

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Katedra organické chemie



**Cyklizace arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů vedoucí k substituovaným
1,2,4-triazinům a jejich modifikace**

Bakalářská práce

Vypracoval: František Zálešák

Obor: Chemie

Vedoucí práce: doc. RNDr. Jakub Stýskala, Ph.D.

Olomouc 2015

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně 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, 6. 5. 2015

.....

Podpis

Poděkování

Děkuji doc. RNDr. Jakubu Stýskalovi, Ph.D. za odborné vedení práce, věcné připomínky, dobré rady a vstřícnost a bezmeznou trpělivost při konzultacích a vypracovávání bakalářské práce.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora:	František Zálešák
Název práce:	Cyklizace arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů vedoucí k substituovaným 1,2,4-triazinům a jejich modifikace
Typ práce:	Bakalářská práce
Pracoviště:	Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci
Školitel:	doc. RNDr. Jakub Stýskala, Ph.D.
Rok obhajoby práce:	2015

Abstrakt: Tato bakalářská práce se zabývá nekondenzovanými 1,2,4-triaziny. Práce je rozdělena do 8 kapitol. V teoretické části je podán přehled doposud známých příprav nekondenzovaných 3-amino-1,2,4-triazinů. Druhá část této kapitoly se zabývá mechanismem cyklizačních reakcí vedoucí ke vzniku nekondenzovaných 1,2,4-triazinů. Vlastní práce se zabývá přípravou arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů a studiem cyklizace těchto látek za vzniku 3-amino-5-oxo-1,2,4-triazin-6-karbonitrilů. Ve snaze modifikovat tyto sloučeniny bylo cílem hydrolyzovat nitrilovou skupinu za vzniku karboxylové skupiny a vhodnou úpravou nitrilové skupiny formovat oxadiazolový skelet.

Klíčová slova:	cyklizační reakce hydrazonů, nekondenzované 1,2,4-triaziny, 6-azaizocytosiny
Počet stran:	52
Počet příloh:	6
Jazyk:	Český

Bibliographical identification

Author's first name:	František Zálešák
Title:	Cyclization of arylhydrazono-cyanoacetycyano-amides leading to substituted 1,2,4-triazines and their modifications
Type of thesis:	Bachelor
Department:	Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, Palacký University Olomouc
Advisor:	doc. RNDr. Jakub Stýskala, Ph.D
The year of presentation:	2015

Abstract: The Bachelor thesis is focused on uncondensed 1,2,4-triazines. The thesis is divided into 8 chapters. In the theoretical section an overview of known preparations of uncondensed 3-amino-1,2,4-triazines is given. The second part of this chapter includes the mechanism of cyclization reaction leading to the formation of uncondensed 1,2,4-triazines. The practical section comprises the preparations of arylhydrazono-cyanacetycyanamides and the study of cyclization reactions of these compounds that result into formation of 1,2,4-triazine-6-carbonitriles. The aim of modifications of these compounds was to hydrolyze the nitrile group and also to obtain oxadiazole skeleton.

Key words:	cyclization reactions of hydrazones, uncondensed 1,2,4-triazines, 6-isocytosines
Number of pages:	52
Number of appendixes:	6
Language:	Czech

Obsah

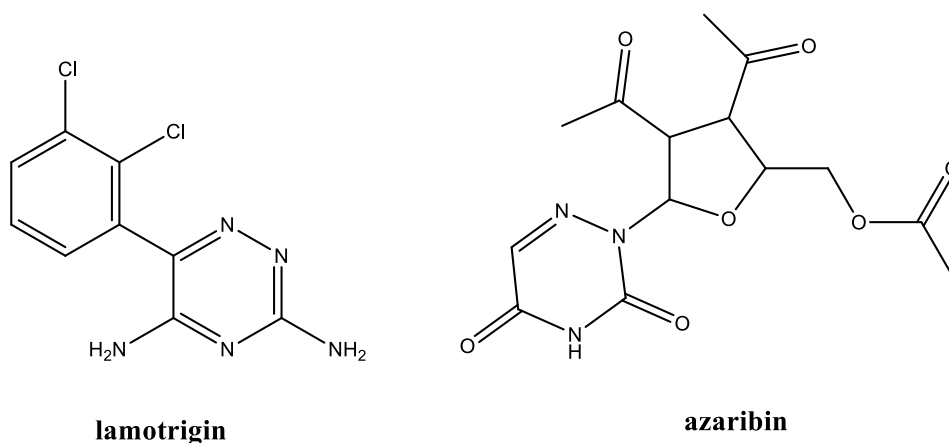
1	Úvod.....	7
2	Cíle práce	9
3	Teoretická část	10
3.1	Přehled chemie 3-amino-1,2,4-triazin-5-onů (6-azaizocytosinů).....	10
3.1.1	Příprava 3-amino-1,2,4-triazin-5-onů (6-azaizocytosinů).....	10
3.1.2	Reaktivita 3-amino-1,2,4-triazin-5-onů.....	15
3.2	Cyklizační reakce hydrazonů vedoucí k 1,2,4-triazinům	18
4	Výsledky a diskuze	23
4.1	Příprava výchozí látky	23
4.1.1	Kyanacetylkyanamid (sodná sůl) (III).....	23
4.2	Příprava arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů a jejich vlastnosti	24
4.2.1	Příprava arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů (VIIa – VIIg)	24
4.2.2	NMR spektroskopie arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů	25
4.3	Cyklizační reakce arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů (VIIa-VIIg)	26
4.3.1	Rychlost cyklizace.....	28
4.3.2	Způsoby cyklizace	29
4.3.3	NMR spektroskopie 1,2,4-triazin-6-karbonitrilů.....	30
4.4	Chemická modifikace vytvořených 3-amino-5-oxo-1,2,4-triazin-6-karbonitrilů (VIIIa)	31
4.4.1	Hydrolytická reakce 3-amino-2-fenyl-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-6-karbonitrilu (VIIIa)	31
4.4.2	Syntéza oxodiazolového skeletu.....	32
4.4.3	Příprava 1,2,4-triazin-N-oxidu (XVII)	34
5	Experimentální část.....	36
6	Závěr	48
7	Seznam použité literatury.....	51
8	Přílohy.....	53

1 Úvod

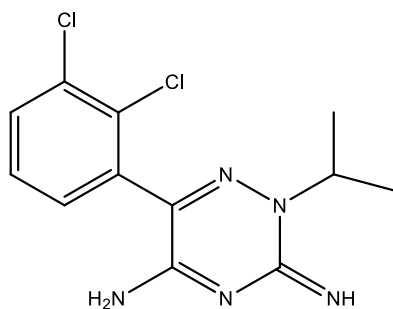
Tato bakalářská práce je zaměřena na přípravu substituovaných arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů a studium jejich cyklizace vedoucí k nekondenzovaným 3-amino-5-oxo-1,2,4-triazin-6-karbonitrilům.

Tyto látky obsahující v šestičlenném cyklu 3 atomy dusíku jsou stále předmětem zájmu za účelem hledání nových způsobů a cest jejich syntézy. Studium nekondenzovaných 1,2,4-triazinů je zajímavé také proto, že od těchto látek, jakožto aza analog pyrimidinových bází, můžeme očekávat širokou škálu biologické aktivity.

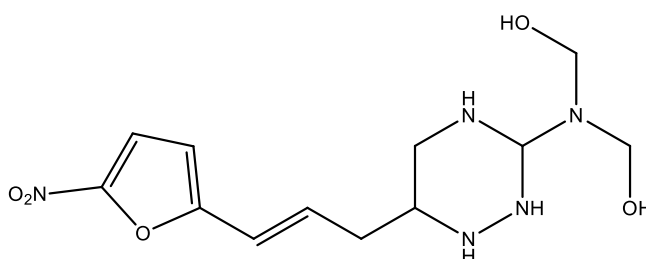
Již několik substancí obsahující 1,2,4-triazinový heterocyklus našlo uplatnění v medicíně a používají se dnes jako komerční léčiva. Jednou z těchto látek je lamotrigin, který se využívá pro své antiepileptické účinky¹. Další velmi dobře známou látkou, která se dnes používá díky svým antivirotickým účinkům, je azaribin².



Navíc je dnes celá řada dalších látek obsahující 1,2,4-triazinový cyklus součástí pokročilého klinického výzkumu. Jednou z těchto látek je palatrigin, což je látka vykazující se antiarytmickými vlastnostmi³. U dihydromethylfularazinu bylo pozorováno široké spektrum antibakteriální aktivity proti různým patogenním organismům. Nejlepších výsledků tato látka dosahuje při aplikaci proti bakteriím *Shigella*, jež způsobují onemocnění zvané úplavice a bakteriím *Salmonella*, způsobující břišní tyfus a salmonelózu⁴.

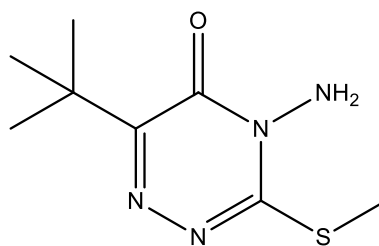


palatrigin



dihydromethyl fularazin

S deriváty nekondenzovaných 1,2,4-triazinů se můžeme setkat také v oblasti zemědělství. 4-Amino-6-terc-butyl-3-(methylmerkpto)-1,2,4-triazin-5-on, známý také jako metribuzin, je světově nejpoužívanější herbicid. Tato látka působí jako inhibitor fotosyntézy a zabraňuje klíčení nových travin⁵.



metribuzin

V minulosti byly připraveny látky, u kterých byly pozorovány anti-HIV a kancerostatické účinky^{6,7} a také tuberkulostatická aktivita⁸. Avšak tyto látky jsou zatím stále předmětem výzkumu a pro zařazení do komerčního prodeje musí absolvovat ještě celou řadu testů.

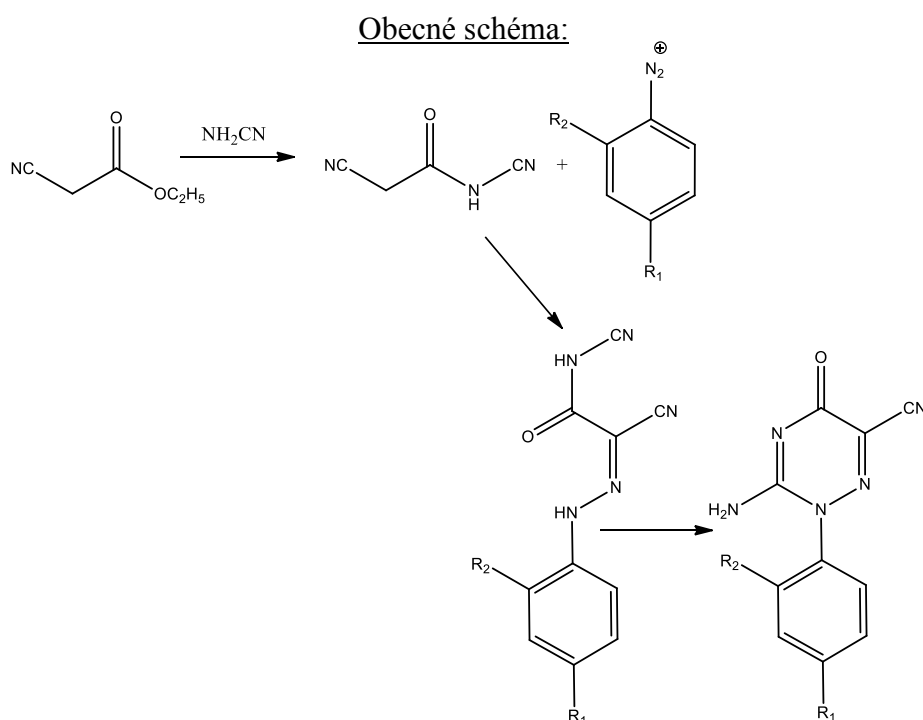
2 Cíle práce

Cílem této bakalářské práce je příprava arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů a studium cyklizace těchto látek za vzniku 3-amino-5-oxo--2,5-dihydro-1,2,4-triazin-6-karbonitrilů

(6-azaizocytosinů) a využití těchto sloučenin k další chemické modifikaci. Nově připravené sloučeniny pak potvrdit spektrálními metodami a předložit je k otestování na biologickou aktivitu (cytostatickou a bakteriostatickou).

Cyklizační reakce arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů vedoucí k nekondenzovaným 1,2,4-triazinům doposud popsány nebyly a jsou tedy hlavní náplní této práce. Úkolem je ověřit, zda bude výchozí látka – kyanacetylkyanamid použitelná pro azokupulační a následné cyklizační reakce (viz obecné schéma). Stejně tak, jak tomu je u podobných reakcí, kterými byly syntetizovány celé řady jak nekondenzovaných 1,2,4-triazinů (zejména 1-aryl-6-azauracilů), tak i některých kondenzovaných 1,2,4-triazinů.

Tato práce je zaměřena zejména na studium a hledání podmínek k cyklizačním reakcím, zajímavá je ale také z pohledu struktury připravených sloučenin. Deriváty 6-azaizocytosinů připravované v této práci mohou být potenciálně biologicky aktivní sloučeniny, neboť jejich struktura je podobná s přírodními pyrimidinovými nukleobázemi.

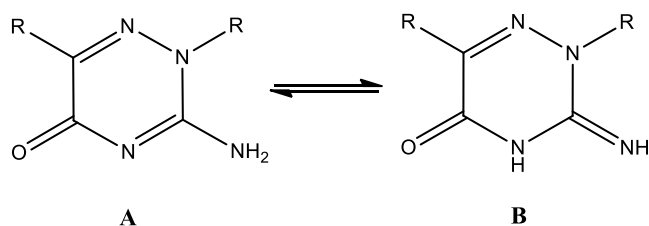


3 Teoretická část

Teoretická část této bakalářské práce je rozdělena do dvou kapitol. V první kapitole je podán přehled reakcí vedoucí ke vzniku a k následné chemické modifikaci 3-amino-1,2,4-triazin-5-onů. V druhé kapitole jsou uvedeny dosavadní poznatky o syntézách 1,2,4-triazinů založených na cyklizaci hydrazonů uzávěrem cyklu mezi atomy 2 a 3 tvořícího se cyklu.

3.1 Přehled chemie 3-amino-1,2,4-triazin-5-onů (6-azaizocytosinů)

Zmíněné sloučeniny se mohou vyskytovat v různých tautomerních formách (viz obrázek č.1). Interpretace IR spekter těchto látek vedla ke dvěma rozdílným závěrům o výskytu tautomerních struktur. Vzhledem k chybné interpretaci bylo nejprve předpokládáno, že při teplotě 25°C převažuje výskyt tautomerní formy **B**⁹. Později však bylo zjištěno, že energeticky nejstabilnější je amino forma **A** a její výskyt převládá¹⁰.



Obrázek č.1

3.1.1 Příprava 3-amino-1,2,4-triazin-5-onů (6-azaizocytosinů)

Tyto látky jsou velmi dobře známy a v odborné literatuře je popsána celá řada způsobů jejich syntéz. Zmíněné sloučeniny lze pojmenovat i způsobem, kdy je základem 6-azaizocytosin. Číslování skeletu je pak odlišné od 1,2,4-triazinového.

3.1.1.1 Příprava 6-azaizocytosinů cyklizačními reakcemi

Tento nejběžnější způsob přípravy vychází z reakce α -ketokarboxylových kyselin (**1**) s aminoguanidinem (**2**), nebo s jeho deriváty^{11,12,13}. Při této reakci dochází ke vzniku guanylylhydrazonu (**3**). Ten může být izolován, jsou ale také známy případy, kdy dochází k přímé cyklizaci za vzniku 3-amino-1,2,4-triazinu (**4**) (viz schéma č.1). Neoptimálnějších výsledků cyklizační reakce je dosaženo při refluxu guanylylhydrazonu (**3**) ve vodném rozpouštědle v nepřítomnosti alkálie^{14,15}.

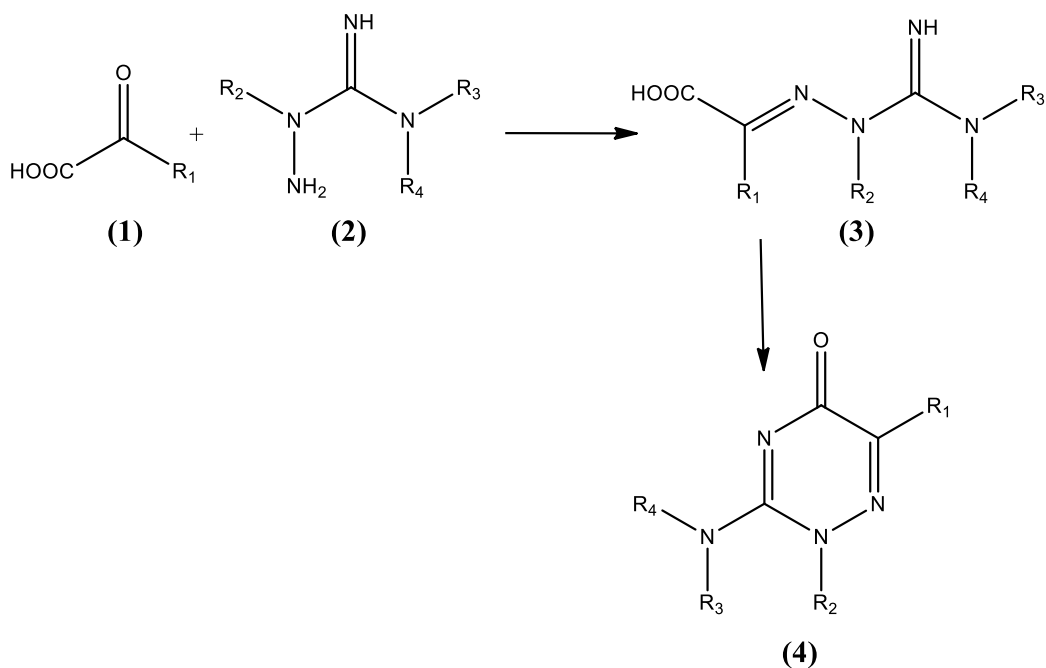


Schéma č.1

- | | |
|--|---|
| a) $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{R}_4 = \text{H}$ | f) $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{CH}_3; \text{R}_3 = \text{R}_4 = \text{H}$ |
| b) $\text{R}_1 = \text{CH}_3; \text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{R}_4 = \text{H}$ | g) $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{CH}_3; \text{R}_4 = \text{H}$ |
| c) $\text{R}_1 = \text{R}_3 = \text{R}_4 = \text{CH}_3; \text{R}_2 = \text{H}$ | h) $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{H}; \text{R}_4 = \text{H}$ |
| d) $\text{R}_1 = \text{R}_3 = \text{CH}_3; \text{R}_2 = \text{R}_4 = \text{H}$ | i) $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{H}; \text{R}_3 = \text{R}_4 = \text{CH}_3$ |
| e) $\text{R}_1 = \text{CH}_3; \text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{H}; \text{R}_4 = \text{C}_6\text{H}_5$ | j) $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{H}; \text{R}_4 = \text{C}_6\text{H}_5$ |

V případě této sloučeniny (6), vedlo ke vzniku cyklizačního produktu zahřívání derivátu thiomocoviny (5) v přítomnosti ethanolátu sodného¹⁶ (viz schéma č. 2).

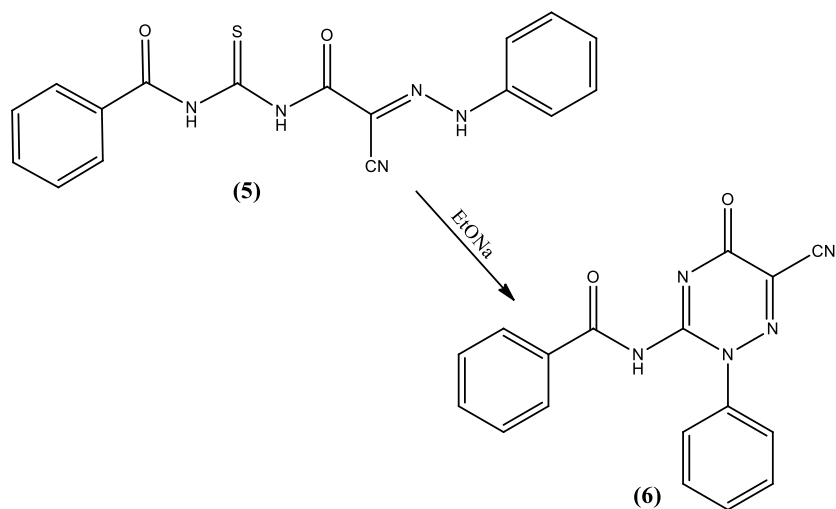


Schéma č.2

V literatuře se také můžeme setkat s přípravou 1,2,4-triazinu (9), ve které je na rozdíl od výše zmíněného způsobu dosaženo uzávěru cyklu pomocí další reakční komponenty. Tato látka, v tomto případě nitril kyseliny trichloroctové (8), se váže na vhodné místo výchozí látky (7), kde dochází ke vzniku triazinového cyklu¹⁷ (viz schéma č. 3).

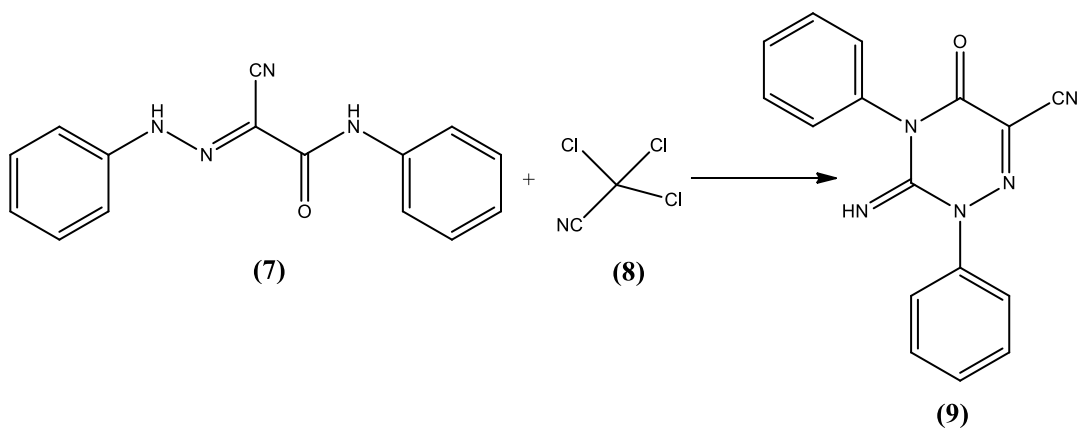


Schéma č. 3

3.1.1.2 Příprava 6-azaizocytosinů substitučními reakcemi

Další často využívanou metodou pro přípravu 3-amino-1,2,4-triazinů (13) je reakce amoniaku nebo aminů s látkami, jako jsou 3-alkoxy-1,2,4-triazin-5-ony (10), 3-(methylmerkapt)-1,2,4-triazin-5-ony (11), nebo 3-thioxo-1,2,4-triazin-5-ony (12)^{18, 19, 20}. Při této reakci dochází k substituci příslušné amino skupiny v poloze 3 (viz schéma č. 4).

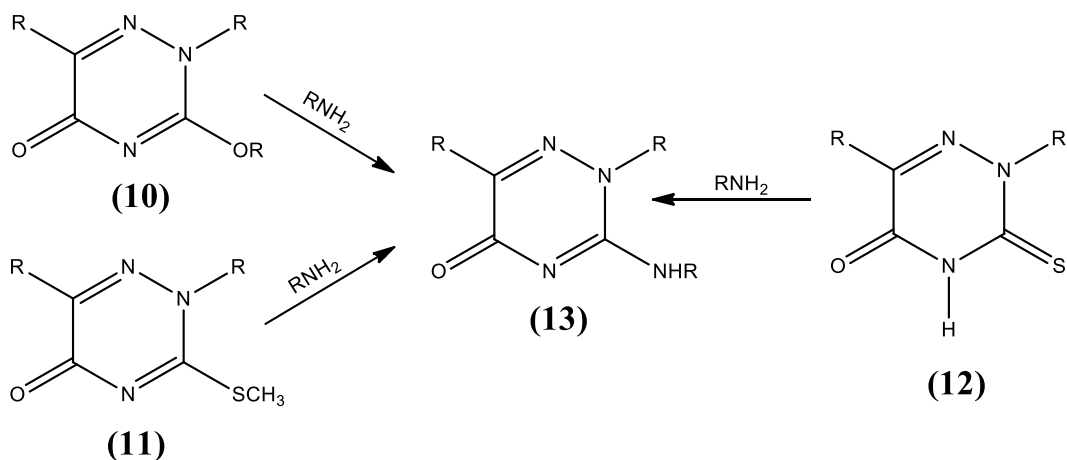


Schéma č. 4

Sloučeniny **(15)** lze také docílit hydrolytickou reakcí 3,5-diamino-1,2,4-triazinu **(14)**²¹ (viz schéma č.5).

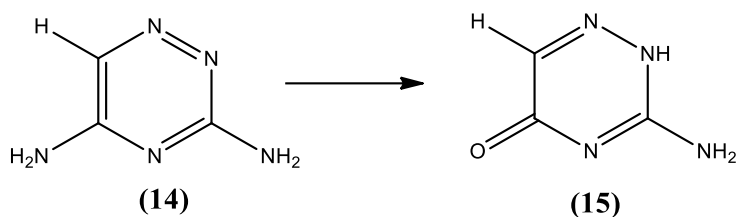


Schéma č.5

Příprava, která má adičně-eliminační charakter, vychází z reakce oxidu siřičitého nebo kyanovodíku s 3-amino-1,2,4-triaziny **(16)**, ve které dochází k adici na dvojnou vazbu mezi atomy 4 a 5 za vzniku látky **(17)** popř. sloučeniny **(18)**. Substituční reakcí sulfonové skupiny s kyanidem draselným přechází tato látka **(17)** na 3-amino-1,2,4-triazin-5-karbonitril **(18)**. Podstoupí-li tato sloučenina **(18)** reakci s vodou, vzniká 3-amino-1,2,4-triazin-5-on **(20)**, avšak reakce s alkoholem poskytuje látku **(19)**^{22, 23} (viz schéma č. 6).

