se pohybovaly v rozmezí 10 – 60 minut. Metoda zcela selhala při použití bezvodého THF. Autoři v publikaci navrhli pravděpodobný mechanismus, jež podle nich spočívá v radikálovém průběhu reakce, kterého se účastní vzdušný kyslík.<sup>50</sup>

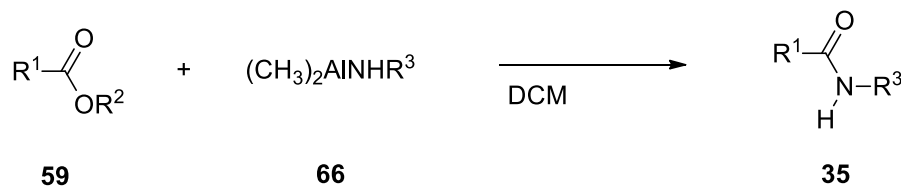
Další možností, jak docílit reakce mezi dezaktivovaným esterem karboxylové kyseliny **59** a aminem **34** je pomocí aktivace aminu **34**. Toho lze docílit například reakcí aminu **34** s trialkylalumiinem **63**, což vede nejprve k tvorbě komplexu amin-organohlinité sloučenina **65**. Tento komplex poté přechází, je-li výchozí amin sekundární

**64** v organohlinité amidy **66**. Je-li reagující amin primární **34**, může vzniklý organohlinitý amid **68** dále reagovat za vzniku příslušného organohlinitého imidu **69**.<sup>51</sup>



*Schéma 30*

Organohlinité amidy poté reagují s estery karboxylových kyselin **59** v dichloromethanu za vzniku příslušného amidu karboxylové kyseliny **35**. Příslušný organohlinitý amid **66** pak může být generován in-situ reakcí trimethylaluminia s aminem **34**.<sup>51</sup>



*Schéma 31*

Značnou nevýhodou této metody jsou pyroforické vlastnosti trimethylaluminia a nutnost práce s ním výlučně za inertních podmínek. V literatuře byly nicméně popsány přípravy na vzduchu stabilních aduktů trimethylaluminia. Jedním z nich je např. (Me<sub>3</sub>Al)<sub>2</sub>.DABCO, což je stabilní komplex trimethylaluminia s 1,4-diazobicyklo[2.2.2]oktanem. Ten může být úspěšně použit jako zdroj trimethylaluminia pro aminolýzu esterů **59** za podmínek výše popsané metody.<sup>52</sup>

Specifické postavení v syntéze amidů **35** pak představují tzv. aktivované estery. Nejvýznamnější metodou přípravy aktivovaného esteru karboxylové kyseliny pak spočívá v její reakci s karbodiimidem **47**.<sup>53</sup> Ty byly zmíněny už jako činidlo pro přípravu anhydridů karboxylových kyselin **46**, jež poté reakcí s aminem poskytnou příslušný amid **35**. Největší nevýhodou syntézy amidů **34**, za pomoci anhydridů **46**, generovaných pomocí karbodiimidů **47** byl fakt, že pouze 0,5 ekvivalentu výchozí kyseliny **33** je převedeno na příslušný amid **35**.<sup>22</sup> Tento problém odpadá, pakliže se vhodnou úpravou reakčních podmínek docílí toho, aby s aminem **34** reagoval již aktivovaný ester **71**. Tato metoda je velmi hojně uplatňována v syntéze peptidů.<sup>53</sup>

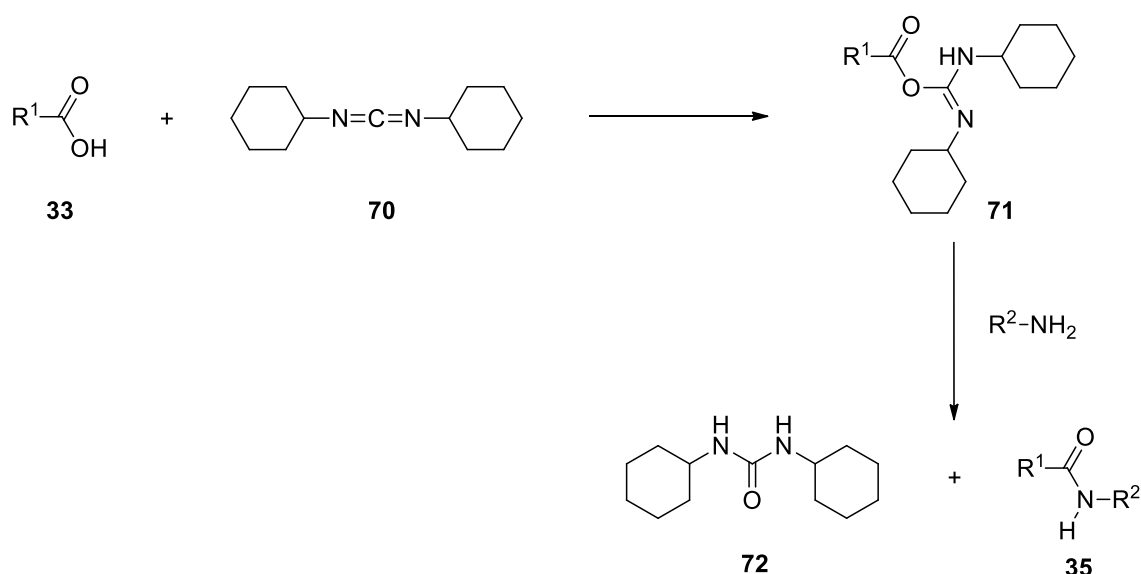
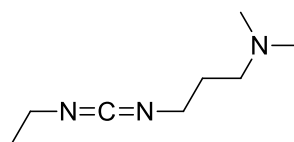


Schéma 32

Prvním z karbodiimidů **47**, jež byly použity k tomuto účelu je *N,N'*-dicyklohexylkarbodiimid (DCC) **70**. Jeho nevýhodou je, že v reakci vzniká jako vedlejší produkt *N,N'*-dicyklohexylmočovina **72**, jejíž účinné odstranění z reakční směsi může být problematické. Proto se hojně využívají i jiné karbodiimidy **47**, jako například diisopropylkarbodiimid (DIC). Velmi užitečné jsou pak karbodiimidy **47**, jež poskytují vedlejší produkty rozpustné ve vodě. Příkladem takového karbodiimidu **47** může být 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimid (EDCI) **73**, při jehož použití se značně usnadňuje odstraňování vedlejších produktů z reakční směsi.<sup>53</sup>

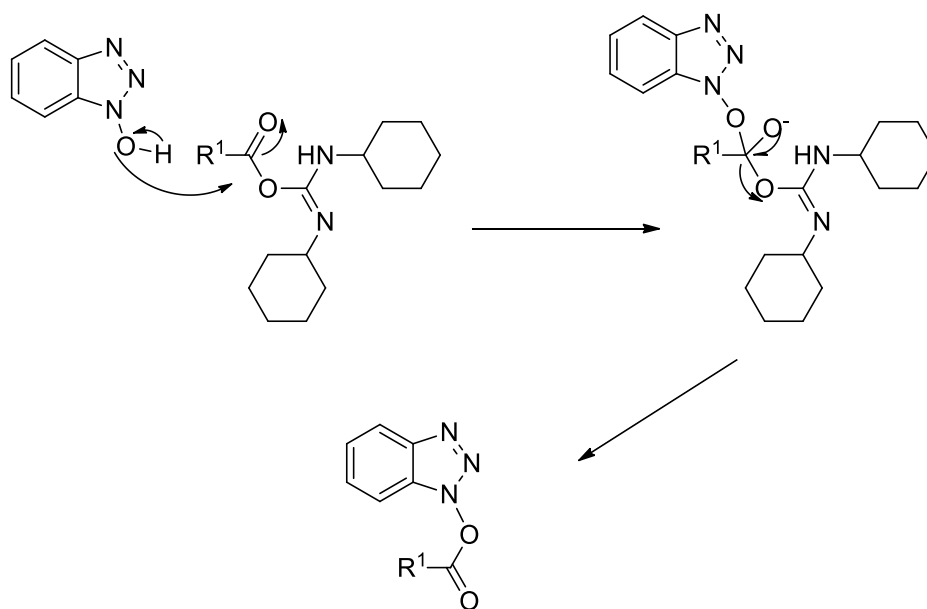


**73**

EDCI

*Schéma 33*

V kombinaci s karbodiimidy **47** se do reakční směsi často přidávají aditiva, jež mají za cíl urychlit reakci aktivovaného esteru s příslušným aminem. Hojně se k tomuto účelu využívá 1-hydroxy-*1H*-benzotriazol (HOBt) **42**, jež bylo zmíněno již v podkapitole věnující se CDI **38**. Pravděpodobný mechanismus působení HOBt **42** je shrnut ve schématu:<sup>53</sup>

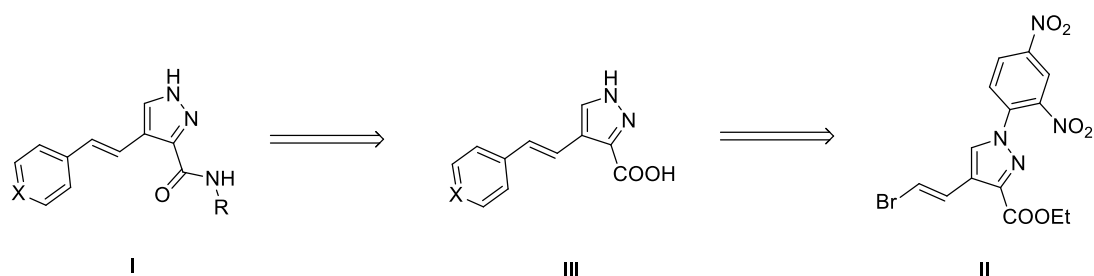


*Schéma 34*

Obdobně jako HOBt **42** působí i 1-hydroxy-7-azabenzotriazol (HOAt) a *N*-hydroxysukcinimid, u nichž byla popsána větší efektivita ve smyslu výtěžků a kinetiky reakce.<sup>53</sup>

### 3 Výsledky a diskuze

Cílové sloučeniny **I**, s předpokládanou CDK 2 inhibiční aktivitou byly syntetizovány z výchozího, ochráněného vinyl bromidu **II**, kdy klíčovými reakcemi byla nejprve Suzuki-Miyauraova cross-couplingová reakce a posléze aminolýza ochráněné karboxylové kyseliny **III**.



X = CH-OH; N

Schéma 35

Výchozí vinyl bromid **II** byl připraven již během bakalářské práce na téma: „Syntéza derivátů pyrazol-3(5)-karboxylové kyseliny.“ Během převádění, v této práci popsané syntézy, do většího měřítka se však objevilo několik komplikací, jež musely být řešeny souběžně s diplomovou prací.

Komplikace, jež se během přípravy výchozí látky **II** objevily a jež se podařilo vyřešit jsou shrnuty v následující podkapitole.

#### 3.1 Příprava výchozího vinyl bromidu **II**

Výchozí vinyl bromid byl syntetizován čtyřstupňovou syntézou, jež zahrnovala postupně kondenzaci 2,4-dinitrofenylhydrazinu **IV** s ethyl pyruvátém **V** na hydrazon **VI**, jež byl posléze cyklizován za podmínek Vilsmeier-Haackovy reakce na aldehyd **VI**. Ten byl posléze převeden za podmínek Doebnerovy modifikace Knoevenagelovy kondenzace na *E*-vinyl karboxylovou kyselinu **VIII**, jež byla poté za podmínek Hunsdieckerovy reakce převedena na výchozí látku **II**.

Celá syntetická cesta je shrnuta ve schématu 36:

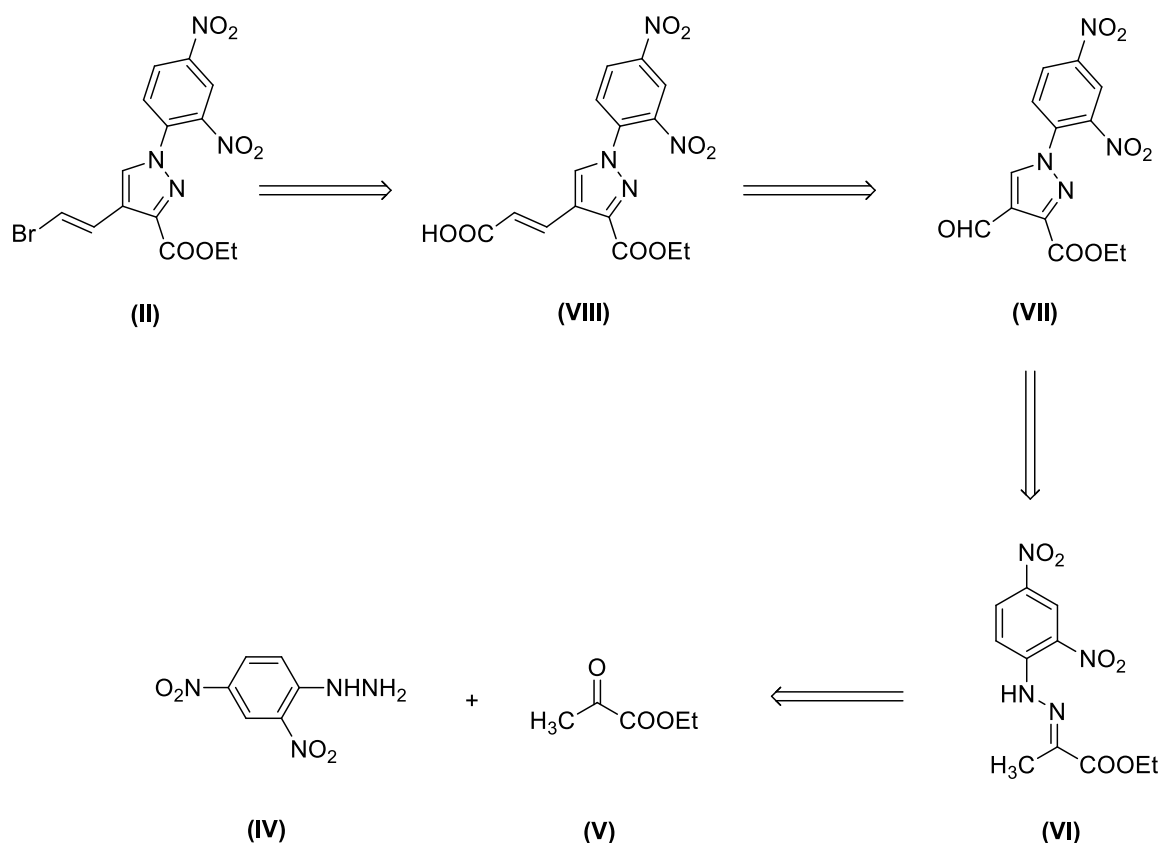


Schéma 36

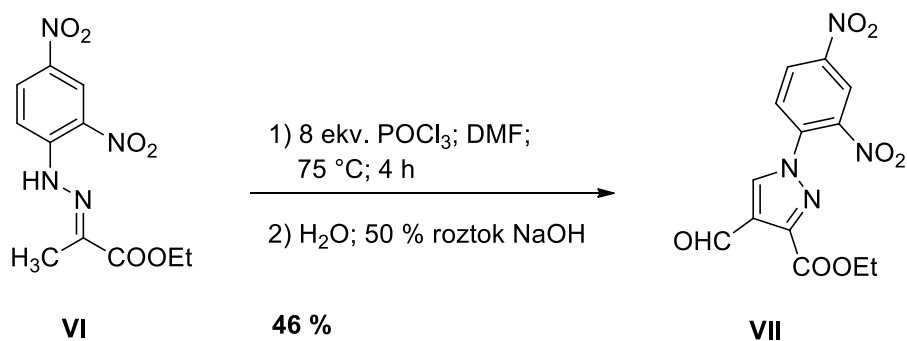
2,4-dinitrofenylová chránící skupina byla v tomto reakčním sledu zavedena z toho důvodu, že nebylo možné připravit nechráněný vinyl bromid **II** za podmínek Hunsdieckerovy reakce pouze v konfiguraci *E* bez vzniku nežádoucího *Z* izomeru. Zavedení silně dezaktivující 2,4-dinitrofenylové chránící skupiny na dusík pyrazolu měla zabránit vzniku nežádoucího *Z*-izomeru skrze potlačení konkurenční elektrofilní substituce, která se při jeho vzniku mohla uplatňovat.

