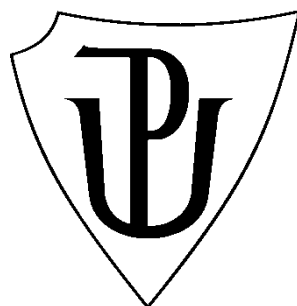


UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra organické chemie



**Arylace imidazopyrimidinů, pyrazolů
a bifenyků cross-coupling reakcemi**

DISERTAČNÍ PRÁCE

Autor:	Ing. Josef Jansa
Vedoucí práce:	prof. Ing. Antonín Lyčka, DrSc.
Studijní obor:	Organická chemie
Forma studia:	Kombinovaná
Termín odevzdání práce:	2017

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, 29. 8. 2017

Josef Jansa

Podpis

Poděkování

Děkuji prof. Antonínovi Lyčkovi za odborné vedení této práce, jeho rady a zkušenosti. Dále bych rád poděkoval Dr. Aloisovi Koloničnému za umožnění studia při zaměstnání a Ing. Dagmar Zvolánkové za pomoc při měření NMR spekter. Děkuji všem spoluautorům za spolupráci. Zvláštní poděkování patří prof. Wolfgangovi Holzerovi a jeho skupině za vedení mé tříměsíční stáže na Vídeňské univerzitě. Za organizaci této stáže bych rád poděkoval doc. Miroslavovi Suralovi, Dr. Naděždě Cankařové a Ing. Radce Navrátilové. Za měření inhibice CDK a nové návrhy struktur imidazopyrimidinů děkuji doc. Vladimírovi Kryštofovi, prof. Pavlovi Hobzovi, Dr. Martinovi Lepšíkovi a jejich spolupracovníkům. Velké poděkování patří mé rodině za podporu a trpělivost během mého studia.

Projekty

Tato práce vznikla za podpory následujících grantových projektů:

Ev. č. FR-TI1/202 „Cross-coupling reakce: pokročilé metody pro syntézu a výrobu chemických specialit“ (2008-2013), Ministerstvo průmyslu a obchodu ČR.

Ev. č. FR-TI4/177 „Nové katalyzátory a jejich aplikace pro cross-coupling v ekologicky přijatelných rozpouštědlech“ (2012-2015), Ministerstvo průmyslu a obchodu ČR.

Ev. č. CZ.1.07/2.2.00/28.0184 „Inovace vzdělávání v chemii a biologii s ohledem na aktuální trendy v biomedicinálním výzkumu“ (2012-2015), Ministerstvo školství mládeže a tělovýchovy ČR.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Ing. Josef Jansa
Název práce: Arylace imidazopyrimidinů, pyrazolů a bifenyků
cross-coupling reakcemi
Typ práce: Disertační
Pracoviště: Katedra organické chemie
Školitel: prof. Ing. Antonín Lyčka, DrSc.
Rok obhajoby práce: 2017

Abstrakt:

Tato disertační práce je zaměřena převážně na arylaci aromatických a heteroaromatických molekul cross-coupling reakcemi. Z 5-halogenovaných cytosinů byly připraveny imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-ony (ethenocytosiny) a byla studována jejich arylace do polohy 8. Jodací těchto sloučenin byly získány 3-jodethenocytosiny, které přesmykují na 2-jodderiváty. Po přesmyku byly další jodací připraveny 2,3-dijodethenocytosiny. Byla stanovena cytotoxicita těchto sloučenin na rakovinových buněčných liniích a inhibice CDK2. Některé látky poskytly zajímavé výsledky. Kondenzační reakcí byly připraveny 1,3,5-triarylpyrazoly, které byly jodovány do polohy 4 a byly studovány možnosti substituce jodu. Výměna jodu za lithium a následná karboxylace vedla k pyrazol-4-karboxylovým kyselinám. Negishi cross-coupling reakce se projevila jako účinná a umožnila syntézu tetrasubstituovaných pyrazolů. Byly izolovány i produkty homocouplingu (bipyrazoly) a některé další nečekané produkty. Pomocí heterogenně katalyzované (Pd/C) Suzuki-Miyaura reakce byla připravena série *p*-terfenyl-4-olů a několik vyšších oligofenylenových sloučenin. Reakce prováděné bez ligandu, na vzduchu a s nízkými katalytickými dávkami jsou popsány pro celou řadu různě substituovaných fenylboronových kyselin, včetně stericky či elektronově deaktivovaných. Komplexací pincer a amidofosfinových ligandů s chloridem palladnatým byly připraveny palladiové komplexy a byla studována jejich katalytická aktivita při Suzuki-Miyaura reakci ve vodném prostředí.

Klíčová slova: Arylace, cross-coupling, imidazopyrimidin, pyrazol, terfenyl, jodace, palladium, katalýza, přesmyk
Počet stran: 104
Počet příloh: 5
Jazyk: Čeština

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Josef Jansa
Title: Arylation of imidazopyrimidines, pyrazoles and biphenyls by cross-coupling reactions
Type of thesis: Ph.D.
Department: Department of Organic Chemistry
Advisor: Prof. Antonín Lyčka
The year of presentation: 2017

Abstract:

This Ph.D. thesis deals with arylation of aromatic and heteroaromatic molecules by cross-coupling reactions. Imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-ones (ethenocytosines) were prepared from 5-halogenocytosines and their arylation to position 8 was studied. 3-Iodoethenocytosines were obtained by iodination of ethenocytosines and these compounds rearranged to 2-iododerivatives. Further iodination after rearrangement led to 2,3-diiododerivatives. Cytotoxicity on cancer cell lines and CDK2 inhibition were evaluated and some compounds showed interesting results. 1,3,5-triarylpyrazoles were prepared by condensation reaction and were iodinated to position 4 and the possibilities of substitution of iodine were studied. Lithium/iodine exchange and subsequent carboxylation led to pyrazole-4-carboxylic acids. Negishi cross-coupling reaction turned out to be effective and facilitated the synthesis of tetrasubstituted pyrazoles. Homocoupling products (bipyrazoles) and some further unexpected products were also isolated. The series of *p*-terphenyl-4-ols and some larger oligophenylenes were prepared by means of heterogeneously catalyzed (Pd/C) Suzuki-Miyaura reaction. Ligand free reactions carried out without exclusion of air and with low catalyst loadings are described for differently substituted phenylboronic acids including sterically and electronically deactivated ones. Palladium complexes were prepared by the reactions of pincer and amidophosphine ligands with palladium chloride and their catalytic activity in Suzuki-Miyaura reaction under aqueous media was studied.

Keywords: Arylation, cross-coupling, imidazopyrimidine, pyrazole, terphenyl, iodination, palladium, catalysis, rearrangement
Number of pages: 104
Number of appendixes: 5
Language: Czech

Obsah

1. Úvod.....	10
2. Teoretická část	12
2.1 Deriváty imidazopyrimidinu.....	12
2.1.1 Cytosin a jeho halogenace	12
2.1.2 Syntéza a vlastnosti imidazopyrimidinů a příbuzných sloučenin.....	14
2.1.3 Halogenace imidazopyrimidinů a příbuzných sloučenin.....	17
2.1.4 Přesmyky imidazopyrimidinů a příbuzných sloučenin.....	19
2.1.5 Cross-coupling reakce halogenovaných cytosinů a příbuzných sloučenin	22
2.2 Deriváty pyrazolu	26
2.3 Deriváty <i>p</i> -terfenylu.....	30
2.4 Palladnaté komplexy a jejich katalytická aktivita.....	33
3. Cíl práce.....	35
3.1 Imidazopyrimidiny.....	35
3.2 Pyrazoly	35
3.3 Terfenyly.....	35
3.4 Palladnaté komplexy.....	35
4. Výsledky a diskuse	36
4.1 Syntéza a arylace imidazo[1,2- <i>c</i>]pyrimidin-5(6 <i>H</i>)-onů.....	36
4.1.1 Syntéza 5-halogencytosinů	37
4.1.2 Syntéza 8-halogenethenocytosinů a jejich arylace	38
4.1.3 Identifikace a charakterizace 8-arylethenocytosinů.....	40
4.1.4 Biologická aktivita 8-arylethenocytosinů	43
4.2 Jodace a přesmyky ethenocytosinů.....	45
4.2.1 Syntéza monojod- a diiodethenocytosinů	45
4.2.2 Identifikace a charakterizace jodovaných ethenocytosinů.....	48

4.2.3	Inhibiční aktivita ethenocytosinů vůči CDK2	54
4.3	Syntéza tetraarylpyrazolů	58
4.3.1	Syntéza diketonů a 4-jodtriarylpyrazolů	58
4.3.2	Karboxylace 4-jodpyrazolů	60
4.3.3	Arylace pyrazolů cross-coupling reakcemi	61
4.3.4	Negishi cross-coupling 4-jodpyrazolů 3a-d	63
4.3.5	Identifikace a charakterizace připravených pyrazolů	67
4.4	Syntéza derivátů <i>p</i> -terfenyl-4-olu	69
4.5	Příprava Pd komplexů a testování jejich katalytické aktivity	81
4.5.1	Syntéza fosfinových ligandů L^1PPh_2 a L^2PPh_2	81
4.5.2	Syntéza palladnatých komplexů	82
4.5.3	Testování katalytické aktivity	85
5.	Závěr	89
6.	Experimentální část	91
6.1	Příprava fosfinových ligandů L^1PPh_2 a L^2PPh_2	91
6.2	Příprava palladnatých komplexů 1 a 2	93
7.	Seznam použité literatury	95

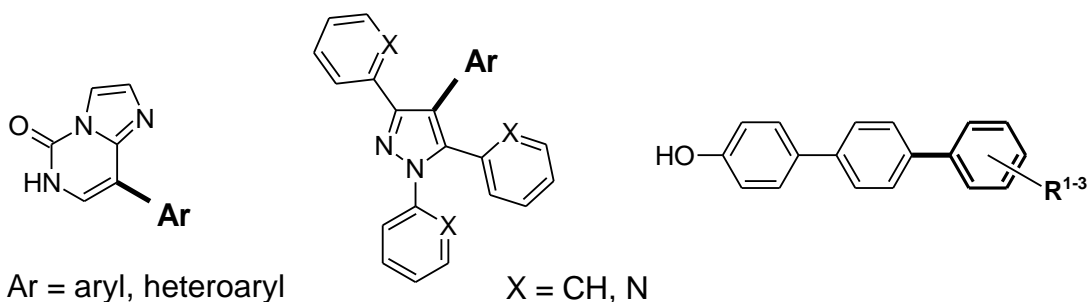
Seznam zkratek

Ac	acetyl
A549	buněčné linie adenokarcinomu plic
APT	attached proton test
Ar	aryl
Bu	butyl
CCRF-CEM	buněčné linie T-lymfoblastické leukemie
CDK	cyklin-dependentní kináza
CEM-DNR bulk	buněčné linie T-lymfoblastické leukemie (daunorubicin-resistentní)
cod	1,5-cyklooktadien
COSY	correlation spectroscopy
COX	cyklooxygenáza
DABCO	1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktan
dba	dibenzylidenaceton
DMA	<i>N,N</i> -dimethylacetamid
DME	1,2-dimethoxyethan
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DNA	deoxyribonukleová kyselina
dppf	1,1'-bis(difenylfosfino)ferocen
ekv.	ekvivalent
Et	ethyl
GABA	kyselina γ -aminomáselná
GC/MS	plynová chromatografie/hmotnostní spektrometrie
GI ₅₀	koncentrace způsobující 50% inhibici prospívání buněk
gs	gradient selected
HCT116	buněčné linie kolorektálního karcinomu
HCT116p53-/-	buněčné linie kolorektálního karcinomu (varianta s mutací genu pro protein p53)
HIV	virus lidské imunitní nedostatečnosti
HMBC	heteronuclear multiple bond correlation
HMQC	heteronuclear multi quantum correlation
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie

HRMS	vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie
HSQC	heteronuclear single quantum correlation
IC ₅₀	koncentrace způsobující 50% inhibici
ICP-OES	emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
IČ	infračervená spektroskopie
K562	buněčné linie akutní myeloidní leukemie
K562-Tax	buněčné linie akutní myeloidní leukemie (paclitaxel-rezistentní)
MCF-7	buněčné linie rakoviny prsu
Me	methyl
mGluR	metabotropní glutamátový receptor
MRC-5, BJ	buněčné linie lidských fibroblastů
MW	mikrovlnné záření
NBS	<i>N</i> -bromsukcinimid
NCS	<i>N</i> -chlorsukcinimid
NIS	<i>N</i> -jodsukcinimid
NMP	1-methyl-2-pyrolidinon
NMR	nukleární magnetická rezonance
NOESY	nuclear Overhauser effect spectroscopy
Pd/C	palladium na aktivním uhlí (katalyzátor)
Ph	fenyl
Pr	propyl
RNA	ribonukleová kyselina
rt	laboratorní teplota
Tf	triflát (trifluormethansulfonát)
THF	tetrahydrofuran
TLC	tenkovrstvá chromatografie
TOCSY	total correlation spectroscopy
TOF	turnover frequency
TON	turnover number
TPPTS	trifenylfosfin-3,3',3''-trisulfonát trisodný

1. Úvod

Tato disertační práce se zabývá převážně arylací aromatických molekul pomocí cross-coupling reakcí. Jako výchozí substráty pro tyto syntézy byly zvoleny jednak heterocyklické sloučeniny odvozené od cytosinu a pyrazolu, tak fenylénové sloučeniny, odvozené převážně od bifenyly a *p*-terfenyly (Obrázek 1). Cross-coupling reakce představují všestrannou a efektivní metodu k budování vazeb uhlík-uhlík, uhlík-dusík, uhlík-kyslík či uhlík-síra v organických molekulách. Tvorba vazeb uhlík-uhlík je jednou ze základních myšlenek organické syntézy a cross-coupling reakce představují obecnou metodu jejich tvorby. V roce 2010 byla za objev těchto reakcí udělena Nobelova cena (R. F. Heck, E. Negishi, A. Suzuki).



Obrázek 1: Klíčové vazby C-C, budované v rámci této práce (vyznačeno tučně).

Cytosin, jakožto nukleová báze, je základním stavebním prvkem nukleových kyselin. Jeho strukturní modifikace mohou vést k biologicky aktivním látkám. Jednou z modifikací cytosinu (a analogicky také adeninu a guaninu) je jeho reakce s α -halogenkarbonylovými sloučeninami za vzniku kondenzovaného heterocyklu - imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu, který také bývá nazýván ethenocytosin. Tyto látky lze halogenovat a podrobit cross-coupling reakcím. Vzhledem k přítomnosti poměrně kyselého amidického vodíku je vhodnou metodou Suzuki-Miyaura cross-coupling.

Deriváty pyrazolu mají široké uplatnění, zejména jako léčiva. Tyto sloučeniny mají také zajímavé koordinační vlastnosti, zejména po přidání dalších koordinačních center. Proto byla pozornost věnována především pyridin-2-yl substituentům, které byly zavedeny do různých pozic pyrazolového jádra. Principiálně lze pro zavedení arylového substituentu do polohy 4 pyrazolu využít celou řadu cross-coupling reakcí, protože molekula neobsahuje žádné citlivé funkční skupiny.

p-Terfenylové sloučeniny byly navrženy jako vhodné výchozí sloučeniny pro syntézu nesymetricky substituovaných *p*-quaterfenylů (Schéma 1), a zároveň jako modelové produkty pro optimalizaci cross-coupling reakce. Vzhledem k přítomnosti fenolické hydroxyskupiny v molekule výchozího 4'-halogenbifenyl-4-olu je Suzuki-Miyaura reakce vhodnou metodou, nevyžadující chránění hydroxyly. V těchto případech lze využít heterogenní katalýzu pomocí Pd/C katalyzátoru. V rámci zvyšování efektivity cross-coupling reakcí, nejsou studovány jen heterogenně katalyzované reakce, ale i homogenní katalyzátory a ligandy, které jsou schopné katalyzovat tyto reakce ve vodném prostředí. Bylo připraveno několik palladiových komplexů a na podobných příkladech Suzuki-Miyaura reakce byla studována jejich katalytická aktivita ve vodném prostředí.