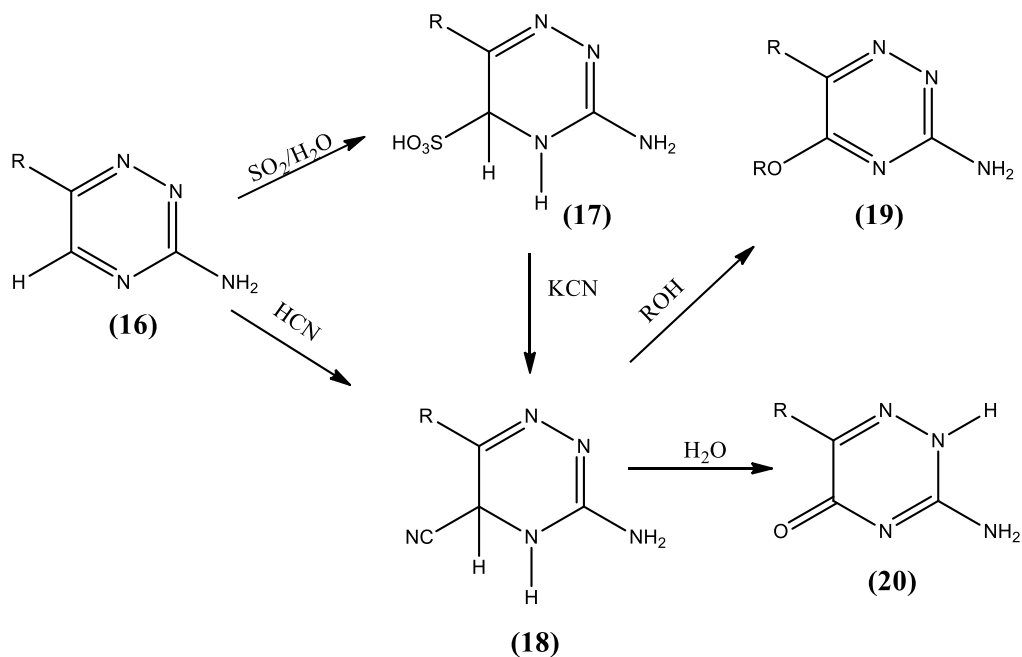


Schéma č.6

V literatuře je také popsána reakce, ve které byl 5-oxo-6-fenyl-1,2,4-triazin-3-karboxyhydrazid (**21**) převeden na příslušný azid a z toho byl na principu Curtiova odbourávání připraven 3-amino-6-fenyl-1,2,4-triazin-5-on (**22**)²⁴ (viz schéma č.7).

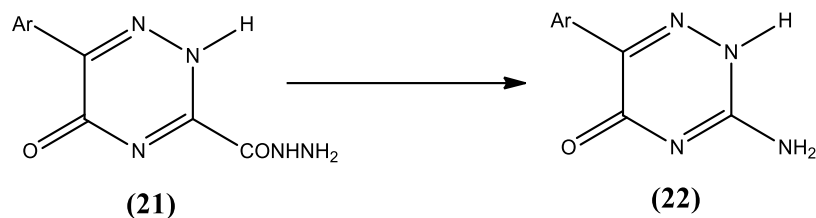


Schéma č.7

3.1.1.3 Příprava 6-azaizocytosinů oxidačními reakcemi

Dalším možným způsobem, kterým lze látky (**24**) připravit je oxidace 3-amino-1,2,4-triazinů (**23**) s atomem vodíku substituovaným poloze 5. Jako oxidační činidlo lze použít oxid chromový²⁵, nebo také peroxid vodíku²⁶ (viz schéma č. 8).

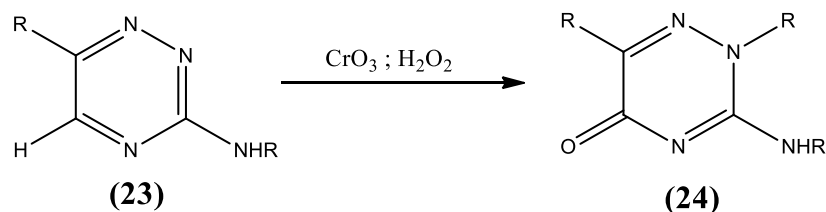


Schéma č.8

V případě oxidace 3-amino-5,6-dimethyl-1,2,4-triazinu (**25**) pomocí peroxidu vodíku dochází ke vzniku 3-amino-6-methyl-1,2,4-triazin-5-onu (**26**) a zároveň k 3-amino-5,6-dimethyl-1,2,4-triazin-1-oxidu (**27**)²⁶ (viz schéma č. 9).

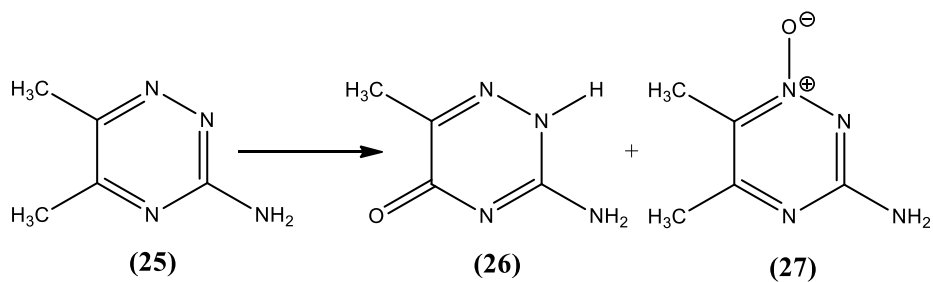


Schéma č.9

3.1.2 Reaktivita 3-amino-1,2,4-triazin-5-onů

Vzhledem k poměrně snadné substituci, ke které dochází na atomech triazinového cyklu, jsou to právě substituční reakce, které se nejčastěji využívají k modifikaci 3-amino-1,2,4-triazin-5-onů. Navíc jsou v literatuře popsány kondenzační reakce, které jsou umožněny díky přítomnosti amino skupiny.

3.1.2.1 Substituční reakce probíhající na triazinovém cyklu

Reakcí 3-amino-1,2,4-triazinů (**29**) s alkylačními činidly dochází k přeměně těchto látek na 2-alkyl-3-amino-1,2,4-triazin-5-ony (**28**)²⁷. Alkylace atomu kyslíku se docílí reakcí s dimethylsulfátem (**30**)¹⁸ (viz schéma č. 10).

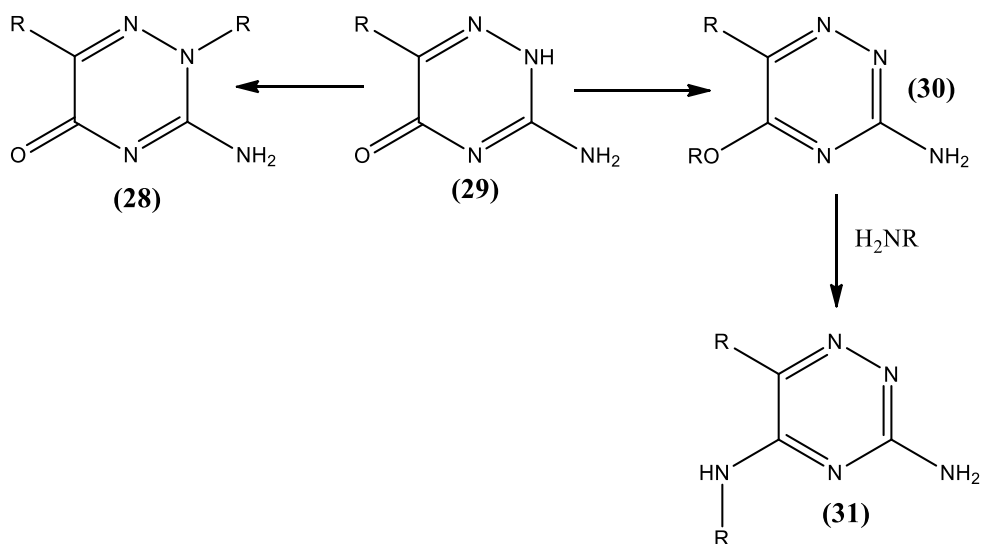


Schéma č.10

Pokud je 3-amino-1,2,4-triazin (**33**) vystaven reakci s trichloridem fosforu nebo se sulfidem fosforečným, dochází k nahrazení kyslíku v poloze 5 chlorem²⁰ či sírou^{11, 13} a ke vzniku látky (**32**) popř. látky (**34**) (viz schéma č. 11).

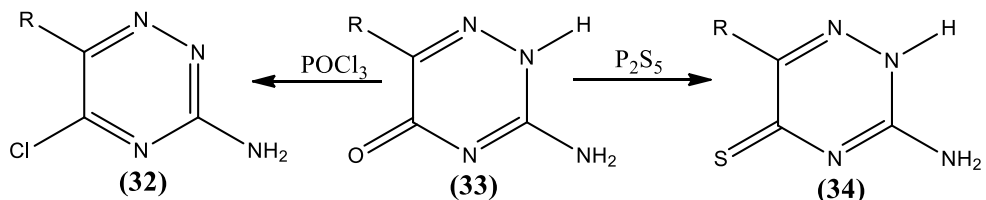


Schéma č. 11

Pokud má 3-amino-1,2,4-triazin-5-on (**36**) substituovanou polohu 6 vodíkem, poskytně reakcí s bromem 3-amino-6-bromo-1,2,4-triazin-5-on (**35**)²⁸. Reakcí 1,2,4-triazinu (**36**) s kyselinou dusitou dochází k hydrolytické reakci, kdy vzniká 1,2,4-triazin-3,5-dion (**37**)²⁹ (viz schéma č. 12).

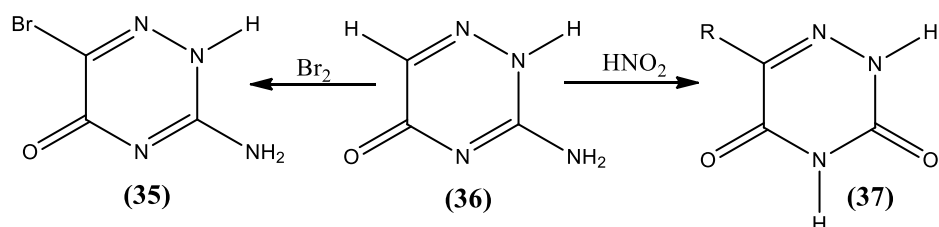


Schéma č. 12

V literatuře je také popsána reakce 3-morfolino-6-fenyl-1,2,4-triazin-5-onu (**38**) s fenylmagnesium bromidem. Tato Grignardova reakce poskytuje 3-morfolino-5,6-difenyl-1,2,4-triazin (**39**)³⁰ (viz schéma č. 13).

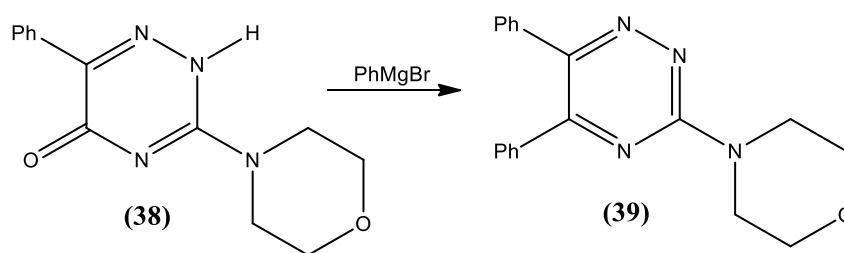


Schéma č. 13

3.1.2.2 Kondenzační reakce amino skupiny

Reakcí 1,2,4-triazin-5-onů (**41**) s acylačními činidly dochází k acylaci amino skupiny za vzniku 3-(acylamino)-1,2,4-triazin-5-onů (**40**)²⁵. Bude-li 1,2,4-triazin-5-on (**41**) reagovat s acetyly amidů, nebo s dimethylformamidem v přítomnosti trichloridu fosforu vzniká aminidin (**42**)³¹ (viz schéma č. 14).

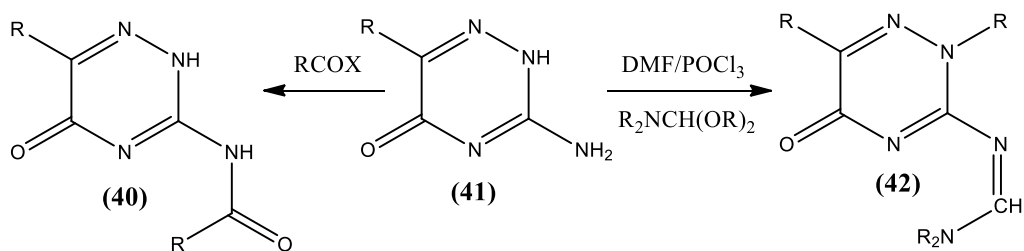


Schéma č. 14

Kondenzační reakce 3-amino skupiny tohoto 1,2,4-triazinu **(43)** s 4-nitroso-N,N-dimethylanilinem **(44)** vede ke vzniku azo sloučeniny **(45)**¹⁹ (viz schéma č. 15).

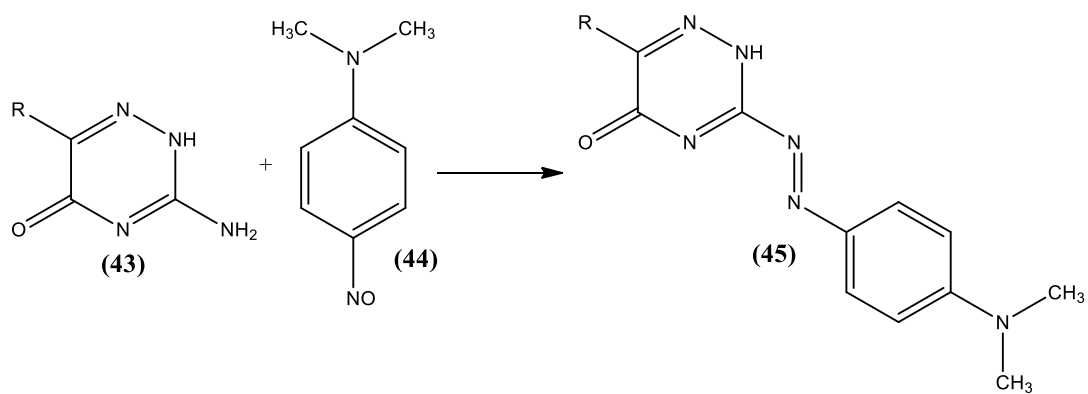
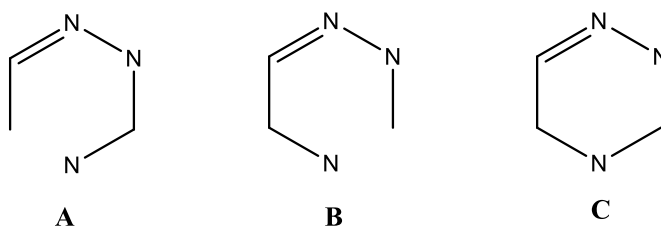


Schéma č. 15

3.2 Cyklizační reakce hydrazonů vedoucí k 1,2,4-triazinům

V této podkapitole jsou uvedeny doposud známé cyklizační reakce hydrazonů, při kterých se uzavírá 1,2,4-triazinový cyklus mezi atomy 2 a 3. Na stejném typu uzávěru je totiž založen princip cyklizačních reakcí arylhydrazono-kyanacetylamidů, stěžejních látek této bakalářské práce, vedoucí k substituovaným 1,2,4-triazinům.

Hydrazony karbonylových sloučenin patří mezi nejoblíbenější synthony v oblasti heterocyklických sloučenin. Vyplývá to především z jejich velmi snadné dostupnosti, ať už na základě kondenzace hydrazinu a jeho derivátů s karbonylovými sloučeninami, nebo na základě kopulace diazoniových solí se sloučeninami mající reaktivní methylenovou skupinu. Cyklizační reakce hydrazonů s vhodně substituovanými karbonylovými sloučeninami jsou velmi výhodné pro syntézy jak nekondenzovaných, tak i kondenzovaných 1,2,4-triazinů. Podle toho, mezi kterými atomy dochází k uzávěru 1,2,4-triazinového cyklu, rozdělujeme tyto cyklizace do tří typů (viz obrázek č. 2).



Obrázek č. 2

Předložená bakalářská práce se zabývá cyklizacemi hydrazonů typu C, kde dochází ke vzniku 1,2,4-triazinu tvorbou vazby mezi atomy 2 a 3.

Cyklizační reakce arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů vedoucí k nekondenzovaným 1,2,4-triazinům doposud popsány nebyly a jsou tedy hlavní náplní této práce.

3.2.1.1 Metody cyklizace hydrazono-karbamátů

Jedná se o metody, ve kterých cyklizují arylhydrazony obsahující karbamátovou skupinu. Nejsnadněji lze takovéto hydrazony získat kopulací diazoniových solí s karbamáty obsahující reaktivní methylenovou skupinu v bazickém prostředí, kdy

vznikající azosloučeniny jsou s hydrazony tautomerní. Hydrazono-karbamáty lze také připravit acylací příslušných aminosloučenin pomocí esterů kyseliny chlormravenčí.

Vlastní cyklizační reakce takovýchto hydrazono-karbamátů lze uskutečnit několika způsoby. Je-li v molekule vhodné uspořádání tzn. existuje-li za normálních podmínek (event. za vyšší teploty) u vzniklých azosloučenin rovnováha mezi azo a hydrazono formou, pak je možná jejich termická cyklizace. Toho se docílí nejčastěji varem ve vysokovroucím rozpouštědle, nebo zahřátím nad teplotu tání. Odlišně je pak provedena cyklizace hydrazono-karbamátů, které existují pouze ve své azo formě, která je pro cyklizaci nepříznivá. Principem takové cyklizace je vznik mezomerních kationtů nebo aniontů, které vznikají v alkalických nebo kyselých prostředích a lehce se zahříváním cyklizují (viz schéma č. 16).

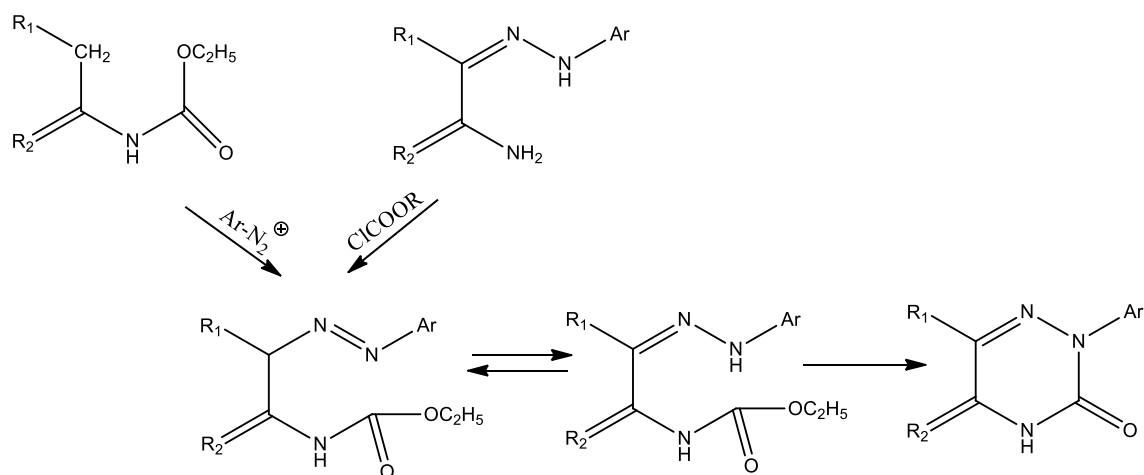


Schéma č. 16

Pro nekondenzované 1,2,4-triaziny: $R_1 = \text{CN}$; $R_2 = \text{O}$

Pro kondenzované 1,2,4-triaziny: $R_1 + R_2 = \text{izocyklus, cyklus nebo heterocyklus}$

Vzhledem k tomu, že jsou tyto cyklizační reakce založeny na podobném principu, kterým byly již syntetizovány celé řady jak nekondenzovaných 1,2,4-triazinů (zejména 1-aryl-6-azauracilů), tak i některých kondenzovaných 1,2,4-triazinů, je zde podán přehled cyklizačních reakcí, pomocí kterých byly připraveny tyto 2,3,4,5-tetrahydro-1,2,4-triazin-5-ony (**47**) (viz schéma č. 17)^{32, 33, 34}.

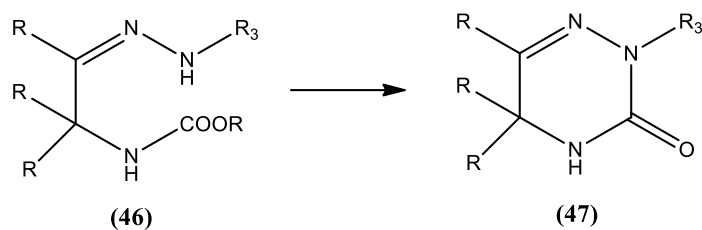


Schéma č. 17

Velmi široce bylo využito i cyklizací N-(α -arylhydrazonoacyl)karbamátů **(48)** k syntézám zejména 1-aryl-6-azauracilů **(49)** (viz schéma č. 18).

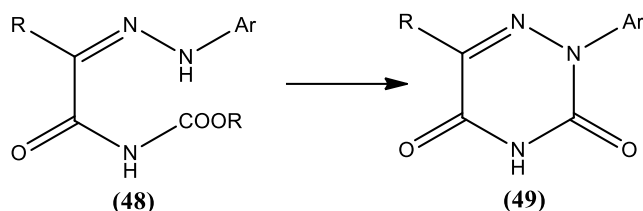


Schéma č. 18

$R = \text{CN}$ ^{35, 36, 37, 38}

$R = \text{CONHCOOC}_2\text{H}_5$ ^{38, 39, 40}

$R = \text{Ar-N=N-}$ ⁴¹

Cyklizace probíhá velmi snadno jak termicky, tak i zahříváním v alkalickém prostředí, kdy vznikají anionty substituovaných 6-azauracilů, které 1,2,4-triaziny **(49)** poskytují okyselením. Velkou výhodou těchto syntéz je i snadná dostupnost výchozích hydrazonů **(48)**, které lze připravit ve vysokém výtěžku azokopulací diazoniových solí s kyanacetyl-karbamátem ethylnatým, nebo také malonyl bis(karbamátem ethylnatým).

Mechanismus termické cyklizace

Při termické cyklizaci se vychází z předpokladu, že za vysoké teploty dochází k zániku intramolekulární vodíkové vazby, kterou je stabilizován pro cyklizaci

nepříznivý geometrický izomer a u kterého se po nukleofilním ataku na karbonylovou skupinu a eliminací ethanolu získá příslušný 1,2,4-triazin (viz schéma č. 19).

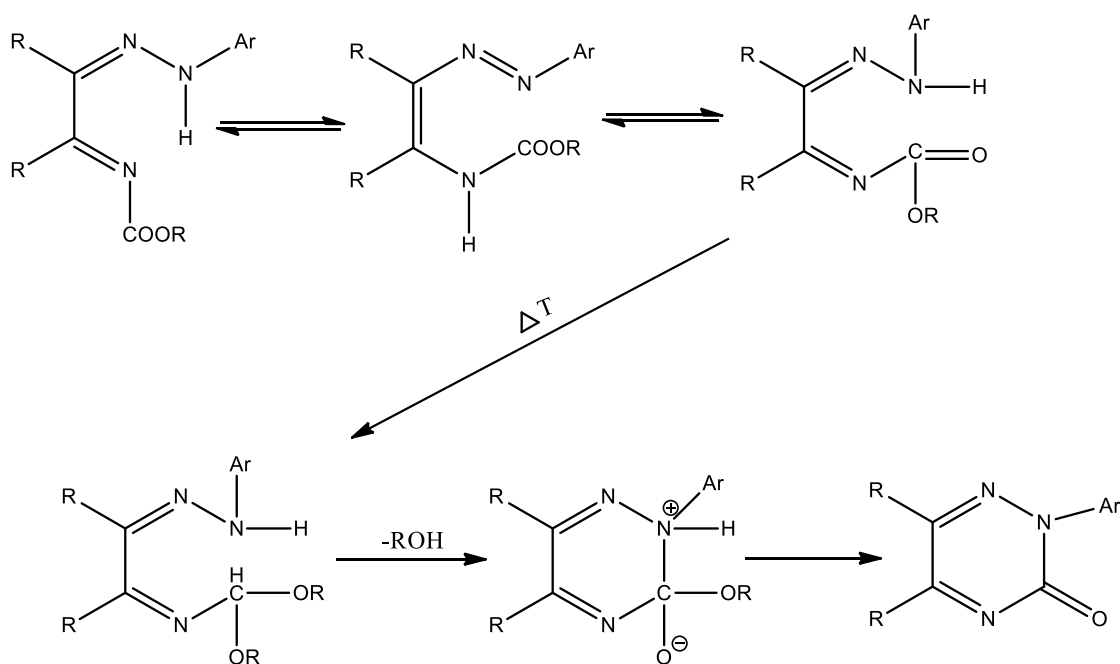


Schéma č. 19

Mechanismus alkalické cyklizace

Hydrazono-karbamáty, které obsahují ve své struktuře kyselé vodíky mohou podlehat i cyklizaci alkalické. Tato reakce je pravděpodobně zahájena deprotonizací hydrazonové N-H skupiny a nukleofilní adicí vzniklého aniontu na karbamátový karbonyl (viz schéma č. 20).