Při převádění do většího měřítka než cca. 1 g množství se jako nejvíce problematické kroky ukázaly Vilsmeier-Haackova reakce a Hunsdieckerova reakce. V obou případech musely být zavedené postupy z bakalářské práce značně upraveny a opětovně optimalizovány.

### 3.1.1 Vilsmeier-Haackova reakce

Za podmínek Vilsmeier-Haackovy reakce byl cyklizován hydrazon **VI** na pyrazol s aldehydickou skupinou v poloze 4 **VII**. Původní reakční podmínky vycházely z publikace v časopisu Tetrahedron Letters od indických autorů.<sup>54</sup>





*Schéma 37*

Výchozí hydrazon **VI** byl rozpuštěn v DMF (1 mmol na 10 ml). K roztoku bylo posléze za chlazení ledem přikapáváno 8 ekvivalentů  $\text{POCl}_3$ . Po přikapání veškerého  $\text{POCl}_3$  byla reakční směs zahřívána na  $75\text{ }^\circ\text{C}$  po dobu 4 - 8 hodin, až do doreagování výchozí látky. Reakční směs byla posléze zpracována nalitím na nadbytek drceného vodního ledu a neutralizací cca. 50 % roztokem NaOH na neutrální pH, čímž došlo k vysrážení hnědé, amorfni pevné látky o HPLC čistotě zhruba 75 %. Autory popsány způsob purifikace, jež zahrnoval sloupcovou chromatografii s mobilní fází petroleum ether/ethyl acetát 75:15 se již dříve neosvědčil, neboť v tomto poměru zůstával pyrazol **VII** na kontrolní TLC destičce na startu a během sloupcové chromatografie nedocházelo k jeho retenci z kolony. Jako daleko účinnější čistící metoda byla nalezena rekrystalizace ze směsi ethanol/voda. Produkt **VII** byl takto získán ve výtěžku 46 %.

Při větší navážce bylo nepraktické, že je reakce podle popsaného postupu provedena ve velmi zředěné reakční směsi (3,35 % roztok). V praxi pak bylo nutno reakci v navážce např. 30 g výchozí látky **VI** provádět v 900 ml DMF. Byl proveden pokus o rozpuštění hydrazonu **VI** v menším množství DMF, avšak ukázalo se, že v menším objemu nedochází k rozpuštění veškerého množství. Byly proto testovány alternativní reakční podmínky, jež byly popsány v patentu na podobné výchozí látce.<sup>55</sup>

Podle tohoto postupu bylo nejprve za chlazení ledem do DMF přidáno 8 ekvivalentů  $\text{POCl}_3$ . Teprve posléze byl do reakční směsi přidán hydrazon **VI** a byla zvýšena reakční teplota na  $75\text{ }^\circ\text{C}$ . Cca. za půl hodiny až hodinu došlo k rozpuštění veškerého hydrazonu **VI** a posléze byla reakce ponechána 4 - 8 hodin, kdy došlo ke vzniku pyrazolu **VII**. Objem DMF v tomto případě činil 1,05 ml na 1 mmol výchozího hydrazonu, tudíž cca. 10krát méně než v předchozím postupu. Reakční směs byla posléze zpracována stejným způsobem jako u předchozí metody.

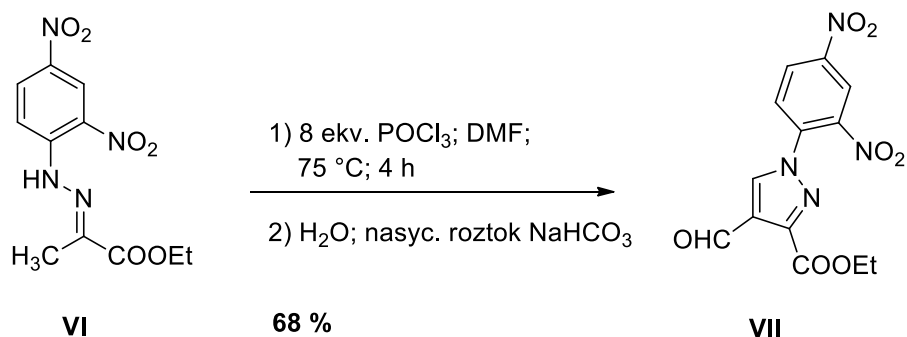
Pakliže byla však navážka hydrazonu **VI** větší než 5 g, docházelo při zpracování reakční směsi během neutralizace pomocí NaOH k rozkladu cca. 40 % produktu podle HPLC na nečistotu, a to při obou výše zmíněných postupech. Purifikační postup, zahrnující rekrystalizaci ze směsi ethanol/voda byl v tomto případě neúčinný, taktéž se nepodařilo najít optimální mobilní fázi na TLC, kdy by se vzniklá nečistota dala efektivně oddělit pomocí sloupcové chromatografie. Bylo tedy nutno pátrat po příčině problému.

Jako první z možných příčin bylo zkoumáno reakční teplo, vznikající během neutralizace, kdy při provedení reakce ve větším měřítku došlo k uvolnění daleko většího reakčního tepla, tedy k většímu zahřátí reakční směsi, což mohlo mít za následek vznik nečistoty.

Byl proto proveden experiment, kde byla surová reakční směs rozdělena na 3 části a po nalití na vodní led byla každá část neutralizována nejprve za chlazení při 0 °C, za laboratorní teploty a při 80 °C. Ani v jednom případě však nedošlo ke vzniku zmíněné nečistoty.

Jako nejpravděpodobnější příčina problému byla nakonec identifikována povaha samotné sraženiny, jež vznikala během neutralizace. Ve větším měřítku docházelo k tomu, že amorfni sraženina vzniklá na magnetickém míchadle zabránila efektivnímu míchání reakční směsi. Tudíž v reakční směsi docházelo při nedostatečném promíchání k lokálním výkyvům pH na víc než 7-8, při kterých docházelo k rozkladu pyrazolu **VII**.

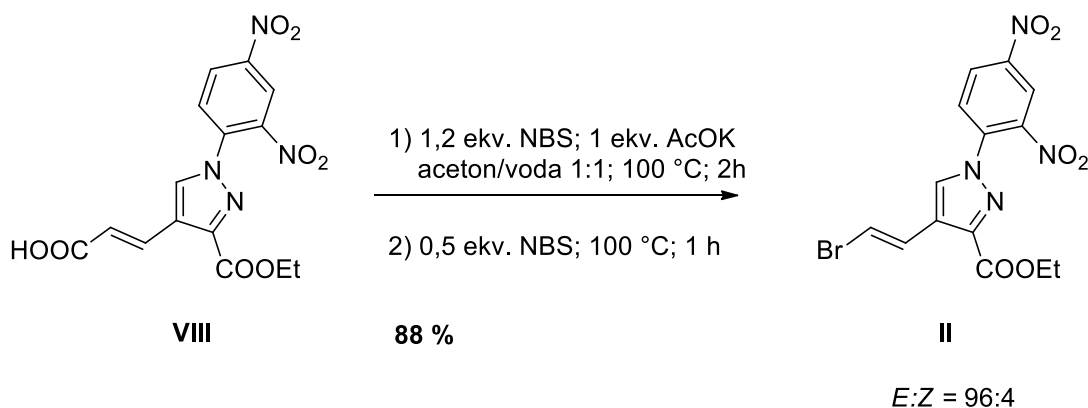
Byla proto testována neutralizace reakční směsi nasyceným roztokem NaHCO<sub>3</sub>. V tomto případě nedocházelo ke vzniku nečistoty, navíc byl surový produkt získán v dostatečné čistotě a nebylo potřeba další purifikace rekrystalizací, ve výtěžku 68 %.



*Schéma 38*

### 3.1.2 Hunsdieckerova reakce

Derivát **VIII** byl podroben Hunsdieckerově reakci s NBS a octanem draselným, ve směsi aceton/voda 1:1, za modifikovaných reakčních podmínek popsanych v literatuře.<sup>56</sup>



*Schéma 39*

NBS bylo k roztoku výchozí látky **VIII** přidáváno po kapkách, rozpuštěné ve směsi aceton/voda 1:1 při 100 °C. Bylo nutno použít oproti postupu v literatuře jeho mírný nadbytek, neboť jinak nedocházelo k doreagování veškeré výchozí látky **VIII**.

Při větší navážce (cca. 5 g a více) nedocházelo ani tak po dvou hodinách k doreagování výchozí látky **VIII**, proto bylo k reakční směsi přidáno další 0,5 ekv. NBS a po další hodině zahřívání došlo ke 100 % konverzi na derivát **II**, jež byl poté izolován ve výtěžku 88 %.

Poměr *E* ku *Z* izomeru v izolovaném vinyl bromidu **II** činil 96:4 podle NMR. Vzniklé geometrické izomery nebyly dále separovány. Byl proveden pokus o posunutí poměru zcela ve prospěch *E* izomeru použitím KOH, tedy silnější báze, avšak i v tomto případě obsahoval izolovaný produkt **II**, nežádoucí *Z* izomer.

Komplikace v tomto reakčním kroku nastala v okamžiku, kdy byla použita jiná šarže NBS než u veškerých předchozích experimentů. V tomto případě docházelo ke vzniku neidentifikovaných nečistot, jež podle izotopických píků obsahovaly ve struktuře atomy Br. Izolovaný produkt byl v takovém případě kontaminován cca. 20 % nečistot podle HPLC a musel být purifikován pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází toluen/aceton 10:1 za nižšího výtěžku, který činil pouze cca. 50 %.



### 3.2.1 Suzuki-Miyauraova cross-couplingová reakce

Během optimalizace Suzuki-Miyauraovy cross-couplingové reakce výchozího vinyl bromidu **II** s boronovými kyselinami byly postupně testovány dva přístupy. V tom prvním z nich byla testována možnost kromě samotné, cross-couplingové reakce, provést v jednom kroku zároveň deprotekcí jak 2,4-dinitrofenylové chránící skupiny na endocyklickém pyrazolovém dusíku v poloze 1, tak deprotekcí ethyl esteru v poloze 3, na karboxylovou kyselinu.

Během prvotního experimentu, kdy byl výchozí vinyl bromid **II**, ponechán reagovat s 1,2 ekvivalenty 4-methoxyfenyl boronové kyseliny **XIa** s nadbytkem fosforečnanu draselného a za katalýzy 2 molárními procenty katalyzátoru XPhosPdG2 při 100 °C a po 4 hodinách, bylo zjištěno, že namísto derivátu **XII** byla v reakční směsi identifikována sloučenina **XIII**.

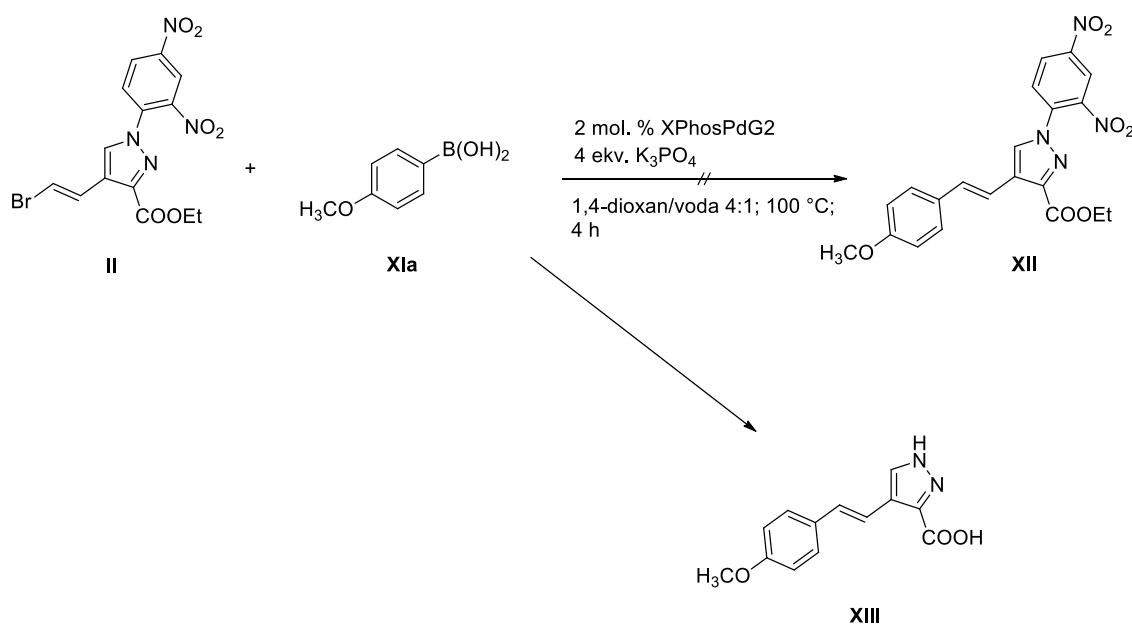
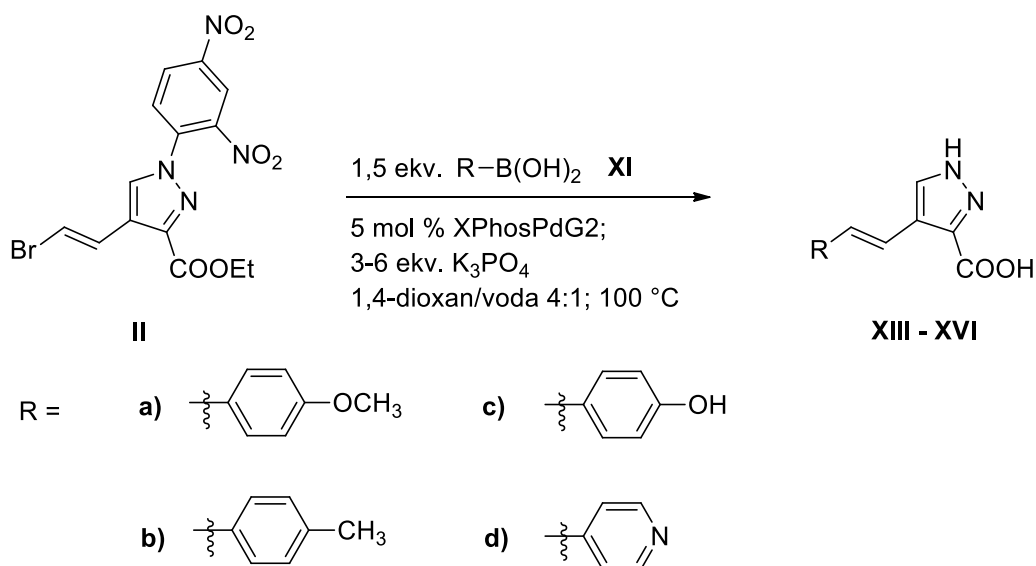


Schéma 41

Fakt, že během reakce docházelo zároveň k deprotekcí obou chránících skupin se zdál být velmi výhodný, proto byly hledány optimální reakční podmínky, kdy by vznikl dominantně pouze produkt **XIII**.