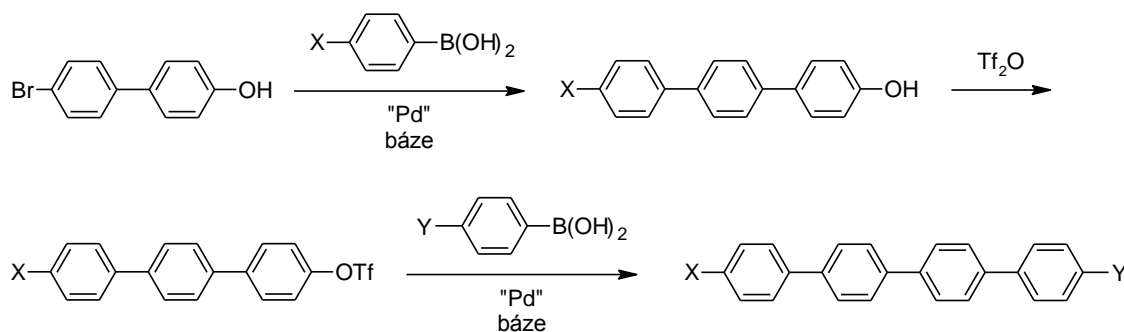


Schéma 1: Navržená syntéza nesymetricky substituovaných *p*-quaterfenylů.

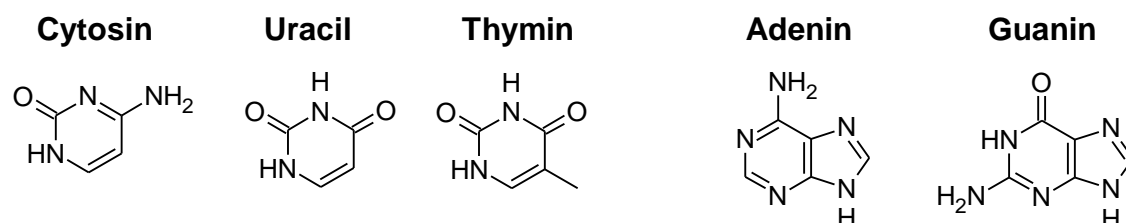
2. Teoretická část

2.1 Deriváty imidazopyrimidinu

V následujících kapitolách budou stručně představeny nejen imidazo[1,2-*c*]pyrimidiny odvozené od cytosinu, ale i strukturně podobné sloučeniny, kterými jsou imidazo[1,2-*a*]pyridiny a imidazo[1,2-*a*]pyrimidiny.

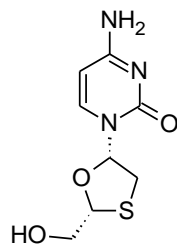
2.1.1 Cytosin a jeho halogenace

Cytosin je důležitá organická molekula, patřící, společně s uracilem a thyminem, do skupiny pyrimidinových nukleových bází (Obrázek 2). Tyto pyrimidinové báze, a také purinové báze adenin a guanin tvoří základní stavební jednotky DNA a RNA. Tyto biopolymery se vyznačují složitými strukturami, v kterých se nukleové báze definovaným způsobem navzájem vážou pomocí nekovalentních interakcí.

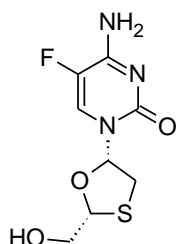


Obrázek 2: Pyrimidinové a purinové nukleové báze.

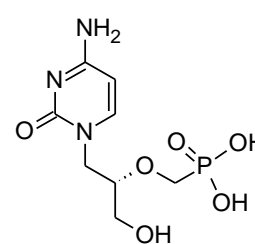
Strukturní modifikace nukleových bází mohou vést k biologicky aktivním látkám. Protože se jedná o modifikace přirozených metabolitů, nazývají se taková strukturní analoga jako antimetabolity. Díky struktuře, podobné přirozeným metabolitům, jsou antimetabolity schopné vstoupit do metabolického procesu a zablockovat některý z jeho stupňů. Tohoto účinku se využívá zejména v terapii virových a nádorových onemocnění. Existuje značné množství antimetabolitů nukleových bází. V případě antimetabolitů cytosinu se v klinické praxi používají zejména antivirotika lamivudin, emtricitabin a cidofovir a cytostatika cytarabin, gemcitabin a kapecitabin (Obrázek 3).¹

Antivirotika:

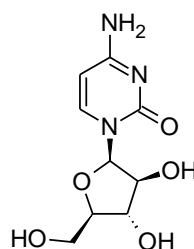
lamivudin (1995)



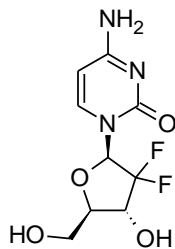
emtricitabin (2003)



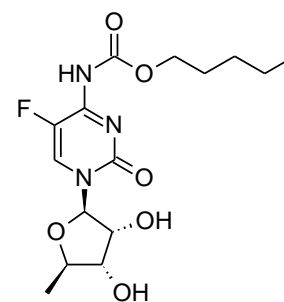
cidofovir (1996)

Cytostatika:

cytarabin (1969)



gemcitabin (1995)



kapecitabin (1998)

Obrázek 3: Antivirotika a cytostatika odvozená od cytosinu (v závorce je uveden rok uvedení léčiva na trh).²

Biologickou aktivitu vykazuje i jednoduchý analog 5-fluorcytosin (flucytosin), který je na trhu od roku 1972, a používá se dodnes jako antifungální látka.³ Jeho příprava (Schéma 2) vychází z 5-fluoruracilu, který je známým cytostatikem.⁴ V poslední době byla popsána přímá fluorace cytosinu v průtočném reaktoru (Schéma 3).⁴

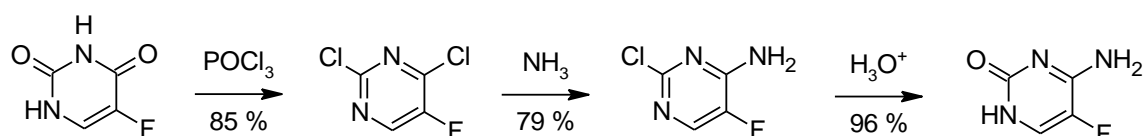
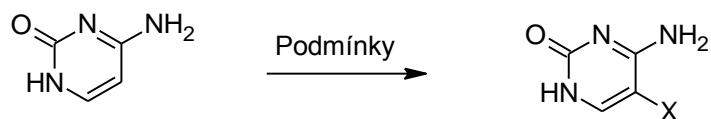


Schéma 2: Syntéza flucytosinu z 5-fluoruracilu.

Možnosti halogenace cytosinu popisuje Schéma 3. 5-Chlorcytosin lze připravit přímou chlorací působením *N*-chlorsukcinimidu (NCS) v kyselině octové za laboratorní⁵ či zvýšené teploty.⁶ Bromaci cytosinu lze uskutečnit bromem ve vodném prostředí, produktem této reakce je hydrobromid, který lze působením báze převést na 5-bromcytosin.⁷ Jodace cytosinu byla popsána již v roce 1906.⁸ Reakce probíhá ve vodném roztoku hydroxidu draselného, jodačním činidlem je jod.



X = F, 83 %, Podm.: 10% F₂ v N₂, HCOOH, kontinuální průtočný reaktor

X = Cl, 69 %, Podm.: NCS/AcOH/105 °C/1,5 h

X = Br, 87 %, Podm.: 1) Br₂/H₂O/rt, 2) NH₃/H₂O

X = I, Podm.: I₂/KOH/H₂O

Schéma 3: Halogenace cytosinu.

V rámci této práce byla provedena jodace, bromace a chlorace cytosinu, což bylo publikováno v roce 2014 (viz Přílohy 1 a 2).

2.1.2 Syntéza a vlastnosti imidazopyrimidinů a příbuzných sloučenin

Je známo, že reakce 2-aminopyridinů, 2-aminopyrimidinů a 4-aminopyrimidinů, s α -halogenkarbonylovými sloučeninami poskytují příslušné kondenzované heterocykly s terciárním dusíkovým atomem, který je společný pro oba cykly (tzv. bridgehead nitrogen).⁹⁻¹¹ Naprostá většina takovýchto kondenzovaných heterocyklů se nevyskytuje v přírodě, z pohledu biologické aktivity jsou ale velmi zajímavé. To může být způsobeno strukturální podobností s indoly a puriny.¹²

2.1.2.1 Imidazo[1,2-*a*]pyridiny a imidazo[1,2-*a*]pyrimidiny

Reakcí 2-aminopyridinů či 2-aminopyrimidinů s α -halogenkarbonylovými sloučeninami vzniká 2-substituovaný imidazo[1,2-*a*]pyridin¹³ či imidazo[1,2-*a*]pyrimidin¹⁰ (Schéma 4).

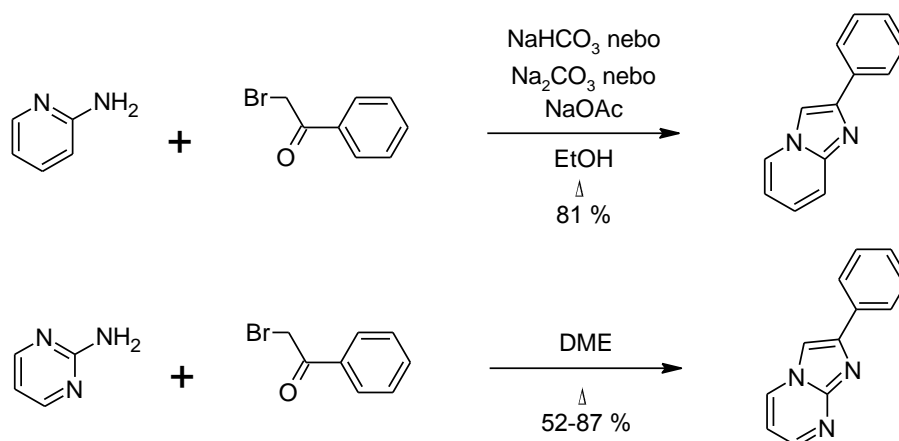


Schéma 4: Syntéza 2-substituovaného imidazo[1,2-*a*]pyridinu a imidazo[1,2-*a*]pyrimidinu.

Tyto reakce byly provedeny v organickém rozpouštědle s anorganickou bází nebo zcela bez báze. Při katalýze organickou bází DABCO ve vodném prostředí bylo dosaženo opačné regioselektivity, vznikl 3-substituovaný imidazo[1,2-*a*]pyridin (Schéma 5).¹⁴

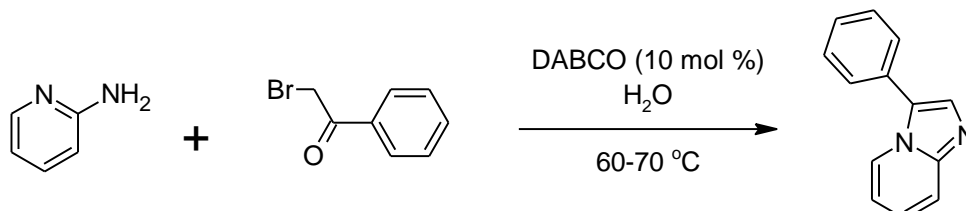
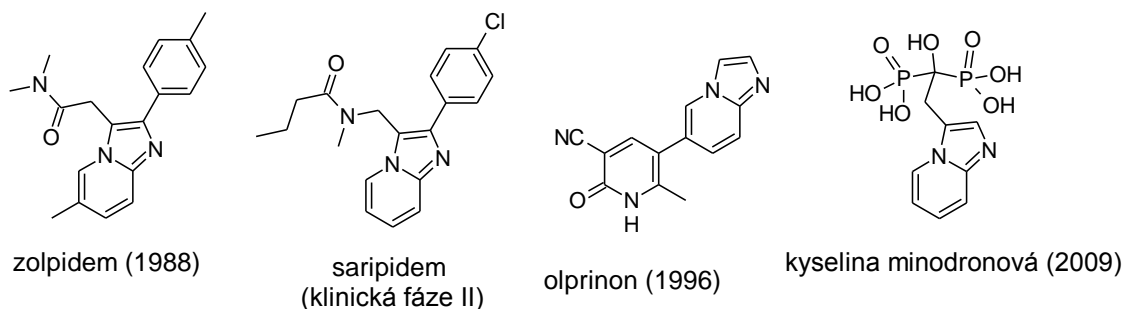


Schéma 5: Syntéza 3-substituovaného imidazo[1,2-*a*]pyridinu.

Imidazo[1,2-*a*]pyrimidiny a zejména imidazo[1,2-*a*]pyridiny jsou poměrně dobře probádané z pohledu syntézy, reaktivity i využití. Důvodem je zejména široká škála biologických vlastností, kterou tyto sloučeniny vykazují. Pravděpodobně nejznámějším léčivem se skeletem imidazo[1,2-*a*]pyridinu je hypnotikum zolpidem.¹⁵ V klinických testech se pak nachází příbuzné léčivo saripidem.² Dalšími komerčními léčivy jsou kardiotonikum olprinon a kyselina minodronová, která se používá pro léčbu osteoporózy (Obrázek 4).²



Obrázek 4: Léčiva odvozená od imidazo[1,2-*a*]pyridinu (v závorce je uveden rok uvedení léčiva na trh).²

Dále byly imidazo[1,2-*a*]pyridiny studovány pro svoji antivirovou,^{16,17} antituberkulotickou,^{18,19} protirakovinnou,^{20,21} antiparazitickou,²² antibakteriální,¹⁰ antifungální,²³ kardiotonickou²⁴ a protizánětlivou²⁵ aktivitu.

2.1.2.2 Imidazo[1,2-*c*]pyrimidiny

Obdobná reakce s α -halogenkarbonylovými sloučeninami probíhá i v případě 4-aminopyrimidinů (Schéma 6).²⁶ Při refluxu v ethanolu byly popsány poměrně nízké výtěžky (20-30 %) 2-substituovaných imidazo[1,2-*c*]pyrimidinů.²⁶ Vyšších výtěžků bylo dosaženo při reakcích s chloracetaldehydem (49-80 %)²⁷ nebo α -brom-2,4-dimethoxyacetofenonem (99 %) v DMF.²⁸

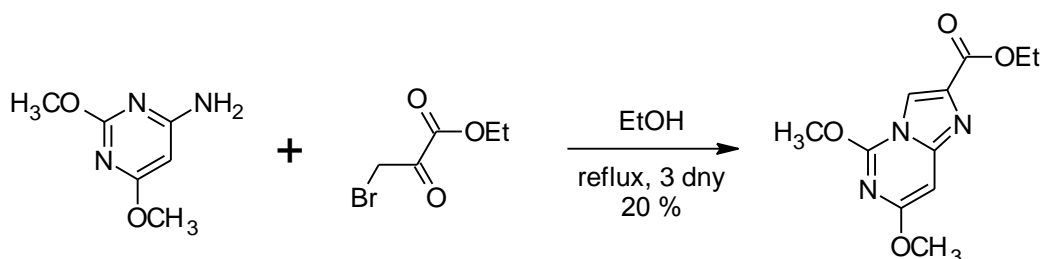


Schéma 6: Příklad syntézy 2-substituovaného derivátu imidazo[1,2-*c*]pyrimidinu.