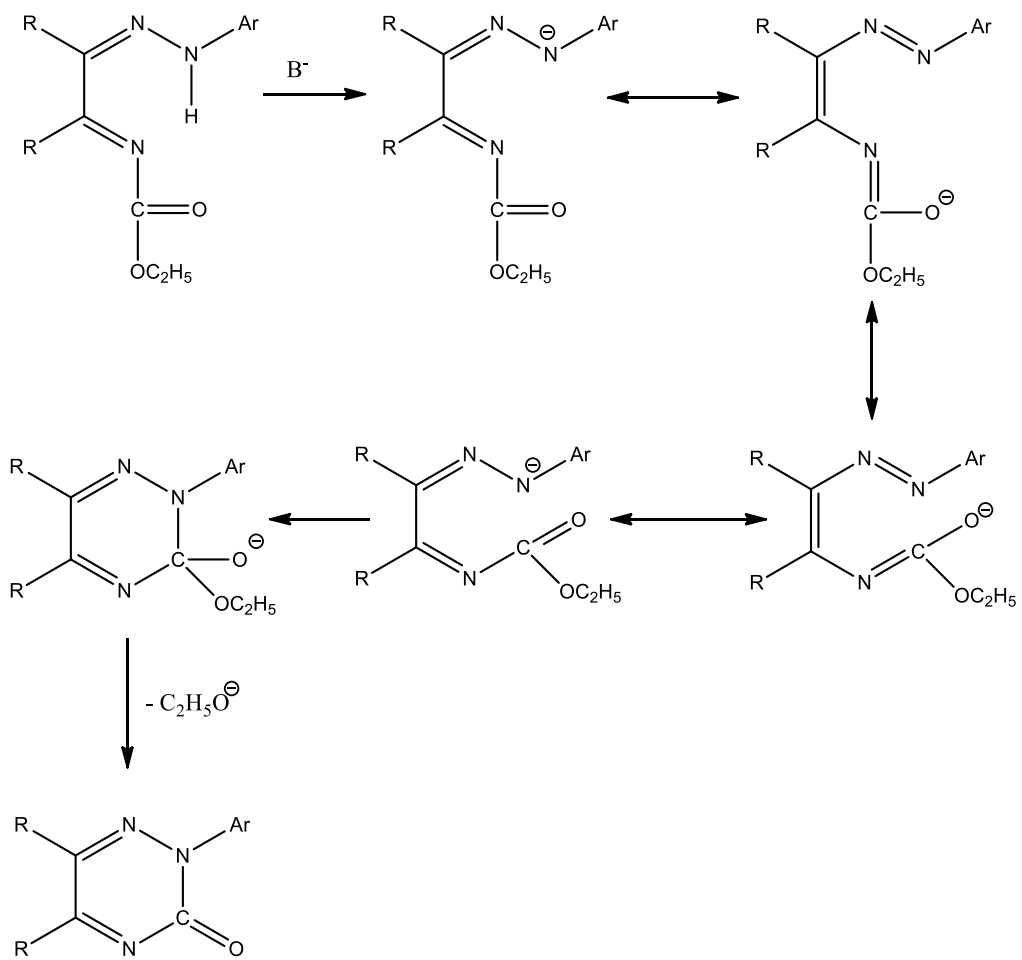


Schéma č. 20

4 Výsledky a diskuze

Cílem této bakalářské práce byla příprava nekondenzovaných 1,2,4-triazinokarbonitrilů a využití těchto látek k dalším chemickým modifikacím. Stěžejní částí je příprava příslušných arylhydrazonů a zkoumání cyklizačních reakcí těchto látek.

4.1 Příprava výchozí látky

V této podkapitole je popsána příprava výchozí látky a to sodné soli kyanacetylkyanamidu (**III**). Tato látka byla zvolena záměrně proto, že obsahuje kyselou methylenovou skupinu, která je schopna podléhat azokopulačním reakcím. Její struktura je navíc podobná se sloučeninami, které se používají pro přípravu derivátů 1-aryl-6-azauracilů, zmíněných v teoretické části, a bylo proto zajímavé ověřit, zda ji bude možné použít při syntéze podobných sloučenin.

4.1.1 Kyanacetylkyanamid (sodná sůl) (**III**)

Tato příprava vychází z reakce ethylesteru kyseliny kyanoctové (**II**) s kyanamidem (**I**) v přítomnosti ethanolátu sodného. Při této reakci dochází k nukleofilní substituci, kdy je odstupující esterová skupina nahrazena kyanamidem za vzniku sodné soli kyanacetylkyanamidu (**III**)⁴². Jelikož se jedná o sůl, nešlo ověřit čistotu této látky pomocí LC-MS ani TLC. Proto byla tato látka analyzována NMR spektroskopií, která potvrdila dostatečnou čistotu soli postačující pro další reakce (viz schéma č.21).

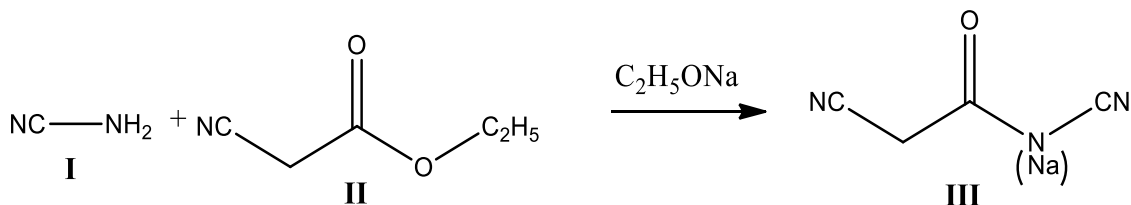


Schéma č. 21

4.2 Příprava arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů a jejich vlastnosti

K důkladnějšímu prozkoumání cyklizační reakce byly azokopulační reakcí připraveny různé arylhydrazony (**VIIa–VIIg**). Jako reakční komponenty byly zvoleny deriváty anilinu (**IVa–IVg**), jež se liší typem a místem substituce na aromatickém kruhu. Za účelem sledování možné kinetiky a výtěžku azokopulačních a cyklizačních reakcí byly cíleně zvoleny skupiny působící M⁺, M⁻, I⁺ efektem.

4.2.1 Příprava arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů (**VIIa – VIIg**)

Pro tuto reakci byla nejprve nutná příprava diazoniové soli (**Va–Vg**). K tomuto účelu bylo využito vhodně substituovaného anilinu (**IVa–IVg**), ze kterého se reakcí s dusitanem sodným v kyselém prostředí tato diazoniová sůl (**Va–Vg**) připravila. Tato sůl (**Va–Vg**) následně podléhala azokopulační reakci s kyanacetylkyanamidem (**III**) v přítomnosti octanu sodného jako báze za vzniku příslušného arylhydrazonu (**VIa–VIg**). Výsledná směs byla následně okyselena kyselinou chlorovodíkovou, aby se dosáhlo vysrážení arylhydrazonu (**VIIa–VIIg**), který byl v roztoku ve formě své sodné soli. Bylo zjištěno, že okyselení roztoku kyselinou octovou nevedlo k vysrážení produktu, zřejmě kvůli nedostatečné aciditě této kyseliny (viz schéma č. 22).

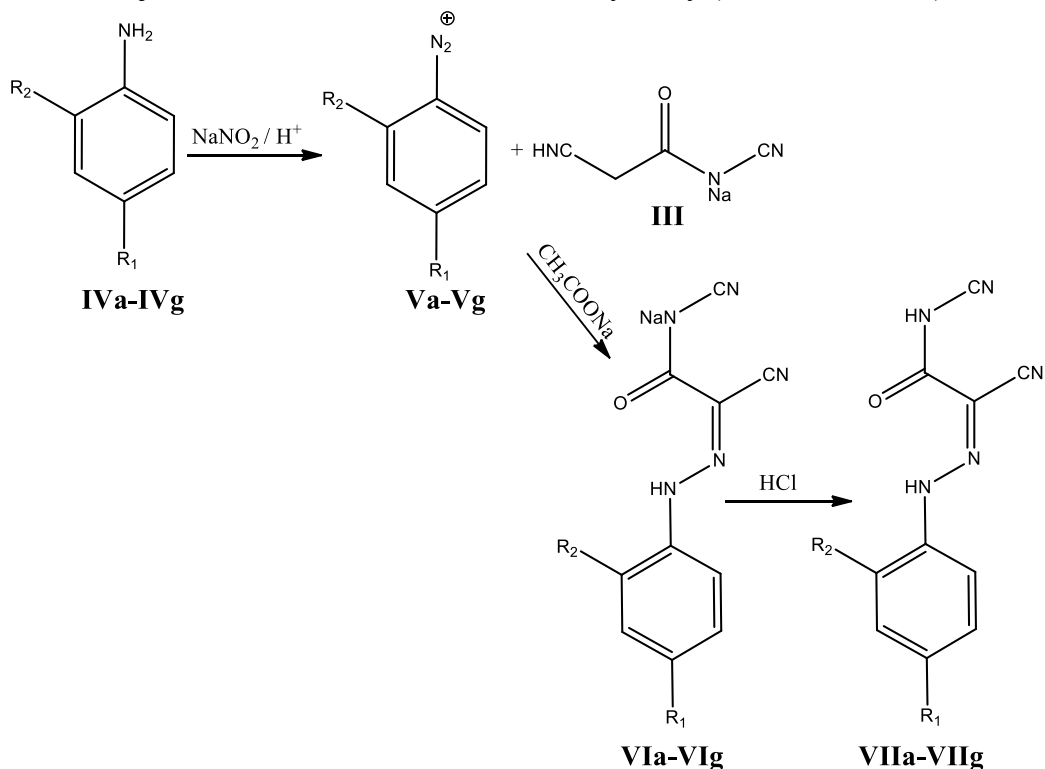


Schéma č. 22

- | | |
|---------------------------|--------------------------|
| a) $R_1 = R_2 = H$ | e) $R_1 = Cl; R_2 = H$ |
| b) $R_1 = CH_3; R_2 = H$ | f) $R_1 = H; R_2 = COOH$ |
| c) $R_1 = OCH_3; R_2 = H$ | g) $R_1 = H; R_2 = NO_2$ |
| d) $R_1 = NO_2; R_2 = H$ | |

První látkou připravenou výše zmíněným způsobem byl 2-fenylhydrazono-2-kyanacetylkyanamid (**VIIa**), který byl získán ve výtěžku 74 %. Kontrola čistoty této surové látky byla prováděna pomocí TLC ($CHCl_3 : MeOH, 4 : 1$) a také LC – MS. Pomocí těchto technik byla zjištěna přítomnost méně polární nečistoty o stejné molekulové hmotnosti jako má fenylhydrazon (**VIIa**). Toto nejprve evokovalo, že se jedná o cyklizační produkt (**VIIIa**), avšak později byl tento předpoklad vyvrácen a povaha této nečistoty není dosud objasněna.

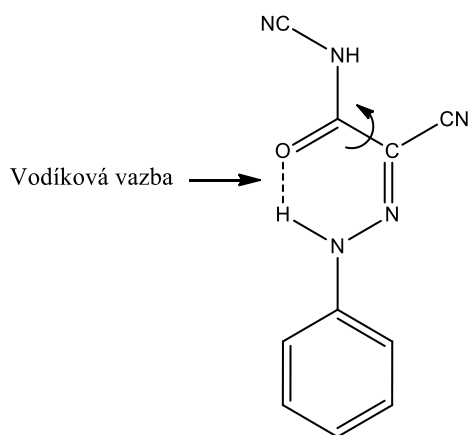
Ve snaze o přečištění byla tato látka (**VIIa**) krystalizována z bezvodého ethanolu. Avšak tato čistící operace nebyla úspěšná kvůli omezené rozpustnosti fenylhydrazonu (**VIIa**) v bezvodém ethanolu. Zajímavé bylo, že po přidání vody do vroucí suspenze fenylhydrazonu (**VIIa**) v ethanolu došlo k jeho lepšímu rozpouštění a po ochlazení vypadávala krystalická látka. Překvapením bylo, že pomocí analýzy produktu rekrystalizace na LC-MS bylo zjištěno, že vzniká látka o stejné molekulové hmotnosti, ale zcela odlišného retenčního času než měla výchozí látka. Rozdílnost obou sloučenin byla potvrzena analýzou na TLC. Analýzou produktu rekrystalizace bylo zjištěno, že došlo ke kvantitativní konverzi v 1,2,4-triazin (**VIIIa**), což je výsledek cyklizační reakce fenylhydrazonu (**VIIa**). Tato analýza potvrdila, že se nejedná o nečistotu vyskytující se u fenylhydrazonu (**VIIa**), jelikož se retenční časy těchto látek liší.

4.2.2 NMR spektroskopie arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů

Ve snaze získat NMR spektra, byl 2-fenylhydrazono-2-kyanacetylkyanamid (**VIIa**) nejprve rozpuštěn v DMSO a změřen za 24 hodin. Toto měření ale poskytlo nerelevantní výsledky. Ačkoliv byla dána k měření NMR spekter látka o čistotě 95%, tak výsledkem měření bylo patrné, že stáním v DMSO dochází pozvolna k její chemické přeměně, což bylo zřejmé z přítomnosti celé řady signálů jak v 1H , tak i ^{13}C NMR spektru. (viz příloha č. 1). Proto byla tato látka změřena NMR spektroskopii ihned

po rozpuštění v DMSO, což vedlo k úspěšnému získání skutečných dat. Co se děje při delším stání sloučeniny (**VIIa**) v DMSO bylo zajímavé zjistit (viz kapitola 4.3.2).

Dalším předmětem zájmu byla studie závislosti NMR spektra 2-fenylhydrazono-2-kyanacetylkyanamidu (**VIIa**) na teplotě. Tato látka (**VIIa**) není bohužel rozpustná v chloroformu, což brání jeho změření za nízkých teplot. Z toho důvodu byl jako rozpouštědlo zvolen plně deuterovaný DMF, který umožnil změřit vzorek jak při nízkých teplotách, tak i při zahřátí. Vzorek byl měřen při -50°C , 25°C a 70°C . Z výsledků měření je patrné, že při -50°C jsou přítomny dva úzké signály N-H vazeb, což ukazuje na to, že je v molekule stabilizovaná jedna forma, pravděpodobně forma, kde se uplatňuje intermolekulární vazba. Při měření za laboratorní teploty byly původně úzké signály (δ 12,4; 12,9) rozostřeny a ve spektru byly přítomny dva široké signály (δ 12,8-12,3; 13,3 - 11,3). Při 70°C byl již patrný jen jeden široký signál (δ 13,0 – 11,6; 2H). To naznačuje, že při vyšší teplotě pravděpodobně dochází k oslabení vodíkové vazby, což vede k rozostření signálů, jako důsledek zvýšené rotace kolem vazby (viz obrázek č. 2),(viz příloha č. 2).



Obrázek č. 2

4.3 Cyklizační reakce arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů (**VIIa-VIIg**)

Jak bylo výše zmíněno, hydrazony (**VIIa-VIIg**) jsou nestále při zahřívání ve vodně-ethanolickém roztoku, kde dochází k cyklizační reakci za vzniku odpovídajících 3-amino-5-oxo-1,2,4-triazin-6-karbonitrilů (**VIIIa-VIIIg**). Tohoto faktu bylo využito a

touto metodou byly poté cyklizovány téměř všechny arylhydrazony (**VIIa-VIIIf**) na příslušné deriváty 1,2,4-triazinu (**VIIIa-VIIIIf**) (ve výtěžku 60-80%), (viz schéma č. 22). Výjimkou byl arylhydrazon (**VIIg**) s *o*-COOH.

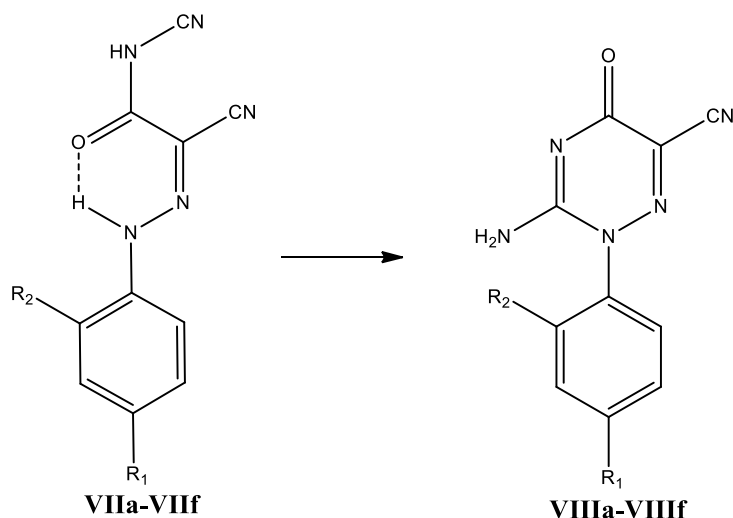


Schéma č.22

- | | |
|---------------------------|--------------------------|
| a) $R_1 = R_2 = H$ | e) $R_1 = Cl; R_2 = H$ |
| b) $R_1 = CH_3; R_2 = H$ | f) $R_1 = H; R_2 = NO_2$ |
| c) $R_1 = OCH_3; R_2 = H$ | g) $R_1 = H; R_2 = COOH$ |
| d) $R_1 = NO_2; R_2 = H$ | |

V případě 2-karboxy derivátu 3-amino1,2,4-triazinu (**VIIIg**), bylo při sledování této cyklizace zjištěno, že ihned po začátku reakce dochází vedle vzniku 2-karboxytriazinu (**VIIIg**), také ke vzniku sloučeniny (**IX**), která vzniká cyklizací amino skupiny s karboxylem. Z tohoto důvodu nebylo možné izolovat pouze 2-karboxy-1,2,4-triazin (**VIIIg**) v čistém stavu. S delším reakčním časem docházelo k téměř kvantitativní přeměně až na látku (**IX**), kterou se podařilo izolovat (viz schéma č. 23).

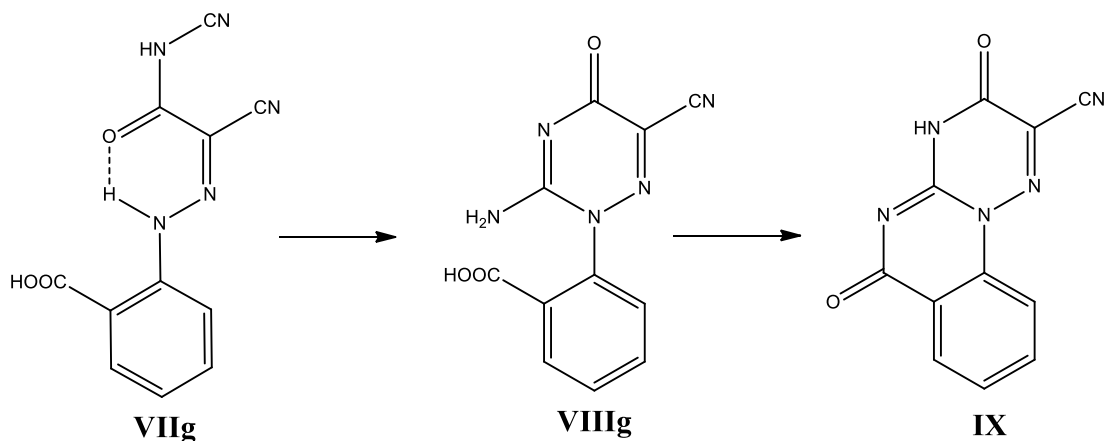


Schéma č. 23

4.3.1 Rychlost cyklizace

U cyklizačních reakcí byla sledována doba, za kterou dojde ke kvantitativní přeměně arylhydrazonu (**VIIa-VIIIf**) za vzniku příslušného 1,2,4-triazinu (**VIIIa-VIIIIf**). K tomuto sledování byla použita TLC technika, kdy byla přítomnost či nepřítomnost výchozí látky zjišťována vizuálně. Vycházelo se z předpokladu, že různé substituenty s rozdílným mezomerním či indukčním efektem budou mít výrazný vliv na rychlost cyklizační reakce. Výsledky experimentu tyto předpoklady potvrdily a jsou uvedeny v tabulce č. 1

Substituent	Poloha	Efekt	Doba přeměny
bez substituentu	-	-	do 10 minut
-CH ₃	<i>para</i>	I+	do 10 minut
-OCH ₃	<i>para</i>	M+, I-	do 10 minut
-NO ₂	<i>para</i>	M-	do 60 minut
-Cl	<i>para</i>	M+,I-	do 10 minut
-NO ₂	<i>ortho</i>	M-	do 24 hodin

Tabulka č.1

Z tabulky je tedy patrné, že arylhydrazony (**VIIc, VIIe**) se substituenty s M+ efektem podléhají cyklizační reakci nejrychleji, zatímco tvorba cyklizačního produktu (**VIIIc, VIIIe**) u arylhydrazonů (**VIIc, VIIe**) s efektem M- vyžaduje delší reakční čas.

4.3.2 Způsoby cyklizace

Jak již bylo zmíněno, za varu v bezvodém ethanolu k cyklizaci nedochází. Je-li však v ethanolu přítomna voda, k cyklizaci dochází a to pozvolna i za laboratorní teploty. Toto bylo dokázáno orientační zkouškou, kdy byl 2-fenylhydrazono-2-kyanacetylkyanamid (**VIIa**) rozpuštěn ve vodném ethanolu a v časových intervalech byla analyzována reakční směs. Již po šesti hodinách byla ve směsi zjištěna přítomnost cyklizačního produktu (**VIIIa**) a po pěti dnech došlo k úplné přeměně fenylhydrazonu (**VIIa**) na 1,2,4-triazin (**VIIIa**). Vznik cyklizačního produktu (**VIIIa**) byl také pozorován při stání fenylderivátu (**VIIa**) v DMSO. Analýzou této směsi pomocí LC-MS bylo zjištěno, že k cyklizační reakci a vzniku 3-amino-2-fenyl-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-6-karbonitrilu (**VIIIa**) dochází také, ale reakce probíhá výrazně pomaleji než při stání ve vodně-ethanolicém roztoku a navíc zde byla přítomna zmíněná nečistota, která se vyskytovala také při cyklizační reakci fenylhydrazonu (**VIIa**) (viz příloha č. 3).

Jelikož je v literatuře popsáno více způsobů, kterými lze cyklizace docílit, byly i zde hledány další cesty, které by vedly k vytvoření cyklu³⁹. Bylo proto zajímavé zjistit, jestli by došlo k cyklizaci také termickou cestou. Toto bylo zjišťováno pomocí experimentu, kdy byl fenylhydrazon (**VIIa**) na bodotávku zahříván nad teplotu tání tj. 164°C. Produkt tavení byl analyzován na LC-MS a byla zjištěna kvantitativní konverze fenylhydrazonu na 1,2,4-triazin (**VIIIa**).

Skutečnost, že se hydrazono-kyanacetylkyanamidy (**VIIa-VIIg**) necyklizují zahříváním v bezvodém ethanolu, ale zahříváním ve vodném ethanolu ano, si lze vysvětlit na základě toho, že tyto sloučeniny (**VIIa-VIIg**) se za normálních podmínek (ev. bezvodých rozpouštědlech) necyklizují, protože je stabilizován pro cyklizaci nepříznivý geometrický izomer vodíkovou vazbou. Ta brání protočení části molekuly a tím adici NH skupiny na CN skupinu. Tuto intramolekulární vodíkovou vazbu je pravděpodobně možné narušit přítomností vody v polárních rozpouštědlech, nebo zahříváním hydrazonu (**VII**) na vyšší teplotu, nad teplotu tání, kdy rovněž vodíková vazba zaniká (viz schéma č. 24).

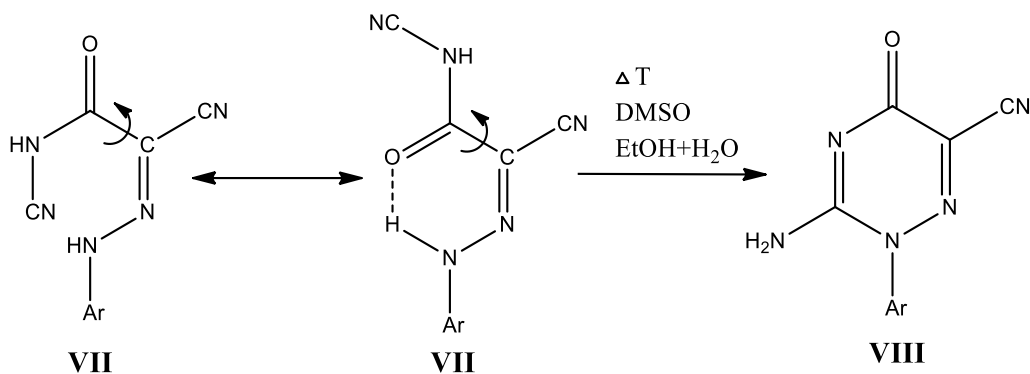
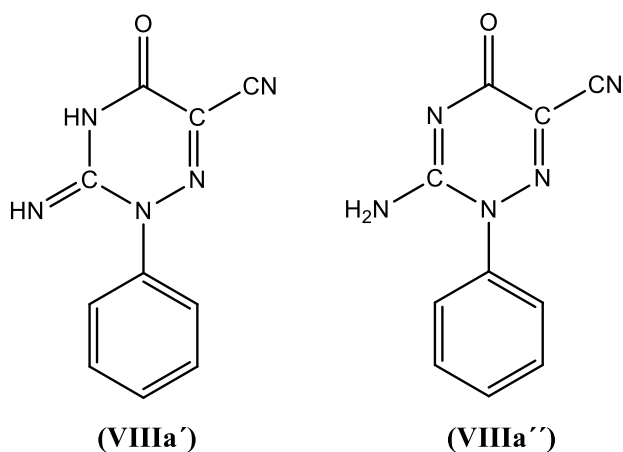


Schéma č. 24

4.3.3 NMR spektroskopie 1,2,4-triazin-6-karbonitrilů

Jak již bylo zmíněno v teoretické části, tyto látky se mohou vyskytovat ve více tautomerních podobách. Bude-li se jednat o fenylderivát 1,2,4-triazinu (**VIIIa**), přicházejí v úvahu dvě formy 3-imino-2-fenyl-5-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,4-triazin-6-karbonitril (**VIIIa'**) a 3-amino-2-fenyl-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-6-karbonitril (**VIIIa''**). Ve snaze získat více informací o zastoupení těchto tautomerních struktur, byl fenylderivát 1,2,4-triazinu (**VIIIa**) analyzován NMR spektroskopií při laboratorní teplotě a také při 80 °C. Interpretací ¹H spekter získaných měřeními při rozdílné teplotě bylo patrné, že při laboratorní teplotě jsou ve spektru přítomny dva rozostřené píky (δ 8,43 – 7,67, 1H) a (δ 7,51 – 6,67, 1H), což naznačuje přítomnost dvou neekvivalentních atomů vodíku. Při vyšší teplotě je ve spektru přítomen pouze jeden široký signál (δ 7,34 -7,13, 2H), ukazující na 2 ekvivalentní vodíky. Z tohoto plyne závěr, že za laboratorní teploty převládá výskyt imino formy (**VIIIa'**) a za vyšší teploty se ukazuje jako dominantní amino forma (**VIIIa''**) (viz obrázek č. 3), (viz příloha č. 4).