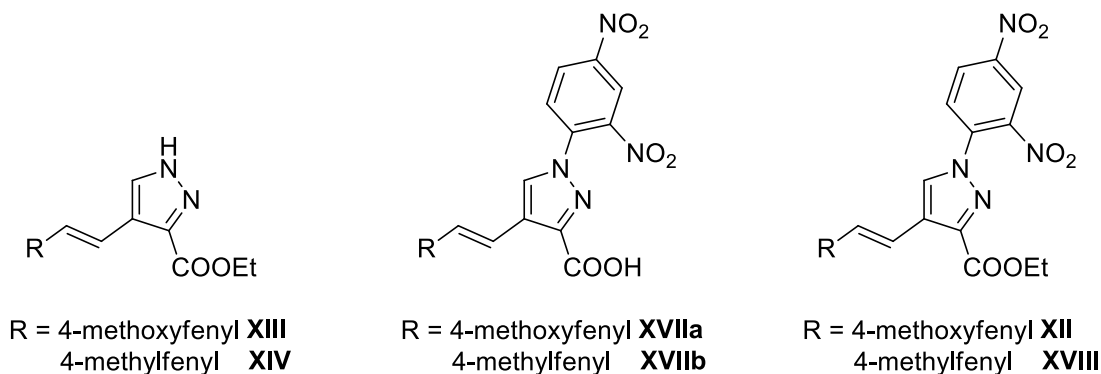
Reakce byla testována postupně se čtyřmi boronovými kyselinami, a to s 4-methoxyfenylboronovou **XIa**, 4-tolylboronovou **XIb**, 4-hydroxyfenylboronovou **XIc** a 4-pyridinylboronovou kyselinou **XId**. Z hlediska biologické aktivity bylo nutné, aby cílové deriváty obsahovaly volnou buď volnou OH skupinu na aromatickém jádře nebo

pyridinylovou skupinu, proto by bylo velmi výhodné, kdyby se za těchto podmínek podařilo provést cross-couplingovou reakci s 4-hydroxyfenylboronovou kyselinou **XIc**, neboť by nebylo nutné dále řešit deprotekcí methoxyskupiny na aromatickém jádře derivátu **XIII**. 4-methylfenylboronová kyselina **XIb** byla do seznamu boronových kyselin zahrnuta pouze pro porovnání reaktivity a nebylo v plánu se zabývat izolací produktu této reakce.



*Schéma 42*

V případě boronových kyselin **XIa** a **XIb**, za uvedených reakčních podmínek nebyla v reakční směsi přítomna výchozí látka již po dvou hodinách. Během monitorování reakce byly sledovány v daném čase vždy tyto 3 produkty:



*Schéma 43*

Při reakci látky **II** s 4-methoxyfenylboronovou kyselinou **XIa** bylo zastoupení produktů v čase následující:

		Zastoupení dle HPLC (%)		
ekv. K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	reakční čas (hod)	<b>XIII</b>	<b>XVIIa</b>	<b>XII</b>
3	4	2	44	54
3	24	40	48	12
6	24	71	11	17

*Tabulka 1*

Při reakci látky **II** s 4-methylfenylboronovou kyselinou **XIb** pak:

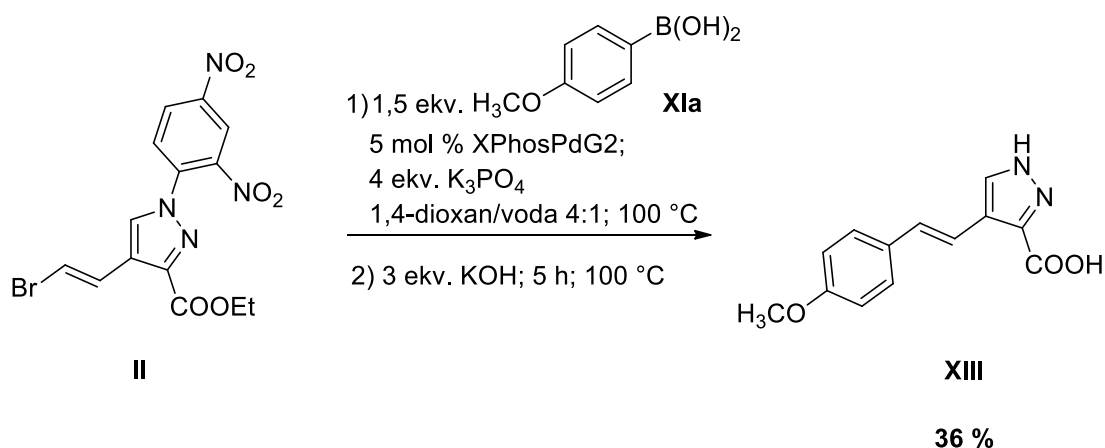
		Zastoupení dle HPLC (%)		
ekv. K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	reakční čas (hod)	<b>XIV</b>	<b>XVIIb</b>	<b>XVIII</b>
6	24	83	7	10
6	48	84	4	11
8	24	80	7	13

*Tabulka 2*

V obou případech se nepodařilo ani za relativně dlouhého reakčního času docílit toho, aby v reakční směsi byl přítomen pouze jeden, žádaný produkt. Další prodloužení reakčního času již pak nevedlo ke změně poměru produktů v reakční směsi. Kromě těchto tří reakčních produktů vznikal v reakční směsi dále 2,4-dinitrofenol, jako vedlejší produkt deprotektce 2,4-dinitrofenylové chránící skupiny na endocyklickém pyrazolovém dusíku v poloze 1.

Reakce s boronovými kyselinami **XIc** a **XId** byly za daných reakčních podmínek neúspěšné a docházelo během nich pouze ke vzniku směsi neidentifikovaných nečistit. Důvodem je pravděpodobně nízká stabilita těchto boronových kyselin za dané reakční teploty.

Značného zefektivnění deprotektce chránících skupin bylo dosaženo přidáním KOH, jakožto silnější báze do reakční směsi po dvou hodinách, tedy v okamžiku, kdy podle HPLC analýzy nebyl v reakci již přítomen výchozí vinyl bromid **II**.



*Schéma 44*

Po přidání 3 ekvivalentů KOH do reakční směsi během reakce vinyl bromidu **II** s 4-methoxyfenylboronovou kyselinou **XIa**, došlo po 5 hodinách k úplné hydrolyze jak 2,4-dinitrofenylové chránicí skupiny, tak ethyl esteru. V reakční směsi byl přítomen pouze derivát **XIII** a 2,4-dinitrofenol jež vznikal jako vedlejší produkt.

Poměrně problematická se však ukázala být izolace produktu **XIII** z reakční směsi. Jak látka **XIII**, tak i 2,4-dinitrofenol jsou látky značně polární a obě vykazují kyselé vlastnosti, proto jejich oddělení za pomoci rekrystalizace se setkalo s neúspěchem. Taktéž díky podobným acidobazickým vlastnostem obou látek nešlo uvažovat o využití kyselé, popř. bazické extrakce. Muselo tedy být uchýleno ke sloupcové chromatografii.

Sloupcová chromatografie pro izolaci látky **XIII** však nebyla příliš vhodná, neboť tato látka vykazuje velmi malou rozpustnost v naprosté většině organických rozpouštědel, včetně těch polárních, jako např. methanolu nebo acetonitrilu. Z důvodu špatné rozpustnosti v organických rozpouštědlech a pravděpodobně také z důvodu kyselých vlastností této látky, docházelo na všech testovaných mobilních fázích ke chvostování látky **XIII** na TLC. Ke chvostování docházelo i poté, co byly testovány mobilní fáze, okyselené kyselinou octovou pro potlačení disociace vodíkového protonu karboxylové skupiny.

Pro separaci byla nakonec použita mobilní fáze ethylacetát/aceton 1:4, při které docházelo k nejlepšímu rozdělení obou látek v reakční směsi na TLC, i navzdory chvostování píku látky **XIII**. Surový produkt musel být adsorbován na silikagel, neboť nebyl rozpustný v mobilní fázi. Během sloupcové chromatografie došlo nejprve k vymytí 2,4-dinitrofenolu z kolony, látka **XIII** však zůstala zadržena na startu, proto byla posléze



vymývána z kolony methanolem, avšak i po několikanásobném vymytí činil výtěžek reakce pouhých 36 %.

Souběžně s tímto experimentem byla testována reakce vinyl bromidu **II** s pinakol esterem 4-pyridinylboronové kyseliny **XIe**, jež namísto volné kyseliny **XId** vykazuje větší stabilitu za vysokých reakčních teplot a lze jej použít ve větším rozmezí reakčních podmínek.

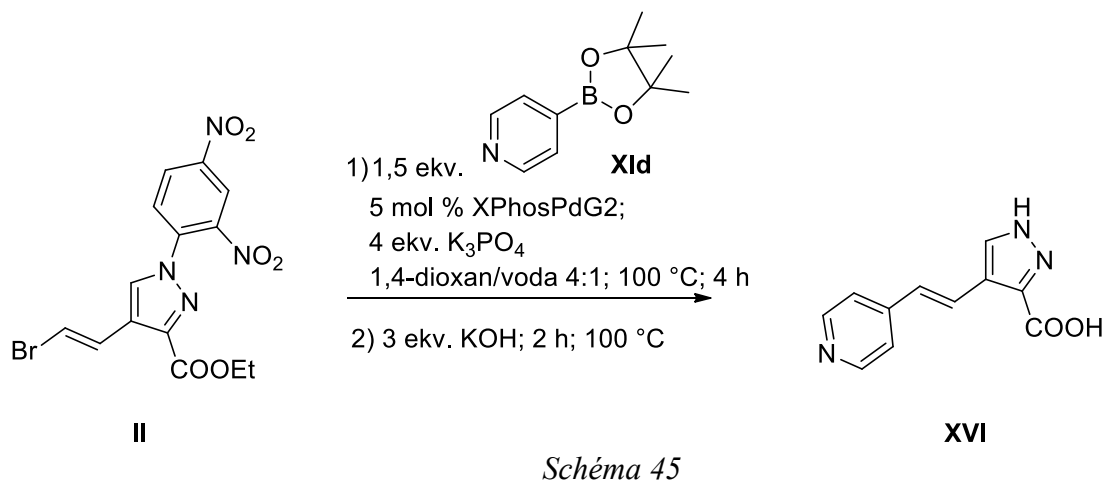
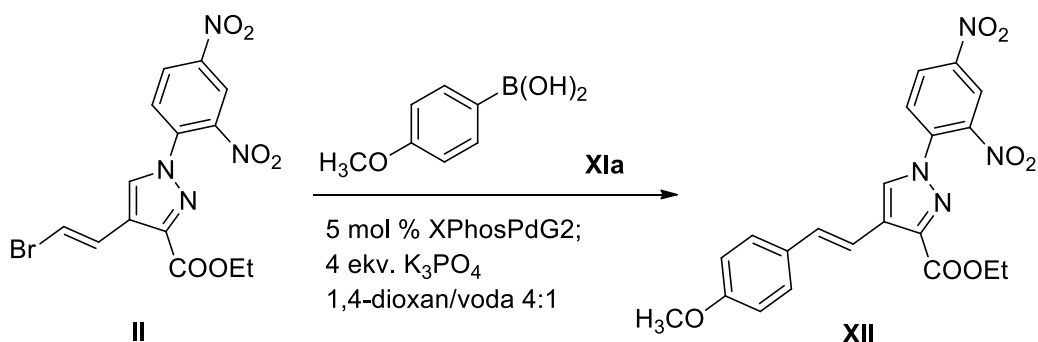


Schéma 45

Za uvedených reakčních podmínek docházelo k doreagování výchozí látky **II** po 4 hodinách. Po této době byly do reakční směsi přidány 3 ekvivalenty KOH, čímž došlo k úplnému odchránění chránících skupin, v tomto případě již po dvou hodinách. Izolace produktu **XVI** však nebyla dále rozpracována.

Z důvodu komplikované izolace produktů reakcí, znázorněných ve schématech 44 a 45, bylo rozhodnuto o změně reakčních podmínek tak, aby během Suzuki-Miyauraovy cross-couplingové reakce, pokud možno nedocházelo k hydrolyze chránících skupin, aby mohly být posléze odchráněny ve formě produktů, jež budou lépe oddělitelné z reakční směsi.

Bylo proto testováno, zda bude docházet k Suzuki-Miyauraově cross-couplingové reakci i za nižší reakční teploty. Nejprve byla testována reakce vinyl bromidu **II** s 4-methoxyfenylboronovou kyselinou **XIa**.



*Schéma 46*

Testované reakční podmínky jsou shrnuty v tabulce 3:

ekv. boronové kyseliny	teplota (°C)	reakční čas (h)	zastoupení dle HPLC (%)		výtěžek (%) po izolaci
			XII	II	
1,5	60	2	100	0	80
1,5	25	2	95	5	neizolováno
1,5	25	5	95	5	76

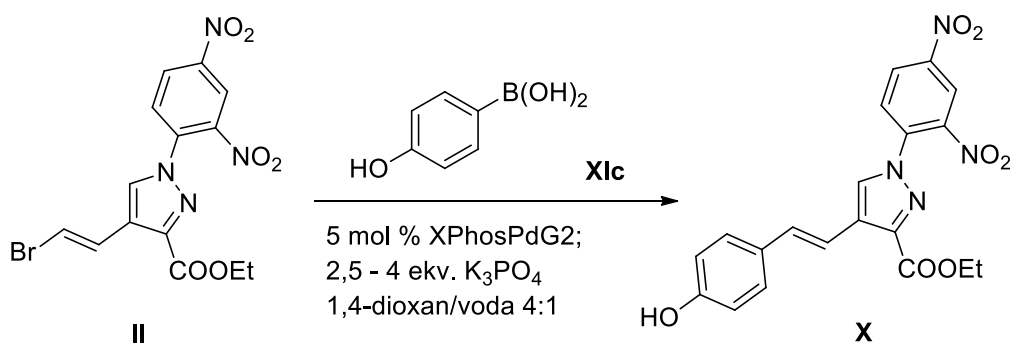
*Tabulka 3*

Již první experiment, provedený při 60 °C byl úspěšný. Po dvou hodinách došlo ke 100 % konverzi výchozí látky **II** na produkt **XII**. Pro zajímavost byla tato reakce testována i při laboratorní teplotě, kdy byl opět pozorován hladký průběh, avšak v tomto případě zůstávalo v reakční směsi i po delší době cca. 5 % nedoreagované výchozí látky podle HPLC.

Izolace byla provedena naředěním reakční směsi dvojnásobným množstvím vody a okyselením na pH = 1.

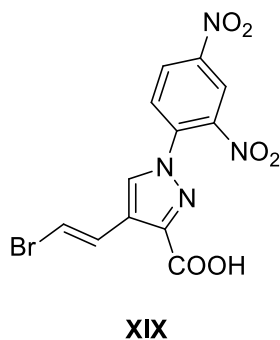
Jakmile byl otestován hladký průběh reakce vinyl bromidu **II** s 4-methoxyfenyl boronovou kyselinou **XIa** za nižší reakční teploty než 100 °C, byla vyslovena otázka, zda by za nižší reakční teploty nešlo provést reakci s 4-hydroxyfenyl boronovou kyselinou **XIc**, což by značně zjednodušilo reakční cestu k cílovým derivátům, jež by odpadla nutnost řešit deprotektci methoxy skupiny na benzenovém jádře derivátu **XII**.

Tato reakce byla proto záhy otestována.



*Schéma 47*

Veškeré provedené experimenty jsou pak shrnuty v tabulce 4 na následující straně. Již první provedený experiment, při němž byl výchozí vinyl bromid **II**, ponechán reagovat s 1,2 ekvivalenty 4-hydroxyfenylboronové kyseliny **XIc** s 2,5 ekvivalenty báze  $\text{K}_3\text{PO}_4$  v směsi rozpouštědel 1,4-dioxan/voda 4:1, při 60 °C a za katalýzy 5 molárními procenty XPhos Pd G2 po 2 hodinách, byl nakonec neoptimálnější. Avšak za těchto reakčních podmínek zůstávalo v reakční směsi asi 5 % nezreagované výchozí látky **II**. Proto byly hledány reakční podmínky, kde by docházelo ke 100 % konverzi výchozí látky **II** na produkt **X**, avšak ty se nalézt nepodařilo. Dalším zvyšováním reakční teploty docházelo k částečné hydrolyze esterové skupiny výchozí látky **II**, za vzniku nečistoty **XIX**. Navíc byla za vyšší teploty ztelně horší konverze výchozí látky **II** na produkt **X**, což bylo způsobeno pravděpodobně protodeboronací 4-hydroxyfenylboronové kyseliny **XIc**. Pro zajímavost byla rovněž testována reakce za laboratorní teploty, avšak byla pomalejší než v případě 4-methoxyfenylboronové kyseliny **XIa** a konverze při ponechání reakční směsi přes noc činila pouze zhruba 25 % podle HPLC. Dále byly testovány i další rozpouštědla a báze, za optimální reakční teploty, avšak ani jeden z těchto experimentů nevedl ke zlepšení reaktivity na 100 % konverzi výchozí látky **II** na produkt **X**.