Skelet imidazo[1,2-*c*]pyrimidinu vzniká i při reakci adeninu a cytosinu s α -halogenkarbonylovými sloučeninami. Tuto reakci poprvé představil Kochetkov *et al*, kteří popsali reakci 9-methyladeninu a cytosinu s chloracetaldehydem (Schéma 7).²⁹ Výsledkem reakce cytosinu je imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-on, tzv. ethenocytosin (Schéma 7).

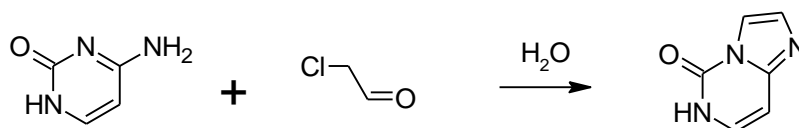


Schéma 7: Syntéza imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu (ethenocytosinu).

V následujícím období se tento typ reakce stal zajímavou možností pro syntézu modifikovaných nukleových bází s užitečnými biologickými, fluorescenčními a párovacími vlastnostmi.³⁰⁻³³ Byla popsána biologická aktivita některých derivátů ethenocytosinu, které jsou např. selektivními ligandy GABA_A receptoru.³⁴ Ethenocytosinová analoga nukleosidů byla testována jako antivirotika³⁵ a projevily aktivitu proti viru hepatitidy B^{36,37} a HIV³⁸. V patentové literatuře bylo popsáno jejich využití jakožto allosterických modulátorů mGluR5 receptorů pro terapii neurologických a psychiatrických onemocnění.^{39,40} V poslední době byla patentována skupina 2,6-substituovaných ethenocytosinů, sloužících jako antifungální a antiparazitické látky.⁴¹

V rámci této práce byla připravena série 8-halogenovaných ethenocytosinů, syntetizovaných z příslušných 5-halogencytosinů a chloroacetaldehydu, což bylo publikováno v roce 2014 (viz Přílohy 1 a 2).

2.1.3 Halogenace imidazopyrimidinů a příbuzných sloučenin

Je známo, že elektrofilní substituce imidazo[1,2-*a*]pyridinů probíhá do polohy 3.⁴² Jodace těchto sloučenin je dobře popsána v literatuře a lze pro ni využít činidla, jakými jsou jod v pyridinu⁴³ nebo v chloroformu,⁴⁴ ICl v chloroformu⁴⁵ a především NIS v acetonitrilu.⁴⁶ Stejná regioselektivita halogenace byla popsána pro imidazo[1,2-*a*]pyrimidiny.¹⁰

Na rozdíl od imidazo[1,2-*a*]pyridinů, pro případ 2,3-nesubstituovaných imidazo[1,2-*c*]pyrimidinů bylo publikováno poměrně málo informací o jejich halogenaci. Tyto reakce se zdají být méně selektivní a mající menší výtěžky, což by mohlo být způsobeno deaktivací druhým dusíkem pyridinového typu.⁴⁷ V případě chinazolinových derivátů se strukturálním motivem imidazo[1,2-*c*]pyrimidinu byla při bromaci bromem v kyselině octové nebo NBS v tetrachlormethanu získána směs 2,3-dibrom- a 2-bromderivátu (Schéma 8).⁴⁷

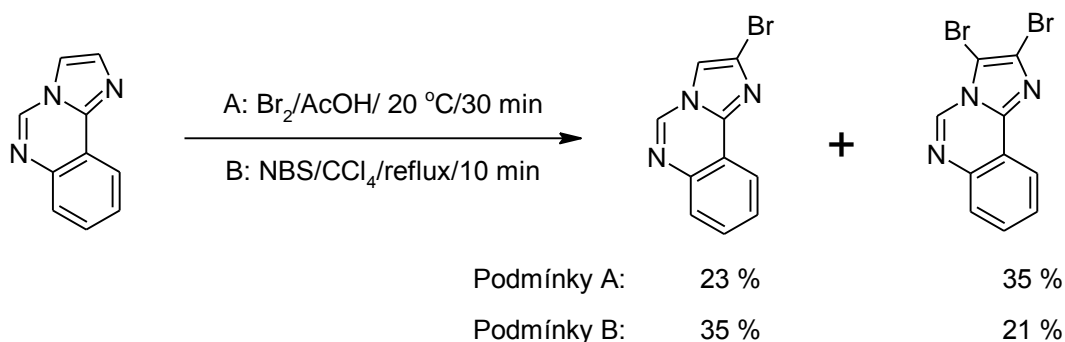


Schéma 8: Bromace imidazo[1,2-*c*]chinazolinu.

Halogenace ethenocytosinů byla velmi stručně popsána jen v patentové literatuře. Jedná se o 3,8-dichloraci a 3,8-dibromaci 7-(2,4-dichlorfenyl)imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu v nízkém výtěžku (26 a 12 %) (Schéma 9).⁴⁸

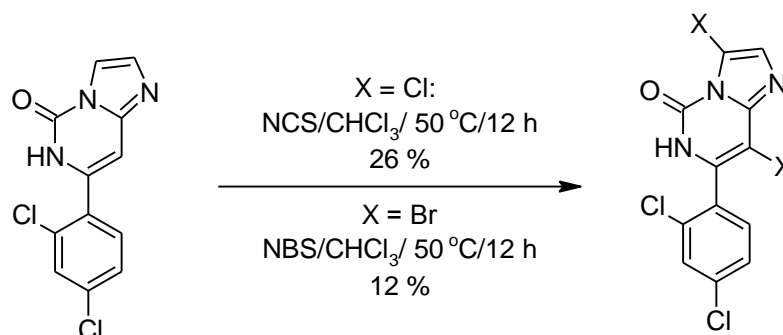


Schéma 9: Halogenace 7-(2,4-dichlorfenyl)imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu.

Dále byla popsána 3-chlorace 7-methyl-6-fenylimidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu ve výtěžku 23 % (Schéma 10).⁴⁹

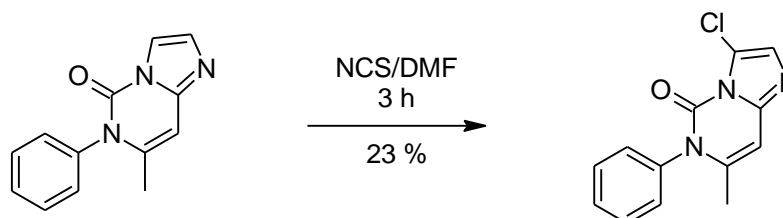


Schéma 10: Chlorace 7-methyl-6-fenylimidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu.

Literární rešerše odhalila pouze jeden odkaz na jodaci ethenocytosinového skeletu a to jodaci 6-benzylimidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu jodem v methanolu, za přítomnosti octanu sodného (Schéma 11). Autoři popisují jodaci do polohy 3 ve výtěžku 46 %.⁵⁰

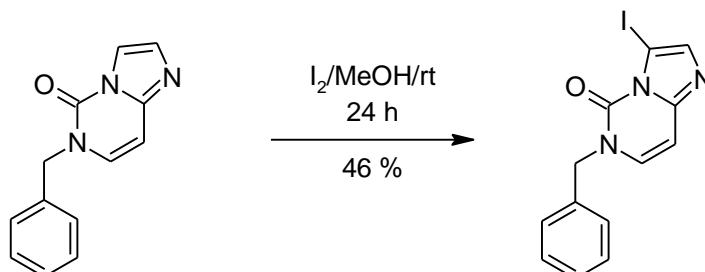


Schéma 11: Jodace 6-benzylimidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu.

V rámci této práce byla popsána jodace ethenocytosinů do poloh 3 a 8, což bylo publikováno v roce 2014 (viz Příloha 2).

2.1.4 Přesmyky imidazopyrimidinů a příbuzných sloučenin

Dimrothův přesmyk je známý zejména z chemie triazolů jako výměna exocyklického a endocyklického dusíku (Schéma 12).⁵¹ Analogické přesmyky se vyskytují i u kondenzovaných heterocyklů a byly popsány u všech třech typů výše diskutovaných sloučenin: imidazo[1,2-*a*]pyridinů, imidazo[1,2-*a*]pyrimidinů a imidazo[1,2-*c*]pyrimidinů. Tyto přesmyky bývají nazývány jako přesmyky Dimrothova typu (Dimroth-type rearrangement). Podrobné informace lze získat z přehledného článku a v něm citovaných článků.⁵²

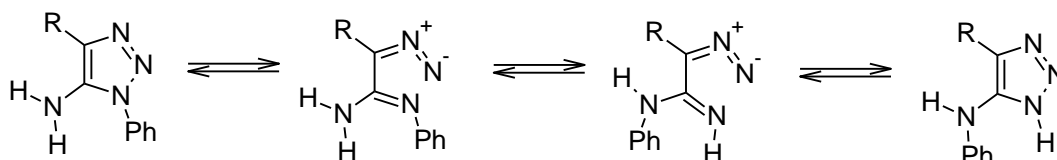


Schéma 12: Dimrothův přesmyk 1,2,3-triazolů.

3-Methylimidazo[1,2-*a*]pyridin za bazických podmínek nepřesmykuje na odpovídající 2-methylderivát (Schéma 13).⁵³ Jakmile byl imidazo[1,2-*a*]pyridin aktivován elektronakceptorní nitroskupinou v pozici 6 nebo 8, přesmyk probíhal ve vodném bazickém prostředí.⁵⁴

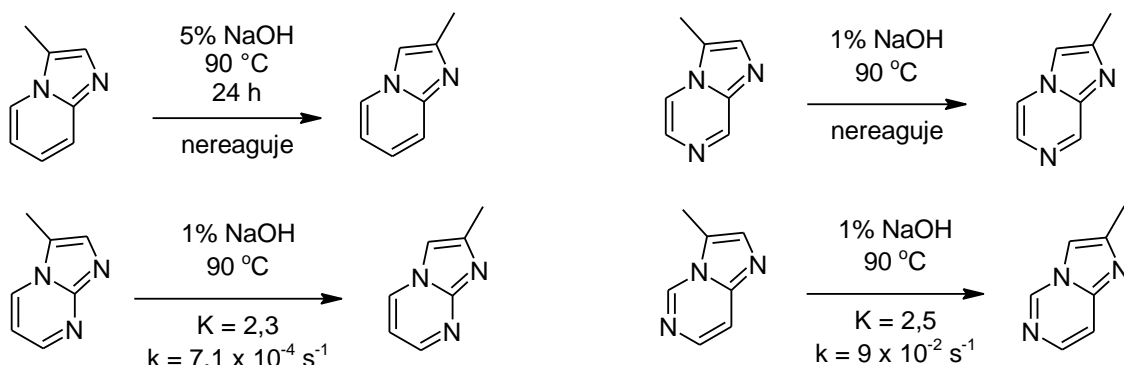


Schéma 13: Přesmyky imidazosloučenin a jejich rovnovážné (K) a rychlostní konstanty prvního řádu (k).⁵³

Dalším způsobem aktivace je zavedení dalšího heterocyklického dusíku do šestičlenného kruhu, jako je tomu v imidazopyrimidinech či imidazopyrazinech. Tento dusík, díky svému elektronakceptornímu charakteru, aktivuje pozici 5 pro nukleofilní atak. Výsledkem je snadnější přesmyk. 3-Methylimidazo[1,2-*a*]pyrimidiny přesmykují na odpovídající 2-methylderiváty zahříváním v 1% roztoku NaOH (Schéma 13). Při pokusech o přesmyk 3-methyl- a 2-methylimidazo[1,2-*c*]pyrazinů za stejných podmínek však k žádnému přesmyku nedošlo, což je evidentně způsobeno tím, že pyrazinový dusík N7 není v konjugaci s uhlíkem C5 (Schéma 13). 3-Methylimidazo[1,2-*c*]pyrimidin přesmykuje na 2-methylderivát přibližně 130x rychleji než 3-methylimidazo[1,2-*a*]pyrimidin (Schéma 13). Reakce neprobíhaly kompletně, ale bylo dosaženo rovnováhy, rychlostní a rovnovážné konstanty jsou uvedeny ve Schématu 13. Některé reakce byly testovány v kyselém prostředí, ale v případě 24 hodinového zahřívání 3-methylimidazo[1,2-*a*]pyridinu v 10% kyselině chlorovodíkové nebo 3,7-dimethyl-5-oxo-8*H*-imidazo[1,2-*a*]pyrimidinu v kyselině mravenčí přesmyk neproběhl a sloučeniny zůstaly nezměněné.⁵³

Výsledky kinetických studií lze nejlépe vysvětlit tak, že rychlost-určujícím stupněm je nukleofilní atak hydroxidového iontu na pozici 5. Následuje proton-transfer z vody na dusík za regenerace hydroxidového iontu, výsledkem je hydratovaný heterocyklus (Schéma 14) Tato reakce je urychlována substituenty, které odčerpávají elektrony z pozice C5. Následuje tautomerní otevření kruhu a jeho opětovné uzavření z opačné, stericky méně stíněné, strany imidazolu za uvolnění vody (Schéma 14).⁵³

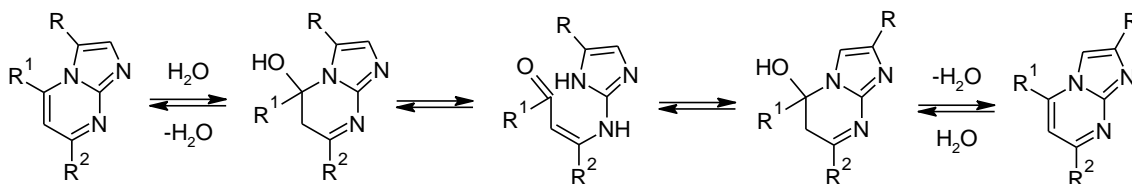


Schéma 14: Publikovaný mechanismus přesmyku imidazo[1,2-a]pyrimidinů,⁵³ pozn.: u hydratace se předpokládá bazická katalýza OH⁻ iontem

V ethenocytosinech je v pozici 5 karbonylová skupina, která může díky své polarizaci dále aktivovat uhlík C5 pro nukleofilní atak. První přesmyk ethenocytosinového skeletu publikovali Ivancsics a Zbiral, kteří popisují rovnováhu mezi originálním a přesmyknutým produktem v poměru cca 1:1.⁵⁵

Izomerizaci 1,3,4,6-tetraazapentalenů popsali Bhat a Leonard.^{56, 57} V bazickém prostředí výchozí látka s konfigurací *syn* poskytla *anti*-konfiguraci v dobrém výtěžku (Schéma 15). Arnold *et al* popsali kysele katalyzovaný přesmyk imidazo[1,2-c]chinazolin-5(6H)-onů (Schéma 16).⁵⁸ Autoři popisují u přesmyku kompletní konverzi a vliv substituentu na rychlost reakce. Dle očekávání reakci urychlují elektronakceptorní substituenty, usnadňující nukleofilní atak na karbonylovou skupinu.