Obrázek č. 3

4.4 Chemická modifikace vytvořených 3-amino-5-oxo-1,2,4-triazin-6-karbonitrilů (VIIIa)

Stabilita a reaktivita 3-amino-1,2,4-triazinů (VIII) byla testována na fenylderivátu (VIIIa). Záměrem bylo zlepšit rozpustnost v polárních rozpouštědlech hydrolyzou nitrilové skupiny a dále modifikace nitrilové skupiny vedoucí ke vzniku oxadiazolového skeletu. Mimo to byla také snaha o přípravu kondenzovaného 1,2,4-triazin-N-oxidu a to cyklizací sloučeniny (VIII f).

4.4.1 Hydrolytická reakce 3-amino-2-fenyl-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-6-karbonitrilu (VIIIa)

Ve snaze hydrolyzovat nitrilovou skupinu za vzniku skupiny karboxylové byl roztok 3-amino-1,2,4-triazinu (VIIIa) refluxován v přítomnosti 10% kyseliny chlorovodíkové. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC. Již první analýza naznačovala, že může docházet ke vzniku jiného produktu, než bylo předpokládáno. Pokud by byla přítomna karboxylová skupina, projevila by se na TLC chvostkováním skvrny. Proto byl krystalický produkt této reakce dále analyzován s cílem charakterizace této látky. Z pohledu působení vodné chlorovodíkové kyseliny může vznikat celá řada produktů. Může dojít k úplné nebo částečné hydrolyze nitrilové skupiny nebo hydrolyze aminoskupiny v poloze 3, případně by mohlo dojít i k otevření 1,2,4-triazinového cyklu.

Analýza pomocí LC-MS ukázala přítomnost molekulárního iontu, který odpovídal relativní molekulové hmotnosti 214. Dále byl produkt hydrolytické reakce analyzován NMR spektroskopii. V ^1H NMR spektru byla patrná přítomnost kyselého vodíku (δ 13,03, 1H), což mohl způsobovat vodík karboxylové skupiny, nebo vodík nacházející se na atomu dusíku mezi dvěma oxo skupinami. Interpretace ^{13}C NMR spektra ukázala, že nedošlo k odštěpení žádného uhlíku (možnost dekarboxylace karboxylu vznikl hydrolyzou nitrilu). Všechna tato fakta vedla k závěru, že se jedná o látku (XI). Tato skutečnost byla následně potvrzena IČ spektroskopii, ve které bylo porovnáváno spektrum připravené látky (XI) se spektrem standardu 6-azauracilu, který byl připraven jinou cestou³⁸ (viz příloha č. 5). Nitrilová skupina zůstala zachována a jelikož byla spektra obou látek téměř identická, byl produktem hydrolyzy 1,2,4-triazinu (VIIIa) příslušný 1-fenyl-6-azauracil (XI) neboli 2-fenyl-3,5-dioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,4-triazin-6-karbonitril (viz schéma č. 25).

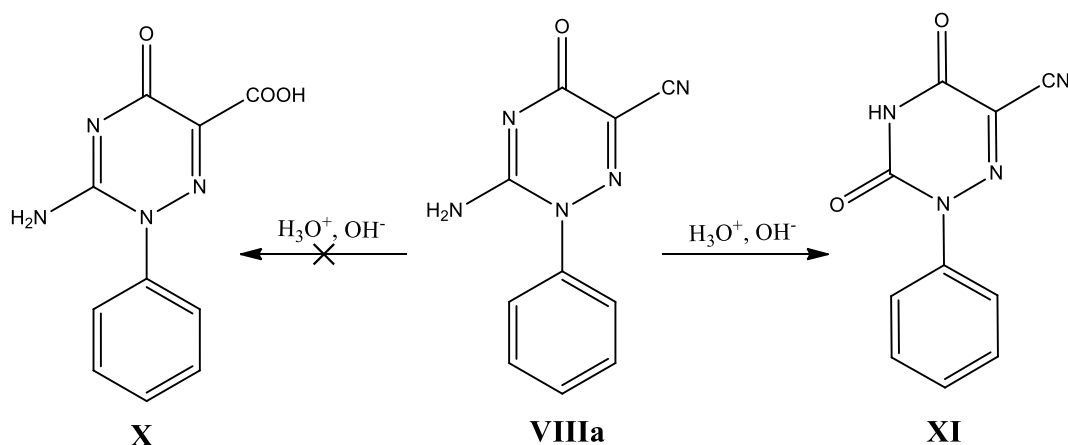


Schéma č. 25

Stejná látka byla také produktem hydrolytické reakce v bazickém prostředí, ve které nedocházelo pouze ke vzniku 6-azauracilu (**XI**), ale také k většímu množství nečistot.

4.4.2 Syntéza oxodiazolového skeletu

Tato syntéza se skládá z dvoustupňové reakce, kde výchozí látkou je 2-fenylhydrazono-2-kyanacetylkyanamid (**VIIa**). V literatuře je popsána obdobná syntéza, jen s tím rozdílem, že výchozí látkou je 6-azauracil (**XI**)³⁸.

4.4.2.1 Příprava 2-fenyl-3,5-dioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,4-triazin-6-karboamidoximu (**XII**)

Prvním krokem této syntézy je reakce hydroxylaminu v přítomnosti vodného roztoku amoniaku na nitrilovou skupinu fenylnitriazu (**VIIIa**), ze které vzniká amidoxim (**XII**) již za míchání při laboratorní teplotě (viz schéma č. 26).

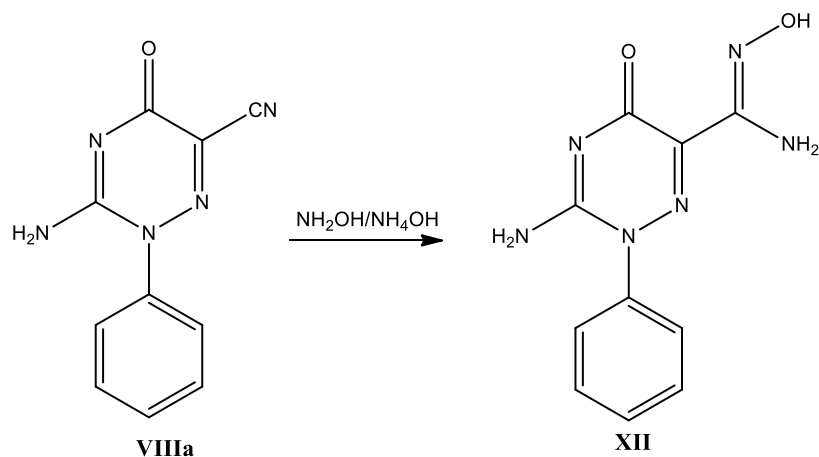


Schéma č. 26

V literatuře je popsána reakční doba 4 dny, poté je směs zfiltrována, filtrát okyselen a vysrážený produkt je zfiltrován³⁸. Ukázalo se, že 24 hodin je pro reakci dostatečná doba. Vzniklá suspenze byla odsáta a surový produkt byl analyzován na LC-MS. Analýza zfiltrovaného produktu ukázala zastoupení požadovaného amidoximu (**XII**) v malém množství, ale také většinu nečistot, proto nebylo s tímto podílem dále pracováno. Filtrát byl okyselen kyselinou octovou, což nevedlo k vysrážení produktu. Proto byla snaha roztok zahustit na vakuové odparce. Tento postup však nevedl k potřebnému odpaření rozpouštědla. Proto byl tento roztok vložen do lyofilizátoru. I přesto, že byl získán pevný produkt již po 24 hodinách v lyofilizátoru. Trvalo dalších 7 dní, než došlo k úplnému vysušení produktu. Výsledkem byl zisk požadovaného produktu v téměř 100% čistotě.

4.4.2.2 Příprava 3-amino-2-fenyl-6-(5-methyl-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazol-3-)-2-fenyl-1,2,4-triazin-5(2H)-onu

Formace oxadiazolového skeletu mělo být dle literatury úspěšně dosaženo refluxem roztoku příslušného amidoximu v acetanhydridu³⁸. Jak již bylo zmíněno, výchozí látkou byl v této reakci 6-azauracil, který neobsahuje na rozdíl od 6-azaizocytosinu (**VIIIa**) amino skupinu schopnou acylační reakce. Tento fakt vedl k předpokladu, že se v této reakci nepodaří izolovat látku (**XIII**), ale látku (**XIV**), která bude mít naacylovanou aminoskupinu.

Pokud se vycházelo z malého množství amidoximu (**XII**), tzn. 10 mg, docházelo k vysokému stupni konverze amidoximu (**XII**) za vzniku látky (**XIV**), již po 24 hodinách. Avšak byla-li reakce prováděna ve větším měřítku, tzn. 500 mg amidoximu, nedocházelo po 24 hodinách k tak vysoké přeměně na požadovaný produkt. Delší reakční doba nevedla ke zvýšení stupně konverze, ba naopak docházelo ke zvětšování zastoupení nečistot. Z časových důvodů nebyla reakci věnována dostatečná pozornost a sloučeninu (**XIV**) se nepodařilo vyizolovat.

Dále bylo zjištěno, že pokud je směs zahřívána na nižší teplotu, než je teplota varu acetonhydridu tzn. 140°C, jsou v reakční směsi rovnoměrně zastoupeny látky (**XIII**, **XIV**, **XV**, **XVI**) lišící se počtem acetylů navázaných na výchozí amidoxim (**XII**) (viz schéma č. 27).

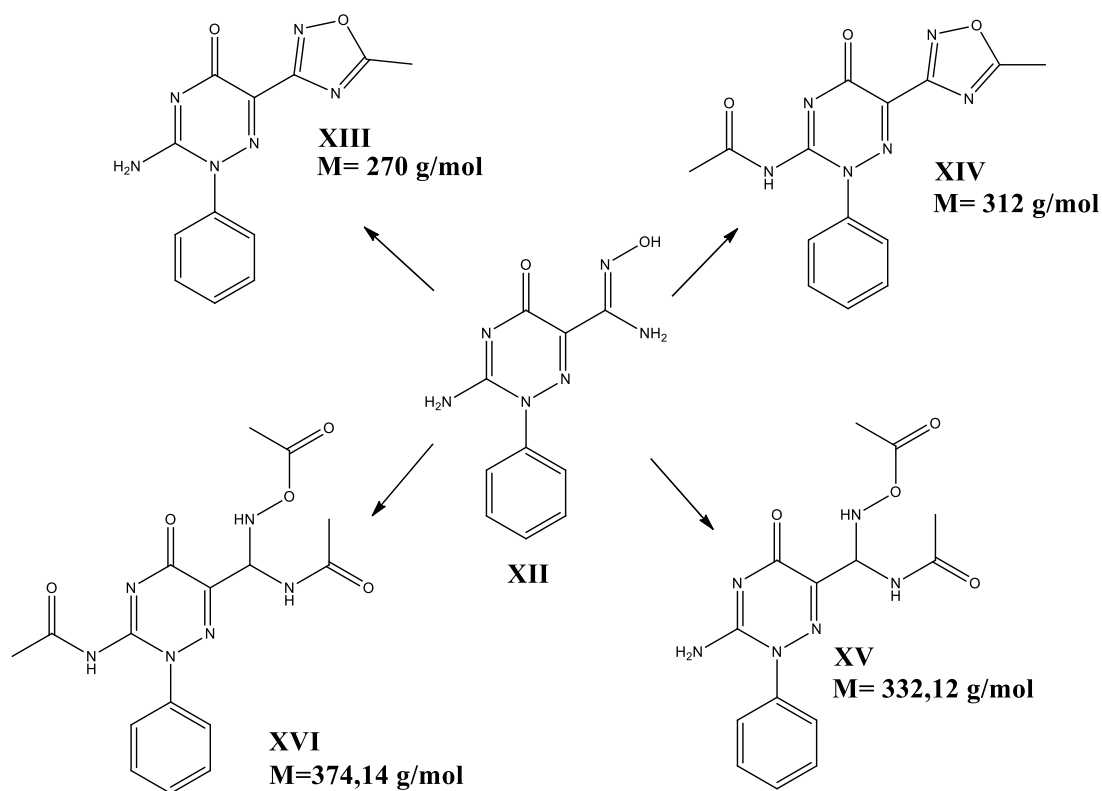


Schéma č. 27

4.4.3 Příprava 1,2,4-triazin-N-oxidu (**XVII**)

Jelikož byly v literatuře popsány intramolekulární cyklizační reakce mezi amino a nitro skupinou v bazickém prostředí za vzniku kondenzovaného 1,2,4-triazin-N-oxidu⁴³ (**XVII**), byla tato schopnost tvorby zmíněného systému testována u 2-nitro derivátu

(VIIIg). Sloučenina **(VIIIg)** byla proto nejprve rozpuštěna ve vodném roztoku uhličitanu draselného a refluxována. Po 1 hodině byla tato směs analyzována a bylo zjištěno, že k tvorbě požadovaného N-oxidu **(XVIII)** nedochází. Dochází však k hydrolytické reakci amino skupiny v poloze 3 za vzniku 6-azauracilu **(XVII)** (viz schéma č. 28).

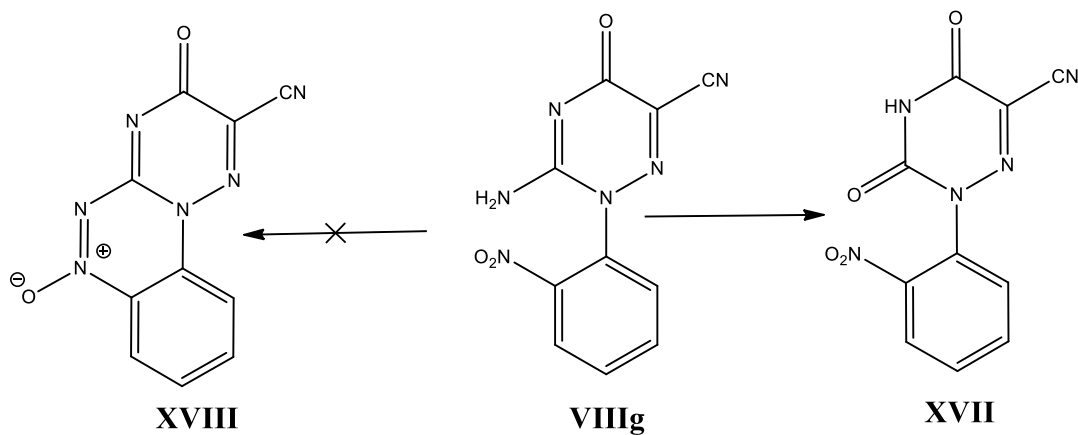
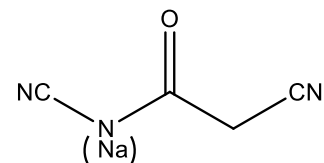


Schéma č. 28

5 Experimentální část

Měření NMR spekter bylo provedeno v roztoku DMSO – *d*₆ na spektrometru JEOL 400 a spektrometru Varian (400MHz). Hodnoty chemického posunu jsou udány v ppm jednotkách, interakční konstanty v Hz. IČ spektra byla měřena na přístroji ATI Unicam Genesis FTIR za použití KBr tabletovou technikou. Měření hmotnostních spekter bylo realizováno na hmotnostním spektrometru TSQ Quantum ACCES (Thermo Scientific, USA). TLC chromatografie byla prováděna na hliníkových deskách pokrytých silikagelem 60 F254 značky Merck. Teploty tání byly měřeny na Boetiově bloku a nejsou korigovány.

Sodná sůl kyanacetylkyanamidu (III)



K roztoku ethanolátu sodného, který byl připraven rozpuštěním sodíku (1,15 g; 50 mmol) v ethanolu (25 ml), byl dále přidán roztok kyanamidu (2,1 g; 0,05 mol) v ethanolu (50 ml). Po 10 minutách refluxu této směsi byl přidán ethylester kyseliny kyanooctové (5,5 ml; 0,05 mol). Směs byla zahřívána pod zpětným chladičem 15 minut a následně zahuštěna na odparce na objem 30 ml. Roztok byl ponechán 24 hodin při 5 °C. Vyloučený produkt byl odsát na Büchnerově nálevce, promyt ethanolem (3 x 5 ml) a sušen při laboratorní teplotě.

C₄H₂N₃NaO (M = 131,07 g/mol)

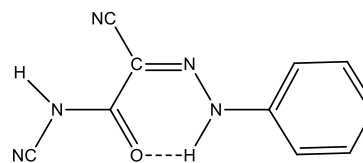
Výtěžek: 6,0 g (92%)

IR (cm⁻¹): 630, 921, 1368, 1585, 2162, 2933, 3449

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 3,27 (s, 2H)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 27,2; 117,8; 120,6; 171,7

2-Fenylhydrazono-2-kyanacetylkyanamid (VIIa)



K roztoku anilin hydrochloridu (2,06 g; 16 mmol) ve vodě (20 ml) byla přidána 37% kyselina chlorovodíková (4 ml). Roztok byl schlazen na teplotu 0 – 5 °C. K roztoku byl za míchání a chlazení přikapáván dusitan sodný (1,1 g, 16mmol), který byl rozpuštěn ve vodě (20 ml). Po 10 minutách od posledního přidavku dusitanu sodného byla tato směs za míchání a chlazení přidávána k roztoku sodné soli kyanacetylkyanamidu (2,09 g; 16 mmol) a octanu sodného bezvodého (12 g, 146 mmol) ve vodě (100 ml). Vzniklý roztok byl za chlazení 20 minut míchán a následně ponechán 24 hodin při 5 °C. Vzniklá směs byla poté okyselena 37% kyselinou chlorovodíkovou na pH 3. Vyloučený produkt byl odsát na Büchnerově nálevce, promyt vodou a sušen při laboratorní teplotě.

C₁₀H₇N₅O (M= 213,20 g/mol)

Výtěžek: 740 mg (74%)

T_i = 160 – 164 °C

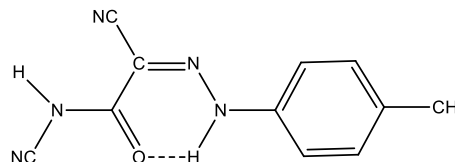
IR (cm⁻¹): 759, 1285, 1428, 1493, 1558, 1710, 2213, 2259, 3228

MS (APCI, *m/z*) = 211,8 [M-H]⁻

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 7,74 (d, 5H, Ar); 12,82 – 11,92 (bs, 2H)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 161,9; 141,5; 129,2; 125,4; 116,8; 110,4; 108,5; 104,7

2-(4-Methylfenylhydrazono)-2-kyanacetylkyanamid (VIIb)



Tato látka byla připravena stejným způsobem jako látka (VIIa). Tento postup se však liší výchozí látkou, kterou byl 4-methylanilin (0,23 g; 2,2 mmol), který byl rozpuštěn ve vodě (2,8 ml). Dále množstvím těchto látek: 37% kyselina chlorovodíková (0,5 ml); dusitan sodný (0,15 g, 2,2 mmol) rozpuštěný ve vodě (2,8 ml);

kyanacetylkyanamid (0,28 g, 2,2 mmol) a octan sodný bezvodý (1,66 g, 20 mmol) rozpuštěný ve vodě (13,9 ml).

C₁₁H₉N₅O (M = 227,08 g/mol)

Výtěžek: 396 mg (79 %)

T_i = 167 – 171 °C

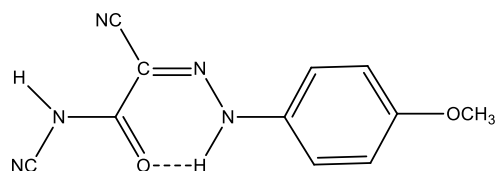
IR (cm⁻¹): 815, 1299, 1447, 1608, 1678, 2217, 2254, 2360, 3237

MS (APCI, *m/z*) = 225,9 [M-H]⁻

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 2,30 (s, 3H, CH₃); 7,21 (d, 2H, Ar); 7,63 (d, 2H, Ar); 13,12 – 11,81 (bs, 2H)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 20,5; 103,9; 108,4; 110,5; 116,8; 129,6; 134,9; 139,2; 161,9

2-(4-Methoxyfenylhydrazono)-2-kyanacetylkyanamid (VIIc)



Tato látka byla připravena stejným způsobem jako látka (VIIa). Tento postup se však liší výchozí látkou, kterou byl 4-methoxyanilin (0,25 g; 2,03 mmol), který byl rozpuštěn ve vodě (2,5 ml). Dále množstvím těchto látek: 37% kyselina chlorovodíková (0,5 ml); dusitan sodný (0,14 g, 2,03 mmol) rozpuštěný ve vodě (2,6 ml); kyanacetylkyanamid (0,27 g, 2,03 mmol) a octan sodný bezvodý (1,54 g, 19 mmol) rozpuštěný ve vodě (12,9 ml).

C₁₁H₉N₅O₂ (M = 243,08 g/mol)

Výtěžek: 402 mg (80%)

T_i = 166 °C s následnou cyklizací

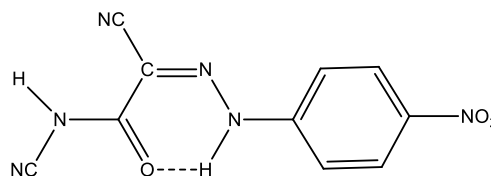
IR (cm⁻¹): 1033, 1253, 1447, 1562, 1691, 2217, 2254, 3205

MS (APCI, *m/z*) = 241,9 [M-H]⁻

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 3,77 (s, 3H, OCH₃); 6,98 (d, 2H, Ar); 7,69 (d, 2H, Ar); 12,83 – 12,02 (bs, 2H)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 55,4; 103,0; 108,5; 110,7; 114,4; 118,3; 135,0; 157,8; 161,9

2-(4-Nitrofenylhydrazono)- kyanacetylkyanamid (VIIId)



Tato látka byla připravena stejným způsobem jako látka (VIIa). Tento postup se však liší výchozí látkou, kterou byl 4-nitroanilin (0,26 g; 1,9 mmol), který byl rozpuštěn ve vodě (2,5 ml). Dále množstvím těchto látek: 37% kyselina chlorovodíková (0,5 ml); dusitan sodný (0,13 g, 1,9 mmol) rozpuštěný ve vodě (2,6 ml); kyanacetylkyanamid (0,24 g, 1,9 mmol) a octan sodný bezvodý (1,52 g, 18,5 mmol) rozpuštěný ve vodě (12,9 ml).

C₁₀H₆N₆O₃ (M = 258,05 g/mol)

Výtěžek: 300 mg (60%)

IR (cm⁻¹): 847, 1258, 1341, 1530, 1595, 2167, 2365, 3228, 3412

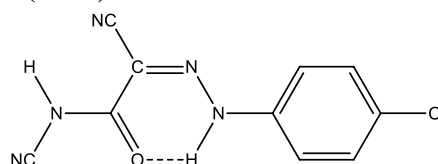
MS (APCI, *m/z*) = 256,8 [M-H]⁻

T_i = 166 – 170 °C

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 7,57 (d, 2H, Ar); 8,22 (d, 2H, Ar); 12,52 – 11,24 (bs, 2H)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 21,5; 112,9; 115,7; 120,9; 125,6; 126,0; 142,4; 172,6

2-(4-Chlorfenylhydrazono)-2-kyanacetylkyanamid (VIIe)



Tato látka byla připravena stejným způsobem jako látka (VIIa). Tento postup se však liší výchozí látkou, kterou byl 4-chloranilin (0,25 g; 2,0 mmol), který byl rozpuštěn ve vodě (2,5 ml). Dále množstvím těchto látek: 37% kyselina chlorovodíková (0,5 ml); dusitan sodný (0,13 g, 2,0 mmol) rozpuštěný ve vodě (2,6 ml); kyanacetylkyanamid (0,26 g, 2,0 mmol) a octan sodný bezvodý (1,5 g, 18 mmol) rozpuštěný ve vodě (12,9 ml).

C₁₀H₆ClN₅O (M = 247,64 g/mol)

Výtěžek: 380 mg (76%)

IR (cm⁻¹): 838, 1290, 1456, 1562, 1682, 2264, 3089, 3242

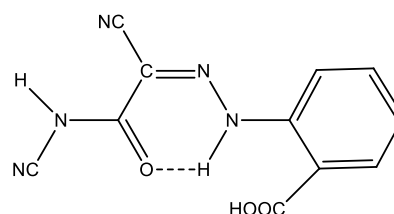
MS (APCI, *m/z*) = 245,8 [M-H]⁻

T_i = 168 °C s následnou cyklizací

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 7,47 (d, 2H, Ar); 7,74 (d, 2H, Ar); 13,02 – 11,91 (bs, 2H)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 99,91; 105,9; 109,03; 110,7; 118,7; 129,6; 140,9; 162,2

2-(2-Karboxyfenylhydrazono)-2-kyanacetylkyanamid (VIIg)



Tato látka byla připravena stejným způsobem jako látka (VIIa). Tento postup se však liší výchozí látkou, kterou byla 2-aminobenzoová kyselina (0,26 g; 1,9 mmol), která byl rozpuštěna ve vodě (2,5 ml). Dále množstvím těchto látek: 37% kyselina chlorovodíková (0,5 ml); dusitan sodný (0,13 g, 1,9 mmol) rozpuštěný ve vodě (2,6 ml); kyanacetylkyanamid (0,24 g, 1,9 mmol) a octan sodný bezvodý (1,52 g, 18,5 mmol) rozpuštěný ve vodě (12,9 ml).

C₁₁H₇N₅O₃ (M = 257,05 g/mol)

Výtěžek: 360 mg (72%)

IR (cm⁻¹): 755, 1253, 1530, 1604, 1673, 2176, 2250, 3491

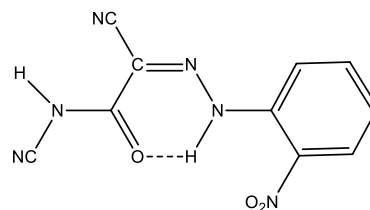
MS (APCI, *m/z*) = 255,7 [M-H]⁻

T_i = 198 – 202 °C

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 7,13 (t, 1H, Ar); 7,63 (t, 1H, Ar); 7,79 (d, 1H, Ar); 7,96 (d, 1H, Ar); 12,67 (s, 1H)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 113,0; 114,7; 15,9; 123,3; 132,2; 135,6; 135,7; 135,9; 145,2; 167,2; 170,4

**2-(2-Nitrofenylhydrazono)-2-kyanacetylkyanamid
(VIIf)**



Tato látka byla připravena stejným způsobem jako látka (VIIa). Tento postup se však liší výchozí látkou, kterou byl 2-nitroanilin (0,26 g; 1,9 mmol), který byl rozpuštěn ve vodě (2,5 ml). Dále množstvím těchto látek: 37% kyselina chlorovodíková (0,5 ml); dusitan sodný (0,13 g, 1,9 mmol) rozpuštěný ve vodě (2,6 ml); kyanacetylkyanamid (0,25 g, 1,9 mmol) a octan sodný bezvodý (1,52 g, 18,5 mmol), rozpuštěný ve vodě (12,9 ml).