*Schéma 48*

ekv. boronové kyseliny	ekv. báze	báze	rozpouštědlo	teplota (°C)	reakční čas (h)	zastoupení dle HPLC (%)			výtěžek (%) surový produkt
						X	II	XIX	
1,5	2,5	K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	dioxan:voda 4:1	60	2	95	5	0	90
1,5	4	K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	dioxan:voda 4:1	60	2	95	5	0	90
1,5	2,5	K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	dioxan:voda 4:1	60	8	95	5	0	90
2	2,5	K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	dioxan:voda 4:1	60	2	95	5	0	90
2	2,5	K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	dioxan:voda 4:1	60	přes noc	95	5	0	90
2	2,5	K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	dioxan:voda 4:1	25	přes noc	25	75	0	neizolováno
2	2,5	K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	dioxan:voda 4:1	80	2	40	55	5	neizolováno
2	2,5	K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	MeCN:voda 4:1	60	2	5	95	0	neizolováno
2	2,5	K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	MeCN:voda 4:1	60	přes noc	5	95	0	neizolováno
2	2,5	K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	THF:voda 4:1	60	2	60	35	5	neizolováno
2	2,5	K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	THF:voda 4:1	60	přes noc	60	35	5	neizolováno
2	2,5	K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	DMF:voda 4:1	60	2	směs nečistot			neizolováno
2	2,5	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	dioxan:voda 4:1	60	2	70	30	0	neizolováno
2	2,5	Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	dioxan:voda 4:1	60	2	55	45	5	neizolováno

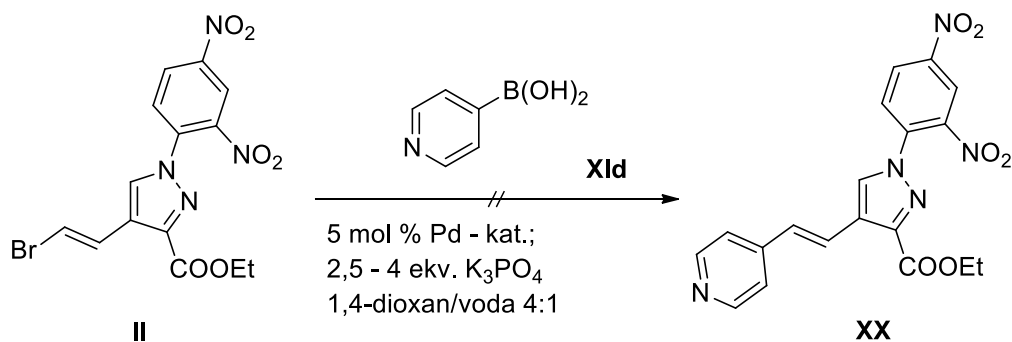
Tabulka 4

Surový produkt **X** byl izolován stejně jako v předchozím případě, tedy naředěním reakční směsi dvojnásobným množstvím vody a okyselením na pH = 1 a jeho HPLC čistota činila zhruba 90 %, přičemž hlavními nečistotami byly výchozí látka **II** a katalyzátor.

Bylo postupně testováno několik purifikačních metod. Tou první byla rekrystalizace z butan-1-olu. Tou se podařilo získat produkt **X** v čistotě zhruba 93 % podle HPLC, avšak nepodařilo se účinně zcela odstranit ani vedlejší produkt, ani katalyzátor. Výtěžek po rekrystalizaci činil 73 % a poměr *E/Z* izomerů byl podle NMR 95:5. Takto vyčištěný produkt byl pro potřeby další syntézy dostačující.

Druhou purifikační metodou byla sloupcová chromatografie s mobilní fází toluen/acetonitril 10:1. Na sloupcové chromatografii se podařilo efektivně odseparovat výchozí látku **II**, avšak retenční faktor katalyzátoru byl takřka totožný s produktem **X** a proto se je ve většině frakcí nepodařilo účinně odseparovat. Taktéž se nepodařilo oddělit vzniklý *Z* izomer. Celkový výtěžek po sloupcové chromatografii činil 77 % a poměr *E/Z* byl stejně jako v předchozím případě 95:5. Čistý produkt, jež byl získán odpařením frakcí, jež neobsahovaly katalyzátor byl použit pro účely charakterizace látky **X**.

Dále byla testována reakce vinyl bromidu **II** s 4-pyridinylboronovou kyselinou **XId**.



*Schéma 49*

Při použití osvědčených reakčních podmínek z předchozích experimentů nedocházelo při reakci vinyl bromidu **II** s 4-pyridinylboronovou kyselinou **XId** ke konverzi větší než cca. 18 % ani po relativně dlouhé reakční době. Při použití vyšší reakční teploty, jež činila 80 °C docházelo již ke zdatelné hydrolyze esterové skupiny výchozí látky **II** a vzniku nečistoty **XIX**. Kromě XPhos Pd G2 byly v této reakci testovány i novější generace Buchwaldových prekatalyzátorů, a to XPhos Pd G3 a XPhos

Pd G4. V případě použití XPhos Pd G3 bylo dosaženo o něco lepší konverze než v případě XPhos Pd G2. Experimenty jsou sumarizovány v tabulce 5:

ekv. boronové kyseliny	ekv. báze	Pd katalyzátor	teplota (°C)	reakční čas (h)	zastoupení dle HPLC (%)		
					XX	II	XIX
1,5	2,5	Xphos Pd G2	60	2	8	92	0
1,5	2,5	Xphos Pd G2	60	přes noc	18	82	0
1,5	2,5	Xphos Pd G2	80	2	5	90	5
1,5	2,5	Xphos Pd G2	80	přes noc	5	85	10
1,5	2,5	Xphos Pd G3	60	2	15	85	0
1,5	2,5	Xphos Pd G3	60	přes noc	20	75	5
1,5	2,5	Xphos Pd G4	60	2	10	90	0
1,5	2,5	Xphos Pd G4	60	přes noc	10	90	0

Tabulka 5

Byl proveden i experiment s pinakol esterem 4-pyridinylboronové kyseliny **XIe**:

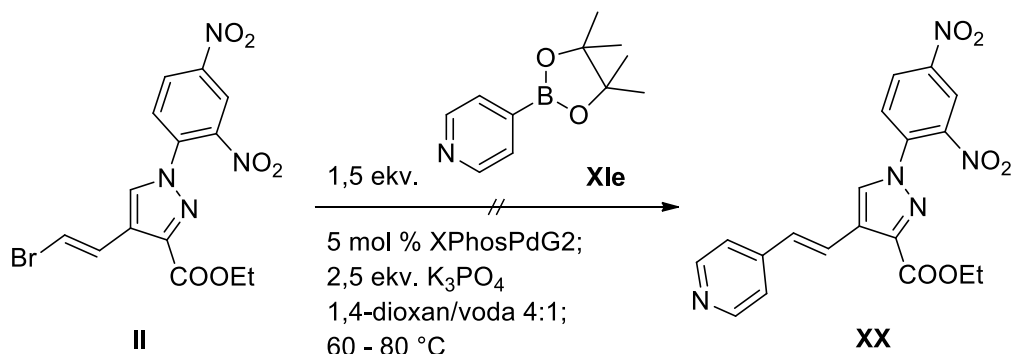
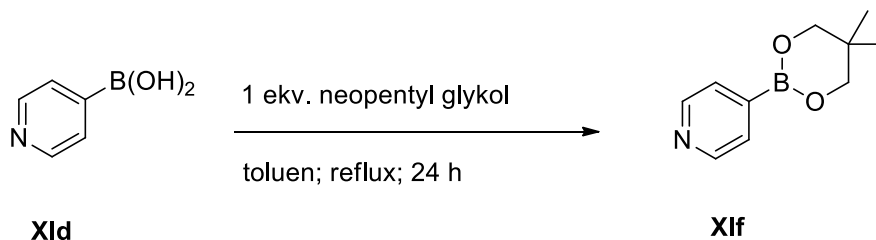


Schéma 50

Při reakční teplotě 60 °C nebyla pozorována žádná konverze výchozí látky **II** na produkt **XX**. To bylo způsobeno tím, že za této teploty nedochází k hydrolyze pinakol esteru **XIe** na boronovou kyselinu **XId**, jež by mohla reagovat. Pakliže byla zvýšena teplota na 80 °C, byla pozorována konverze cca. 5 %, při ponechání reakční směsi přes noc, ovšem v reakci bylo detekováno cca. 10 % nečistoty **XIX**, což naznačuje, že docházelo rychleji k hydrolyze esteru na výchozím vinyl bromidu **II** než na pinakol esteru boronové kyseliny **XIe**.

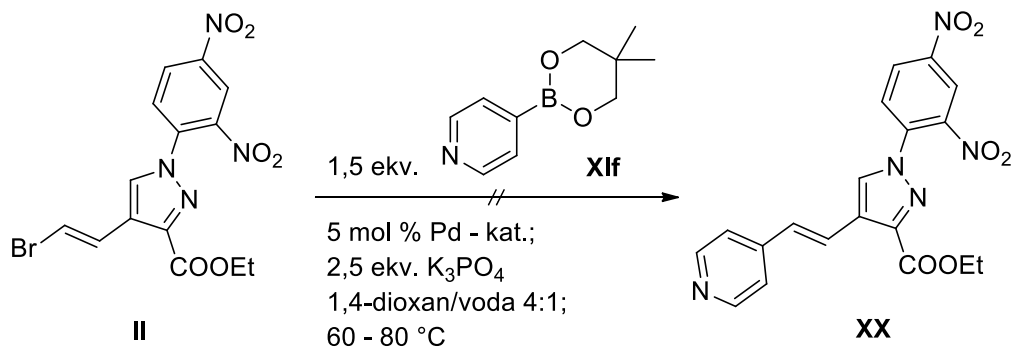
Dále byl testován neopentyl ester 4-pyridinylboronové kyseliny **XIf**, neboť se předpokládalo, že by se tento stericky méně bráněný ester mohl hydrolyzovat na boronovou kyselinu **XId** za nižší reakční teploty.

Neopentyl ester **XIf** byl připraven esterifikací 4-pyridinylboronové kyseliny **XId** s ekvimolárním množstvím neopentyl glykolu v toluenu za refluxu v Dean-Starkově aparatuře po 24 hodinách.



*Schéma 51*

Reakce tohoto esteru **XIf** s vinyl bromidem **II** však vykazovala stejný trend jako v případě pinakol esteru **XIe**. Minimální konverze byla pozorována až při teplotě 80 °C, ovšem v reakční směsi bylo přítomno větší množství nečistoty v podobě hydrolyzované výchozí látky **XIX**.



*Schéma 52*

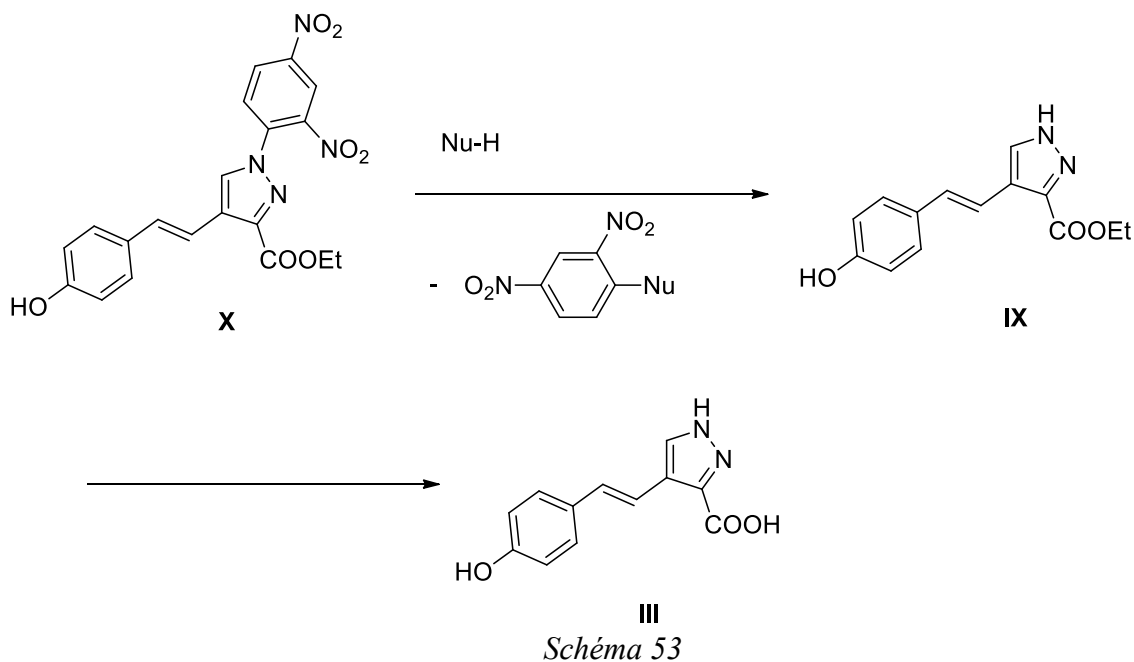
Derivát **XX** se žádnou z výše popsaných metod připravit nepodařilo, proto byla snaha o jeho přípravu opuštěna a bylo věnováno veškeré úsilí k přípravě cílových sloučenin z intermediátu **X**.

### 3.2.2 Deprotekce chránících skupin

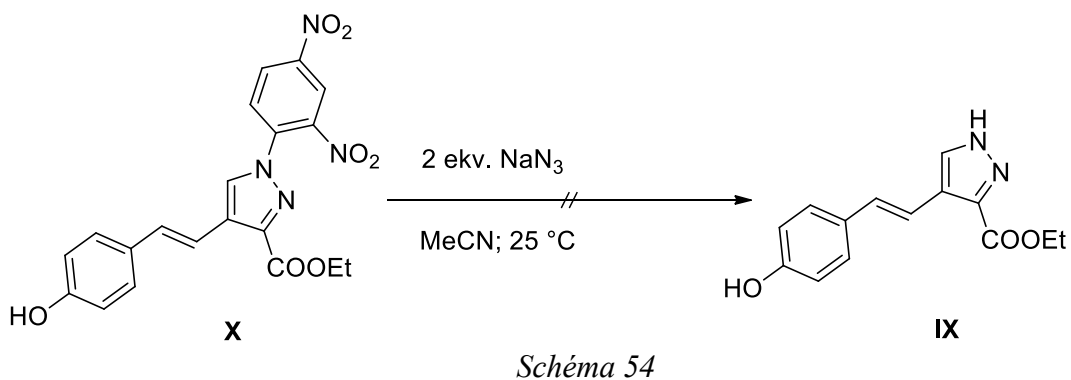
Vzhledem k tomu, že prvotně slibné reakční podmínky Suzuki-Miyauraovy cross-couplingové reakce, při kterých docházelo jak k ochránění 2,4-dinitrofenylové chránící skupiny na endocyklickém pyrazolovém dusíku v poloze 1, tak k hydrolyze esteru

v poloze 3, se ukázaly jako velmi nevýhodné z důvodu komplikované izolace produktu **XIII**, bylo nutno provádět ochrání těchto skupin v samostatných reakčních krocích.

Cílem bylo nejprve ochránit 2,4-dinitrofenylovou chránicí skupinu ve formě pokud možno lipofilní, snadno separovatelné sloučeniny a poté provést na vzniklém derivátu **IX** hydrolyzu esteru v poloze 3.



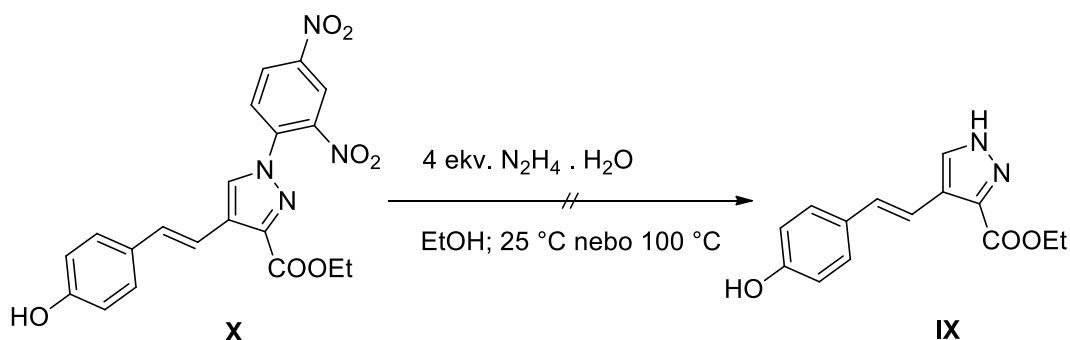
Prvním činidlem, jež byl testován pro deprotektci 2,4-dinitrofenylové skupiny na derivátu **X** byl azid sodný. Reakční podmínky byly inspirovány v literatuře.<sup>57</sup>



Během reakce však nedocházelo k žádné konverzi výchozí látky **X** na produkt **IX**. Jako pravděpodobná příčina nezdaru mohla být velmi malá rozpustnost azidu sodného v acetonitrilu za laboratorní teploty.