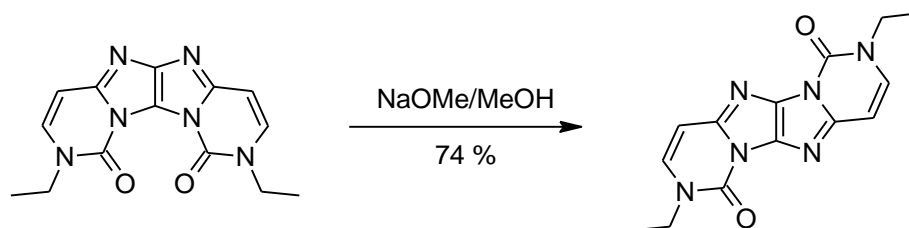


Schéma 15: *Syn-anti* izomerizace 1,3,4,6-tetraazapentalenů.

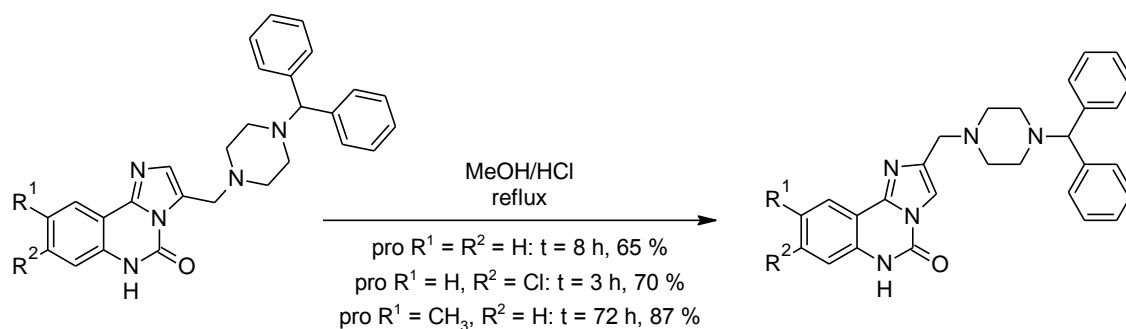


Schéma 16: Přesmyk imidazo[1,2-c]chinazolin-5(6H)-onů.

V rámci této práce byly realizovány přesmyky 3-jodethenocytosinů na odpovídající 2-jodderiváty, což bylo publikováno v roce 2014 (viz Příloha 2).

2.1.5 Cross-coupling reakce halogenovaných cytosinů a příbuzných sloučenin

Jedním z hlavních cílů práce byla arylace heterocyklů, zejména arylace ethenocytosinu do polohy 8. K tomuto účelu se dobře hodí cross-coupling reakce, obzvláště v případě kdy je dostupný výchozí halogenderivát. Vzhledem k přítomnosti kyselého amidického vodíku v molekule ethenocytosinu, případně dalších citlivých funkčních skupin se pro uvedenou reakci dobře hodí Suzuki-Miyaura cross-coupling reakce,⁵⁹ která vykazuje dobrou toleranci k funkčním skupinám. V obecné rovině se jedná o reakce boronových kyselin a jejich derivátů, resp. boranů s halogenderiváty, trifláty, tosyláty či diazonium tetrafluoroboráty. Průběh Suzuki-Miyaura reakce silně ovlivňují aplikované podmínky reakce (rozpouštědlo, katalyzátor, ligand, báze, teplota). V případě heterocyklů, navíc může docházet ke koordinačním reakcím mezi katalyzátorem a heterocyklickými reagenty či produkty.⁶⁰

Pro případ substituce 5-jodcytosinu cross-couplingem byly popsány pouze Sonogashira cross-coupling reakce⁶¹ (Schéma 17).^{62,63}

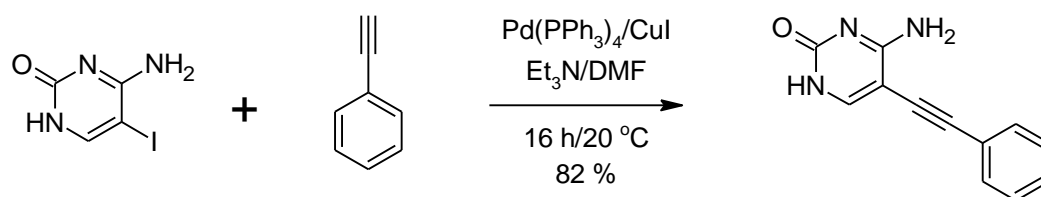


Schéma 17: Sonogashira cross-coupling na 5-jodcytosinu.⁶²

Suzuki-Miyaura arylační reakce byly popsány pro případ 3-substituovaných nukleosidů cytosinu. Mayer *et al* publikovali modifikaci deoxycytidinu (a dalších nukleosidů) pyrenem (Schéma 18), získané produkty vykazovaly fluorescenci.⁶⁴

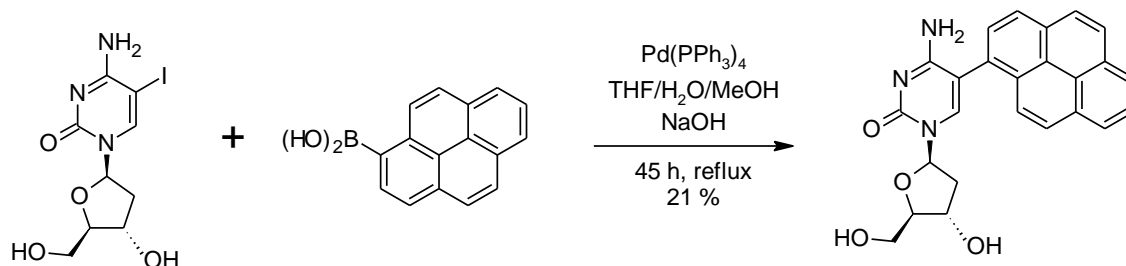


Schéma 18: Syntéza 5-(1-pyrenyl)-2'-deoxycytidinu.

Raindlová *et al* popsali modifikaci deoxycytidin monofosfátu a deoxycytidin trifosfátu substituovanými boronovými kyselinami (Schéma 19). Reakce probíhaly v přítomnosti ve vodě rozpustného ligandu trifenylfosfin-3,3',3''-trisulfonátu trisodného (TPPTS). U všech testovaných reakcí byl pozorován vyšší výtěžek u monofosfátu než u trifosfátu.⁶⁵

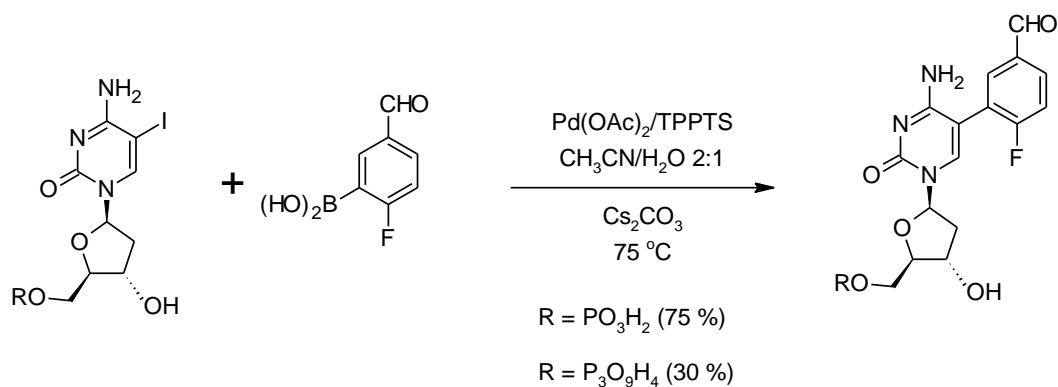


Schéma 19: Arylace deoxycytidin monofosfátu a deoxycytidin trifosfátu.

Pro případ ethenocytosinů byl v nejnovější literatuře uveden jeden příklad arylace polohy 8, která na základě podobnosti odpovídá pozici 5 cytosinu (Schéma 20).⁶⁶ Dále byla popsána pouze arylace do polohy 7 (Schéma 21).⁶⁷

V rámci této práce byl realizován Suzuki-Miyaura cross-coupling arylboronových kyselin do polohy 8 ethenocytosinu, což bylo publikováno v roce 2014 (viz Příloha 1).

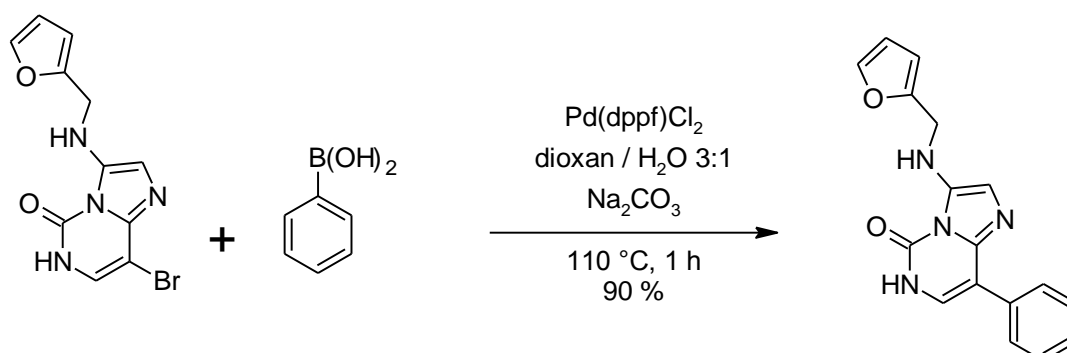


Schéma 20: Arylace ethenocytosinu do polohy 8.

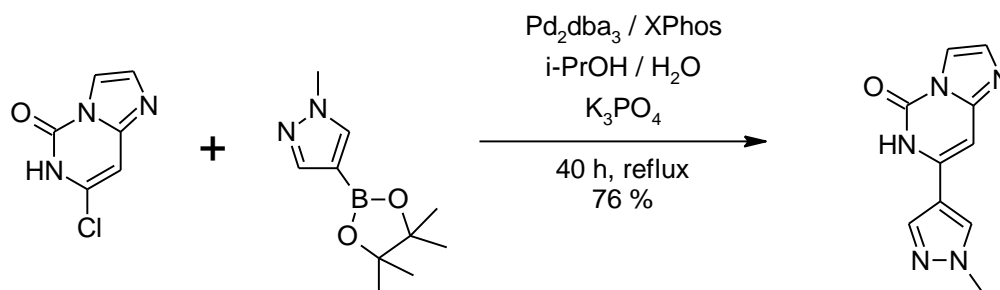


Schéma 21: Arylace ethenocytosinu do polohy 7.

Imidazo[1,2-*a*]pyrimidiny mají polohu 8 obsazenou dusíkem. Arylační cross-coupling reakce byly popsány do poloh 3 a 6. To lze dobře ilustrovat na příkladu, kdy byla nejprve provedena arylace polohy 6 pomocí Suzuki-Miyaura reakce. Následně byla provedena bromace do polohy 3, do které pak byl analogickou reakcí zaveden jiný arylový substituent (Schéma 22).⁶⁸

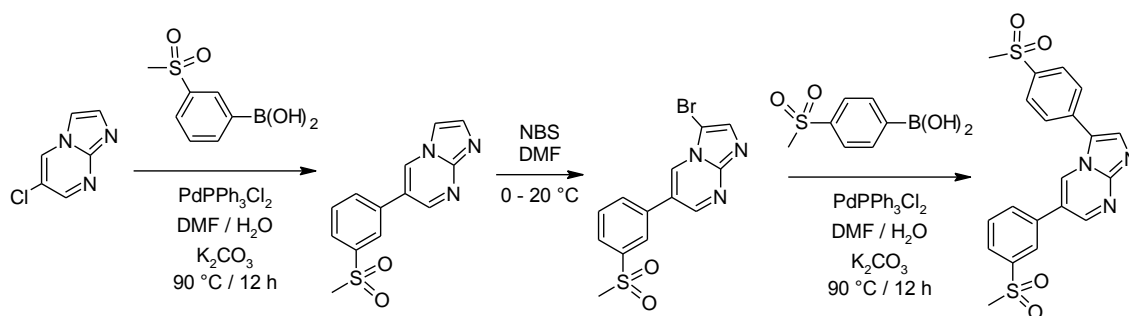


Schéma 22: Postupná arylace imidazo[1,2-*a*]pyrimidinu do poloh 6 a 3.

Nejhojněji byly cross-coupling reakce studovány u imidazo[1,2-*a*]pyridinů. Jejich halogenderiváty lze regioselektivně substituovat v polohách 7,8 cross-coupling reakcemi (Suzuki-Miyaura,⁵⁹ Sonogashira,⁶¹ Buchwald-Hartwig⁶⁹) (Schéma 23).⁷⁰ Byla popsána i arylace všech ostatních poloh: polohy 6,⁷¹ polohy 5,⁷² polohy 3⁽⁷³⁾ i polohy 2.⁷⁴ Do polohy 3 lze arylovat i přímo (aktivace CH vazby) arylbromidem za katalýzy octanem palladnatým⁷² nebo dokonce arylchloridem za použití Pd katalyzátoru na bázi N-heterocyklického karbenu.⁷⁵ Výše uvedená literatura je z nedávné doby a jasně dokumentuje značný zájem chemiků o tuto skupinu látek.

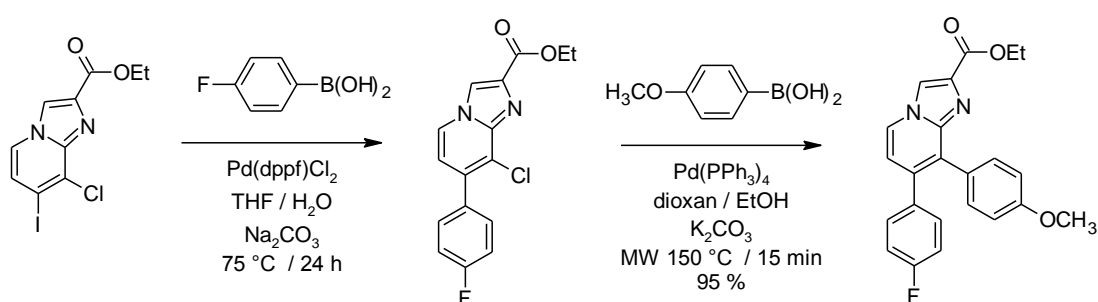
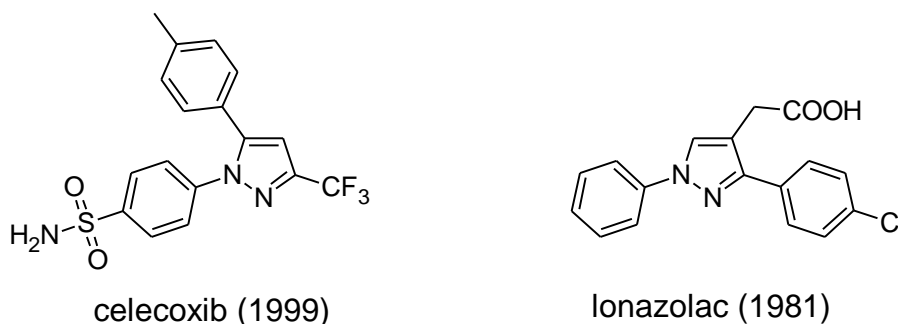


Schéma 23: Postupná arylace imidazo[1,2-*a*]pyridinu do poloh 7 a 8.

2.2 Deriváty pyrazolu

Pyrazolové jádro je častým motivem léčiv,^{76,77} biologicky aktivních látek,^{78,79} agrochemikálií,⁸⁰ barviv,⁸¹ fluorescenčních materiálů^{82,83} a ligandů komplexačních činidel.⁸⁴⁻⁸⁶

Pyrazoly, substituované arylovými substituenty, se používají jako nesteroidní protizánětlivé látky, např. lonazolac⁸⁷ nebo dobře známý inhibitor COX-2 celecoxib⁸⁸ (Obrázek 5).