C₁₀H₆N₆O₃ (M = 258,05 g/mol)

Výtěžek: 360 mg (72%)

T_i = 210 – 214 °C

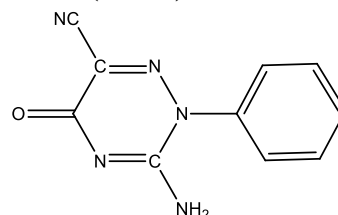
IR (cm⁻¹): 736, 1230, 1442, 1507, 1608, 1710, 2254, 2365, 3219

MS (APCI, *m/z*) = 257,15 [M-H]⁻

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 7,34 (t, 1H, Ar); 7,83 (t, 1H, Ar); 8,23 (t, 2H Ar); 8,80 – 12,58 (bs, 2H)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 109,7; 110,1; 112,5; 119,0; 125,3; 126,4; 136,1; 136,7; 162,0

3-Amino-2-fenyl-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-6-karbonitril (VIIIa)



Látka (VIIa) (0,6 g; 2,82 mmol) byla rozpuštěna ve směsi ethanolu (10 ml) a vody (15 ml). Vzniklá směs byla vařena 15 minut pod zpětným chladičem. Poté byla k roztoku přidána horká voda (15 ml; 80°C). Směs byla na vzduchu schlazena na laboratorní teplotu a následně ponechána 24h při 5 °C. Vzniklý produkt byl odsán, promyt vodou a sušen na vzduchu.

C₁₀H₇N₅O (M = 213,20 g/mol)

Výtěžek: 580 mg (96%)

T_i = 238 – 242 °C

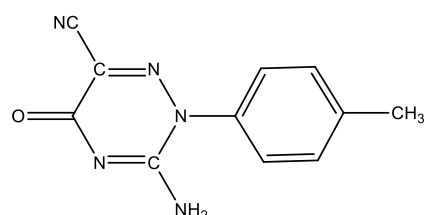
IR: 769, 1202, 1415, 1567, 1664, 2231, 3085

MS (APCI, *m/z*) = 211,8 [M-H]⁻

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 6,62 - 7,47 (b, 1H); 7,585 (d, 5H, Ar); 7,77 - 8,62 (bs, 1H)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 113,5; 125,7; 126,8; 130,1; 130,3; 139,0; 154,6; 159,1

3-Amino-2-(4-methylfenyl)-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-6-karbonitril (VIIIb)



Tato látka byla připravena stejně jako 1,2,4-triazin (**VIIIa**). Jako výchozí látka byl použit hydrazon (**VIIb**) (0,18 g; 0,8 mmol), který byl rozpuštěn v ethanolu (8,5 ml) a vodě (5,5 ml). Poté byla přidána horká voda (5,5 ml; 80°C).

C₁₁H₉N₅O (M = 227,08 g/mol)

Výtěžek: 140 mg (78%)

T_i = 246 – 250 °C

IR (cm⁻¹): 787, 1428, 1516, 1562, 1659, 2236, 3099, 3449

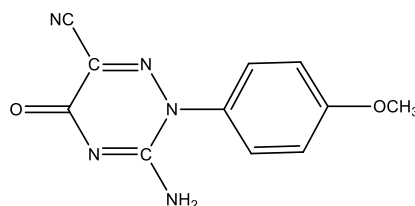
MS (APCI, *m/z*) = 225,9 [M-H]⁻

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 2,39 (s, 3H, CH₃); 6,56 - 7,30 (b, 1H); 7,39 (d, 2H, Ar); 7,44

(d, 2H, Ar); 7,59 - 8,30 (bs, 1H)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 20,8; 113,6; 125,7; 126,6; 130,5; 136,5; 140,0; 154,8; 159,2

3-Amino-2-(4-methoxyfenyl)-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-6-karbonitril (VIIIc)



Tato látka byla připravena stejně jako 1,2,4-triazin (**VIIIa**). Jako výchozí látka byl použit hydrazon (**VIIc**) (0,18 g; 0,7 mmol), který byl rozpuštěn v ethanolu (10 ml) a vodě (5,5 ml). Poté byla přidána horká voda (5,5 ml; 80°C).

C₁₁H₉N₅O₂ (M = 243,08 g/mol)

Výtěžek: 156 mg (87%)

T_i = 285 – 289 °C

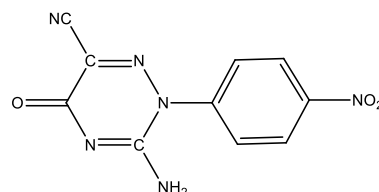
IR (cm⁻¹): 999, 1175, 1244, 1511, 1636, 2236, 3131

MS (APCI, *m/z*) = 241,8 [M-H]⁻

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 3,82 (s, 3H, CH₃); 6,43 -7,05 (bs, 1H); 7,11 (d, 2H, Ar); 7,49 (d, 2H, Ar); 7,88 - 8,55 (bs, 1H);

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 55,5; 113,5; 115,2; 125,5; 128,2; 131,7; 154,0; 159,2; 160,3

3-Amino-2-(4-nitrofenyl)-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-6-karbonitril (VIIId)



Tato látka byla připravena stejně jako 1,2,4-triazin (**VIIIa**). Jako výchozí látka byl použit hydrazon (**VIIId**) (0,18 g; 0,7 mmol), který byl rozpuštěn v ethanolu (7 ml) a vodě (6 ml). Poté byla přidána horká voda (6 ml; 80°C).

C₁₀H₆N₆O₃ (M = 258,05 g/mol)

Výtěžek: 139 mg (77%)

T_i = 238 – 242 °C

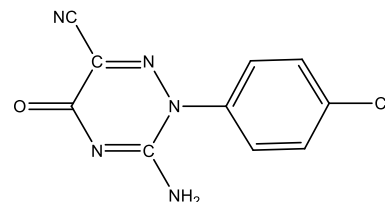
IR (cm⁻¹): 856, 1189, 1350, 1535, 1682, 2227, 3371

MS (APCI, m/z) = 256,8 [M-H]⁻

¹H-NMR (DMSO- d_6): δ 6,63 - 7,81 (b, 1H); 7,89 (d, 2H, Ar); 8,45 (d, 2H, Ar); 8,53 - 9,91 (bs, 1H);

¹³C-NMR (DMSO- d_6): δ 113,3; 125,5; 126,1; 128,7; 143,9; 148,1; 154,4; 158,1

3-Amino-2-(4-chlorfenyl)-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-6-karbonitril (VIIIe)



Tato látka byla připravena stejně jako 1,2,4-triazin (VIIIa). Jako výchozí látka byl použit hydrazon (VIIe) (0,18 g; 0,7 mmol), který byl rozpuštěn v ethanolu (8 ml) a vodě (5,5 ml). Poté byla přidána horká voda (6 ml; 80°C).

C₁₀H₆ClN₅O (M = 247,64 g/mol)

Výtěžek: 160 mg (89%)

T_i = 249 – 253 °C

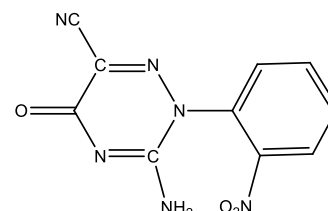
IR (cm⁻¹): 856, 1018, 1294, 1405, 1511, 1637, 2236, 3140

MS (APCI, m/z) = 245,8 [M-H]⁻

¹H-NMR (DMSO- d_6): δ 6,63 – 7,45 (bs, 1H); 7,63 (m, 4H, Ar); 7,91 – 8,48 (bs, 1H)

¹³C-NMR (DMSO- d_6): δ 114,0; 121,8; 126,4; 129,5; 130,2; 130,75; 135,22; 138,22; 155,0; 160,0;

3-Amino-2-(2-nitrofenyl)-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-6-karbonitril (VIIIf)



Tato látka byla připravena stejně jako 1,2,4-triazin (VIIIa). Jako výchozí látka byl použit hydrazon (VIIg) (0,4 g; 1,5 mmol), který byl rozpuštěn v ethanolu (13 ml) a vodě (10 ml). Poté byla přidána horká voda (10 ml; 80°C).

C₁₀H₆N₆O₃ (M = 258,05 g/mol)

Výtěžek: 250 mg (62,5%)

T_i = 258 – 262 °C

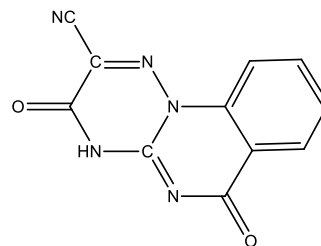
IR (cm⁻¹): 787, 1202, 1359, 1544, 1682, 3062, 3458

MS (APCI, *m/z*) = 256,9 [M-H]⁻

¹H-NMR (DMSO- *d*₆): δ 7,46- 7,83 (bs, 1H); 7,93 (m, 2H, Ar); 8,02 (t, 1H, Ar); 8,03 - 8,28 (bs, 1H); 8,39 (d, 1H, Ar)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 113,5; 126,8; 127,2; 131,5; 132,0; 133,2; 137,0; 144,5; 155,1; 159,2

3,6-Dioxo-4,6-dihydro-3,4-[1,2,4]triazino[2,3-*a*]chinazolin-2-karbonitril (IX)



Sloučenina (**VIIg**) (0,4 g; 1,5 mmol) byl rozpuštěn v ethanolu (15 ml) a vodě (10 ml). Vzniklá směs byla vařena 24 hodin pod zpětným chladičem v olejové lázni, která byla předem vytemperována na teplotu 110 °C. Poté byla k roztoku přidána horká voda (10 ml; 80°C). Směs byla na vzduchu schlazena na laboratorní teplotu a následně ponechána 24h při 5 °C. Vzniklý produkt byl odsán, promyt ledovou vodou (3 x 3 ml) a sušen na vzduchu.

C₁₁H₅N₅O₂ (M = 239,04 g/mol)

Výtěžek: 240 mg (67%)

T_i = 352 – 356 °C

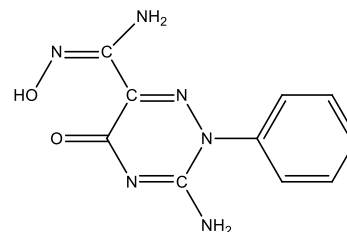
IR (cm⁻¹): 759, 122, 152, 1571, 1638, 2245, 3468

MS (APCI, *m/z*) = 237,7 [M-H]⁻

¹H-NMR (DMSO- *d*₆): δ 7,48 (t, 1H, Ar); 7,74 (t, 1H, Ar); 7,94 (d, 1H, Ar); 7,99 (d, 1H, Ar)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 114,4; 115,2; 119,9; 127,1; 127,3; 127,6; 133,8; 139,6; 152,15; 160,0; 166,8

3-Amino-2-fenyl-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-6-karboamidoxim (XII)



1,2,4-triazin (**VIIIa**) (0,213 g; 1 mmol) byl suspendován ve vodě (60 ml). K suspenzi byl přidán 25% vodný roztok amoniaku (4ml) a poté byl přidán hydroxylamin hydrochlorid (0,2g; 2,9 mmol). Tato směs byla míchána 24 hodin při laboratorní teplotě. Vzniklá suspenze byla zfiltrována a filtrát zneutralizován kyselinou octovou. Následně byl filtrát vložen do lyofilizátoru, kde byl odpařen a vysušen dosucha.

C₁₀H₁₀N₆O₂ (M = 246,09 g/mol)

Výtěžek: 120 mg (48%)

T_i = 268 – 727 °C

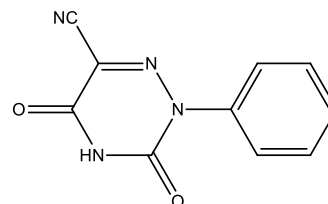
IR (cm⁻¹): 520, 958, 1405, 1645, 1714, 3140

MS (APCI, m/z) = 244,9 [M-H]⁻

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 5,82 (s, 2H); 6,80 – 7,35 (bs, 2H); 7,55 (m, 5H, Ar); 9,30 – 9,99 (bs, 1H)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 126,5; 129,5; 129,9; 139,5; 139,7; 147,3; 154,6; 161,2

2-Fenyl-3,5-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1,2,4-triazin-6-karbonitril (XI)



K roztoku 1,2,4-triazinu (**VIIIa**) (200 mg; 0,94 mmol) rozpuštěného ve vodě (10ml) a ethanolu (10 ml) byla přidána 10% kyselina chlorovodíková (3ml). Vzniklý roztok byl refluxován 24 hodin, poté zahuštěn na objem 10 ml a nechán 24 hodin při 5°C. Vzniklý produkt byl odsát na Büchnerově nálevce a sušen při laboratorní teplotě.

C₁₀H₆N₄O₂ (M = 214,05 g/mol)

Výtěžek = 134 mg (67%)

T_i = 223 – 227 °C

IR: 575, 769, 1139, 1535, 1714, 2240, 2826, 3057

MS (APCI, *m/z*) = 212,8 [M-H]⁻

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 7,45 – 7,57 (m, 5H); 13,03 (s, 1H)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 112,5; 122,3; 125,7; 128,9; 129,0; 139,3; 147,1; 154,8

6 Závěr

Předkládaná bakalářská práce byla zaměřena na přípravu arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů, studium cyklizace těchto látek za vzniku 3-amino-5-oxo-1,2,4-triazin-6-karbonitrilů a využití těchto sloučenin k další chemické modifikaci. Dalším úkolem bylo také studium struktury připravených látek pomocí spektrálních metod.

Nejprve byl připraven kyanacetylkyanamid (sodná sůl)(**III**), jehož reakcí s vhodnou diazoniovou solí (**Va-Vg**) bylo zjištěno, že dochází k azokopulační reakci za vzniku příslušných arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů (**VIIa-VIIg**), které se podařilo připravit v dobrých výtěžcích (60 - 80%). Kontrola čistoty těchto látek (**VIIa-VIIg**) pomocí LC-MS ukázala na přítomnost nečistoty (5%), jejíž molekulová hmotnost odpovídala vždy příslušnému arylhydrazonu (**VIIa-VIIg**). Nejednalo se však o produkty cyklizačních reakcí látek (**VIIIa-VIIIg**) a charakter těchto nečistot se dosud nepodařilo objasnit.

Ve snaze potvrdit strukturu arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů (**VIIa-VIIg**), byly tyto látky analyzovány NMR spektroskopii. Pro získání relevantních výsledků, bylo potřeba příslušný arylhydrazon (**VIIa-VIIg**) analyzovat ihned po rozpuštění v DMSO, protože docházelo k cyklizační reakci za vzniku 1,2,4-triazinu (**VIII**).

Ukázalo se, že krystalizace arylhydrazonů (**VIIa-VIIg**) z bezvodého ethanolu nevede k potřebnému snížení nečistot. Přečištění nebylo úspěšné ani při krystalizaci ze směsi ethanolu a vody. V tomto případě docházelo ke vzniku 3-amino-5-oxo-1,2,4-triazin-6-karbonitrilů (**VIIIa-VIIIg**), což jsou produkty cyklizační reakce těchto látek (**VIIa-VIIg**). Výjimku tvoří 2-karboxy derivát arylhydrazonu (**VIIIf**), jehož rekrystalizací se nepodařilo izolovat příslušný 1,2,4-triazin (**VIIIIf**), ale 3,6-dioxo-4,6-dihydro-3,4-[1,2,4]triazino[2,3-a]chinazolin-2-karbonitril (**IX**).

Studium způsobů cyklizace ukázalo, že mimo nestálost arylhydrazono-kyanacetylkyanamidů (**VIIa-VIIg**) v horkém vodně-ethanolicém roztoku, dochází také ke vzniku 1,2,4-triazinů (**VIIIa-VIIIg**, **IX**) ve směsi ethanolu a vody již při laboratorní teplotě. Experimentem byl navíc dokázán fakt, že k cyklizační reakci dochází také při stání fenyldiazonu (**VIIa**) v DMSO již při laboratorní teplotě. Tyto poznatky vedly k závěru, že přítomnost vody je pro průběh cyklizační reakce klíčová. Vlivem elektronového páru na molekule vody dochází pravděpodobně k porušení intramolekulární vodíkové vazby, kterou jsou arylhydrazony stabilizovány.

Cyklizaci v DMSO si lze vysvětlit ze stejného důvodu, jelikož toto rozpouštědlo obsahuje určitý podíl vody. U těchto látek (**VIIa-VIIg**) bylo také sledováno, zda může docházet k vytvoření triazinového cyklu jiným způsobem. Bylo zjištěno, že vzniku 3-amino-5-oxo-1,2,4-triazin-6-karbonitrilů (**VIIIa-VIIIg**) lze docílit také zahříváním příslušných arylhydrazonů (**VIIa-VIIg**) nad jejich teplotu tání.

U cyklizačních reakcí prováděných zahříváním arylhydrazonů (**VIIa-VIIg**) ve vodně-ethanolickém roztoku, bylo cílem zjistit vliv substituentu na aromatickém kruhu na rychlost reakce. Nejrychleji probíhala reakce, jednalo-li se o hydrazon se substituentem s M+ efektem (**VIIc, VIIe**), kdy docházelo ke kvantitativní přeměně již do 10 minut od začátku reakce. Naopak nejpomaleji probíhala reakce u hydrazonů se substituentem s M- efektem (**VIIId, VIIf**). Vůbec nejdéle trvala reakce látky (**VIIf**) obsahující nitro skupinu v poloze *ortho*. V této reakci došlo k úplné přeměně výchozího arylhydrazonu (**VIIf**), blížila-li se reakční doba 24 hodinám.

Připravené 3-amino-5-oxo-1,2,4-triazin-6-karbonitrily (**VIIIa-VIIIg**) byly analyzovány NMR spektroskopii. Větší pozornost byla věnována fenylderivátu 1,2,4-triazinu (**VIIIa**), který byl ve snaze o vysvětlení výskytu tautomerních struktur analyzován při laboratorní teplotě a při 80 °C. Interpretace získaných spekter vedla k závěru, že při laboratorní teplotě převažuje výskyt imino formy, zatímco při vyšší teplotě se stává dominantní amino forma.

Jedním z hlavních cílů předkládané bakalářské práce byla také chemická modifikace připravených 1,2,4-triazinů (**VIIIa-VIIIg**). Reaktivita a stabilita těchto látek byla testována na fenylderivátu 1,2,4-triazinu (**VIIIa**). Prvním záměrem bylo hydrolyzovat nitrilovou skupinu za vzniku látky s karboxylovou skupinou (**X**), což mohlo vést k lepší rozpustnosti ve vodných rozpouštědlech. Tyto pokusy, ať se jednalo o kyselou, či bazickou hydrolyzu, nevedly k požadovanému vzniku karboxylové skupiny (**X**), ale ke vzniku 2-fenyl-3,5-dioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,4-triazin-6-karbonitrilu (**XI**).

Druhým záměrem chemické modifikace fenylderivátu (**VIIIa**) byla přeměna nitrilové skupiny za tvorby 1,2,4-oxadiazolového skeletu. Tato dvojstupňová reakce vedla přes meziprodukt 2-fenyl-3,5-dioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,4-triazin-6-karboamidoxim (**XII**). Ten se podařilo připravit, avšak problémy se vyskytly u reakce tohoto amidoximu (**XII**) s acetanhydridem vedoucí ke vzniku oxadiazolového skeletu (**XIV**) a z časových důvodů se tato látka nepodařila izolovat.

Pokusy o přípravu 1,2,4-triazin-N-oxidu (**XVIII**) byly neúspěšné z toho důvodu, že při reakci prováděné v bazických podmínkách docházelo k hydrolytické reakci amino skupiny za vzniku 6-azauracilu (**XVII**), a ne ke vzniku požadovaného 1,2,4-N-oxidu (**XVIII**).

Celkem bylo připraveno 15 nových sloučenin, které jsou připraveny k otestování na biologickou aktivitu.

7 Seznam použité literatury

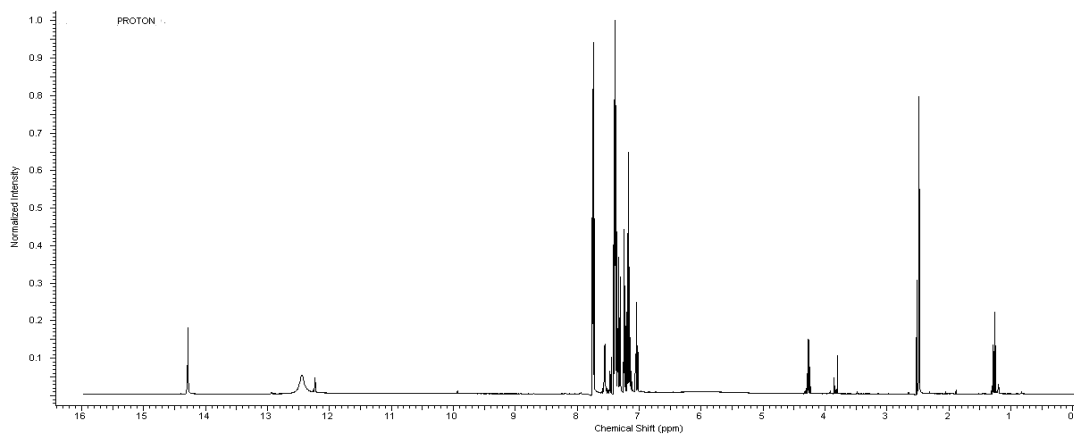
1. Praško J., Herman E., Doubek P., Hovorka J., Prašková H.: *Psychiat. pro Praxi*, **5**, 229 – 234, (2006).
2. Kumar R., Sirohi T. S., Singh H., Yadav R., Roy R. K., Chaudhary A., Pandeya S. N.: *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, **14**, (2014).
3. Allan G.: *British journal of pharmacology*, **88**, 333 – 343, (1986).
4. Kobari K.: Takakura K., Nakatomi M., Sogame S., Uylangco C.: *Bull. Org. Mond. Sante.*, **43**, 365 – 371, (1970).
5. Neunhoeffler H., Wiley F. P.: *The Chemistry of heterocyclic compounds, Chemistry of 1 2 3-Triazines and 1 2 4-Triazines, Tetrazines, and Pentazin*, WILEY – VCH, (1978), 978-0-471-03129-1.
6. Abdel-Rahman, Reda M., Morsy J. M., Hanafy F., Amene H. A.: *Pharmazie*, **54**(5), 347-351, (1999).
7. Kwang Yuen, Zee-Cheng a C. C. Cheng.: *Journal of Organic Chemistry*, **27**, 976-981, (1962).
8. Shchegol'kov E. V., Khudina O. G., Ivanova A. E., Burgart Ya. V., Kravchenko E. V., Saloutin V. I.: *Pharmaceutical Chemistry Journal*, **48**(6), 383 – 386, (2014).
9. Ueda T., Fukurawa M.: *Chem. Pharm. Bull.*, **12**, 100-103, (1964).
10. Pitha J., Fielder P., Gut J.: *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, **31**, 1864-1871 (1966).
11. Daunis. J, Jacquier R., Viallefont P.: *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1967**, 2551.
12. Burch H. A.: *J. Med. Chem.*, **13**, 288, (1970).
13. McCaustland D. J., Burton W. H., Cheng C. C.: *J. Heterocycl. Chem.*, **8**, 89, (1971).
14. Gut J., Hesoun D., nováček A.: *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, **31**, 2014 -2024, (1966).
15. Slouka J., Nalepa K.: *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **35**, 2508, (1970).
16. Wardakhan O.: *Egyptian Journal of Chemistry*, **48**(4), 393 – 406, (2005).
17. El-Bannany, Ghozlan, Ibraheim: *Pharmazie*, **42**, 10, (1987).
18. Hadacek J.: *Spisy Prirodoved. Fak. Univ. Brno*, **417**, 373, (1960).
19. Ali. M. I., El-Sayed A. A.: Hammouda H. A.: *J. Prakt. Chem*, **316**, 163, (1974).
20. Hadacek J., Kisa E.: *Spisy Prirodoved. Fak. Univ. Brno*, **439**, 7, (1963).
21. Chun Li, Li-Ho Chang, Hsiu Wang: *Sci. Sin.*, **14**, 141, (1965).

22. Saikawa I., Maeda T.: *Yakugaku Zasshi*, **87**, 1501, (1967).
23. Saikawa I., Maeda T.: Jap. Pat. 74, 15, 274 (Apr. 24, 1969) C. A. **71**, 30514d.
24. Fusco R., Rossi S.: *Tetrahedron*, **3**, 209, (1958).
25. Saikawa I., Takai A.: *Yakugaku Zasshi*, **84**, 16, (1964).
26. Sasaki T., Minamoto K.: *Chem. Pharm. Bull.*, **12**, 1329, (1964).
27. Saikawa I., Maeda T.: *Yakugaku Zasshi*, **88**, 369, (1968).
28. Heinisch L., *J. Prakt. Chem.* **316**, 667, (1974).
29. Salezari I.: *J. Org. Chem.*, **33**, 4281, (1968).
30. Mansour A. K., Ibrahim Y. A.: *J. Prakt. Chem.*, **315**, 221, (1973).
31. Saikawa I., Maeda T.: Jap. Pat. 70, 03, 069 (Feb. 2, 1970) C. A., **72**, 100768m.
32. Masuda K.: *Yakugaku Zasshi*, **81**, 553, (1691).
33. Rupe H., Buxtrof F.: *Helv. Chim. Acta.*, **13**, 444, (1930).
34. Holland D.G., Amsutz E. D.: *Rec. Trav. Chim. Acta.*, **83**, 1047, (1964).
35. Slouka J.: *Monatsh. Chem.*, **94**, 258, (1963).
36. Slouka J., Nálepa J.: *Monatsh. Chem.*, **94**, 694, (1963).
37. Slouka J., Peč P.: *Monatsh. Chem.*, **96**, 1874, (1965).
38. Slouka J., Bekárek V.: *J. Prakt. Chem.*, **316**, 1874, (1974).
39. Souka J., Hejsek M.: *Acta. Univ. Palacki. Olomuc. , Fac. Rerum. Natur.*, **33**, 411, (1971).
40. Kirti S.: Ger. Pat. 2, 358, 851, C. A. **81**, 77976c (1974).
41. Whiteley M. A., Yapp D.: *J. Chem. Soc. London.*, **1927**, 521.
42. Hirayama T., Kamada M., Tsurumi H., Mimura M.: *Chem. Pharm. Bull.*, **24**(3), 507 – 514, (1976).
43. Costanzo A., Guerrini G., Bruni F., Selleri S.: *J. Heterocyclic Chem.*, **31**, 1369, (1994).