Druhým testovaným činidlem byl hydrazin hydrát. Výchozí reakční podmínky byly opět inspirovány v literatuře.<sup>58</sup>

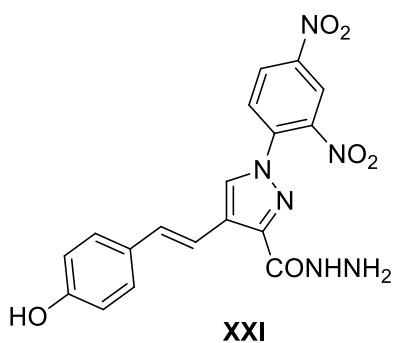




*Schéma 55*

Hydrazin hydrát byl zvolen jako činidlo, neboť se předpokládalo, že vzniklý 2,4-dinitrofenylhydrazin bude díky svým bazickým vlastnostem snadno oddělitelný od produktu **IX** buď krystalizací při vhodném pH, nebo acidobazickou extrakcí.

Prvotní testovací reakce z navážky 20 mg výchozí látky **X** vypadaly velmi slibně. Jak za laboratorní teploty, tak za refluxu docházelo již po 1 hodině ke vzniku žádaného derivátu **IX**. Nečekaný problém však nastal, když byla navážka zvýšena na 100 mg. V reakční směsi v takovém případě za obou reakčních teplot vznikal ve velké míře hydrazid **XXI**.



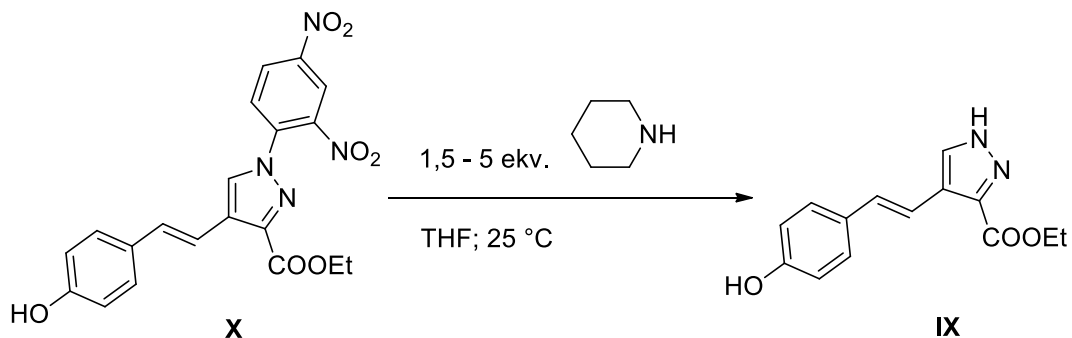
*Schéma 56*

Příčina vzniku hydrazidu **XXI** při větší navážce nebyla objevena, proto bylo rozhodnuto o upuštění od této metody a bylo pokračováno v hledání vhodného činidla.

Jako optimální činidlo vhodné pro ochránění 2,4-dinitrofenylové skupiny byl zvolen piperidin. Prvotní reakční podmínky byly opět inspirovány v literatuře.<sup>59</sup>

Postupným testováním různého počtu ekvivalentů piperidinu vůči výchozí látce **X** byly nakonec jako optimální zvoleny 3 ekvivalenty po reakční čas 3 hodiny. V reakční směsi i za ideálních reakčních podmínek přetrvávaly zhruba 3 % nezreagované výchozí

látky **X**. Bylo testováno, zda výchozí látka nedoreaguje za delší reakční čas, popř. při zvýšení ekvivalentů piperidinu na 5, avšak tyto pokusy byly neúspěšné.



*Schéma 57*

Optimalizace reakčních podmínek je shrnuta v následující tabulce:

ekv. piperidinu	reakční čas (h)	zastoupení dle HPLC (%)	
		<b>IX</b>	<b>X</b>
1,5	24	90	10
1,8	48	95	5
2	3	93	7
2	24	95	5
3	3	97	3
3	24	97	3
5	3	97	3

*Tabulka 6*

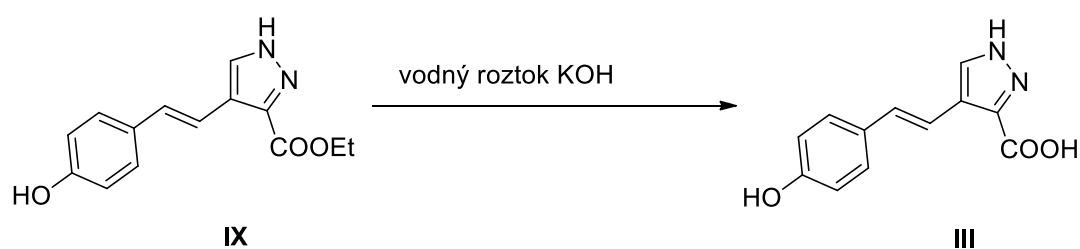
Reakční směs byla poté zpracována odpařením do sucha na rotační vakuové odparce, čímž byl získán černý olej, obsahující produkt **IX**, několik procent nezreagované výchozí látky **X** a 2,4-dinitrofenylpiperidin.

Jako první purifikační metoda byla testována sloupcová chromatografie. Optimální mobilní fáze byla na TLC zvolena ethylacetát/hexan 2:3. Sloupcová chromatografie však nebyla příliš vhodná z důvodu špatné rozpustnosti látky **IX** v organických rozpouštědlech a výtěžek po koloně byl velmi malý a činil pouhých 35 %.

Druhou testovanou metodou purifikace byla bazická extrakce. Látka **IX** ve své struktuře obsahuje fenolickou OH skupinu a zároveň nechráněný endocyklický pyrazolový dusík v poloze 1, od nichž se předpokládá, že budou vykazovat kyselé vlastnosti. Proto bylo předpokládáno, že bude-li vodná fáze alkalizována silnou bází, jako

je např. KOH, bude do organické fáze přecházet pouze 2,4-dinitrofenylpiperidin, popřípadě pak výchozí látka **X**.

Odparek byl tedy suspendován při prvním pokusu 5 % roztokem KOH (5 ml na 0,25 mmol navážky výchozí látky **X**). Ten byl poté extrahován 5x CHCl<sub>3</sub>. Během extrakce dle očekávání do organické fáze přecházel pouze 2,4-dinitrofenylpiperidin a nedoreagovaná výchozí látka **X**. Bylo nicméně zjištěno, že v alkalické vodné fázi dochází již za laboratorní teploty k hydrolýze ethyl esteru v poloze 3 pyrazolu a tudíž dochází ke vzniku látky **III**. Toto bylo bráno jako pozitivum, neboť by se tím pádem ušetřil jeden reakční krok.



*Schéma 58*

Vodná fáze, obsahující po extrakci látku **IX** a částečně hydrolyzovaný produkt **III** byla proto míchána za laboratorní teploty a byla monitorována doba nutná k tomu, aby byla esterová skupina hydrolyzována zcela. Při extrakci byly testovány různé koncentrace KOH. Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce.

% koncentrace KOH (5 ml na 0,25 mmol <b>X</b> )	doba nutná pro hydrolýzu esteru <b>IX</b> (h)
1	2
5	4
10	12

*Tabulka 7*

Kyselina **III** byla posléze z reakční směsi vysrážena okyselením konc. HCl ve formě jemné sraženiny, již nebylo možno zachytit na běžném filtračním papíře, ani na filtračním papíře s modrým pruhem. Jedinou možností, jak látku **III** zfiltrovat bylo použití frity s označením S4. Alternativně je možno látku **III** izolovat extrakcí do butan-1-olu a následně odpařením extraktu do sucha.

Izolace za pomoci bazické extrakce však nevyřešila problém s malým výtěžkem. Výtěžek látky **III** po extrakci činil pouhých 35 %, důvodem byl pravděpodobně fakt, že část produktu **IX** se během extrakce nerozdělilo ani do organické, ani do vodné fáze a zůstalo na mezifázi.

Nejúčinnější izolační metoda látky **IX** byla nakonec ta nejjednodušší, co se provedení týče. Bylo zjištěno, že je-li k odparce po zpracování reakční směsi přidáván toluen, dochází za přítomnosti vnějšího mechanického podnětu (magnetické míchadlo, popř. ultrazvuk) selektivně ke krystalizaci látky **IX**. Takto lze získat produkt **IX** ve výtěžku 66 % a ve vysoké čistotě podle NMR. Poměr *E/Z* izomerů podle NMR zůstal v tomto reakčním kroku nezměněný, tedy 95:5.

Hydrolyza esterové skupiny na pyrazolu **IX** v poloze 3 byla dosažena nadbytkem silné báze ve vodném prostředí. Nejprve byla testována reakce s 5 ekvivalenty KOH.

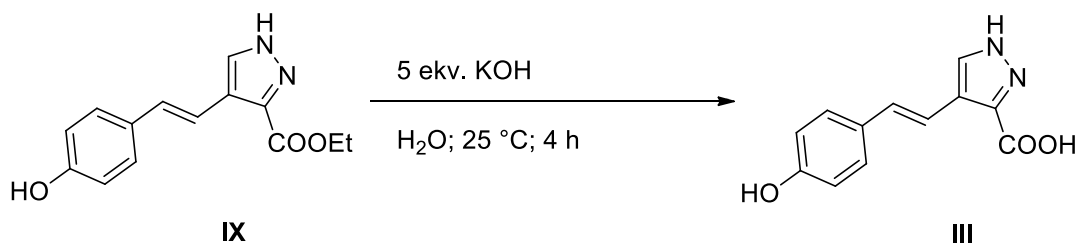


Schéma 59

Reakční směs byla poté zpracována okyselením, čímž došlo k vysrážení látky **III**. Takto izolovaný produkt byl v HPLC čistotě cca. 90 %. Bylo zjištěno, že o něco čistějšího průběhu reakce lze dosáhnout, použije-li se namísto KOH, LiOH.

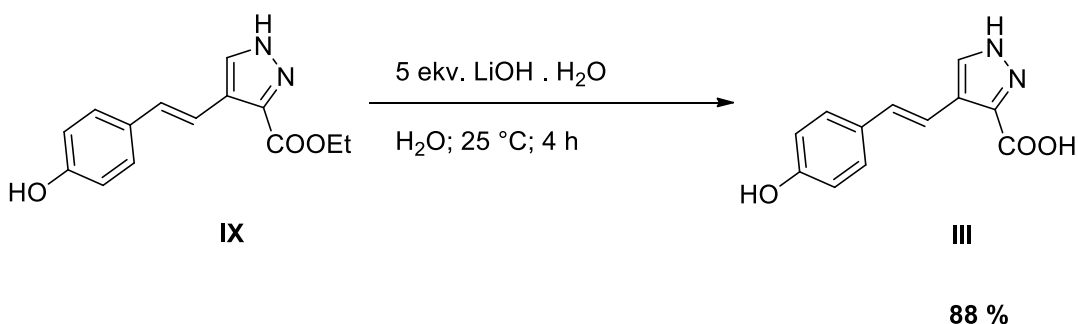
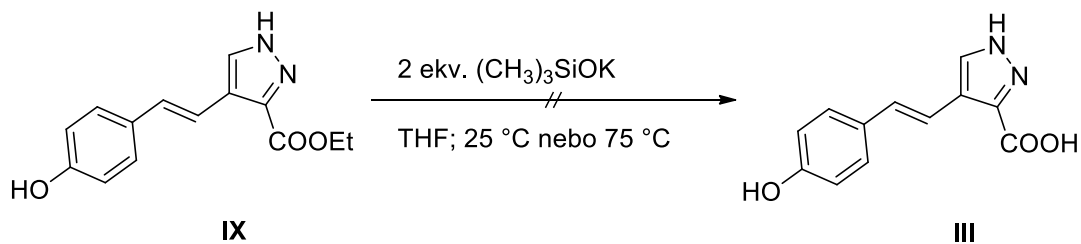


Schéma 60

Kyselinu **III** lze takto získat ve výtěžku 88 % v NMR čistotě kolem 96 % již zmíněným izolačním postupem, což je dostačující pro další syntézu. Zajímavý je fakt, že na NMR nebyly nalezeny příslušné dublety dvojných vazeb, odpovídající *Z*-izomeru. Poměr *E/Z* byl tedy po tomto reakčním kroku pravděpodobně vyšší než 99:1.

Alternativně byla testována hydrolyza esteru na derivátu **IX** za pomoci nadbytku trimethylsilanolátu draselného v THF.

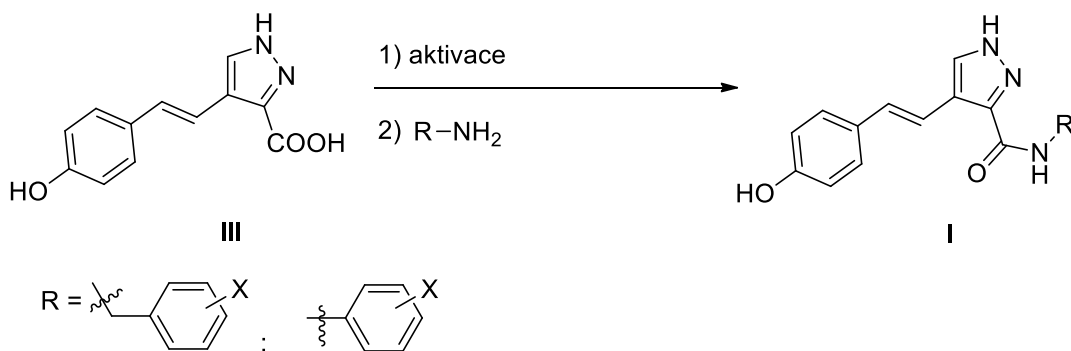


*Schéma 61*

Jak za laboratorní teploty, tak za refluxu nebyla pozorována žádná konverze výchozí látky **IX** na produkt **III**.

### 3.2.3 Příprava potenciálně biologicky aktivních amidů

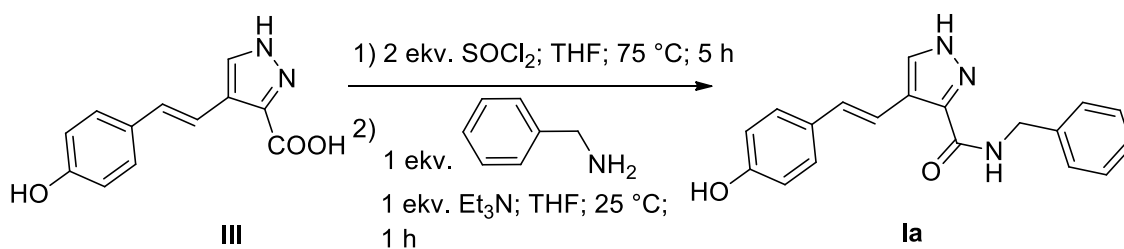
Cílové sloučeniny **I**, byly připraveny z výchozí karboxylové kyseliny **III**. Aby mohla být karboxylová kyselina **III** převedena na cílové amidy **I**, musela být nejprve aktivována na příslušný aktivovaný derivát, jež poté mohl reagovat s příslušnými aniliny a benzylaminy.



*Schéma 62*

Postupně bylo testováno několik metod aktivace karboxylové skupiny, z nichž nejefektivnější nakonec byla tvorba aktivovaného esteru za pomoci kombinace EDCI a HOBt. Všechny metody, jež byly v průběhu optimalizace přípravy cílových látek testovány budou diskutovány níže.

První metodou, jež byla pro přípravu cílových látek **I**, z karboxylové kyseliny **III** otestována, byla příprava pomocí tvorby acyl chloridu.