Obrázek 5: Nesteroidní protizánětlivé látky odvozené od pyrazolu (v závorce je uveden rok uvedení léčiva na trh).²

Potenciálními aplikacemi tetrasubstituovaných pyrazolů jsou například antagonismus estrogenových receptorů^{89,90}, antagonismus endothelinu,⁹¹ inhibitory lipooxygenázy⁹² a speciální luminofory.⁹³

Pro tyto sloučeniny byly publikovány různé syntetické postupy. Asi nejběžnější strategií je reakce 1,3-dikarbonylových sloučenin nebo α,β -nenasycených karbonylových sloučenin se substituovanými hydraziny.^{79,81,94} Nevýhodou těchto reakcí je špatná regiosektivita, v případě nesymetrických 1,3-dikarbonylových sloučenin obvykle vzniká směs 1,5- a 1,3-disubstituovaných pyrazolů.⁹⁵ Proto byly popsány i jiné postupy, např. regiosektivní metalace N-chráněných pyrazolů^{96,97} nebo postupné cross-coupling reakce, vycházející z 3-jodpyrazolu.⁹⁸

V rámci této práce byla navržena syntéza ze symetrických 1,3-diketonů, kde nejsou problémy s regiosektivitou. Polohu 4 lze po halogenaci substituovat cross-coupling reakcemi. Problematikou 4-arylace 5-amino- a 5-acylaminopyrazolů se v nedávné době zabýval tým doc. Cankáře z Katedry organické chemie Univerzity Palackého. Jedinák *et al* našli efektivní katalytický systém a potlačili vedlejší dehalogenační reakci na minimum (Schéma 24).^{99,100} S ohledem na dehalogenaci bylo

doporučeno použití brom- a chlorderivátů, jakožto elektrofilů. Při reakcích jodderivátů byl pozorován větší podíl nežádoucí dehalogenace.^{99,100}

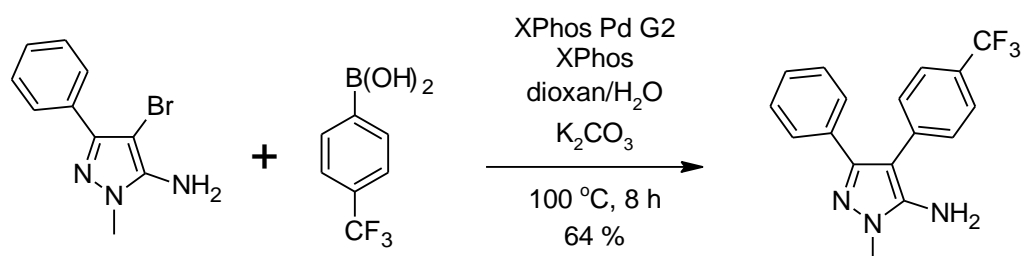


Schéma 24: Suzuki-Miyaura reakce 5-amino-4-brom-1,3-substituovaných pyrazolů.

Pro případ syntézy 3-trifluormethyl-1,4,5-substituovaných pyrazolů byla popsána Stille cross-coupling reakce¹⁰¹ s mikrovlnným ohřevem (Schéma 25).¹⁰²

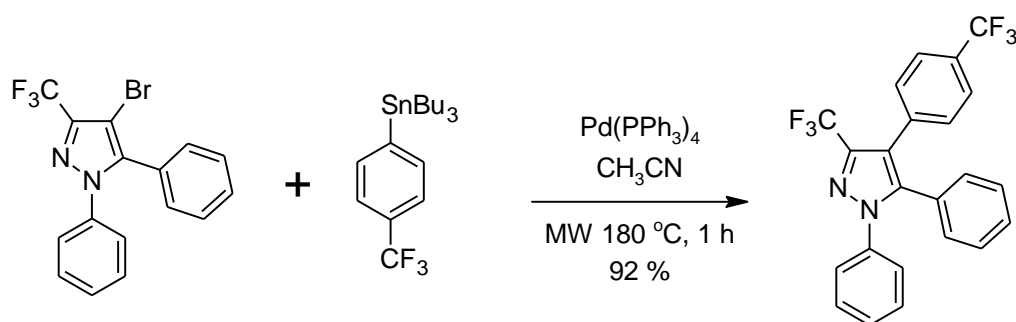


Schéma 25: Stille coupling 4-brom-3-trifluormethyl-1,5-substituovaných pyrazolů.

Wiethan *et al* publikovali přípravu 5-trifluormethyl-1,3,4-substituovaných pyrazolů pomocí Negishi cross-coupling reakce¹⁰³ (Schéma 26).¹⁰⁴ Autoři popisují dobré výtěžky 76-94 % při reakcích se substituovanými fenzylzinkum chloridy a s 2-thienylzinkum chloridem, ale v případě reakcí s 2- nebo 3-pyridylzinkumchloridem popisují nízkou konverzi (< 25 %). Sloučeniny s pyridylovými substituenty nebyly připraveny.

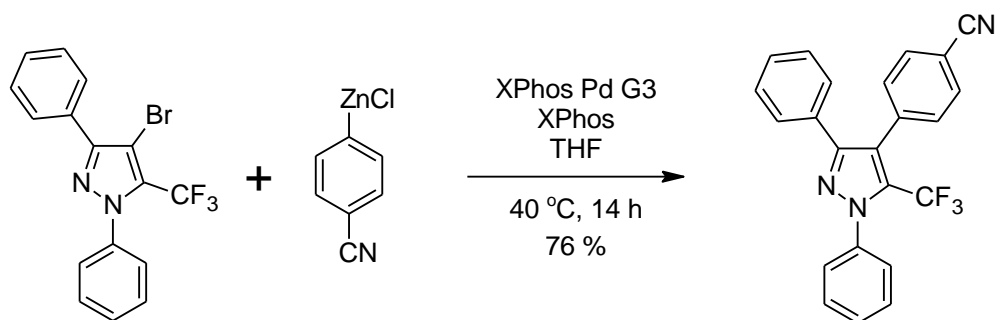
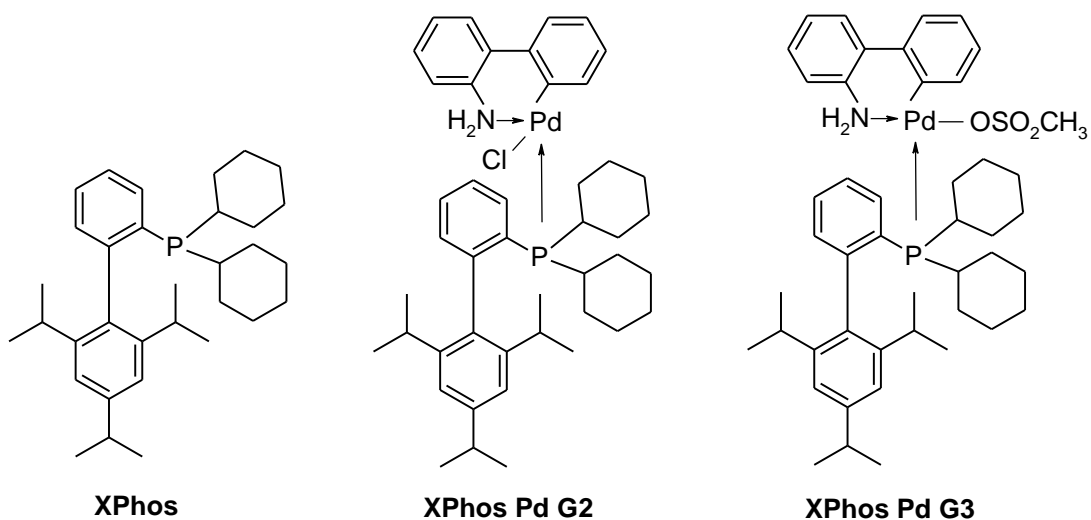


Schéma 26: Negishi coupling 4-brom-5-trifluormethyl-1,3-substituovaných pyrazolů.

Ve výše uvedených příkladech (Schéma 24 a 26) se používají moderní katalyzátory a ligandy na bázi XPhos, což je fosfinový ligand odvozený od bifenyly (Obrázek 6) Tento ligand je zastoupen i v komerčně dostupných katalyzátorech XPhos Pd G2 a XPhos Pd G3 (Obrázek 6).¹⁰⁵ Tyto katalyzátory a jejich kombinace s ligandem XPhos byly popsány jako velmi účinné pro Suzuki-Miyaura cross-coupling nechráněných dusíkatých heterocyklů¹⁰⁶ a pro Negishi cross-coupling málo reaktivních aryl- či heteroarylzinkum chloridů.¹⁰⁷



Obrázek 6: Ligand XPhos a jeho Pd komplexy, používané jako prekatalyzátory.

Pro arylaci 4-halogen-1,3,5-triarylpyrazolů byla popsána Suzuki-Miyaura reakce. Reakci p-tolylboronové kyseliny s 4-brom-1,3,5-trifenylypyrazolem popsali Li *et al* (Schéma 27).¹⁰⁸ Byla použita poměrně vysoká dávka katalyzátoru Pd(PPh₃)₄ (10 mol %) společně s ligandem PPh₃ (20 mol %).

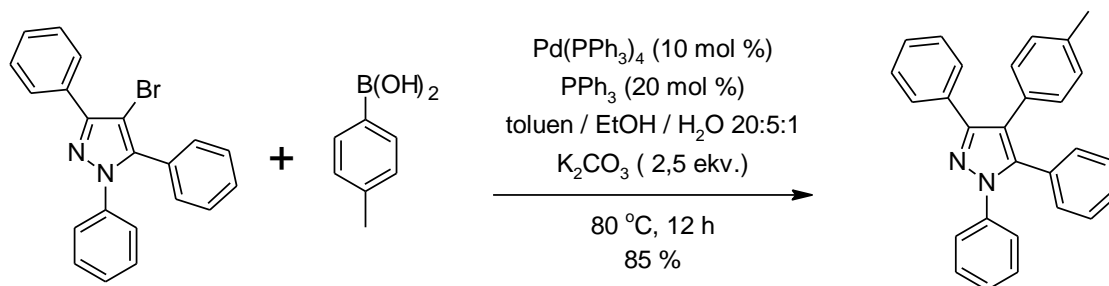
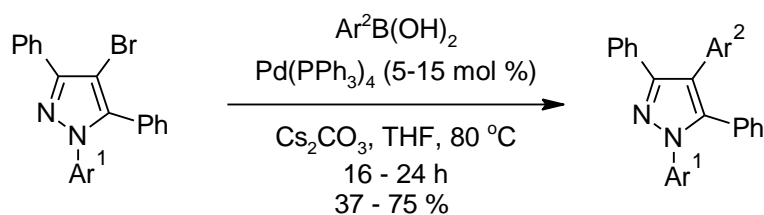


Schéma 27: Syntéza tetraarylpyrazolu Suzuki-Miyaura reakcí.

Reakce 4-brom-1,3,5-triarylpyrazolů s fenylboronovými kyselinami dále popisuje Mukherjee *et al* (Schéma 28).⁹³ Zpočátku byla pozorována nižší konverze a vyšší podíl nežádoucí dehalogenace, ale po optimalizaci reakčních podmínek se podařilo dosáhnout výtěžků 37-75 %. Autoři rovněž popisují poměrně vysoké dávky katalyzátoru 5-15 mol %.



Ar^1 = fenyl, 4-methoxyfenyl, 4-(trifluormethyl)fenyl, pyridin-2-yl

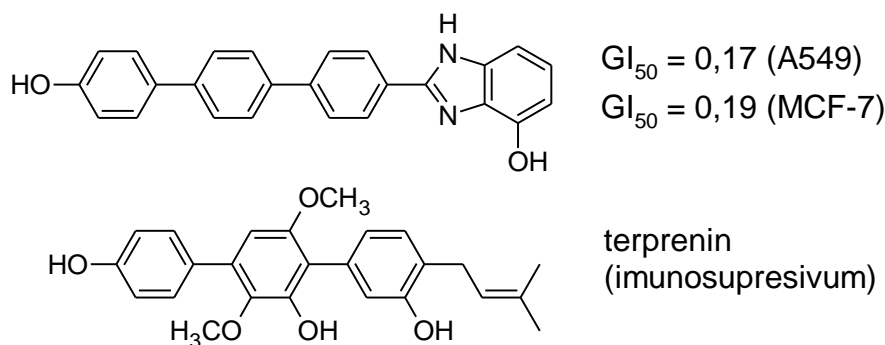
Ar^2 = fenyl, 4-methoxyfenyl, 2-methoxyfenyl, 4-formylfenyl, 2-fluorpyridin-3-yl

Schéma 28: Syntézy tetraarylpyrazolů Suzuki-Miyaura reakcí.

V rámci této práce byla realizována syntéza tetra(hetero)arylpyrazolů pomocí Negishi reakce, což bylo publikováno v roce 2017 (viz Příloha 3).

2.3 Deriváty *p*-terfenylu

p-Terfenylový skelet je začleněn v mnoha přírodních látkách a biologicky aktivních sloučeninách, jedná se především o hydroxy- a alkoxy-substituované *p*-terfenyly.¹⁰⁹ Takové *p*-terfenyly mohou vykazovat protirakovinnou aktivitu,¹¹⁰ příklad aktivního derivátu uvádí Obrázek 7.^{110b} Příkladem v přírodě se vyskytujícího derivátu *p*-terfenylu je terprenin (Obrázek 7),¹¹¹ který je v preklinickém testování jako imunosupresivum.²



Obrázek 7: Příklad biologicky aktivních derivátů *p*-terfenylu

Navíc jsou terfenyly a rovněž větší oligofenylénové sloučeniny zajímavé z pohledu použití jakožto materiálů pro elektroniku, např. kapalně krystal,¹¹² fotovoltaické¹¹³ a elektroluminiscenční materiály.¹¹⁴

Z těchto důvodů jsou syntetické metody vedoucí k *p*-terfenylům žádané. K tomuto účelu se dobře hodí cross-coupling reakce, u kterých je běžnou praxí homogenní katalýza.¹¹⁵ Byly popsány moderní a vysoce účinné ligandy, které mají zásadní význam pro náročnější reakce jako jsou couplingy boronových kyselin na arylchloridy¹¹⁶ nebo stericky bráněné substráty.¹¹⁷ Pro běžnější reakce více reaktivních substrátů se zdají být takové ligandy zbytečné. V těchto případech se heterogenní katalýza jeví jako levnější a praktická alternativa ke klasickým homogenním katalyzátorům. Obecně jsou výhodami heterogenních katalyzátorů zejména jejich nízká cena, možnost recyklace nebo regenerace, žádné toxické ligandy a nízký obsah palladia ve finálních produktech. Všechny tyto výhody vykazuje katalýza Pd/C katalyzátorem. Protože imobilizované komplexy kovů nenaplnily očekávání pro použití v průmyslu,¹¹⁸ vhodnými heterogenními katalyzátory by mohly být katalyzátory na nosiči, jako je Pd/C.