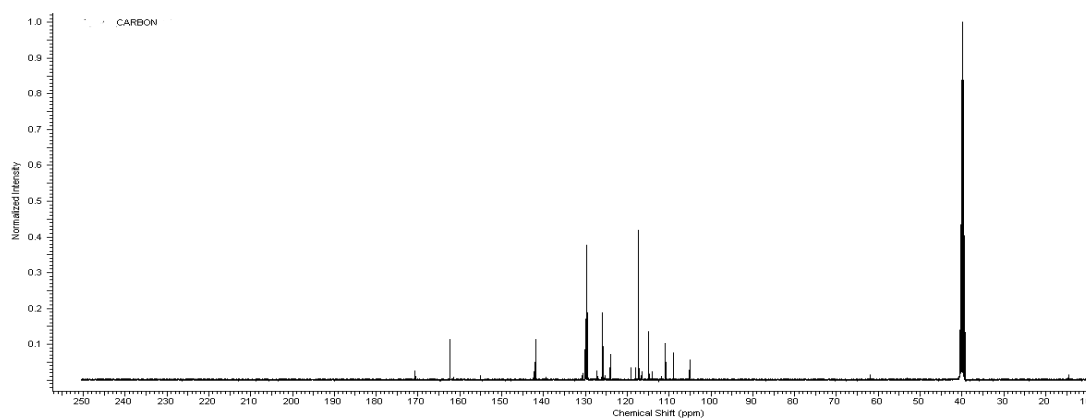
8 Přílohy

Příloha č. 1

a) ^1H spektrum fenyldiazonu (**VIIa**)

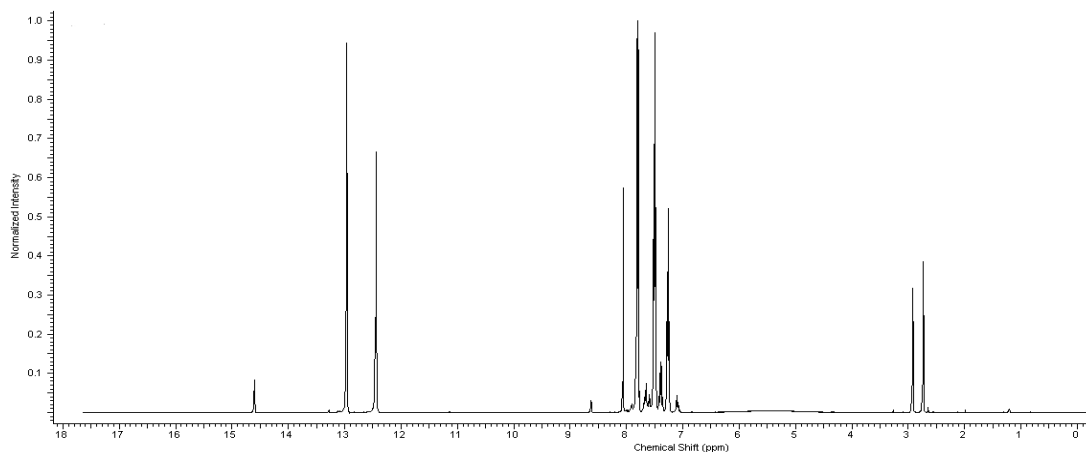


b) ^{13}C spektrum fenyldiazonu (**VIIa**)

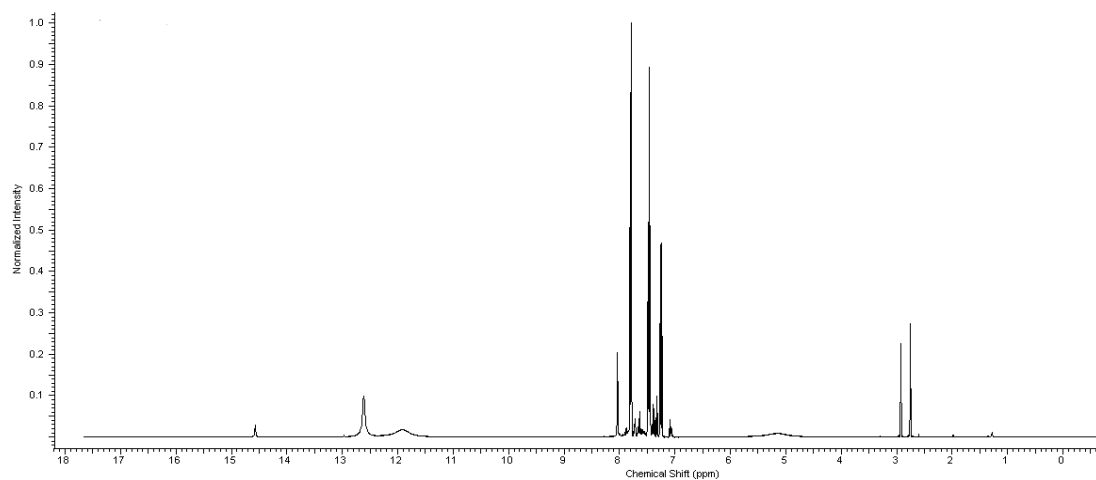


Příloha č. 2

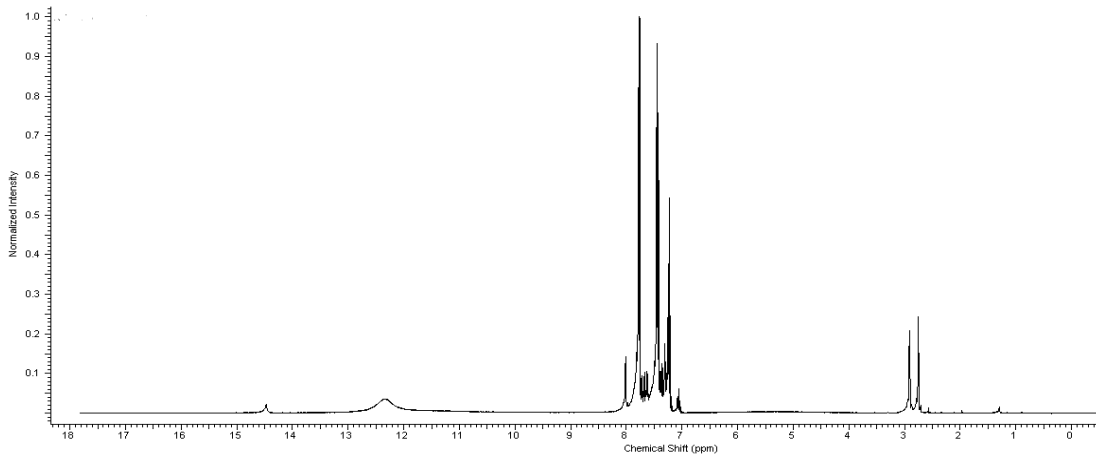
a) ^1H spektrum fenyldiazonu (**VIIa**), analýza při $-50\text{ }^\circ\text{C}$



b) ^1H spektrum fenyldrazonu (VIIa), analýza při 23 °C



c) ^1H spektrum fenyldrazonu (VIIa), analýza při 70 °C



Příloha č. 3

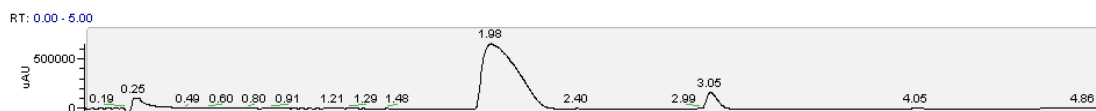
MS (APCI, m/z) = 211,8 $[\text{M}-\text{H}]^-$ odpovídá všem látkám;

t_{R} = 1,90 – 2,20 odpovídá fenyldrazonu;

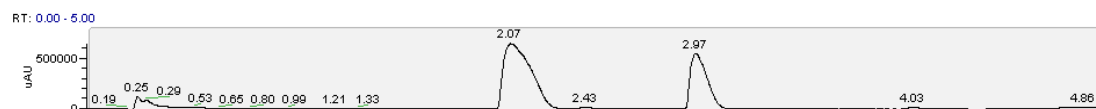
t_{R} = 2,39 – 2,51 odpovídá cyklizovanému produktu;

t_{R} = 2,94 – 3,10 odpovídá neznámé nečistotě;

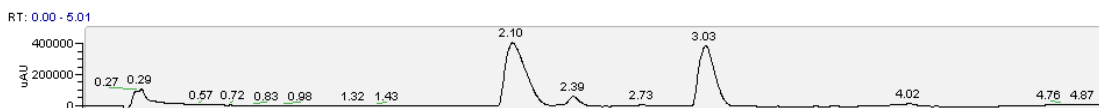
a) analýza po 1 hodině



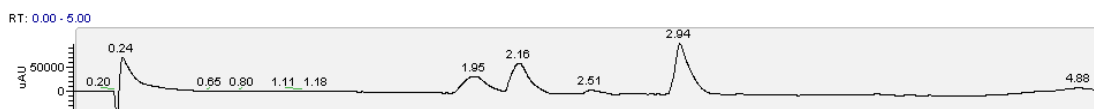
b) analýza po 1 dni



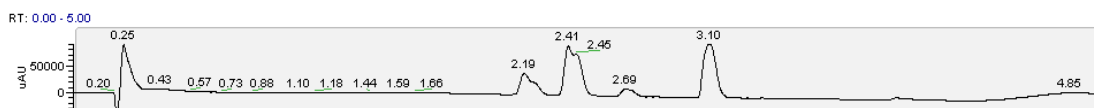
c) analýza po 5 dnech



d) analýza po 1,5 měsíci

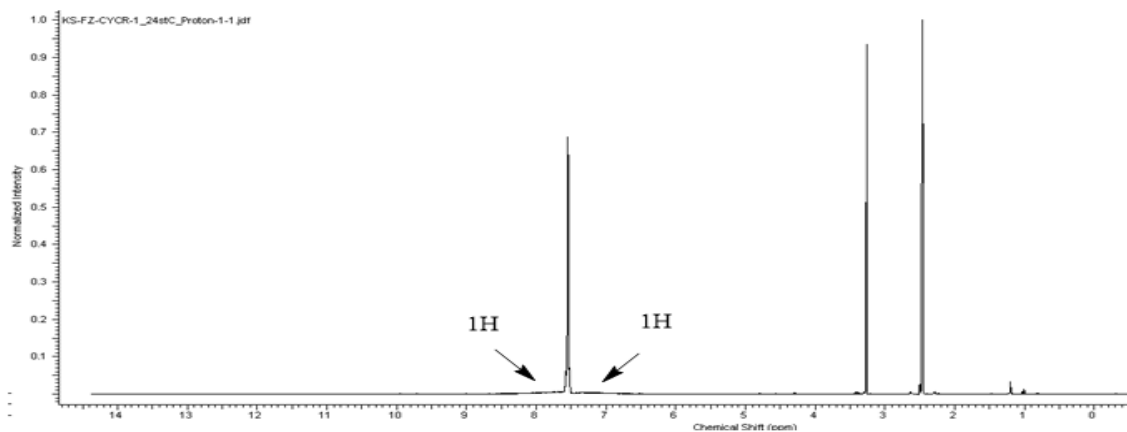


e) analýza po 3 měsících

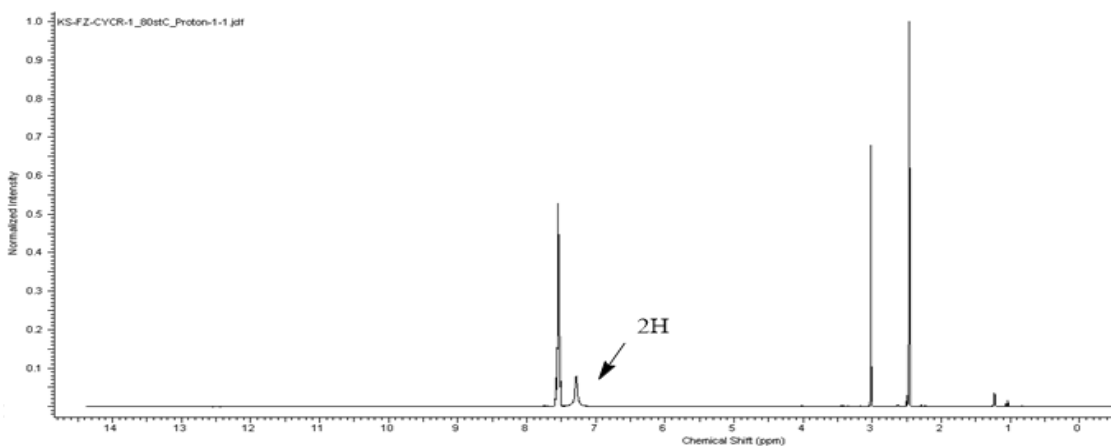


Příloha č. 4

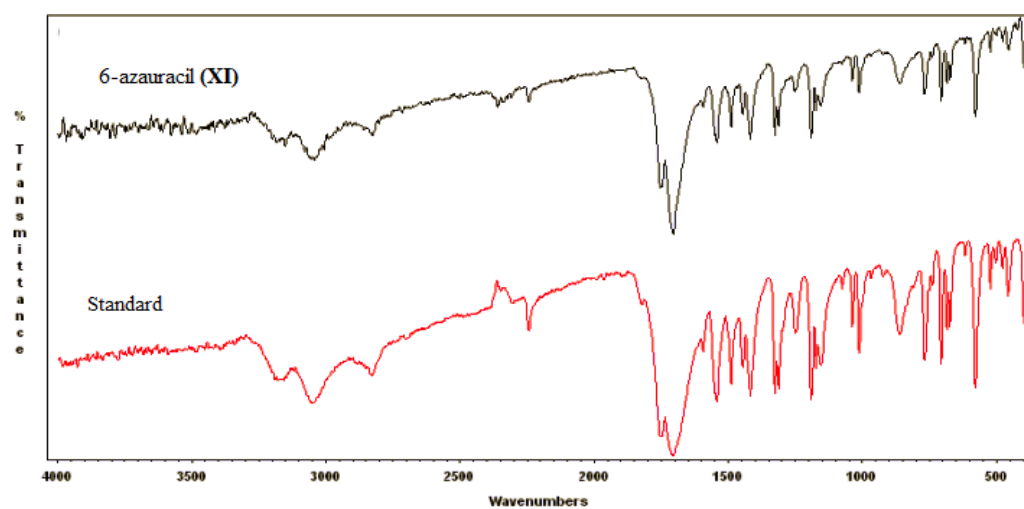
^1H spektrum 1,2,4-triazinu (**VIIIa**), analýza při 23 °C



^1H spektrum 1,2,4-triazinu (**VIIIa**), analýza při 80 °C



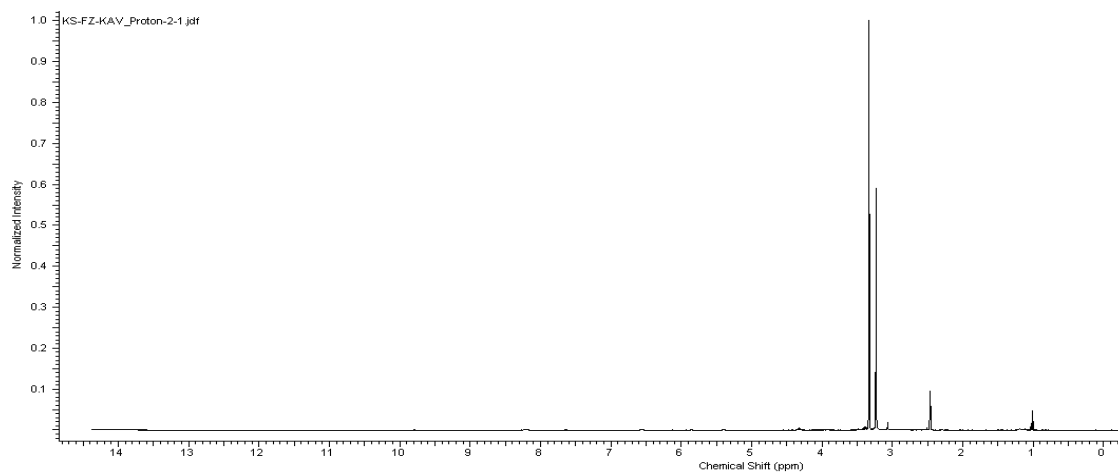
Příloha č. 5



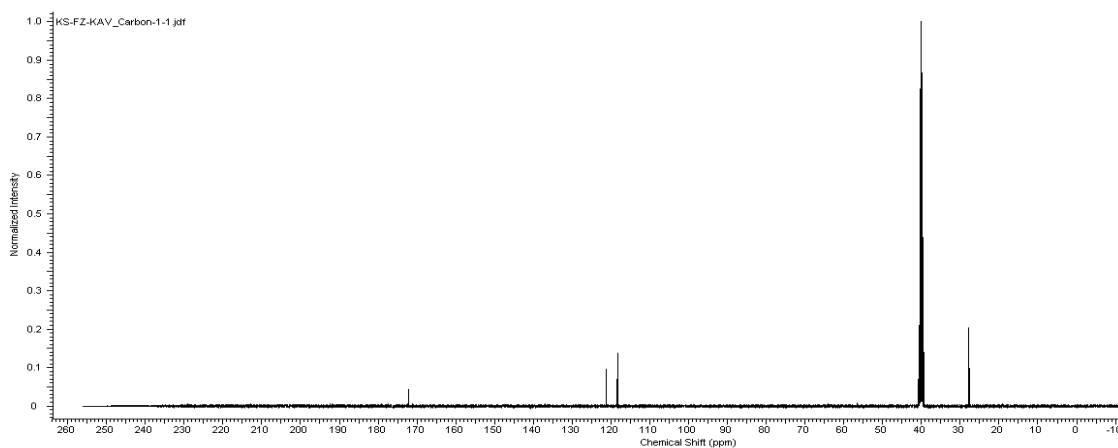
Příloha č. 6

NMR spektra připravených látek (měřeny při 25 °C)

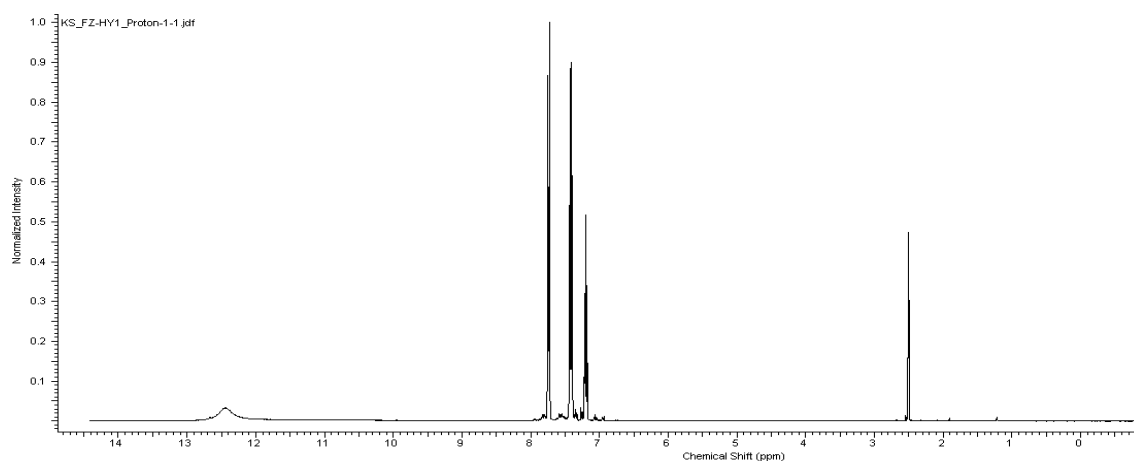
¹H spektrum látky (III)



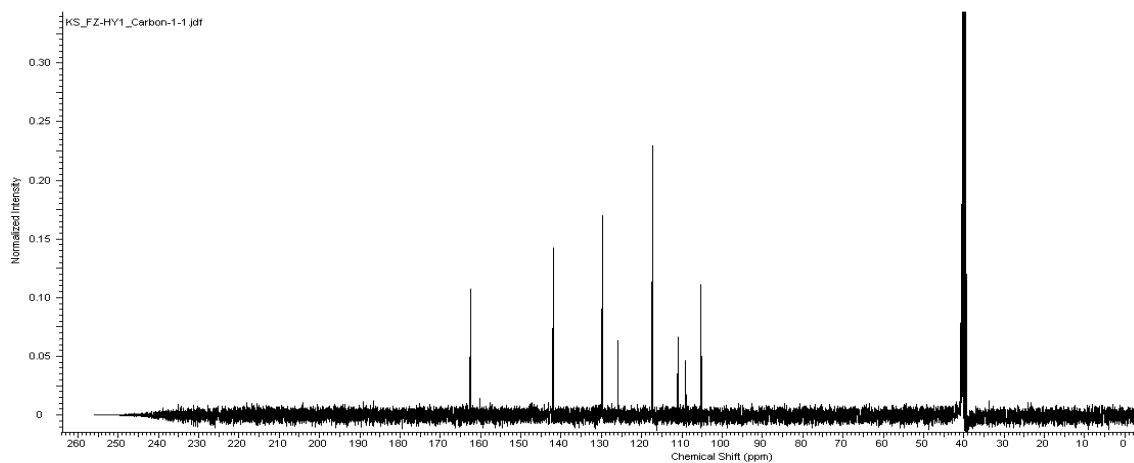
¹³C spektrum látky (III)



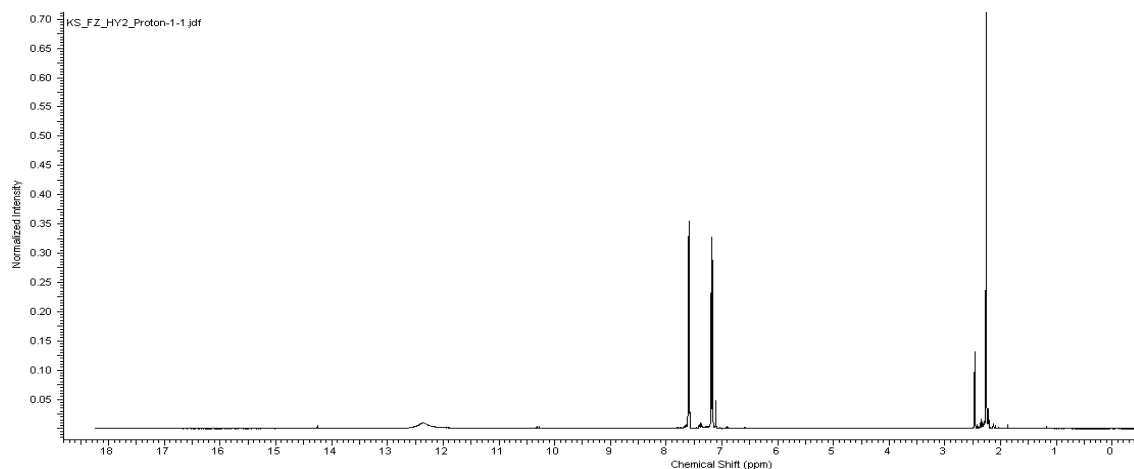
^1H spektrum hidrazonu (VIIa)



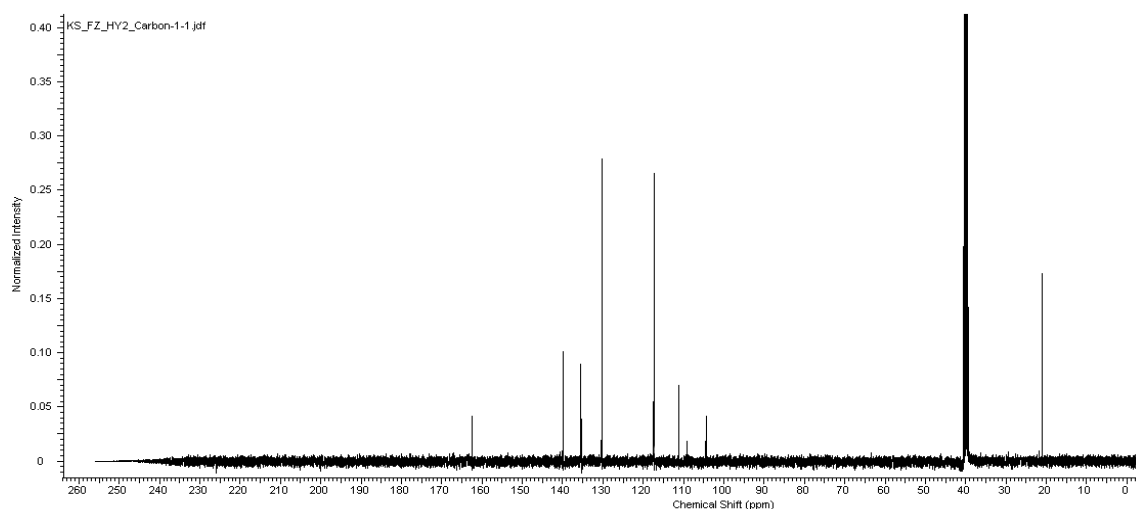
^{13}C spektrum hidrazonu (VIIa)