*Schéma 63*

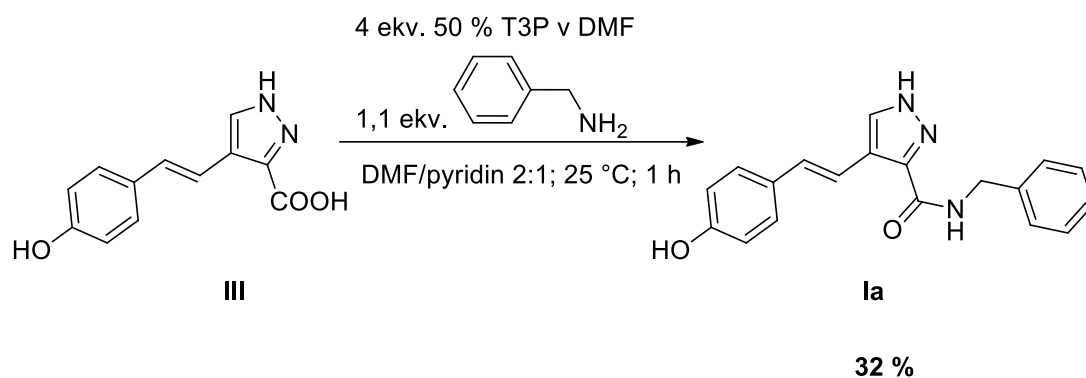
Acyl chlorid byl nejprve připraven reakcí karboxylové kyseliny **III** s 2 ekvivalenty SOCl<sub>2</sub> za refluxu v THF. Reakční doba nutná pro vznik acyl chloridu činila 5 hodin, přičemž průběh reakce byl monitorován za pomoci HPLC. Nestabilní acyl chlorid byl pro před přípravou vzorku na HPLC nejprve derivatizován nadbytkem piperidinu na amid, jež posléze mohl být v reakční směsi detekován.

Jakmile v reakční směsi nebyla přítomna již žádná karboxylová kyselina **III**, bylo odpařeno rozpouštědlo společně s nezreagovaným SOCl<sub>2</sub> na rotační vakuové odparce do sucha. Odparek byl posléze rozpuštěn v THF, k reakční směsi byl přidán triethylamin, jakožto nenukleofilní báze, vychytávající v reakci vznikající HCl a příslušný amin.

Za uvedených podmínek byla testována reakce chloridu kyseliny s benzylaminem. Uvedená reakce byla za 1 hodinu již hotová, avšak neobešla se bez vzniku velkého množství neidentifikovaných nečistot. HPLC čistota surového produktu **Ia** činila cca. 65 %.

Byl proveden pokus o purifikaci připraveného amidu **Ia**, pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází toluen/acetonitril 5:2, avšak z důvodu velmi komplexní reakční směsi se jej však nepodařilo izolovat v dostatečné čistotě. Z toho důvodu byla metoda přípravy amidů **I**, přes acyl chlorid opuštěna a byly testovány jiné možnosti přípravy cílových látek.

Druhou testovanou metodou byla aktivace karboxylové kyseliny **III**, za pomoci T3P.



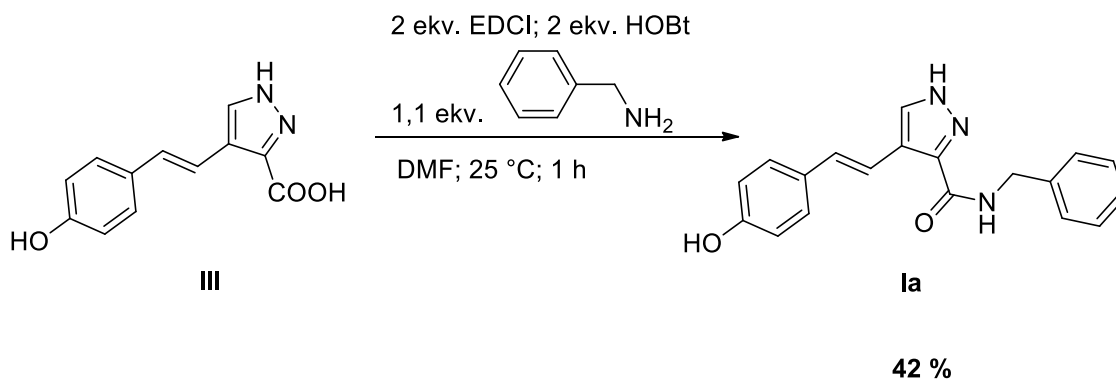
*Schéma 64*

Pro aktivaci byly využity 4 ekvivalenty komerčně dostupného 50 % roztoku T3P v DMF, jako báze pak byl zvolen pyridin. Velký nadbytek činidla vůči výchozí látce **III**, byl zvolen z toho důvodu, že v případě použití 2 ekvivalentů T3P nedocházelo zcela k doreagování výchozí látky **III**. Pro účely testovací reakce byl opět využit benzylamin. Po jedné hodině nebyla již v reakční směsi přítomna žádná výchozí látka **III**. Surový produkt byl získán naředěním reakční směsi 1 M roztokem HCl, a následnou extrakcí ethylacetátem.

Ani zde se však nepodařilo docílit čistého průběhu reakce. HPLC čistota surového produktu po extrakci činila cca. 70 %.

Byla provedena purifikace za pomoci sloupcové chromatografie, opět s mobilní fází toluen/acetonitril 5:2, kdy se podařilo izolovat derivát **Ia** ve výtěžku 32 %.

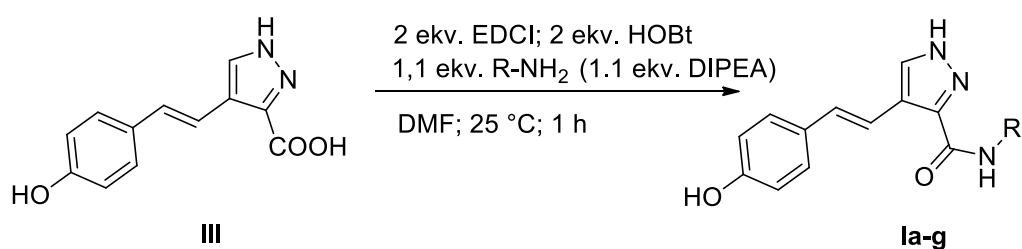
Jako třetí v pořadí byla testována metoda aktivace karboxylové kyseliny **III** s kombinací EDCI a HOBt.



*Schéma 65*

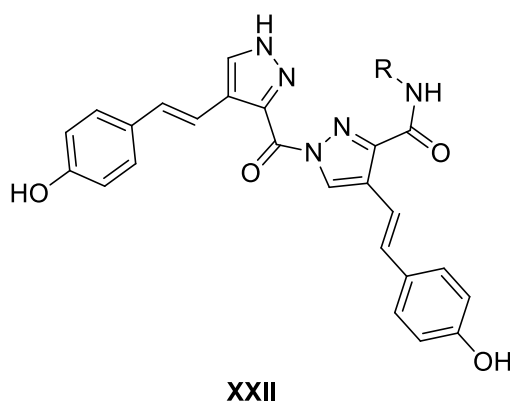
Za uvedených reakčních podmínek byla testovací reakce karboxylové kyseliny **III** s benzylaminem hotová již za jednu hodinu. Reakční směs byla poté zpracována naředěním vodou a posléze extrakcí ethylacetátem. Surový produkt kromě látky **Ia** obsahoval pouze HOBt a jednu dominantní nečistotu **XXII**, jíž bylo cca. 5 % podle HPLC a jež bude diskutována níže.

Byla provedena purifikace pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází toluen/acetonitril 5:2, po níž byl získán derivát **Ia** ve výtěžku 42 %. Vzhledem k tomu, že za této metody docházelo během reakce k nejmenšímu množství nečistot, byly tyto podmínky použity i pro přípravu dalších derivátů.



*Schéma 66*

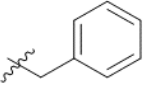
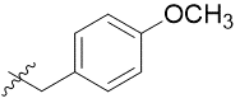
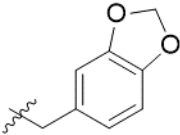
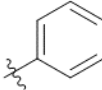
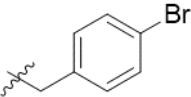
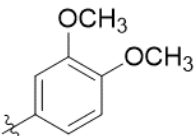
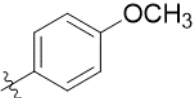
Výsledky provedených experimentů jsou shrnuty v tabulce 8 na následující straně. V případě, že byl výchozí amin ve formě hydrochloridu, byl do reakční směsi přidán odpovídající ekvivalent báze. U všech reakcí výchozí karboxylové kyseliny **III** s benzylaminem docházelo pravděpodobně ke vzniku nečistoty **XXII**, jejíž struktura je navržena jen na základě LC-MS analýzy.



*Schéma 67*

Předpokládá se totiž, že by tato nečistota **XXII** mohla při prodloužení reakční doby, popř. zvýšené teploty reagovat s další molekulou aminu, za vzniku cílové látky **I**. U reakcí karboxylové kyseliny **III** s příslušnými aniliny nebyla tato nečistota pozorována.



R		Zastoupení dle HPLC (%)		Výtěžek (%)
		I	XXII	
la		95	5	42
lb		97	3	47
lc		90	10	42
ld		100	0	28
le		80	20	51
lf		100	0	52
lg		100	0	32

Tabulka 8

Všechny cílové sloučeniny byly izolovány pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází toluen/acetonitril 5:2. Malé výtěžky byly způsobeny pravděpodobně špatnou rozpustností látek **I** v mobilní fází a obecně v organických rozpouštědlech. Zvolená mobilní fáze byla jedna z mála, kde alespoň nedocházelo ke chvostování příslušných skvrn na TLC. Mobilní fází, v níž by byly cílové sloučeniny **I** rozpustné se najít nepodařilo.

V případě aminů, jež reagovaly bez vzniku nečistoty **XXII** bylo testováno, zda by nešlo HOBt odstranit za pomoci bazické extrakce s 5 % roztokem  $K_2CO_3$ , avšak tato čistící metoda se neukázala být příliš vhodná, neboť při bazické extrakci přecházely látky **I** ze značné části do vodné fáze.

U cílových sloučenin **I** se předpokládá, že budou vykazovat CDK II inhibiční aktivitu. Výsledky biologického testování však z časových důvodů nemohlo být zahrnuto do diplomové práce.

## 4 Experimentální část

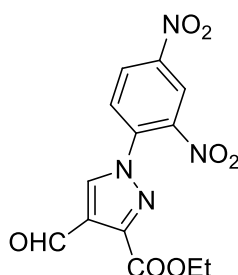
NMR spektra byla měřena na spektrometru JEOL 400II ( $^1\text{H}$ : 399,78;  $^{13}\text{C}$ : 100,53 MHz). Všechny vzorky byly rozpuštěny a následně změřeny v DMSO- $d_6$  a  $\text{CDCl}_3$  a chemické signály byly referencovány vždy na střed daného rozpouštědla (DMSO- $d_6$ : 2,50 ppm, 39,51 ppm;  $\text{CDCl}_3$ : 7,27 ppm, 77,00 ppm).

Všechny LC-MS analýzy byly měřeny na UHPLC-MS systému, opatřeném UHPLC chromatografem Accela s fotodiodovou řadou a trojitým kvadrupólovým hmotnostním spektrometrem TSQ Quantum Access (Thermo Scientific, CA, USA). TLC chromatografie byla prováděna na hliníkových deskách pokrytých silikagelem 60 F254 značky Merck. Teploty tání byly měřeny na Boetiově bodotávku a nejsou korigovány.

Veškeré komerčně dostupné sloučeniny a činidla byly použity bez čištění.

### 4.1 Příprava intermediátů

#### 4.1.1 Ethyl 1-(2,4-dinitrofenyl)-4-formyl-1H-pyrazol-3-karboxylát



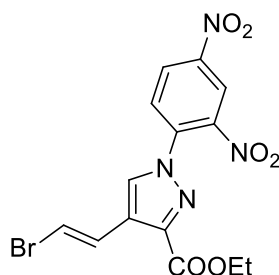
Do 94,5 ml bezvodého DMF bylo za chlazení ledem přidáváno po kapkách  $\text{POCl}_3$  (74 ml; 808,8 mmol). Po přidání veškerého  $\text{POCl}_3$  byl roztok půl hodiny míchán při  $0^\circ\text{C}$ . Poté byl do reakční směsi přidán ethyl 2-(2,4-dinitrofenylhydrazono)propanoát (30 g; 101,7 mmol). Posléze byla zvýšena teplota na  $75^\circ\text{C}$ , po cca. půl hodině až 2 hodinách došlo k rozpuštění veškeré výchozí látky. Směs byla poté zahřívána při  $75^\circ\text{C}$  dalších 4-8 hodin, dokud nedošlo k doreagování veškeré výchozí látky podle HPLC. Poté byla reakční směs ochlazena na laboratorní teplotu a nalita na cca. 600 g ledu za míchání. Směs byla poté zneutralizována nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného na  $\text{pH} = 6$ , čímž došlo k vyloučení žluté pevné látky. Reakční směs byla po neutralizaci ponechána přes noc při laboratorní teplotě. Pevná látka byla poté zfiltrována a vysušena do konstantní hmotnosti. Bylo získáno 23,1 g produktu ve formě žluté krystalické látky, což činilo 68 % výtěžek.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 10.27 (s, 1 H), 9.24 (s, 1 H), 8.95 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 1 H), 8.74 (dd,  $J$  = 2.5, 8.9 Hz, 1 H), 8.27 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 1 H), 4.40 (q,  $J$  = 7.3 Hz, 2 H), 1.34 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 3 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (101MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 185.8, 160.2, 147.1, 145.0, 143.3, 135.7, 135.1, 128.5, 128.4, 124.9, 121.2, 61.6, 13.8

Teplota tání: 140 – 144 °C; MS: 335,07 [M+H] $^+$

#### 4.1.2 (*E*)-ethyl 4-(2-bromvinyl)-1-(2,4-dinitrofenyl)-1H-pyrazol-3-karboxylát



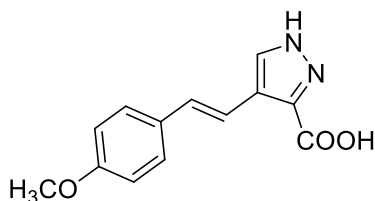
(*E*)-ethyl 4-(2-karboxyvinyl)-1-(2,4-dinitrofenyl)-1H-pyrazol-3-karboxylát (15 g; 39,8 mmol) a octan draselný (3,9 g; 39,8 mmol) byly rozpuštěny ve směsi 239 ml acetonu a 239 ml vody při 100 °C. Do vzniklého roztoku byl přikapáván roztok NBS (8,52 g; 47,8 mmol) v 146 ml acetonu a 146 ml vody. Po dvou hodinách byl do reakční směsi přidán další podíl NBS (3,54 g; 19,9 mmol) bylo pokračováno v zahřívání další hodinu. Poté byla reakční směs ochlazena na laboratorní teplotu a zahuštěna na rotační vakuové odparce přibližně na 1/2 objemu. Vzniklá pevná, krystalická látka byla zfiltrována a usušena do konstantní hmotnosti. Bylo získáno 12,72 g žluté krystalické látky, což činilo 78 % výtěžek.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8.92 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 1 H), 8.90 (s, 1 H), 8.73 (dd,  $J$  = 2.7, 9.2 Hz, 1 H), 8.17 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 1 H), 7.43 (d,  $J$  = 14.2 Hz, 1 H), 7.20 (d,  $J$  = 14.2 Hz, 1 H), 4.33 (q,  $J$  = 7.3 Hz, 2 H), 1.30 (t,  $J$  = 6.9 Hz, 3 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (101MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 161.1, 146.7, 143.2, 141.9, 135.5, 130.7, 128.6, 127.3, 125.8, 122.2, 121.5, 109.5, 61.2, 30.6, 14.1.