První Pd/C katalyzovanou Suzuki-Miyaura reakci popsal v roce 1994 Buchecker *et al.*¹¹⁹ Autoři zpočátku používali trifenylofosfin jako ligand a předpokládali,

že reakci katalyzuje palladiový komplex. Při testech však bylo zjištěno, že reakce funguje i bez ligandu. Reakce probíhala dobře na arylbromidech, slušných výtěžků bylo dosaženo i u triflátů, v případě arylchloridů reakce prakticky neprobíhala (Schéma 29). Záměnnou Pd/C katalyzátoru za octan palladnatý došlo k poklesu výtěžku téměř na polovinu (Schéma 29).

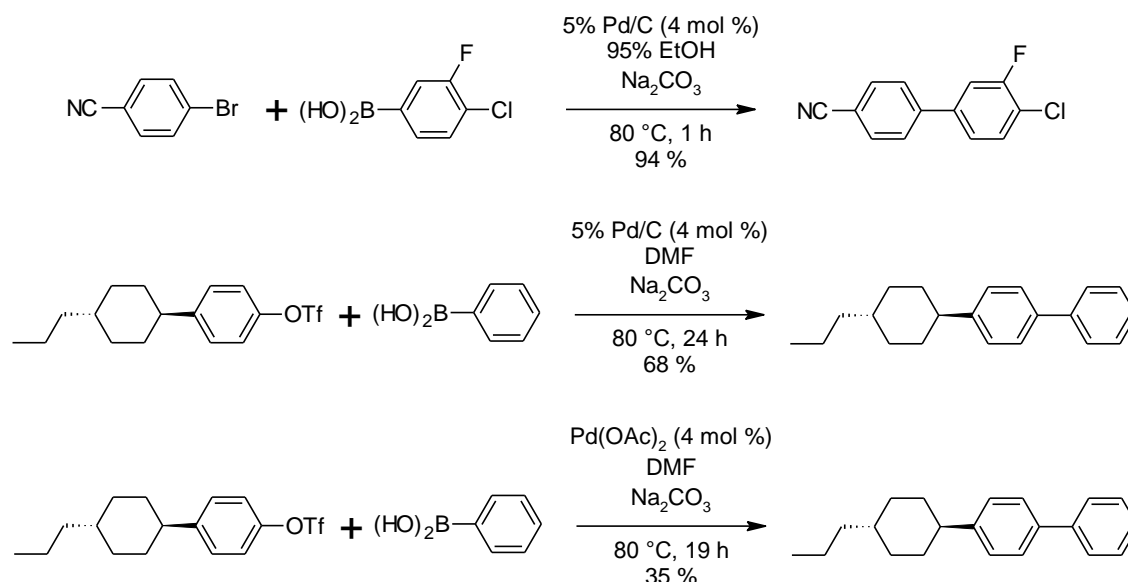


Schéma 29: První publikované Pd/C katalyzované reakce.

Následující práce, věnující se Pd/C katalýze, cílily především na syntézu biarylů. Preferované reakční podmínky zahrnují polární rozpouštědlo a anorganickou bázi, např.: NMP/H₂O/Na₂CO₃,¹²⁰ DMF/H₂O/K₂CO₃,¹²¹ DMA/H₂O/K₂CO₃,¹²² DME/H₂O/Na₂CO₃.¹²³ Jako efektivní reakční medium byly popsány alkoholy a jejich směsi s vodou, např.: *i*-PrOH/H₂O/Na₃PO₄,¹²⁴ EtOH/H₂O s K₂CO₃¹²⁵ nebo Na₂CO₃,^{119,124a,126} a MeOH/NaHCO₃^{124a} nebo MeOH/H₂O/Na₂CO₃.¹²⁷

Suzuki-Miyaura coupling nechráněných halogenfenolů byl realizován ve vodném prostředí s K₂CO₃ nebo KOH jako bázi.¹²⁸ V případě jodfenolů bylo dosaženo výborných výtěžků, dobré výtěžky poskytly i bromfenoly (Schéma 30),^{128c} zvláště byla-li reakční směs zahřívána mikrovlnami.^{128b,c,d}

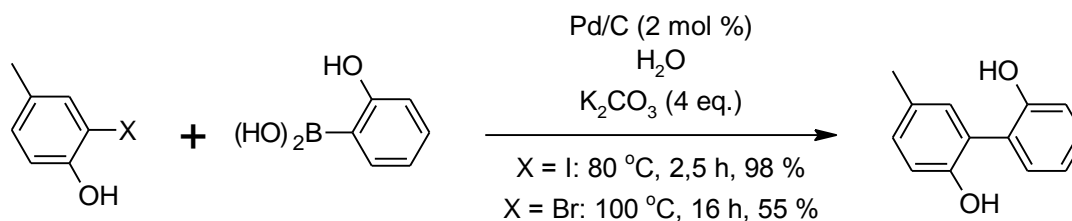


Schéma 30: Suzuki-Miyaura coupling halogenfenolů ve vodném prostředí.

Z výše uvedených příkladů je zřejmé, že podobně jako u homogenně katalyzovaných reakcí, je pro zajištění dobré reaktivity nezbytná správná kombinace rozpouštědla a báze, případně i dalších aditiv či ligandů.

Couplingové reakce jsou v současné době hlavní metodikou pro syntézu terfenylů a dalších oligofenylů.¹¹⁵ Efektivní Pd/C katalyzovanou metodu syntézy *p*-terfenylů publikovali Taylor *et al.*¹²⁹ Vychází z 4-bromfenyldiazonium tetrafluoroborátu na který lze bez přítomnosti báze navázat první fenylový zbytek za vzniku substituovaného brombifenyly. Po přidání báze a jiné boronové kyseliny dochází k substituci bromu a výsledkem je nesymetricky substituovaný *p*-terfenyl. Celou syntézu lze realizovat v provedení „one-pot“ (Schéma 31).

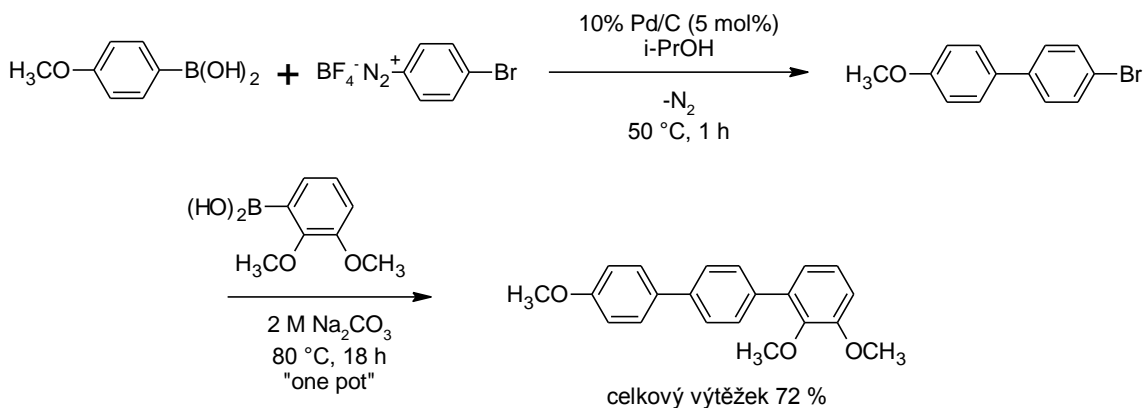
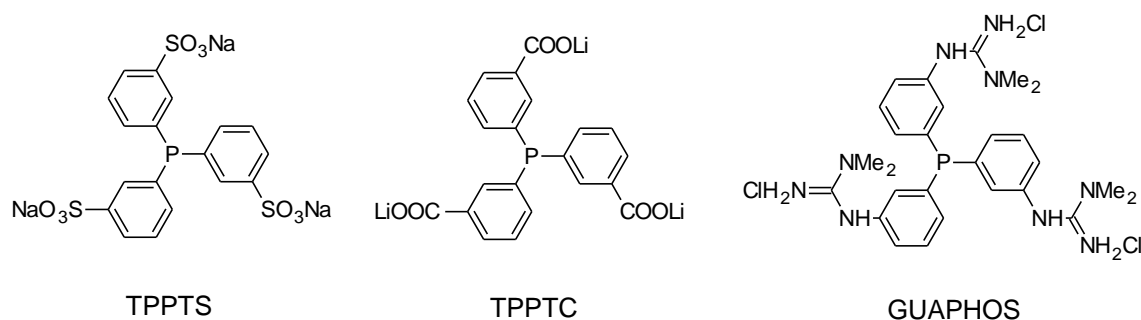


Schéma 31: Metoda syntézy nesymetrických *p*-terfenylů.

Navzdory publikovaným pracím je žádoucí rozšířit Pd/C katalyzovaný Suzuki-Miyaura coupling směrem k syntéze terfenylů a dalších oligofenylů. V rámci této práce byl představen syntetický protokol, využívající Pd/C katalyzovanou Suzuki-Miyaura reakci, vedoucí k hydroxy-*p*-terfenylům a některým dalším oligofenylům, což bylo publikováno v roce 2016 (viz Příloha 4).

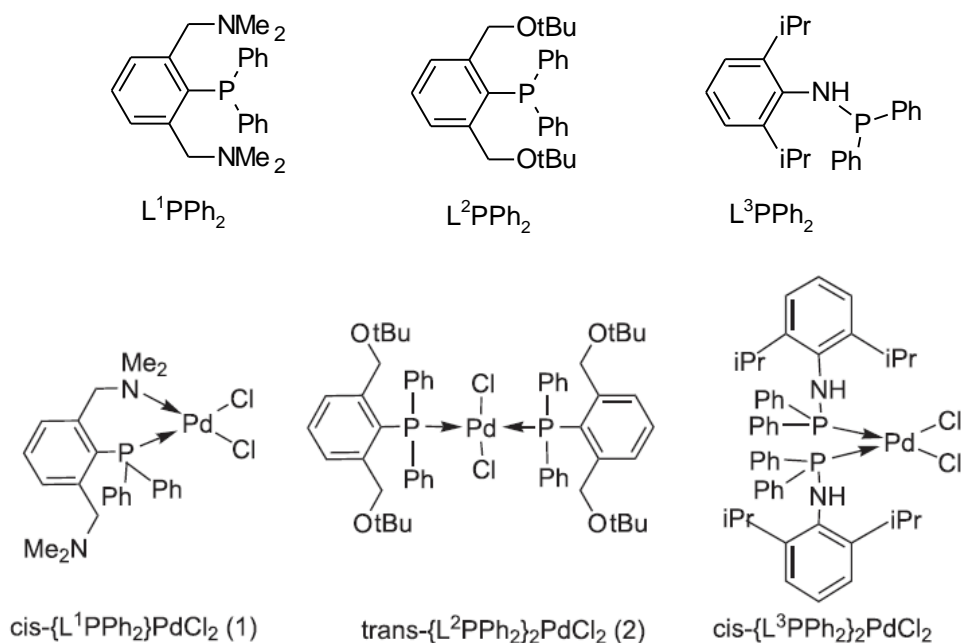
2.4 Palladnaté komplexy a jejich katalytická aktivita

V rámci zvyšování efektivity cross-coupling reakcí, nejsou studovány jen heterogenně katalyzované reakce, ale i homogenní katalyzátory a ligandy, které jsou schopné katalyzovat tyto reakce ve vodném prostředí. Znáмым ligandem je již zmíněný (viz kap. 2.1.5) trifenylfosfin-3,3',3''-trisulfonát trisodný (TPPTS) a další modifikace trifenylfosfinu (Obrázek 8). Rhodiový komplex TPPTS katalyzuje hydroformylaci, čehož se průmyslově využívá při výrobě butyraldehydu (Ruhrchemie/Rhone-Poulenc proces). S ohledem na cross-coupling byly vodorozpustné či hydrofilní komplexy a ligandy studovány zejména pro použití v Suzuki-Miyaura, Sonogashira a Heck couplingu.¹³⁰⁻¹³²



Obrázek 8: Vodorozpustná analoga trifenylfosfinu.

Nedávno byly skupinou doc. Jambora (Univerzita Pardubice) připraveny pincer ligandy L^1PPh_2 , L^2PPh_2 a jejich komplexy s chloridem palladnatým $cis-\{L^1PPh_2\}PdCl_2$ (**1**) a $trans-\{L^2PPh_2\}_2PdCl_2$ (**2**) (Obrázek 9).¹³³ Zároveň byl publikován průzkum katalytické aktivity těchto komplexů v Suzuki-Miyaura reakci.¹³³ Ligandy typu „pincer“ mají tři potenciální koordinační místa, v tomto případě se jedná o atom fosforu a dva atomy dusíku nebo kyslíku, umístěné na methylenových můstcích v *ortho* polohách vůči fosforu. Amidofosfinový komplex $cis-\{L^3PPh_2\}_2PdCl_2$ (Obrázek 9) syntetizovali Aydemir *et al* z ligandu L^3 a $(cod)PdCl_2$.¹³⁴ Autoři tento komplex také otestovali jako katalyzátor Suzuki-Miyaura couplingu v dioxanu a Heckovy reakce v DMF.



Obrázek 9: Popsané komplexy studovaných ligandů s chloridem palladnatým.

V rámci této práce byly připraveny komplexy palladia s pincerovými ligandy L^1PPh_2 , L^2PPh_2 a s amidofosfinovým ligandem L^3PPh_2 , a byla otestována jejich katalytická aktivita při Suzuki-Miyaura couplingu ve vodném prostředí, což bylo publikováno v roce 2016 (viz Příloha 5).

3. Cíl práce

Cíle práce lze definovat podle jednotlivých typů studovaných látek následujícím způsobem:

3.1 Imidazopyrimidiny

1. Příprava halogenovaných cytosinů.
2. Cyklizace vedoucí k imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onům.
3. Arylace imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu v poloze 8.
4. Halogenace a přesmyky imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu.

3.2 Pyrazoly

1. Syntéza diketonů a triarylpyrazolů.
2. Halogenace triarylpyrazolů do polohy 4.
3. Substituce halogenu pomocí vhodné cross-coupling reakce – syntéza tetrasubstituovaných pyrazolů.

3.3 Terfenyly

1. Syntéza derivátů *p*-terfenyl-4-olu.
2. Optimalizace Pd/C katalyzované Suzuki-Miyaura reakce s cílem nalezení efektivních podmínek (bez nutnosti chránění hydroxyskupiny, nízké dávky katalyzátoru, jednoduchost provedení).

3.4 Palladnaté komplexy

1. Příprava ligandů a jejich komplexů s chloridem palladnatým.
2. Ověření katalytické aktivity připravených komplexů v Suzuki-Miyaura reakci ve vodném prostředí.

4. Výsledky a diskuse

Tato kapitola pojednává o výsledcích syntézy, charakterizaci a o některých vlastnostech cílových sloučenin, v posloupnosti, naznačené v kapitole 3 „Cíl práce“. Uvedené výsledky jsou podloženy již publikovanými články (viz. Příloha 1-5). Navíc jsou zde uvedeny některé dosud nepublikované informace. Číslování sloučenin je převzato z publikovaných článků.

4.1 Syntéza a arylace imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onů

Obsah této kapitoly je založen na publikacích, které tvoří Přílohu 1 a 2 této práce:

Příloha 1: Jansa J., Lyčka A., Padělková Z., Grepl M., Konečný P., Hajdúch M., Džubák P.: New imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-ones derived from cytosine: synthesis, structure and cytotoxic activity, *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2015**, *52*, 1382-1389.

Příloha 2: Jansa J., Lyčka A., Růžička A., Grepl M., Vaněček J.: Synthesis, structure and rearrangement of iodinated imidazo[1,2-*c*]pyrimidine-5(6*H*)-ones derived from cytosine, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 27-36.