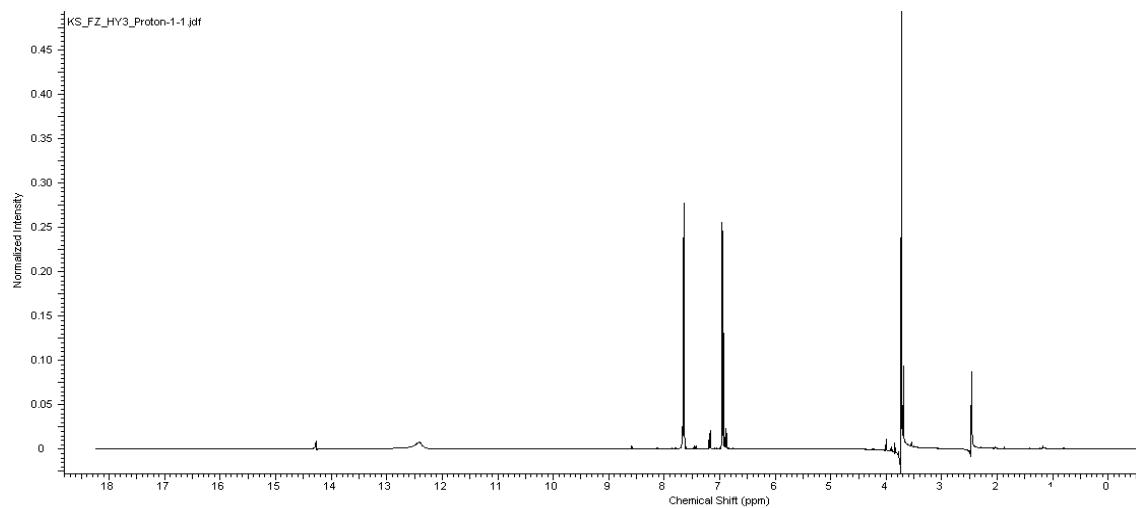
^1H spektrum hidrazonu (VIIb)



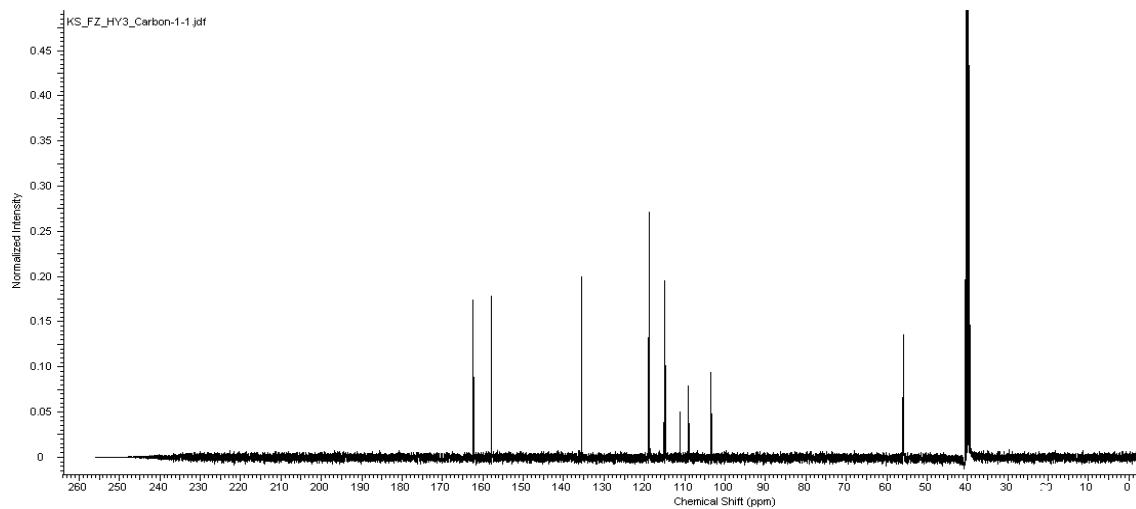
^{13}C spektrum hidrazonu (VIIb)



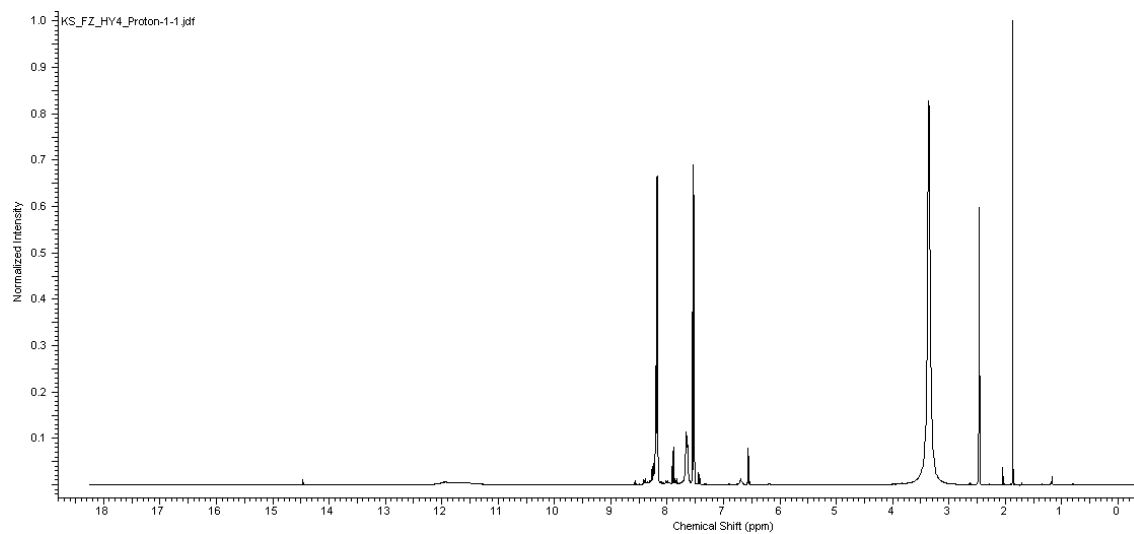
^1H spektrum hidrazonu (VIIc)



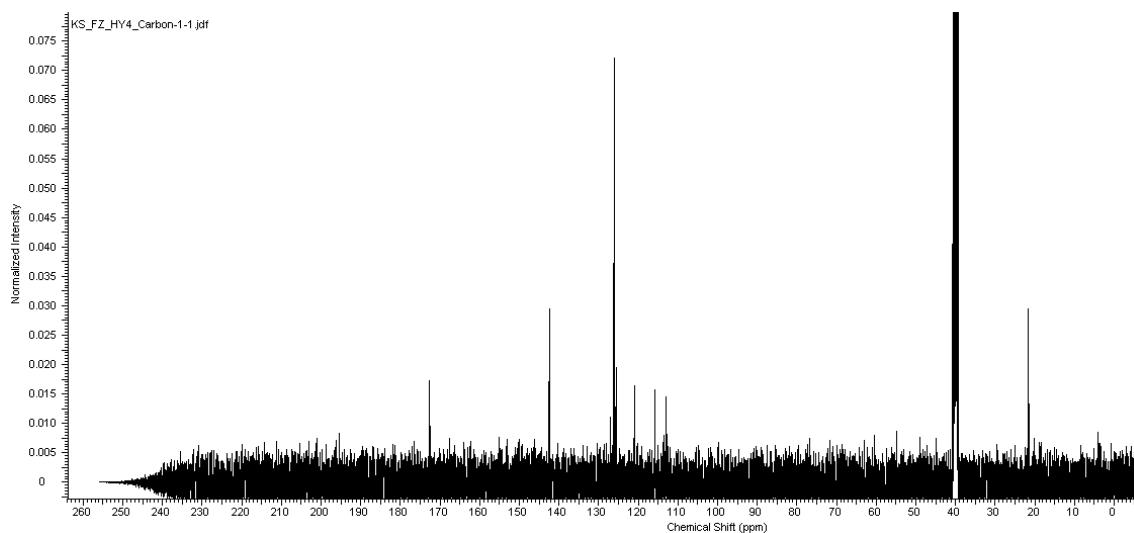
^{13}C spektrum hidrazonu (VIIc)



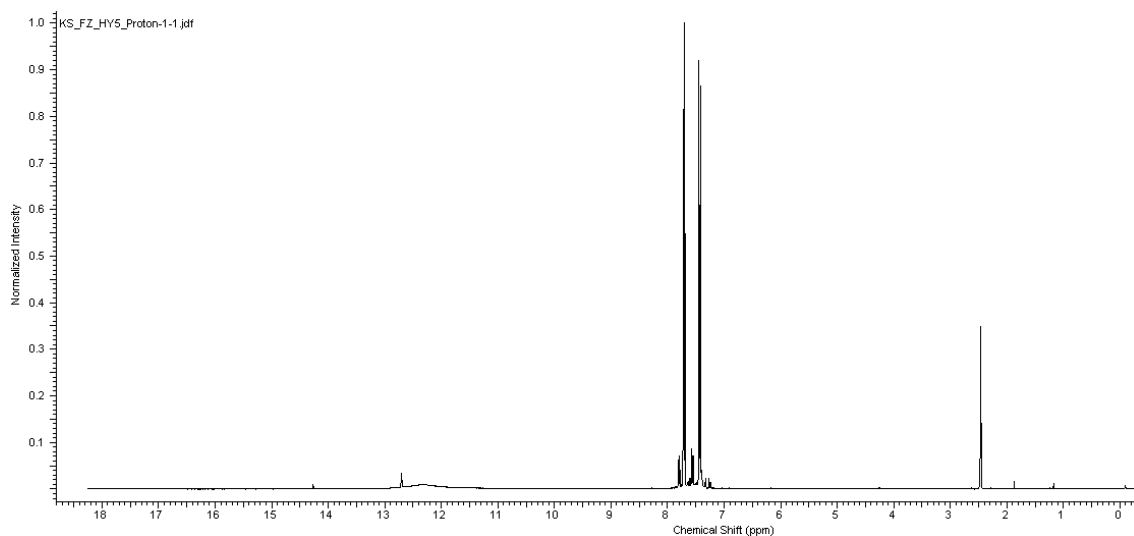
^1H spektrum hidrazonu (VIIId)



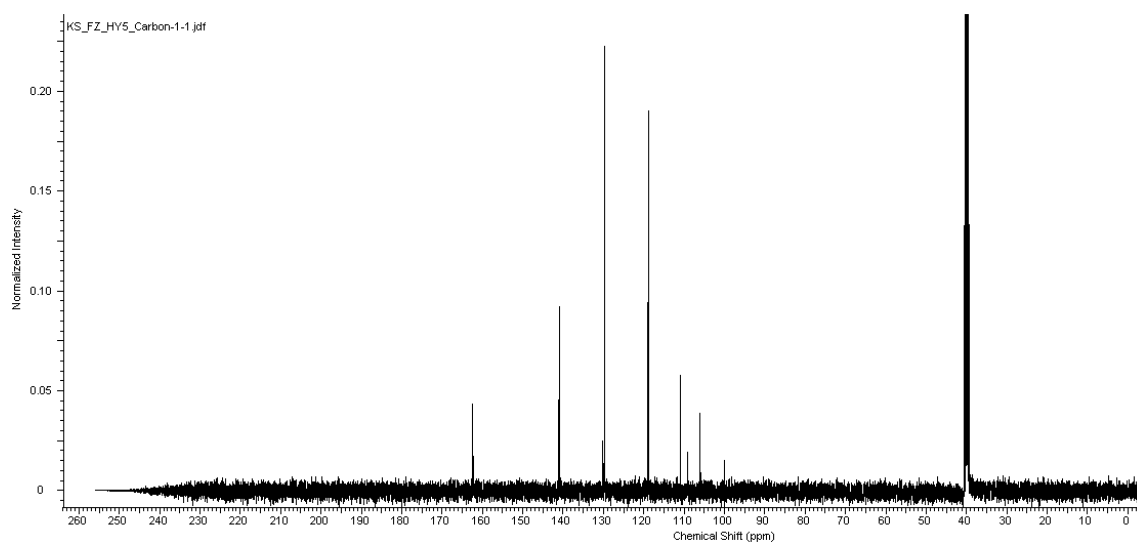
^{13}C spektrum hidrazonu (VIIId)



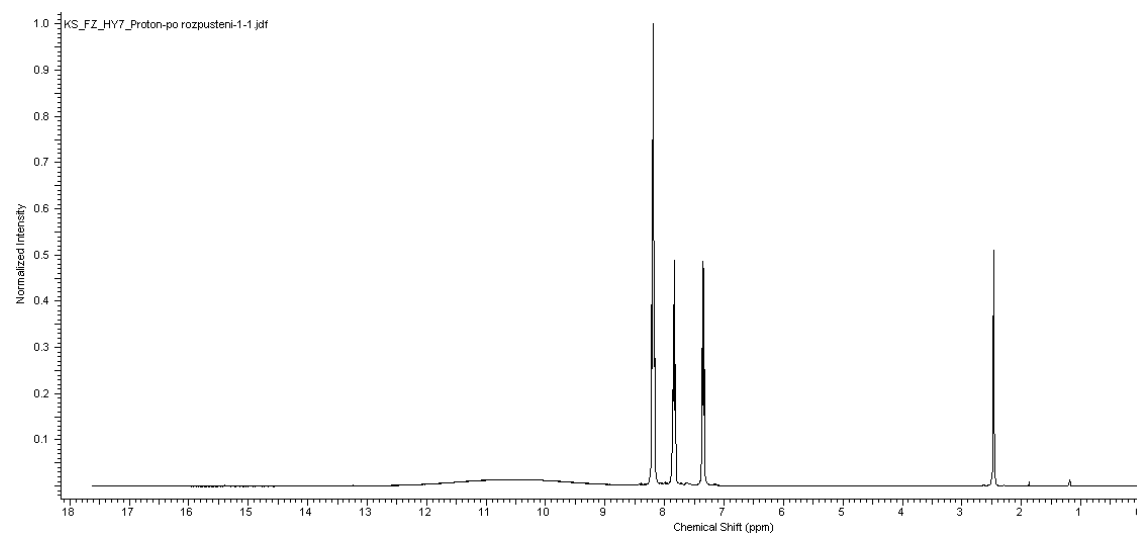
^1H spektrum hidrazonu (VIIe)



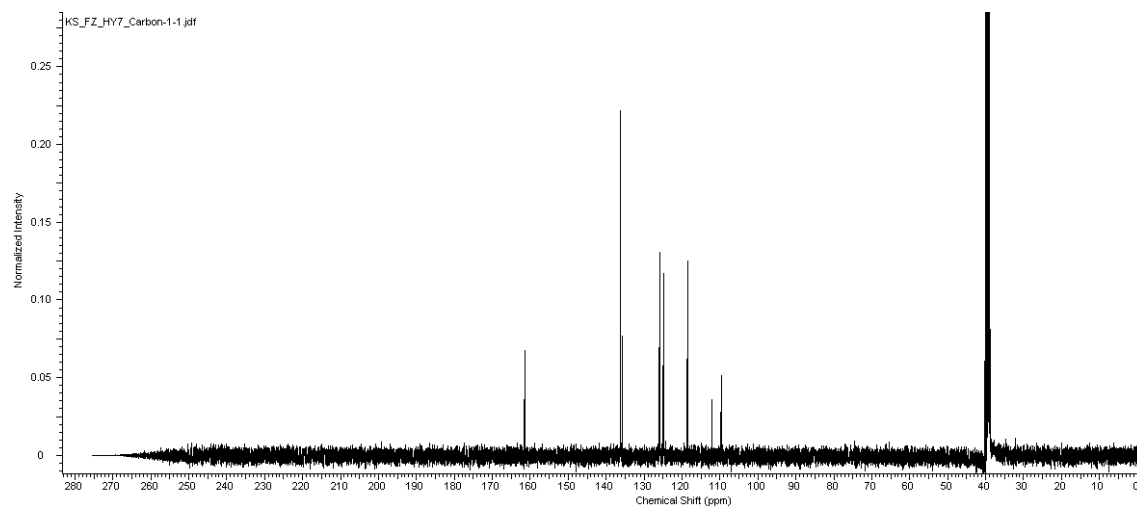
^{13}C spektrum hydrazonu (VIIe)



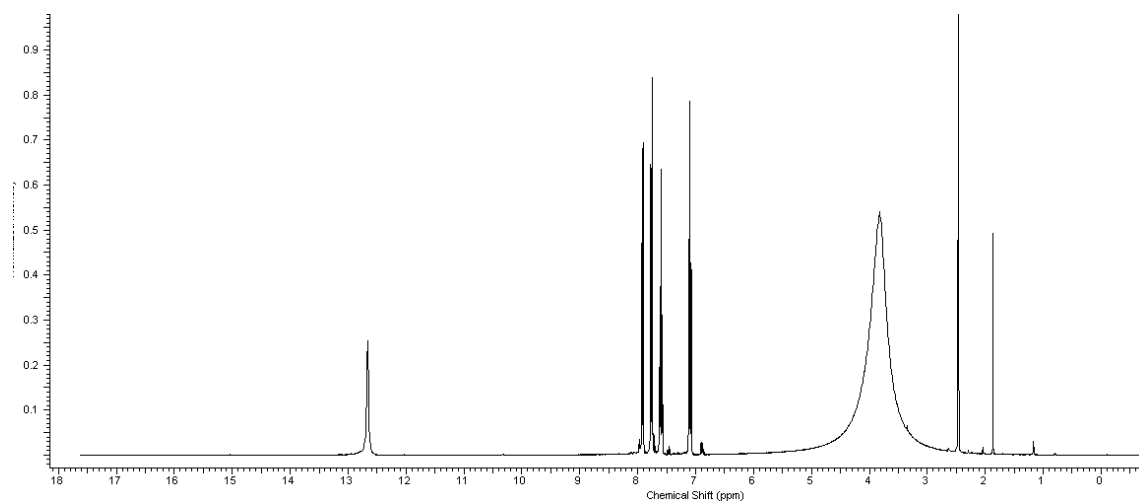
^1H spektrum hydrazonu (VIIIf)



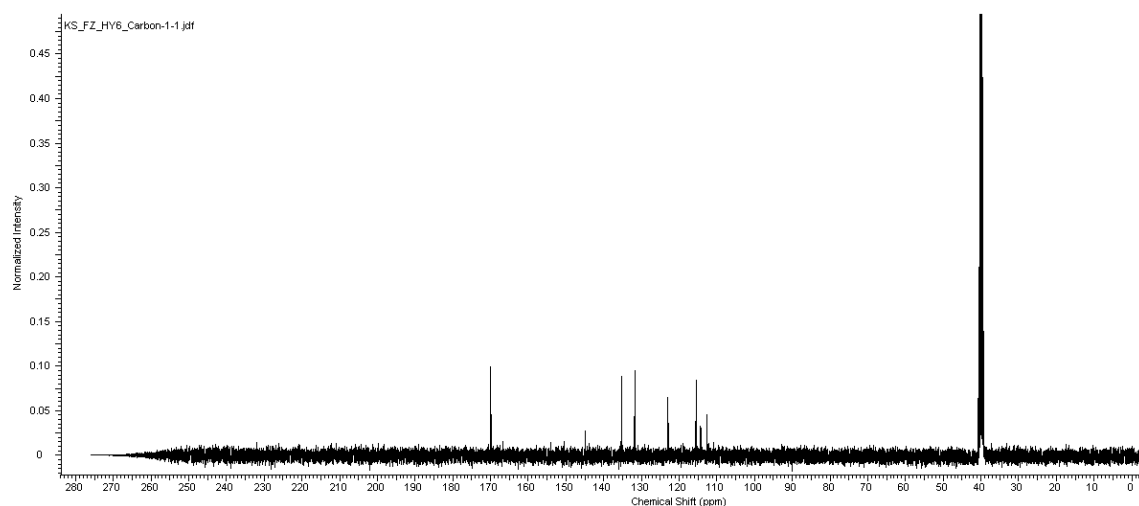
^{13}C spektrum hydrazonu (VIIIf)



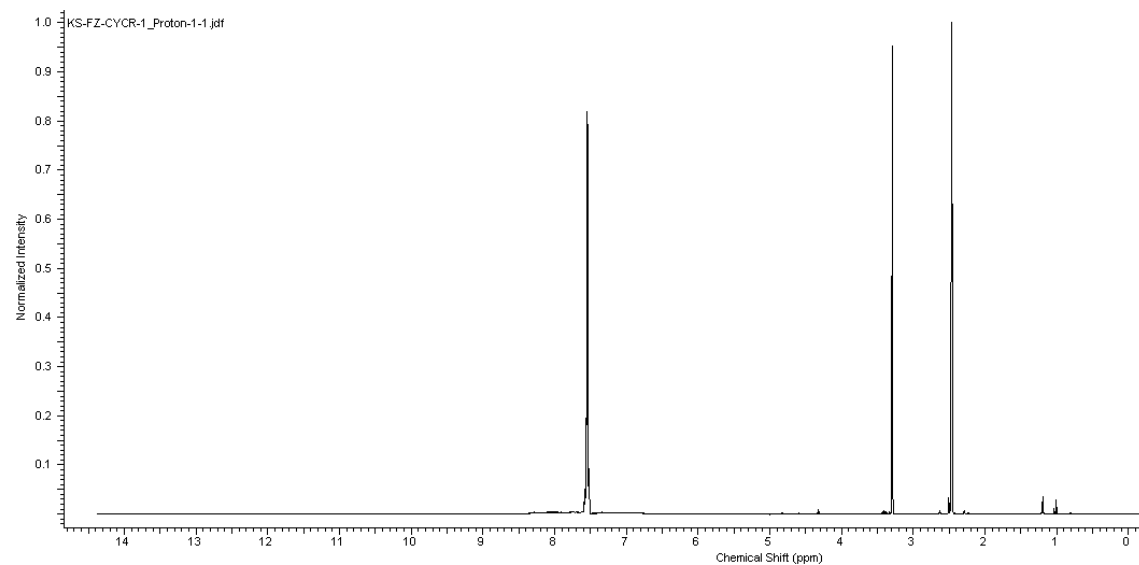
^1H spektrum hidrazonu (VIIg)



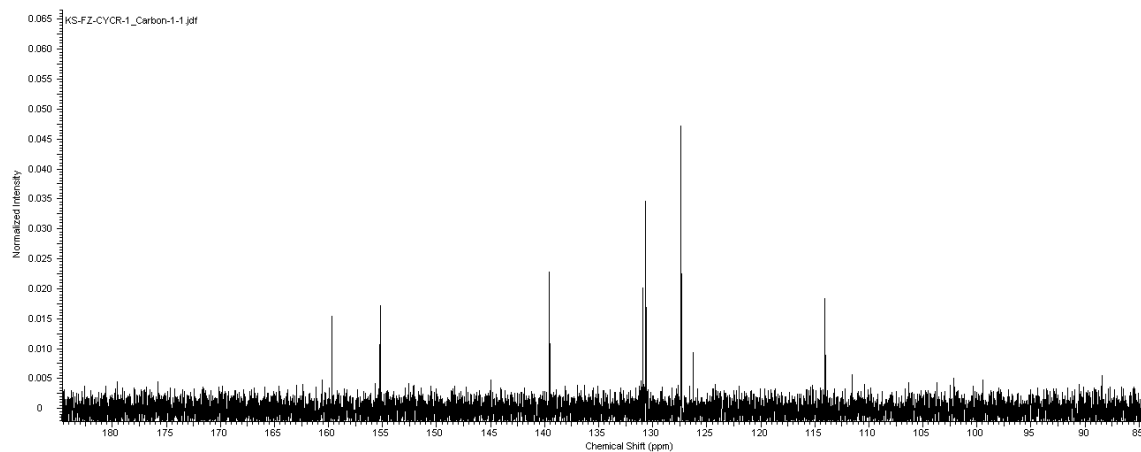
^{13}C spektrum hidrazonu (VIIg)



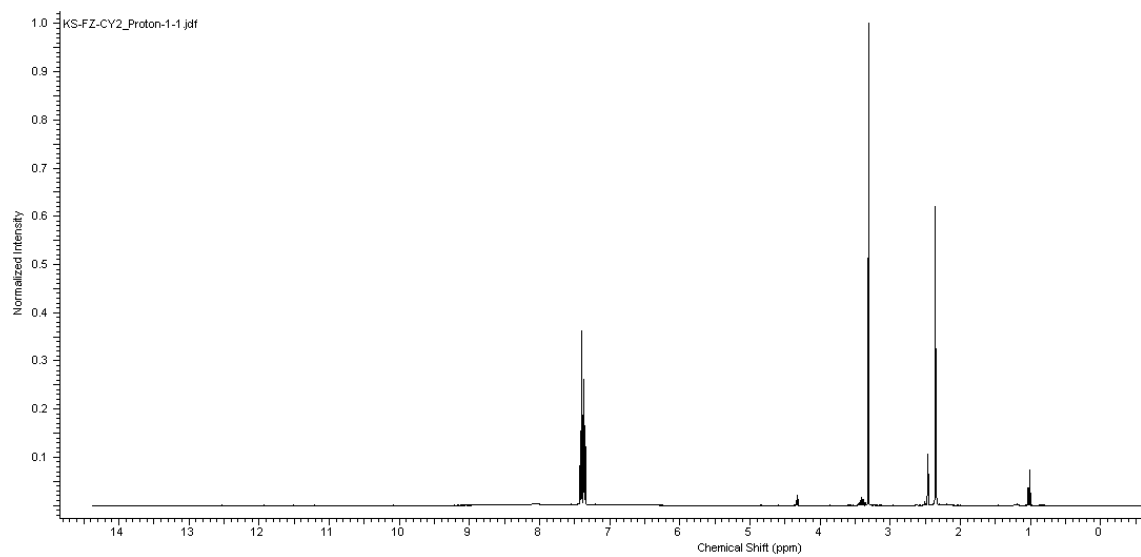
^1H spektrum 1,2,4-triazinu (VIIIa)



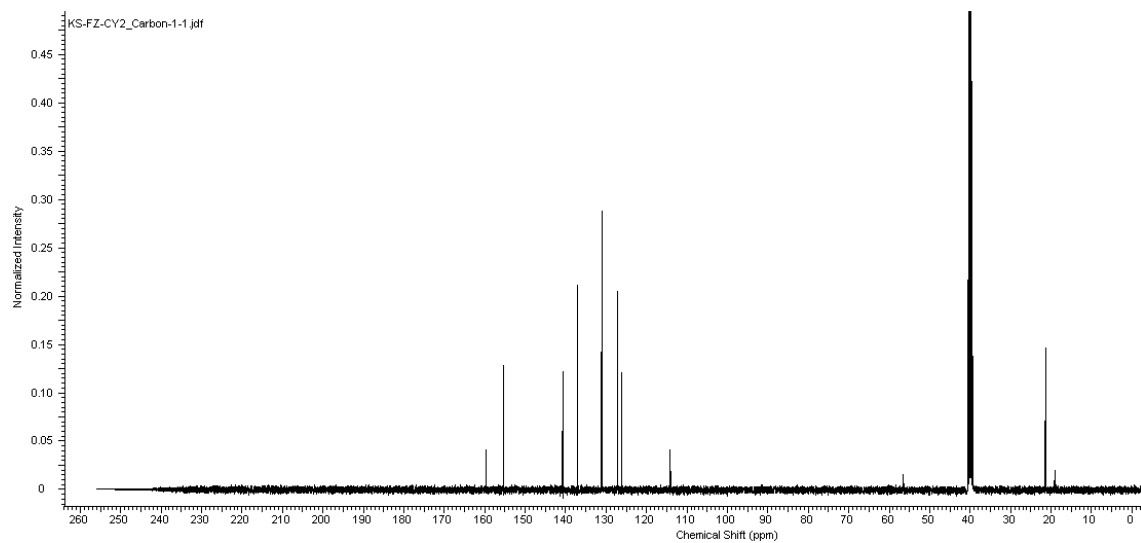
^{13}C spektrum 1,2,4-triazinu (VIIIa)