Teplota tání: 180 – 182 °C; MS: 411,07 [M+H] $^+$

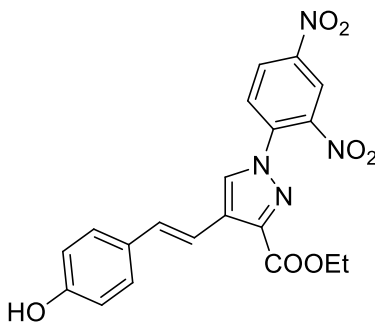
### 4.1.3 (*E*)-4-(4-methoxystyryl)-1*H*-pyrazol-3-karboxyláková kyselina



(*E*)-ethyl 4-(2-bromovinyl)-1-(2,4-dinitrofenyl)-1*H*-pyrazol-3-karboxylát (514 mg; 1,25 mmol) a fosforečnan draselný (1,06 g; 5 mmol) byly rozpuštěny ve směsi 10 ml 1,4-dioxanu a 2,5 ml vody. Takto připravený roztok byl 5 minut probubláván argonem a posléze do něj byla přidána 4-methoxyfenylboronová kyselina (285 mg; 1,875 mmol) a XPhos Pd G2 (39,2 mg; 0,05 mmol). Reakční směs byla zahřívána na 100 °C 2 hodiny. Poté bylo do reakční směsi přidán KOH (526 mg; 9,375 mmol) a bylo pokračováno v zahřívání dalších 5 hodin. Poté byla reakční směs naředěna 25 ml vody a okyselena koncentrovanou HCl na pH = 1. Vzniklá sraženina byla zfiltrována, rozpuštěna v acetonu a adsorbována na silikagel ve formě jemného, poletavého prášku. Surový produkt byl poté purifikován na sloupcové chromatografii s mobilní fází ethylacetát/aceton 1:4. Produkt zadržovaný na startu kolony byl posléze promýván methanolem. Sbírané frakce, obsahující produkt byly poté spojeny a odpařeny na rotační vakuové odparce, za získání 164 mg žluté krystalické látky, což činilo 36 % výtěžek.

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 13.05 (s, 1 H), 7.82 (s, 1 H), 7.63 (d, *J* = 16.5 Hz, 1 H), 7.35 (d, *J* = 8.2 Hz, 2 H), 6.86 (d, *J* = 7.8 Hz, 2 H), 6.88 (d, *J* = 16.9 Hz, 1 H), 3.70 (s, 3 H)

### 4.1.4 (*E*)-ethyl 1-(2,4-dinitrofenyl)-4-(4-hydroxystyryl)-1*H*-pyrazol-3-karboxylát



(*E*)-ethyl 4-(2-bromovinyl)-1-(2,4-dinitrofenyl)-1*H*-pyrazol-3-karboxylát (3 g; 7,30 mmol) a fosforečnan draselný (3,86 g; 18,2 mmol) byly rozpuštěny ve směsi 59 ml

1,4-dioxanu a 15 ml vody. Připravený roztok byl 5 minut probubláván argonem, poté bylo do reakční směsi přidána 4-hydroxyfenylboronová kyselina (3,86 g; 0,0146 mol) a XPhos Pd G2 (285 mg; 0,36 mmol). Reakční směs byla posléze zahřívána při 60 °C po 2 hodiny. Poté byla směs naředěna 148 ml vody a okyselena koncentrovanou HCl na pH = 1. Vzniklá sraženina byla zfiltrována.

Izolace A: Surový produkt byl rekrystalizován z butan-1-olu. Bylo získáno 2,25 g žluté krystalické látky, což činilo 73 % výtěžek.

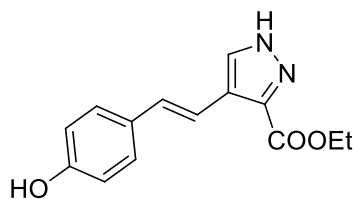
Izolace B: Surový produkt byl rozpuštěn v acetonu a posléze adsorbován na silikagel. Následně byl purifikován pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází toluen/acetonitril 10:1. Celkový výtěžek poté činil 78 %.

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 9.66 (s, 1 H), 8.96 (s, 1 H), 8.91 (d, *J* = 2.3 Hz, 1 H), 8.71 (dd, *J* = 2.7, 9.2 Hz, 1 H), 8.22 (d, *J* = 8.7 Hz, 1 H), 7.35 (d, *J* = 8.7 Hz, 2 H), 7.26 (d, *J* = 16.9 Hz, 1 H), 7.10 (d, *J* = 16.5 Hz, 1 H), 6.80 (d, *J* = 8.7 Hz, 2 H), 4.35 (q, *J* = 7.3 Hz, 2 H), 1.33 (t, *J* = 7.1 Hz, 3 H)

<sup>13</sup>C NMR (101MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 161.5, 157.7, 146.4, 143.0, 142.6, 135.7, 131.4, 129.2, 128.4, 127.7, 127.1, 125.2, 121.4, 115.8, 113.5, 60.9, 14.1

Teplota tání: 205 – 208 °C; MS: 425,15 [M+H]<sup>+</sup>; 423,07 [M-H]<sup>+</sup>

#### 4.1.5 (*E*)-ethyl 4-(4-hydroxystyryl)-1*H*-pyrazol-3-karboxylát



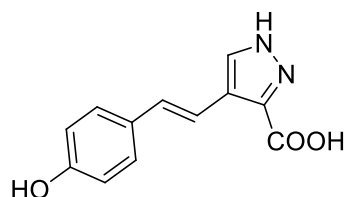
(*E*)-ethyl 1-(2,4-dinitrofenyl)-4-(4-hydroxystyryl)-1*H*-pyrazol-3-karboxylát (3,98 g; 9,4 mmol) byl rozpuštěn v 36 ml THF. K roztoku byl přidán piperidin (2,79 ml; 28 mmol) a reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě po 3 hodiny. Poté byla zahuštěna na rotační vakuové odparce do sucha. K odparku bylo za míchání magnetickým míchadlem přidáno 235 ml toluenu a směs byla ponechána za míchání po 2 hodiny. Vzniklá pevná látka byla zfiltrována. Bylo získáno 1,6 g nažloutlé krystalické látky, což činilo 66 % výtěžek.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8.92 (d,  $J$  = 2.7 Hz, 1 H), 8.91 (s, 1 H), 8.73 (dd,  $J$  = 2.7, 8.7 Hz, 1 H), 8.17 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2 H), 7.43 (d,  $J$  = 14.2 Hz, 1 H), 7.21 (d,  $J$  = 14.2 Hz, 1 H), 4.33 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 2 H), 1.30 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 3 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (101MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 161.6, 147.2, 143.7, 142.4, 136.0, 131.2, 129.1, 127.8, 126.3, 122.7, 122.0, 110.0, 61.7, 14.5

Teplota tání: 196 – 200 °C; MS: 213,13 [M+H] $^+$ ; 257,03 [M-H] $^+$

#### 4.1.6 (*E*)-4-(4-hydroxystyryl)-1*H*-pyrazol-3-karboxylová kyselina



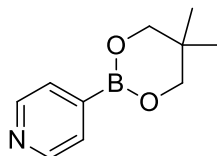
Hydroxid lithný hydrát (1,42 g; 29,6 mmol) byl rozpuštěn v 25 ml vody. Do tohoto roztoku byl přidán (*E*)-ethyl 4-(4-hydroxystyryl)-1*H*-pyrazol-3-karboxylát (1,53 g; 59,3 mmol) a vzniklá suspenze byla ponechána za míchání při laboratorní teplotě 4 hodiny. Reakční směs byla poté okyselena koncentrovanou HCl za získání jemné sraženiny, jež byla zfiltrována na fritě se specifikací S4. Bylo získáno 1,31 g nažloutlé krystalické látky, což činilo 88 % výtěžek.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 13.34 (s, 1 H), 9.59 (br. s., 1 H), 8.06 (s, 1 H), 7.30 (d,  $J$  = 16.5 Hz, 1 H), 7.30 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2 H), 7.01 (d,  $J$  = 16.5 Hz, 1 H), 6.77 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (101MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 162.1, 157.2, 129.1, 128.3, 127.4, 122.8, 115.7, 115.3

Teplota tání: > 260 °C; MS: 213,13 [M+H] $^+$ ; 229,02 [M-H] $^+$

#### 4.1.7 4-(5,5-dimethyl-1,3,2-dioxaborinan-2-yl)pyridin



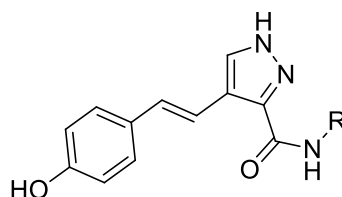
4-Pyridinylboronová kyselina (0,5 g; 4,06 mmol) byla suspendována v 25 ml toluenu. Do reakční směsi byl přidán neopentyl glykol (0,42 g; 4,06 mmol) a směs byla refluxována v aparatuře podle Dean-Starka 24 hodin. Poté bylo rozpouštědlo odpařeno

na rotační vakuové odparce za získání 0,77 g bílé krystalické látky, což odpovídá kvantitativnímu výtěžku.

$^1\text{H NMR}$  (400MHz, CHLOROFORM- $d$ )  $\delta$  = 8.61 (d,  $J$  = 5.5 Hz, 2 H), 7.69 - 7.64 (m, 2 H), 3.77 (s, 4 H), 1.03 (s, 6 H)

Teplota tání: 174 – 176 °C

## 4.2 Příprava cílových látek



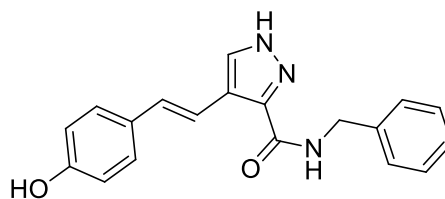
### 4.2.1 Obecný postup přípravy cílových látek

Postup 1: (*E*)-4-(4-hydroxystyryl)-1*H*-pyrazol-3-karboxylová kyselina (100 mg; 0,436 mmol) byla rozpuštěna ve 2 ml DMF. Do roztoku bylo přidáno EDCI (168 mg; 0,872 mmol) a HOBt (120 mg; 0,872 mmol). Poté byl do reakční směsi přidán příslušný amin (1,1 ekv.; 0,48 mmol) a směs byla ponechána 1 hodinu za míchání při laboratorní teplotě. Reakční směs byla zpracována naředěním 6 ml vody a extrakcí 5x 10 ml ethylacetátu. Spojené organické extrakty byly posléze promyty 1x 25 ml vody a vysušeny bezvodým síranem hořečnatým. Extrakt byl poté zahuštěn na rotační vakuové odparce do sucha, rozpuštěn v acetonu, adsorbován na silikagel. Příslušný amid byl izolován na sloupcové chromatografii s mobilní fází toluen/acetonitril 5:2.

Postup 2: (*E*)-4-(4-hydroxystyryl)-1*H*-pyrazol-3-karboxylová kyselina (100 mg; 0,436 mmol) byla rozpuštěna ve 2 ml DMF. Do roztoku bylo přidáno EDCI (168 mg; 0,872 mmol) a HOBt (120 mg; 0,872 mmol) a DIPEA (0,084 ml; 0,480 mmol). Poté byl do reakční směsi přidán příslušný amin hydrochlorid (1,1 ekv.; 0,48 mmol) a směs byla ponechána 1 hodinu za míchání při laboratorní teplotě. Reakční směs byla zpracována naředěním 6 ml vody a extrakcí 5x 10 ml ethylacetátu. Spojené organické extrakty byly posléze promyty 1x 25 ml vody a vysušeny bezvodým síranem hořečnatým. Extrakt byl poté zahuštěn na rotační vakuové odparce do sucha, rozpuštěn v acetonu, adsorbován na silikagel. Příslušný amid byl izolován na sloupcové chromatografii s mobilní fází toluen/acetonitril 5:2.



#### 4.2.2 (*E*)-*N*-benzyl-4-(4-hydroxystyryl)-1*H*-pyrazol-3-karboxamid



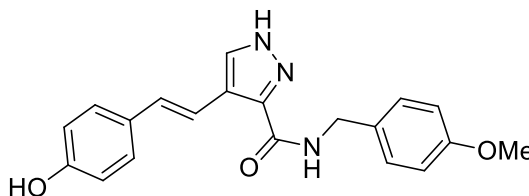
Získáno 58,5 mg červené krystalické látky, což činilo 42 % výtěžek.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 13.29 (s, 1 H), 9.49 (s, 1 H), 8.68 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 1 H), 8.19 (s, 1 H), 7.48 (d,  $J$  = 16.9 Hz, 1 H), 7.26 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2 H), 7.34 - 7.19 (m, 5 H), 6.91 (d,  $J$  = 16.5 Hz, 1 H), 6.75 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2 H), 4.43 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 2 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (101MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 162.8, 156.8, 141.8, 140.0, 128.6, 128.2, 127.8, 127.3, 127.1, 126.6, 120.5, 116.2, 115.6, 41.8

Teplota tání: 226 – 230 °C; MS: 320,24 [M+H] $^+$ ; 318,14 [M-H] $^+$

#### 4.2.3 (*E*)-4-(4-hydroxystyryl)-*N*-(4-methoxybenzyl)-1*H*-pyrazol-3-karboxamid



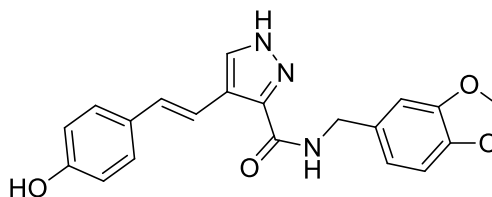
Získáno 71,5 mg červené krystalické látky, což činilo 47 % výtěžek.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 13.27 (s, 1 H), 9.49 (s, 1 H), 8.59 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 1 H), 8.18 (d,  $J$  = 0.9 Hz, 1 H), 7.47 (d,  $J$  = 16.5 Hz, 1 H), 7.28 - 7.23 (m, 4 H), 6.93 - 6.84 (m, 3 H), 6.75 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2 H), 4.35 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 2 H), 3.71 (s, 3 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (101MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 162.6, 158.1, 156.8, 141.9, 132.0, 128.7, 127.7, 127.1, 126.6, 120.5, 116.3, 115.6, 113.6, 55.0, 41.2

Teplota tání: 204 – 208 °C; MS: 372,23 [M+H] $^+$ ; 348,15 [M-H] $^+$

#### 4.2.4 (*E*)-*N*-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ylmethyl)-4-(4-hydroxystyryl)-1*H*-pyrazol-3-karboxamid



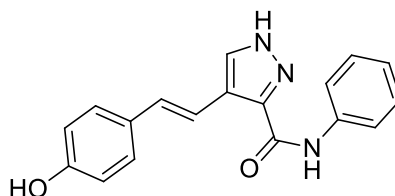
Získáno 67,2 mg žluté krystalické látky, což činilo 42 % výtěžek.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 13.28 (br. s., 1 H), 9.49 (s, 1 H), 8.61 (t,  $J$  = 6.2 Hz, 1 H), 8.18 (s, 1 H), 7.47 (d,  $J$  = 16.5 Hz, 1 H), 7.27 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2 H), 6.90 (d,  $J$  = 16.5 Hz, 1 H), 6.90 (s, 1 H), 6.84 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1 H), 6.80 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1 H), 6.75 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2 H), 5.97 (s, 2 H), 4.33 (d,  $J$  = 6.0 Hz, 2 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (101MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 162.7, 156.8, 147.1, 145.9, 141.8, 133.9, 128.6, 127.8, 127.1, 126.7, 120.6, 120.5, 116.2, 115.6, 108.1, 107.9, 100.7, 41.6

Teplota tání: 219 – 223 °C; MS: 364,18 [M+H] $^+$ ; 362,13 [M-H] $^+$

#### 4.2.5 (*E*)-4-(4-hydroxystyryl)-*N*-fenyl-1*H*-pyrazol-3-karboxamid



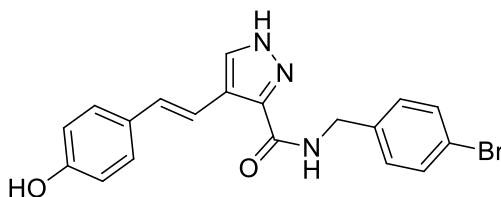
Získáno 37,1 mg červené krystalické látky, což činilo 28 % výtěžek.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 13.45 (s, 1 H), 10.02 (s, 1 H), 9.52 (s, 1 H), 8.27 (s, 1 H), 7.83 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 2 H), 7.48 (d,  $J$  = 16.9 Hz, 1 H), 7.34 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 2 H), 7.30 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2 H), 7.07 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 1 H), 6.96 (d,  $J$  = 16.9 Hz, 1 H), 6.77 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (101MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 161.4, 156.9, 141.9, 138.8, 128.5, 128.2, 127.2, 127.1, 123.3, 121.1, 120.1, 115.9, 115.6