Výsledky této práce byly také prezentovány formou posterů na konferencích:

Jansa J., Růžička A., Lyčka A.: Nové deriváty 8-arylimidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6-*H*)-onů, odvozené od cytosinu (poster), 64. Sjezd asociací českých a slovenských chemických společností, Olomouc 2012, *Chemické listy* **2012**, *106* (6), 558.

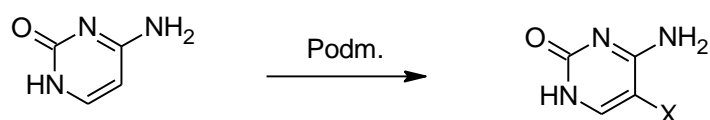
Jansa J., Růžička A., Lyčka A.: Synthesis, structure and rearrangement of iodinated imidazo[1,2-*c*]pyrimidine-5(6*H*)-ones derived from cytosine (poster), 15th Blue Danube Symposium on Heterocyclic Chemistry, Olomouc 1-5. září 2013.

4.1.1 Syntéza 5-halogencytosinů

Ve větším měřítku (10-100 g) byla provedena jodace, bromace a chlorace cytosinu (Schéma 32) dle metod popsanych v literatuře, viz kap. 2.1.1. Jodace byla provedena jodem, který byl přidán do roztoku cytosinu ve vodném roztoku hydroxidu draselného. 5-Jodcytosin se vysrážel z reakční směsi a po jednoduchém přečištění varem ve vodě a filtrací byl získán ve výtěžku 82 %.

Bromace cytosinu bromem ve vodě vedla ke vzniku 5-bromcytosin hydrobromidu. Hydrobromid byl izolován krystalizací z vody ve výtěžku 79 %. Tento výtěžek se shoduje s literaturou⁷ v případě, že nebyly izolovány další krystalizační podíly. Převedení na volnou bázi bylo provedeno působením uhličitanu sodného, což vedlo k výtěžku 73 %. Další podíly produktu nebyly po alkalizaci izolovány, proto bylo dosaženo nižšího výtěžku (73 % oproti 98 % v literatuře⁷).

Většího výtěžku (95 %) bylo dosaženo modifikací chlorace cytosinu, která byla provedena *N*-chlorsukcinimidem v ledové kyselině octové při cca 75 °C. Literatura uvádí analogickou reakci při 105 °C (výtěžek 69 %)⁶ nebo při laboratorní teplotě (výtěžek 62 %).⁵ Nárůst výtěžku je pravděpodobně způsoben i změnou postupu izolace 5-chlorcytosinu. Reakční podmínky a výtěžky dosažené při halogenacích cytosinu uvádí Schéma 32. 5-Fluorcytosin je komerčně dostupný, poněvadž se jedná o generickou antifungální látku (flucytosin, viz kap. 2.1.1)



X = Cl, 95 %, Podm: NCS / AcOH / 75 °C / 4 h

X = Br, 58 %, Podm: 1) Br₂ / H₂O / rt, 2) Na₂CO₃ / H₂O

X = I, 82 %, Podm: I₂ / KOH / H₂O / rt, 70 min, pak reflux 2 h

Schéma 32: Halogenace cytosinu, provedené v rámci této práce.

Při měření ¹H NMR spekter připravených halogenacytosinů v deuterovaném dimethylsulfoxidu byly pozorovány 3 široké signály, odpovídající NH skupinám. To znamená, že se tyto látky v roztoku vyskytují jako imino-tautomery (Schéma 33) Tato málo obvyklá tautomerní forma byla pozorována i v případě 5-brom- a 5-jod-*N*-1-sulfonylovaných cytosinů.¹³⁵

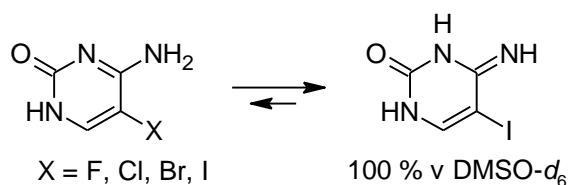
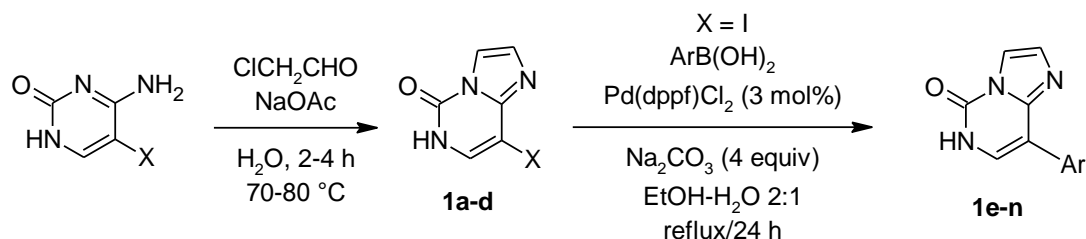


Schéma 33: Preferovaná imino-tautomerie u 5-halogencytosinů.

4.1.2 Syntéza 8-halogenethenocytosinů a jejich arylace

5-Halogenované cytosiny byly podrobeny reakcím s chloracetaldehydem ve vodě a v přítomnosti octanu sodného (viz kap. 2.1.2.2). Tyto reakce probíhaly optimálně při 70–80 °C, reakční doba se pohybovala mezi 2–4 hodinami. Při kratších časech mohou být produkty znečištěny výchozím halogenocytosinem, naopak delší reakční doba způsobovala nežádoucí tmavě hnědé zbarvení produktu. Takto byly připraveny 8-halogenethenocytosiny **1a–d** (Schéma 34) ve výtěžcích 66–86 %. Nejdélejší reakční dobu (4 h) vyžadovala syntéza jodderivátu **1d**, což lze vysvětlit sterickým vlivem objemného atomu jodu. Nejkratší potřebná reakční doba (130 min) a nižší teplota 70 °C byla aplikována v syntéze chlorderivátu **1b**, jehož atom chloru je kompromisem mezi sterickým a elektronovým faktorem. V případě fluorderivátu **1a** už byla pozorována reakce pomalejší (reakční doba 3 h), což může být dáno -I efektem fluoru. Rozdíly ve výtěžcích jsou dány spíše rozdílem v aciditě připravených ethenocytosinů a s tím související rozpustností v mírně bazickém vodném prostředí, z kterého byly izolovány, protože stupeň konverze se dle TLC analýzy reakčních směsí jevil u všech syntéz jako prakticky kompletní.



1a) X = F (66%)

1b) X = Cl (76%)

1c) X = Br (86%)

1d) X = I (86%)

1e) Ar = phenyl (88 %)

1f) Ar = biphenyl-4-yl (81 %)

1g) Ar = 4-methoxyphenyl (90 %)

1h) Ar = 4-formylphenyl (83 %)

1i) Ar = 4-cyanophenyl (84 %)

1j) Ar = 4-chlorophenyl (75 %)

1k) Ar = 4-carboxyphenyl (74 %)

1l) Ar = 4-(trifluoromethyl)phenyl (71 %)

1m) Ar = thiophen-2-yl (61 %)

1n) Ar = pyridin-4-yl (62 %)^{a)}

^{a)} Reakce v EtOH / H₂O 4:1, 5 mol % Pd(dppf)Cl₂

Schéma 34: Syntéza 8-substituovaných ethenocytosinů (výtěžky jsou uvedeny v závorkách).

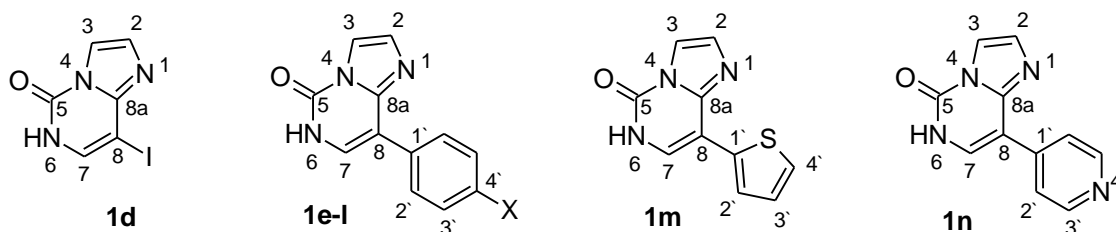
V další fázi byla optimalizována arylace jodderivátu **1d** pomocí Suzuki-Miyaura couplingu s arylboronovými kyselinami (Schéma 34). Jodderiváty jsou obecně nejlepšími elektrofilů v Suzuki-Miyaura reakci, protože nejsnadněji podléhají oxidativní adici, která často bývá rychlost určujícím krokem.⁶⁰ Vzhledem k dobré syntetické dostupnosti byl preferován jodderivát **1d**, který byl používán ke všem reakcím. Návrh reakčních podmínek byl inspirován couplingem nukleotidů cytosinu⁶⁵ (viz kap. 2.1.5, Schéma 19), proto byla jako rozpouštědlo nejdříve zvolena kombinace acetonitril-voda 2:1. S klasickým katalyzátorem Pd(PPh₃)₄ a uhlíčanem sodným jakožto bází bylo dosaženo dobré konverze v případě použití fenyloboronové a bifenyloboronové kyseliny. Za těchto podmínek ale byla pozorována nízká konverze (~30 %) pro případ reakce s 4-methoxyfenyloboronovou kyselinou. Když byla reakce provedena ve směsi ethanol-voda 2:1, reakce s 4-methoxyfenyloboronovou kyselinou poskytla kompletní konverzi, ale nižší konverze (~80 %) byla pozorována v případě reakce s 4-kyanofenyloboronovou kyselinou. S cílem nalezení univerzálních podmínek, byly provedeny další optimalizace reakčních podmínek. Záměnou katalyzátoru Pd(PPh₃)₄ za Pd(dppf)Cl₂ (3 mol %) bylo dosaženo prakticky kompletních konverzí v případě reakcí

všech použitých boronových kyselin, což bylo detekováno tenkovrstvou chromatografií. Pouze v případě reakce **1d** s velmi deaktivovanou 4-pyridylboronovou kyselinou, bylo pro dosažení kompletní konverze na produkt **1n** nutné použití 5 mol % katalyzátoru Pd(dppf)Cl₂ ve směsi rozpouštědel ethanol-voda 4:1. 8-Arylované ethenocytosiny **1e-n** byly získány ve výtěžcích 61-90 % (Schéma 34).

4.1.3 Identifikace a charakterizace 8-arylethenocytosinů

8-Arylované ethenocytosiny **1e-n**, včetně výchozího jodderivátu **1d** byly identifikovány a charakterizovány pomocí IČ, HRMS a NMR spektroskopie, dále bodem tání a elementární analýzou. Struktura fenylderivátu **1e** byla ověřena pomocí rentgenostrukturní analýzy. (Příloha 1)

V případě sloučenin **1d** a **1e-n**, bylo provedeno kompletní přiřazení ¹H a ¹³C chemických posunů ke konkrétním atomům. K tomuto účelu byly kromě 1D NMR spekter změřeny i 2D experimenty (COSY, HMQC, HMBC). U vybraných derivátů byla změřena i ¹⁵N NMR spektra. Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 1. Obrázek 10 uvádí číslování atomů v jednotlivých molekulách, pro účely NMR spektroskopie.



Obrázek 10: Číslování atomů sloučenin **1d-n** pro účely NMR spektroskopie.

Tabulka 1: Přiřazení ^1H , ^{13}C a některých ^{15}N chemických posunů [ppm] ke konkrétním atomům sloučenin **1d-n**.

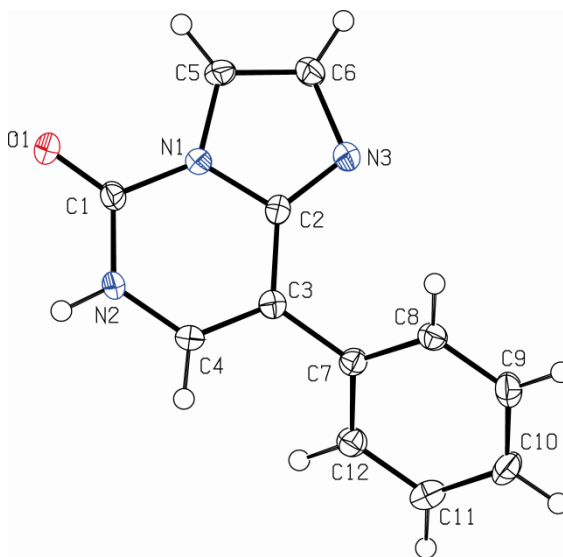
Pozice	1d		1e		1f		1g		1h		1i	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1 ^b	-	-122.6	-	-129.4	-	-129.2	-	-	-	-	-	-
2	7.90	114.1	7.87	112.6	7.89	112.6	7.85	112.5	7.89	112.7	7.88	112.7
3	7.37	132.0	7.45	132.0	7.49	129.0	7.45	132.0	7.49	132.0	7.46	132.0
4 ^b	-	-190.8	-	-189.4	-	-189.3	-	-	-	-	-	-
5	-	146.1	-	145.7	-	145.7	-	145.7	-	145.6	-	145.5
6 ^{b,c}	11.81	-243.3	11.90	-249.1	11.94	-248.9	11.81	-	12.09	-	12.10	-
7	7.58	134.2	7.52	126.5	7.63	126.5	7.44	125.4	7.78	128.5	7.79	128.7
8	-	59.8	-	110.5	-	110.0	-	110.3	-	109.1	-	109.5
8a	-	145.2	-	144.6	-	144.5	-	144.7	-	144.0	-	143.9
8-1'	-	-	-	133.1	-	132.2	-	125.4	-	139.2	-	138.0
8-2'	-	-	7.97	127.7	8.11	128.1	7.92	128.8	8.30	127.8	8.28	127.9
8-3'	-	-	7.42	128.3	7.75	126.6	6.99	113.7	7.95	129.5	7.87	132.2
8-4'	-	-	7.33	127.5	-	139.1	-	158.7	-	134.8	-	108.5
X	-	-	-	-	^d	^d	3.78	54.9	11.01	192.6	-	119.0

Tabulka 1 – pokračování

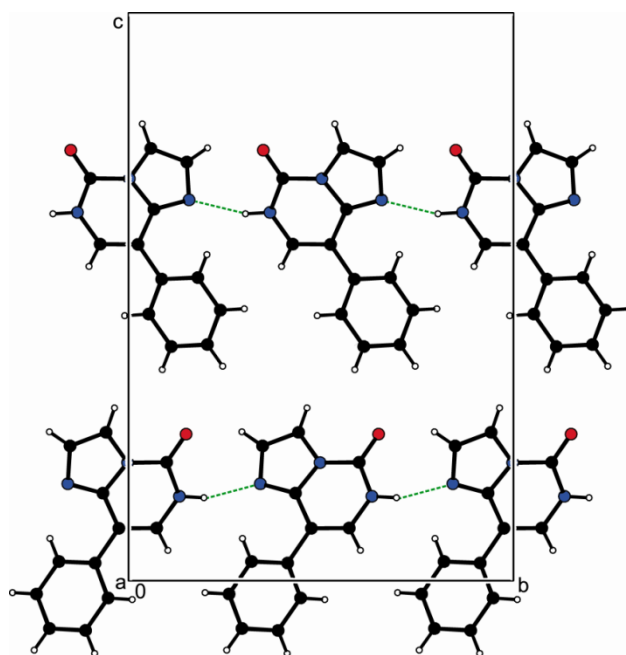
Pozice	1j		1k		1l^a		1m		1n		
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	$^1\text{J}(\text{C,H})$	δ_{H}	δ_{C}
1 ^b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	7.85	112.6	7.88	112.7	7.85	112.7	7.87	112.8	196.8	7.85	112.7
3	7.45	132.0	7.48	132.0	7.45	132.0	7.49	132.0	190.5	7.45	132.0
4 ^b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	145.6	-	145.6	-	145.6	-	145.4	-	-	145.6
6 ^{b,c}	11.95	-	12.02	-	11.96	-	11.91	-	-	12.14	-
7	7.57	126.9	7.71	127.9	7.69	128.1	7.68	125.0	182.5	7.84	128.8
8	-	109.1	-	109.4	-	108.9	-	105.7	-	-	107.4
8a	-	144.2	-	144.2	-	144.1	-	143.4	-	-	143.8
8-1'	-	131.9	-	137.5	-	137.3	-	134.5	-	-	140.6
8-2'	8.02	129.2	8.17	129.3	8.22	128.0	7.53	124.7	168.0	8.07	121.4
8-3'	7.44	128.2	7.99	127.4	7.72	125.0	7.12	127.1	167.9	8.56	149.6
8-4'	-	131.9	-	129.4	-	127.6	7.84	125.4	182.5	-	-
X	-	-	12.90	167.2	-	124.4	-	-	-	-	-