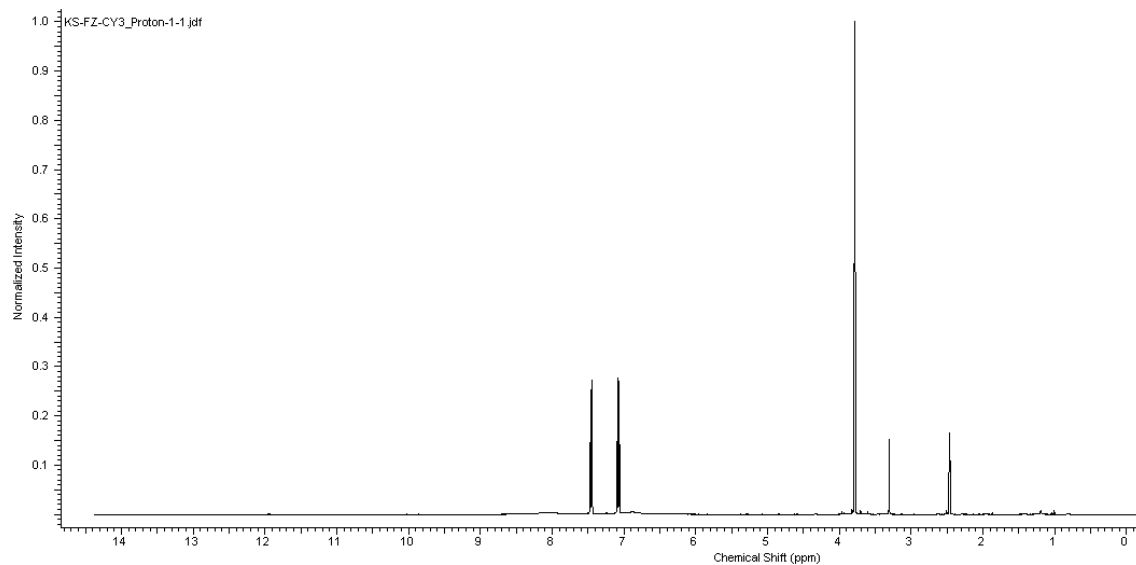
^1H spektrum 1,2,4-triazinu (VIIIb)



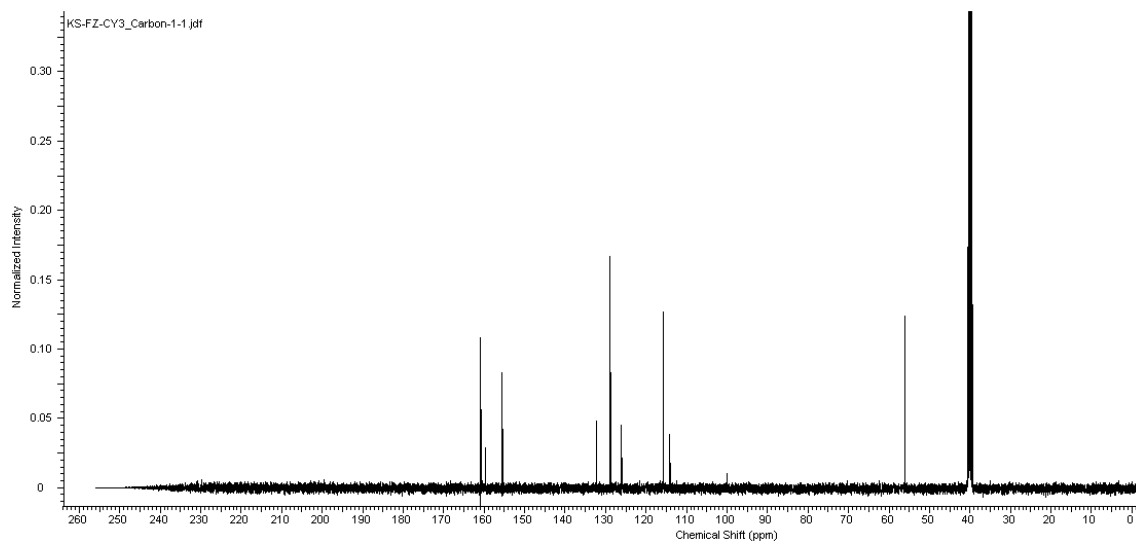
^{13}C spektrum 1,2,4-triazinu (VIIIb)



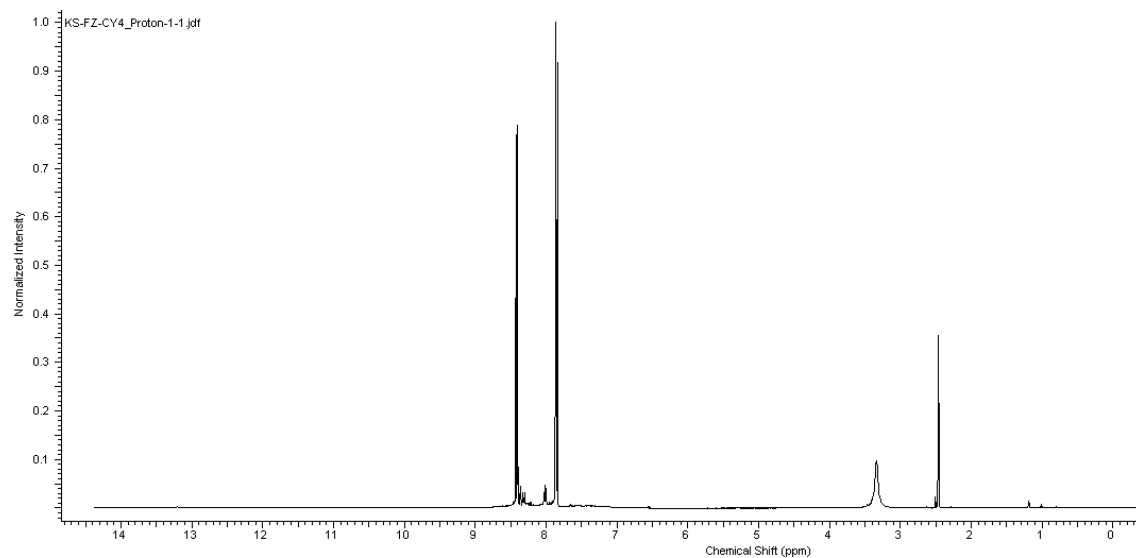
¹H spektrum 1,2,4-triazinu (VIIIc)



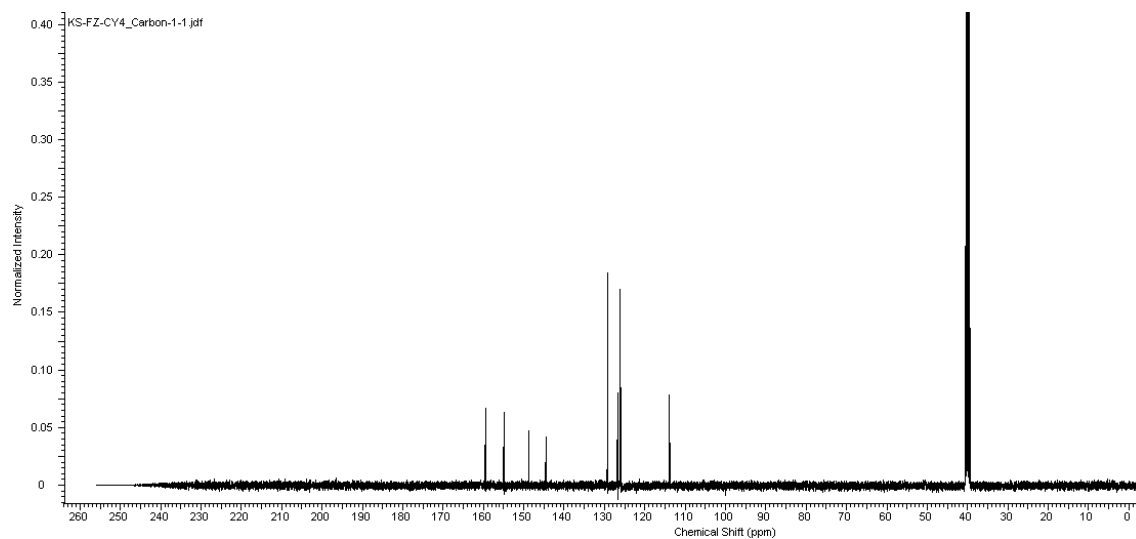
¹³C spektrum 1,2,4-triazinu (VIIIc)



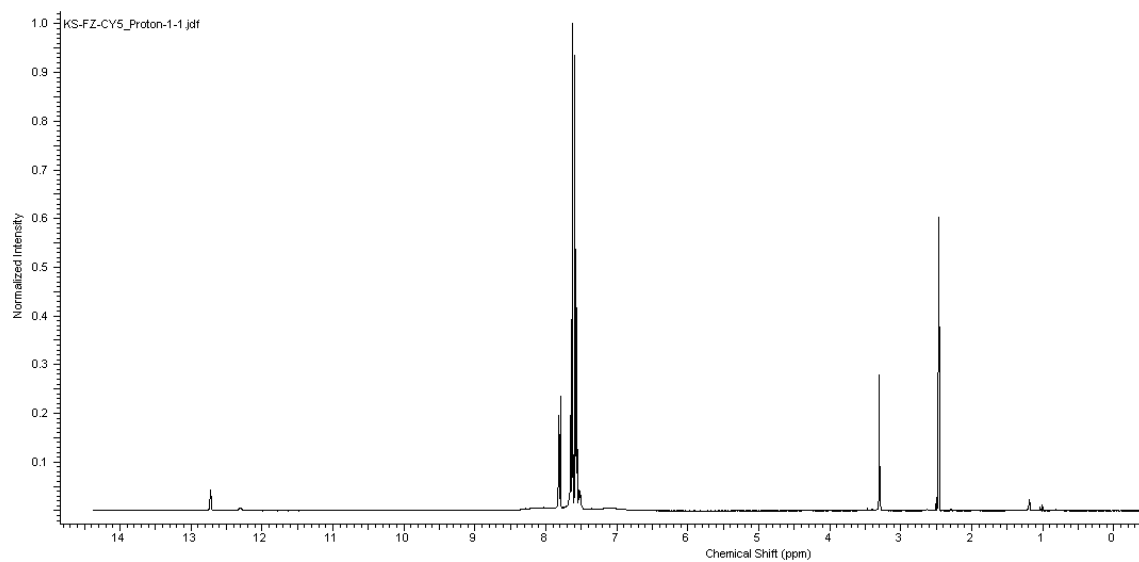
¹H spektrum 1,2,4-triazinu (VIIId)



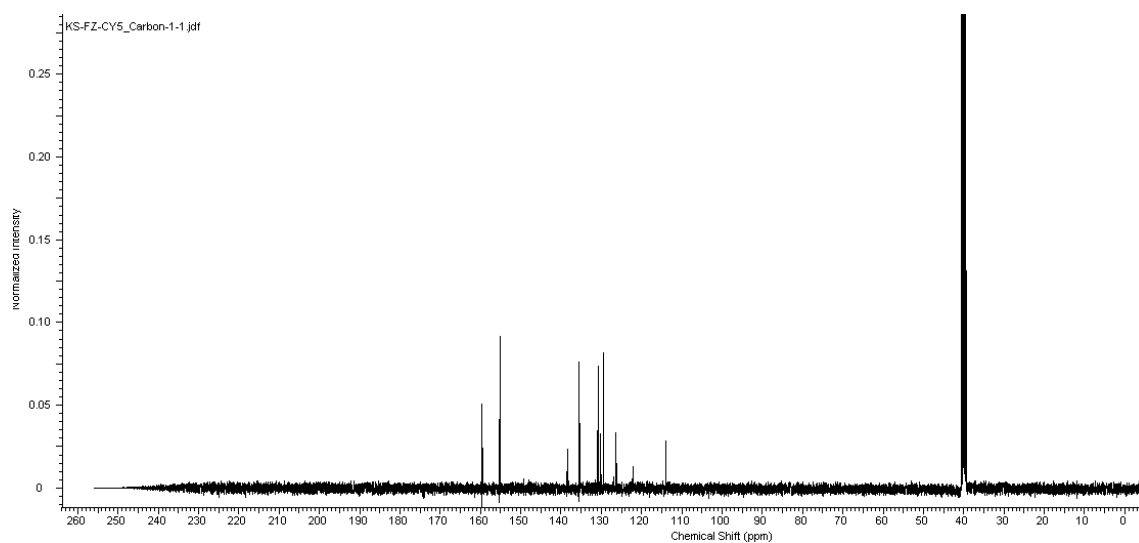
^{13}C spektrum 1,2,4-triazinu (VIIIId)



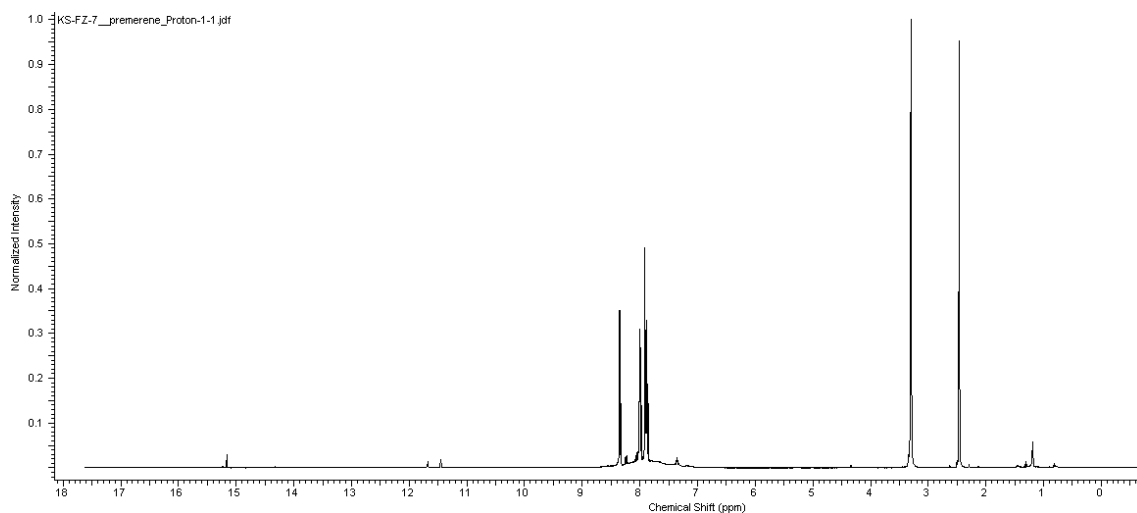
^1H spektrum 1,2,4-triazinu (VIIIe)



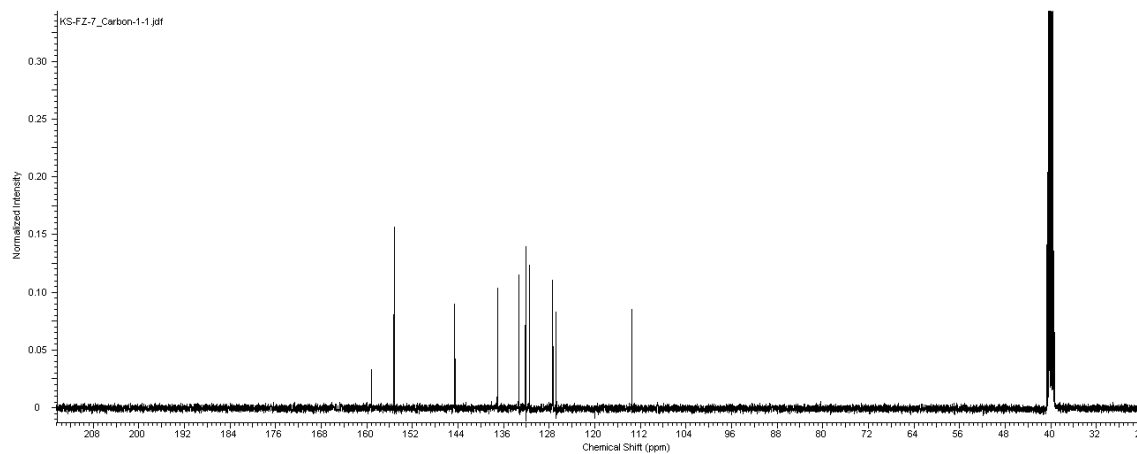
^{13}C spektrum 1,2,4-triazinu (VIIIe)



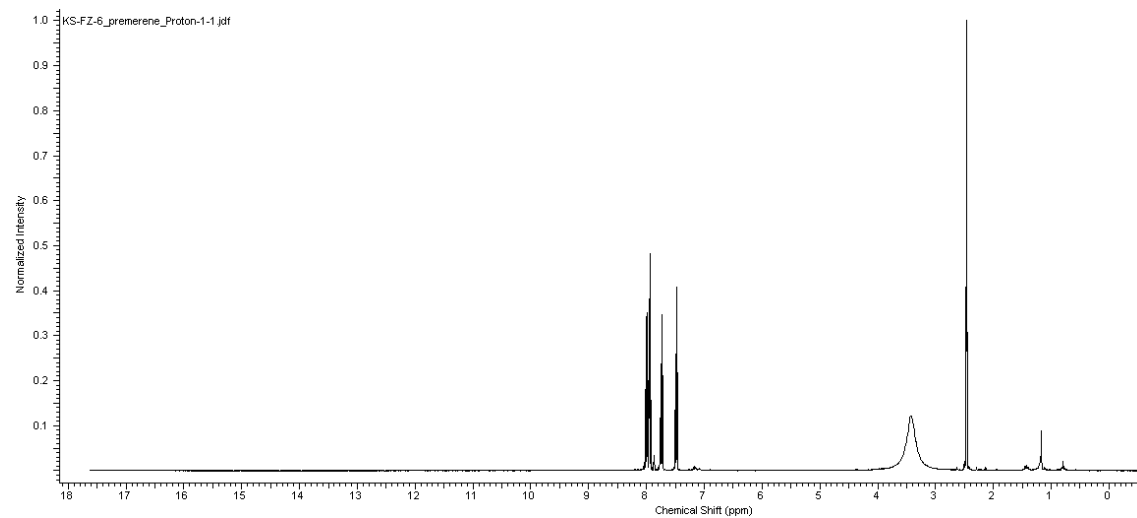
¹H spektrum 1,2,4-triazinu (VIII f)



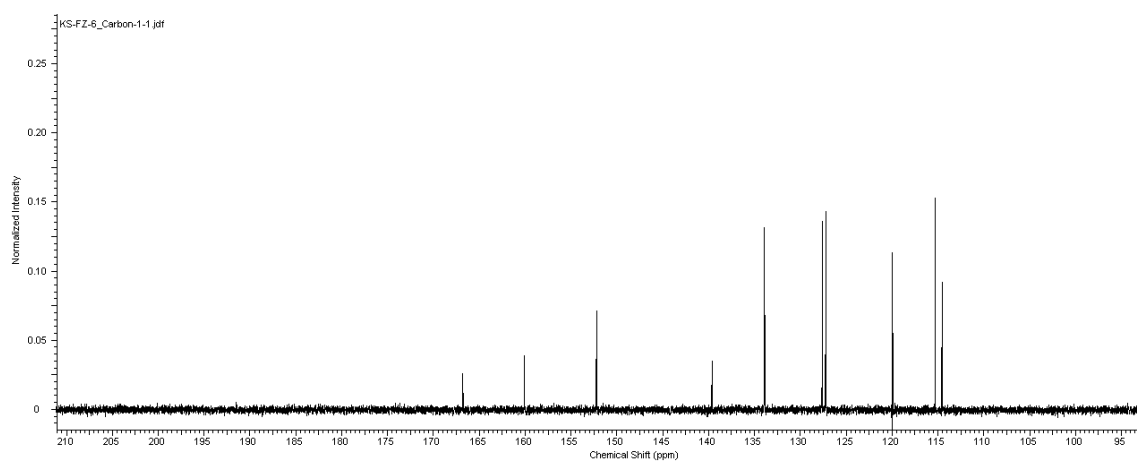
¹³C spektrum 1,2,4-triazinu (VIII f)



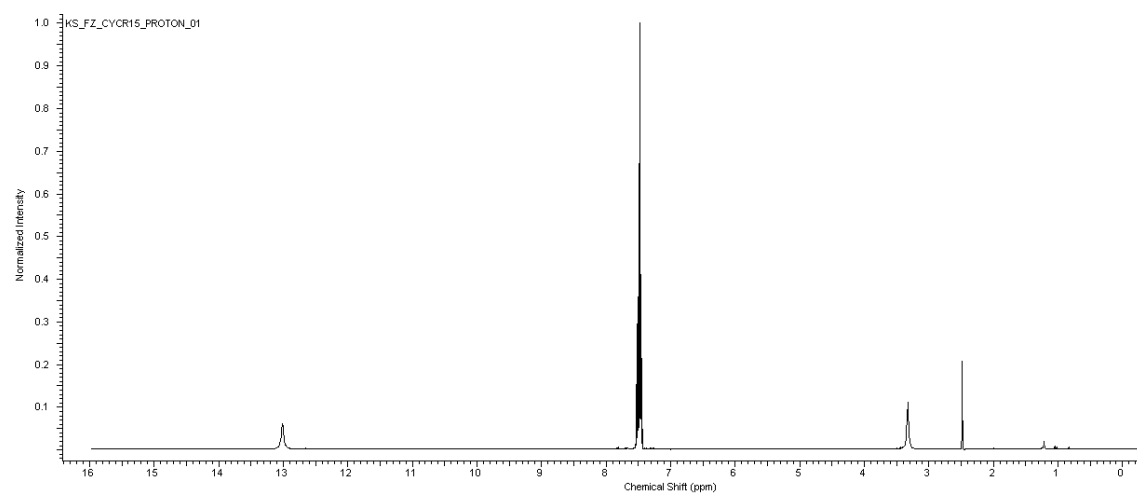
¹H spektrum 1,2,4-triazinu (VIII g)



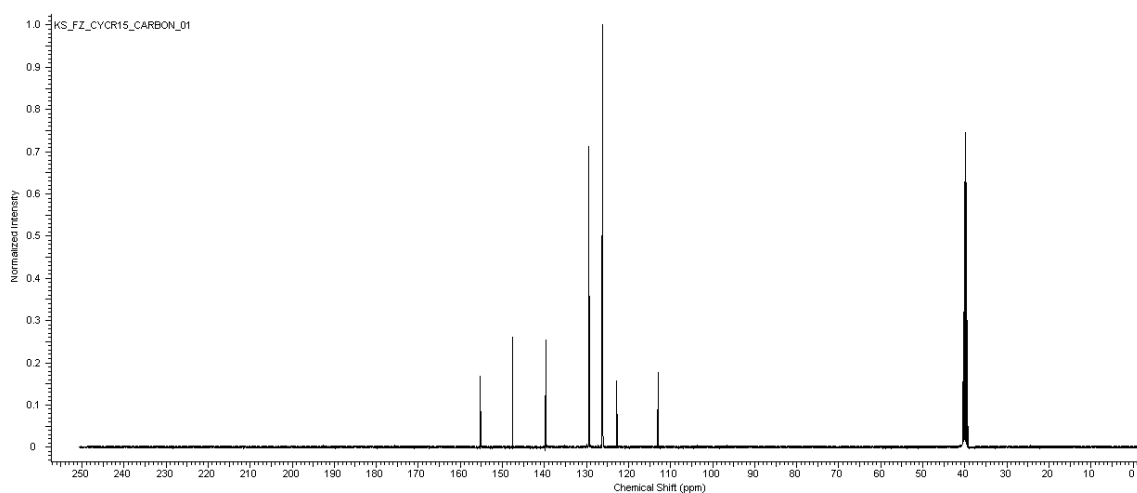
^{13}C spektrum 1,2,4-triazinu (VIIIg)



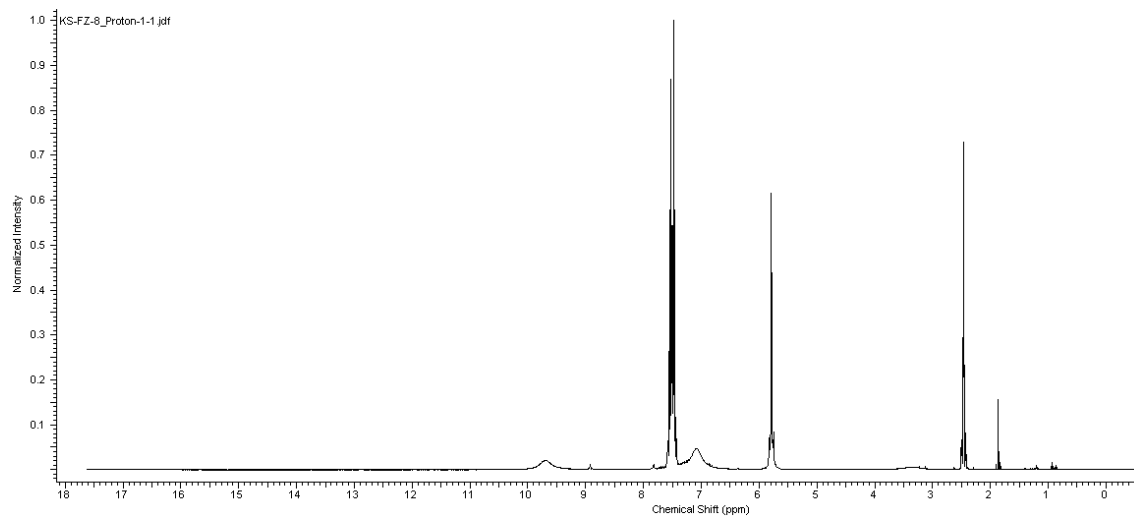
^1H spektrum 6-azauracilu (XI)



^{13}C spektrum 6-azauracilu (XI)



^1H spektrum amidoximu (XII)



^{13}C spektrum amidoximu (XII)