Teplota tání: 222 – 226 °C; MS: 306,18 [M+H] $^+$ ; 304,08 [M-H] $^+$

#### 4.2.6 (*E*)-*N*-(4-bromobenzyl)-4-(4-hydroxystyryl)-1*H*-pyrazol-3-karboxamid



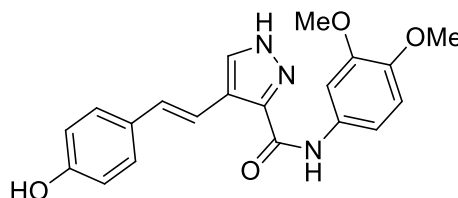
Získáno 88,3 mg červené krystalické látky, což činilo 51 % výtěžek.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 13.31 (s, 1 H), 9.49 (s, 1 H), 8.75 (t,  $J$  = 6.2 Hz, 1 H), 8.19 (s, 1 H), 7.51 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2 H), 7.46 (d,  $J$  = 16.5 Hz, 1 H), 7.31 - 7.22 (m, 4 H), 6.91 (d,  $J$  = 16.9 Hz, 1 H), 6.75 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2 H), 4.39 (d,  $J$  = 6.0 Hz, 2 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (101MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 162.8, 156.8, 141.7, 139.5, 131.1, 129.5, 128.6, 127.8, 127.1, 126.7, 120.6, 119.6, 116.2, 115.6, 41.3

Teplota tání: 235 – 240 °C; MS: 398,10 [M+H] $^+$ ; 396,04 [M-H] $^+$

#### 4.2.7 (*E*)-*N*-(3,4-dimethoxyfenyl)-4-(4-hydroxystyryl)-1*H*-pyrazol-3-karboxamid



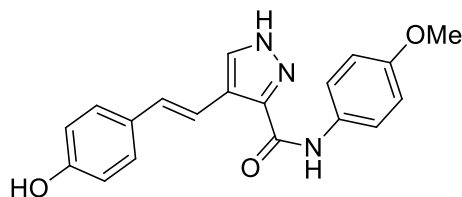
Získáno 82,8 mg růžové krystalické látky, což činilo 52 % výtěžek.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 13.42 (s, 1 H), 9.85 (s, 1 H), 9.51 (s, 1 H), 8.26 (d,  $J$  = 0.9 Hz, 1 H), 7.56 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 1 H), 7.48 (d,  $J$  = 16.9 Hz, 1 H), 7.39 (dd,  $J$  = 2.7, 8.7 Hz, 1 H), 7.30 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2 H), 6.95 (d,  $J$  = 16.5 Hz, 1 H), 6.90 (d,  $J$  = 9.2 Hz, 1 H), 6.77 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2 H), 3.75 (s, 3 H), 3.73 (s, 3 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (101MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 161.1, 156.9, 148.5, 144.9, 142.0, 132.5, 128.6, 128.1, 127.2, 127.0, 120.9, 116.0, 115.6, 111.9, 105.3, 55.7, 55.4

Teplota tání: 240 – 245 °C; MS: 366,20 [M+H] $^+$ ; 364,14 [M-H] $^+$

#### 4.2.8 (*E*)-4-(4-hydroxystyryl)-*N*-(4-methoxyfenyl)-1*H*-pyrazol-3-karboxamid



Získáno 47,9 mg růžové krystalické látky, což činilo 32 % výtěžek.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 13.40 (s, 1 H), 9.89 (s, 1 H), 9.50 (s, 1 H), 8.25 (s, 1 H), 7.73 (d,  $J$  = 9.2 Hz, 2 H), 7.48 (d,  $J$  = 16.9 Hz, 1 H), 7.29 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2 H), 6.95 (d,  $J$  = 16.5 Hz, 1 H), 6.90 (d,  $J$  = 9.2 Hz, 2 H), 6.77 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2 H), 3.74 (s, 3 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (101MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 161.1, 156.9, 155.3, 142.1, 131.9, 128.9, 128.6, 128.1, 127.2, 127.0, 121.7, 120.9, 116.0, 115.6, 113.7, 55.2

Teplota tání: 246 – 250 °C; MS: 336,21 [M+H] $^+$ ; 334,11 [M-H] $^+$

## 5 Závěr

Hlavním cílem této diplomové práce bylo syntetizovat potenciálně biologicky aktivní deriváty pyrazolu **I**, u nichž se předpokládá, že budou vykazovat inhibiční aktivitu vůči enzymu CDK 2.

Syntéza vycházela z prekursoru **II**, který byl připraven již během bakalářské práce. Celkově bylo připraveno a charakterizováno 7 cílových látek **I**. Jejich biologická aktivita z časových důvodů prozatím nebyla otestována.

Syntetická cesta, vedoucí k cílovým látkám **I**, zahrnovala především dvě klíčové reakce, a to Suzuki-Miyauraovu cross-couplingovou reakci a přípravu amidů z karboxylové kyseliny. V rámci Suzuki-Miyauraovy cross-couplingové reakce byl nejprve proveden pokus o provedení jak samotné cross-couplingové reakce na derivátu **II**, tak deprotekcí obou chránících skupin v jednom reakčním kroku. Ačkoliv se podařilo připravit derivát **XIII**, bylo z důvodu velmi komplikované izolace a malého výtěžku od této strategie upuštěno a byly zvoleny mírnější reakční podmínky, při nichž k deprotekcí chránících skupin nedocházelo. Díky tomu, že byla Suzuki-Miyauraova cross-couplingová reakce provedena za mírnějších reakčních podmínek, podařilo se ji provést s 4-hydroxyfenylboronovou kyselinou **XIc** a připravit tak prekursor **X**. Rovněž byla snaha optimalizovat Suzuki-Miyauraovu cross-couplingovou reakci látky **II** s 4-pyridinylboronovou kyselinou **XId**, avšak optimální reakční podmínky se nalézt nepodařilo.

Z prekursoru **X** byla poté ve dvou reakčních krocích, jež zahrnovaly deprotekcí 2,4-dinitrofenylové chránící skupiny na endocyklickém pyrazolovém dusíku v poloze 1 a hydrolýzu esteru v poloze 3 pyrazolu, připravena karboxylová kyselina **III**, jež sloužila jako výchozí látka pro finální reakční krok, tedy přípravu amidů **I**.

Jako nejvýhodnější metodou, pro přípravu cílových látek **I** z prekursoru **III** se pak ukázala aktivace karboxylové kyseliny pomocí EDCI a HOBt. Komplikací v posledním kroku syntézy byla izolace cílových látek **I** pomocí sloupcové chromatografie, neboť z důvodu jejich velmi omezené rozpustnosti v organických rozpouštědlech byly zadržovány na startu kolony a nepodařilo se je efektivně vymýt ani silně polárními rozpouštědly.

Tento fakt se promítl do výtěžků příprav cílových látek **I**, jež byly malé i navzdory faktu, že během jejich přípravy buď docházelo ke vzniku jen malého množství nečistot, nebo nečistoty nevznikaly vůbec.

V dohledné době bude provedeno biologické testování připravených látek **I**, jež bohužel z časových důvodů nemohlo být zahrnuto do diplomové práce.

## 6 Seznam použité literatury

- (1) Kryštof, V.; Cankař, P.; Fryšová, I.; Slouka, J.; Kontopidis, G.; Džubák, P.; Hajdúch, M.; Srovnal, J.; de Azevedo Jr., W. F.; Orsag, X. M.; Paprškařová, M.; Rolčík, J.; Latr, A.; Fischer, P. M.; Strnad, M. *J. Med. Chem.* **2006**, 49 (22), 6500–6509.
- (2) Koehler, K.; Wussow, K.; Wirth, A. S. In *Palladium-Catal. Coupling React.*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2013; 1–30.
- (3) Negishi, E.; Wang, G.; Rao, H.; Xu, Z. *J. Org. Chem.* **2010**, 75 (10), 3151–3182.
- (4) Farina, V.; Krishnamurthy, V.; Scott, W. J. *Org. React. (Hoboken, NJ, United States)* **1997**, 50.
- (5) Amatore, C.; Jutand, A. *Acc. Chem. Res.* **2000**, 33 (5), 314–321.
- (6) Tamao, K.; Kiso, Y.; Sumitani, K.; Kumada, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94 (26), 9268–9269.
- (7) Tamura, M.; Kochi, J. *Synthesis (Stuttg.)* **1971**, No. 6, 303–305.
- (8) Corriu, R. J. P.; Masse, J. P. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1972**, 3, 144.
- (9) Negishi, E.; King, A. O.; Okukado, N. *J. Org. Chem.* **1977**, 42 (10), 1821–1823.
- (10) King, A. O.; Okukado, N.; Negishi, E. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1977**, 19, 683–684.
- (11) DRAHL, C. *Chem. Eng. News Arch.* **2010**, 88 (20), 31–33.
- (12) Mizoroki, T.; Mori, K.; Ozaki, A. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1971**, 44 (2), 581.
- (13) Heck, R. F.; Nolley Jr., J. P. *J. Org. Chem.* **1972**, 37 (14), 2320–2322.
- (14) Miyaura, N.; Yamada, K.; Suzuki, A. *Tetrahedron Lett.* **1979**, 20 (36), 3437–3440.
- (15) Herrmann, W. A. In *Appl. Homogeneous Catal. Organomet. Compd. (2nd Ed.)*; Wiley-VCH Verlag GmbH, 2002; Vol. 1, 591–598.
- (16) Miyaura, N.; Suzuki, A. *Chem. Rev. (Washington, D. C.)* **1995**, 95 (7), 2457–2483.
- (17) Gronowitz, S.; Bobosik, V.; Lawitz, K. *Chem. Scr.* **1984**, 23 (3), 120–122.

- (18) Alo, B. I.; Kandil, A.; Patil, P. A.; Sharp, M. J.; Siddiqui, M. A.; Snieckus, V.; Josephy, P. D. *J. Org. Chem.* **1991**, *56* (12), 3763–3768.
- (19) Katz, H. E. *J. Org. Chem.* **1987**, *52* (17), 3932–3934.
- (20) Miyaura, N.; Ishiyama, T.; Sasaki, H.; Ishikawa, M.; Sato, M.; Suzuki, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111* (1), 314–321.
- (21) Svoboda, J. *Organická chemie I; Vysoká škola chemicko-technologická*, 2005.
- (22) Montalbetti, C. A. G. N.; Falque, V. *Tetrahedron* **2005**, *61* (46), 10827–10852.
- (23) Jursic, B. S.; Zdravkovski, Z. *Synth. Commun.* **1993**, *23* (19), 2761–2770.
- (24) Mierina, I.; Jure, M.; Zeberga, S.; Makareviciene, V.; Zicane, D.; Tetere, Z.; Ravina, I. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2017**, *119* (11).
- (25) Kaberov, L. I.; Verbraeken, B.; Riabtseva, A.; Brus, J.; Talmon, Y.; Stepanek, P.; Hoogenboom, R.; Filippov, S. K. *ACS Macro Lett.* **2018**, *7* (1), 7–10.
- (26) Kilaru, P.; Acharya, S. P.; Zhao, P. *Chem. Commun. (Cambridge, United Kingdom)* **2018**, *54* (8), 924–927.
- (27) Jiang, B.; Zhao, M.; Li, S.-S.; Xu, Y.-H.; Loh, T.-P. *Angew. Chemie, Int. Ed.* **2018**, *57* (2), 555–559.
- (28) Klosa, J. *J. fuer Prakt. Chemie* **1962**, *19* (1-2), 45–55.
- (29) Hu, J.; Zhang, X.; Yu, F. Method for producing propylthiouracil. CN106749040A, May 31, 2017.
- (30) Patai, S. *The chemistry of acyl halides; Chemistry of functional groups*; Interscience, 1972.
- (31) Bosshard, H. H.; Mory, R.; Schmid, M.; Zollinger, H. *Helv. Chim. Acta* **1959**, *42*, 1653–1658.
- (32) Ragnarsson, U.; Grehn, L. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31* (8), 494–501.
- (33) Paul, R.; Anderson, G. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 4596–4600.
- (34) Larrivee-Aboussafy, C.; Jones, B. P.; Price, K. E.; Hardink, M. A.; McLaughlin, R. W.; Lillie, B. M.; Hawkins, J. M.; Vaidyanathan, R. *Org. Lett.* **2010**, *12* (2),



324–327.

- (35) Dunn, P. J.; Hughes, M. L.; Searle, P. M.; Wood, A. S. *Org. Process Res. Dev.* **2003**, *7* (3), 244–253.
- (36) Woodman, E. K.; Chaffey, J. G. K.; Hopes, P. A.; Hose, D. R. J.; Gilday, J. P. *Org. Process Res. Dev.* **2009**, *13* (1), 106–113.
- (37) Staab, H. A. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1957**, *609*, 75–83.
- (38) Mikolajczyk, M.; Kielbasinski, P. *Tetrahedron* **1981**, *37* (2), 233–284.
- (39) Wieland, T.; Ohly, K. W. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1957**, *605*, 179–182.
- (40) Zhang, C.; Xu, D.; Wang, J.; Kang, C. *Russ. J. Gen. Chem.* **2017**, *87* (12), 3006–3016.
- (41) Wittenberger, S. J.; McLaughlin, M. A. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40* (40), 7175–7178.
- (42) Dunetz, J. R.; Xiang, Y.; Baldwin, A.; Ringling, J. *Org. Lett.* **2011**, *13* (19), 5048–5051.
- (43) Ishihara, K.; Ohara, S.; Yamamoto, H. *J. Org. Chem.* **1996**, *61* (13), 4196–4197.
- (44) Maki, T.; Ishihara, K.; Yamamoto, H. *Org. Lett.* **2005**, *7* (22), 5043–5046.
- (45) Beckwith, A. L. J. In *Chem. Amides*; Interscience, 1970; 73–185.
- (46) Stern, E. S. *Chem. Ind. (London, United Kingdom)* **1956**, 277–278.
- (47) Singh, B. *Tetrahedron Lett.* **1971**, *4*, 321–322.
- (48) Betts, R. L.; Hammett, L. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1937**, *59*, 1568–1572.
- (49) Hoegberg, T.; Stroem, P.; Ebner, M.; Raembsby, S. *J. Org. Chem.* **1987**, *52* (10), 2033–2036.
- (50) Kim, B. R.; Lee, H.-G.; Kang, S.-B.; Sung, G. H.; Kim, J.-J.; Park, J. K.; Lee, S.-G.; Yoon, Y.-J. *Synthesis (Stuttg.)* **2012**, *44* (1), 42–50.
- (51) Ooi, T.; Maruoka, K. *Sci. Synth.* **2004**, *7*, 225–246.
- (52) Novak, A.; Humphreys, L. D.; Walker, M. D.; Woodward, S. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47* (32), 5767–5769.

- (53) Valeur, E.; Bradley, M. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38 (2), 606–631.
- (54) Sridhar, R.; Perumal, P. T. *Tetrahedron* **2005**, 61 (9), 2465–2470.
- (55) Devasthale, P.; Washburn, W. N.; Wang, W.; Hernandez, A.; Ahmad, S.; Zhao, G. Azolopyrrolone compounds as melanin concentrating hormone receptor-1 antagonists and their preparation. WO2010047956A1, April 29, 2010.
- (56) Eger, K.; Mohammad, J.; Schmidt, M. *J. Heterocyclic Chem.* 1995, pp 211–218.
- (57) Zaitsev, A. A.; Vatsadze, I. A.; Dalinger, I. L.; Kachala, V. V; Nelyubina, Y. V; Shevelev, S. A. *Russ. Chem. Bull.* **2009**, 58 (10), 2109–2117.
- (58) Rossi, S.; Maiorana, S.; Bianchetti, G. *Gazz. Chim. Ital.* **1964**, 94 (3–4), 210–222.
- (59) Buchanan, J. G.; Millar, A.; Wightman, R. H.; Harnden, M. R. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 Org. Bio-Organic Chem.* **1985**, 7, 1425–1430.