^a ($\delta^{19}\text{F}$) = -60.6^b ($\delta^{15}\text{N}$)^c $^1\text{J} (^{15}\text{N}, ^1\text{H}) = 90.1 \text{ Hz}$ ^d $\delta (^1\text{H}/^{13}\text{C}) = - / 139.7, 7.76 / 126.7, 7.53 / 129.1, 7.42 / 127.6$

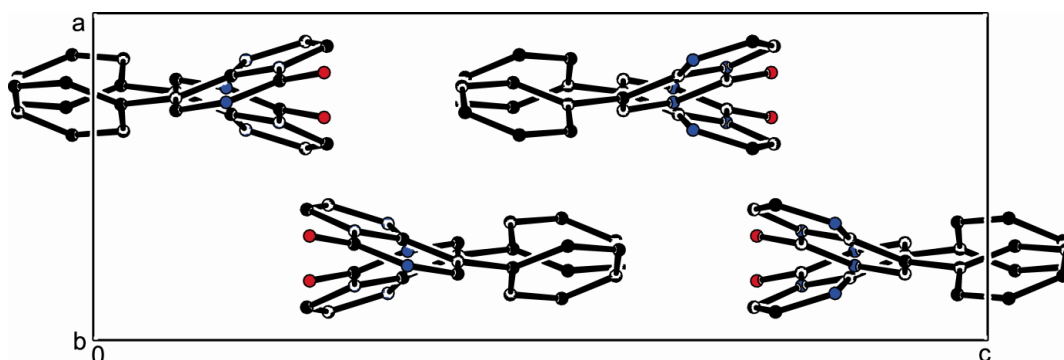
Struktura fenylderivátu **1e** byla ověřena pomocí rentgenostrukturní analýzy (Obrázek 11). V molekule byly nalezeny typické meziatomové vzdálenosti a úhly.¹³⁶ Vysoká míra π -elektronové konjugace je přerušena mezi atomy C2-C3 and C6-N3, kde jsou nalezené délky vazeb nepatrně delší, než tomu bývá u analogických aromatických sloučenin. Torzní úhel fenylového jádra je $45.68(3)^\circ$ oproti rovině, kterou tvoří heterocyklus. V krystalu látky **1e** byly nalezeny meziatomové N2-H2 \cdots N3 interakce (Obrázek 12), které způsobují „cikcak“ uspořádání molekul v jednotlivých řetězcích. V důsledku toho byl v krystalové mřížce pozorován interplanární úhel $41.0(2)^\circ$ mezi dvěma sousedními molekulami imidazopyrimidinu (Obrázek 13).



Obrázek 11: Molekulová struktura sloučeniny **1e**. Vybrané meziatomové vzdálenosti [Å] a úhly [°]: O1-C1 1.213(2), C1-N1 1.397(2), N1-C5 1.386(2), C5-C6 1.351(2), C6-N3 1.390(2), N3-C2 1.320(2), C2-C3 1.439(2), C3-C4 1.352(2), C4-N2 1.381(2), N2-C1 1.361(2), C3-C7 1.481(3); C6-N3-C2 105.29(14), N3-C2-N1 110.60(15), C2-N1-C5 107.37(14), C2-N1-C1 126.04(15), N1-C1-N2 112.78(15), C1-N2-C4 124.24(14); C2-C3-C4 vs. C8-C7-C12 45.68(3).



Obrázek 12: Meziatomové N2-H2...N3 interakce sloučeniny **1e**, pohled po ose *a*.



Obrázek 13: Uspořádání krystalu sloučeniny **1e**, pohled po ose *b*.

4.1.4 Biologická aktivita 8-arylethenocytosinů

8-Arylované ethenocytosiny **1e-n**, včetně výchozího jodderivátu **1d** byly podrobeny testům cytotoxicity na nádorových buněčných liniích a normálních lidských buňkách (Tabulka 2). Tento postup umožnil vyhodnocení terapeutického indexu, což je poměr cytotoxicity (vyjádřené indexem IC_{50}) na normálních lidských buňkách a rakovinových buněčných liniích. Index IC_{50} vyjadřuje polovinu maximální inhibiční koncentrace. Inhibiční aktivita testovaných látek byla stanovena na buněčných liniích T-lymfoblastické leukemie (CCRF-CEM) a její daunorubicin-rezistentní sublinii (CEM-DNR bulk), akutní myeloidní leukemie (K562) a její paclitaxel-rezistentní

sublinii (K562-Tax), adenokarcinomu plic (A549), kolorektálního karcinomu (HCT116) a jeho variantě s mutací genu pro protein p53 (HCT116p53-/-). Buněčné linie MRC-5 a BJ jsou normální (nenádorové) lidské fibroblasty, použité pro ohodnocení toxicity. Výsledky byly publikovány (Příloha 1).

Tabulka 2: Cytotoxické aktivity sloučenin **1d-n** (IC_{50} , μM).^a

Sloučenina	CCRF-CEM	CEM-DNR bulk	K562	K562-Tax	A549	HCT116	HCT116p53-/-	MRC-5	BJ
1d	46.15	48.99	47.37	44.63	50.00	50.00	18.61	48.33	50.00
1e	50.00	45.69	49.72	45.51	50.00	46.14	35.58	50.00	50.00
1f	8.59	2.84	15.20	8.85	10.13	20.20	15.12	7.00	0.66
1g	45.74	41.56	47.75	39.79	47.31	49.35	35.52	50.00	50.00
1h	32.63	20.28	34.21	23.48	9.04	50.00	18.47	50.00	48.69
1i	1.45	18.84	17.71	28.72	5.07	42.49	8.83	35.27	7.29
1j	36.87	34.84	35.81	37.70	44.69	37.53	35.89	44.45	43.71
1k	50.00	49.72	48.12	48.38	50.00	50.00	18.75	50.00	50.00
1l	28.20	32.89	10.74	34.20	40.42	34.83	25.57	50.00	50.00
1m	44.65	42.78	50.00	43.35	50.00	50.00	18.75	50.00	50.00
1n	50.00	46.94	50.00	46.07	50.00	50.00	18.75	50.00	50.00

^a Cytotoxická aktivita byla stanovena MTT testem po třídenní inkubaci. Uvedené hodnoty IC_{50} jsou z 3 nezávislých experimentů se směrodatnou odchylkou 10-25% od průměrných hodnot.

Obecně je cytotoxická aktivita studovaných látek spíše nižší, ale dva deriváty poskytly nadějně výsledky. Jedná se o 8-(4-kyanfenyl)ethenocytosin **1i** ($IC_{50} = 1,45 \mu M$ na CCRF-CEM) a 8-(bifenyl-4-yl)ethenocytosin **1f** ($IC_{50} = 2,84 \mu M$ na CEM-DNR bulk). Některé další deriváty vykazují mírnou cytotoxickou aktivitu (Tabulka 2). Pro případ nejaktivnější sloučeniny **1i** byla provedena studie buněčného cyklu na CCRF-CEM lymfoblastech v při jedno- až pětinasobné IC_{50} koncentraci po dobu 24 hodin. Nebyl pozorován žádný efekt na buněčný cyklus (Tabulka 3).

Tabulka 3: Efekt látky **1i** na buněčný cyklus, apoptózu a syntézu DNA/RNA v CCRF-CEM lymfoblastech (vyjádřeno v % pozitivních buněk)

Sloučenina	<G1	G0/G1	S	G2/M	pH3 ^{Ser10}	BrDU	BrU
kontrola	8.7	43.0	39.4	17.6	1.8	43.8	40.7
1i 1x IC_{50}	7.2	41.8	41.0	17.2	2.0	44.4	41.6
1i 5x IC_{50}	7.2	44.9	38.3	16.8	2.0	39.7	41.0

4.2 Jodace a přesmyky ethenocytosinů

Obsah této kapitoly je založen na publikaci, která tvoří Přílohu 2 této práce:

Příloha 2: Jansa J., Lyčka A., Růžička A., Grepl M., Vaněček J.: Synthesis, structure and rearrangement of iodinated imidazo[1,2-*c*]pyrimidine-5(6*H*)-ones derived from cytosine, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 27-36.

4.2.1 Syntéza mono- a diiodethenocytosinů

Další práce byla zaměřena na jodaci připravených ethenocytosinů. Zamýšlené jodderiváty by mohly sloužit pro další substituci imidazopyrimidinového jádra. Z mála popsaných halogenačních reakcí byla jodace ethenocytosinového skeletu popsána s nejvyšším výtěžkem. Z literární rešerše je také patrné, že by halogenace měla probíhat do poloh 3 a 8 (viz kap. 2.1.3).

První pokusy o jodaci ethenocytosinového jádra byly provedeny na nesubstituovaném imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu¹³⁷ a na jeho 8-jodderivátu **1d**. Imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-on¹³⁷ byl připraven stejným postupem jako jeho halogenderiváty **1a-d**, ve výtěžku 68 %. Překvapivě byly získány rozdílné produkty při jodaci 1,2 ekvivalentem *N*-jodsukcinimidu (NIS) ve vřoucím acetonitrilu a v DMF za laboratorní teploty (Schéma 35). Přes veškerou snahu o rozlišení polohy substituce pomocí NMR spektroskopie, se správnou polohu jodu nepodařilo přesvědčivě určit. Hlavní důvod byl ten, že se nedařilo rozlišit kvarterní atomy uhlíku C(5) a C(8a), viz kap. 4.2.2. Z tohoto důvodu byla provedena rentgenostrukturní analýza sloučeniny **2d** (viz kap. 4.2.2.), která jednoznačně prokázala, že se jedná o 3,8-dijodderivát. Tak bylo nepochybně potvrzeno, že jodace probíhá za mírných podmínek regioselektivně do polohy 3. Byla testována i jodace pomocí NIS v kyselině octové za laboratorní teploty, která byla neselektivní. Jodace jodem ve vodném roztoku hydroxidu draselného poskytla velmi složitou směs produktů.

Když byl imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-on¹³⁷ (ethenocytosin) jodován 1,2 ekvivalentem NIS za refluxu v acetonitrilu, reakce neprobíhala zcela čistě, ale 2,8-dijodoethenocytosin **3d** byl získán jako hlavní produkt v čistotě cca 80 % (Schéma 35). Stejná reakce, provedená v DMF za laboratorní teploty, probíhala mnohem rychleji a poskytla směs 8-jod- (**1d**) a 3,8-dijodethenocytosinu **2d** v poměru 1:1, která neobsahovala další nečistoty. Tento výsledek indikuje větší reaktivitu polohy

8 na úkor polohy 3, protože vznik 3-monojodovaného ethenocytosinu za těchto podmínek pozorován nebyl. Při použití 2,2 ekvivalentu NIS v DMF byl získán čistý 3,8-dijodethenocytosin **2d** v 95% výtěžku. Stejného výtěžku **2d** bylo dosaženo při jodaci **1d** s 1,1 ekvivalentem NIS (Schéma 35).

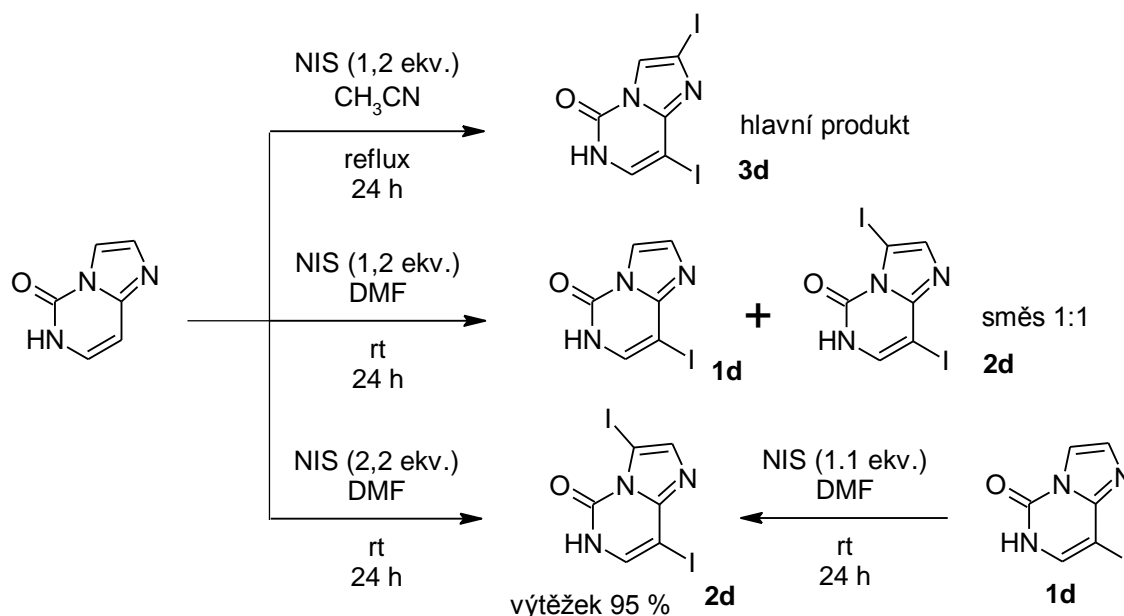


Schéma 35: Pokusy o jodaci imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu a 8-jodimidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu **1d**.

Další postup spočíval ve vysvětlení výše uvedené regioselectivity jodační reakce, která by dle literární rešerše (viz kap. 2.1.3) neměla probíhat do polohy 2, což potvrzují i pokusy, provedené v DMF za laboratorní teploty (Schéma 35). Efekt rozpouštědla nebo termodynamické řízení se zdáli být méně pravděpodobné, proto byla provedena literární rešerše, která odhalila přesmyky příbuzných sloučenin (viz kap. 2.1.4). Jedná se o přesmyky Dimrothova typu, které probíhají při otevření a následném zavření šestičlenného cyklu. Pro získání dalších informací byl přesmyk **2d** na **3d** testován za různých podmínek. Při prostém varu látky **2d** v methanolu po dobu 24 hodin žádná reakce neproběhla. Přídavek slabé báze (NaHCO_3 , NaOAc , KF) stačil na to, aby přesmyk látky **2d** na **3d** proběhl s kompletní konverzí. V dalších pokusech byly přesmyky provedeny v přítomnosti 1 ekvivalentu uhličitanu sodného, ale bylo prokázáno, že katalytické podmínky s 0,1 ekvivalentem fungují stejně efektivně. Přesmyk probíhal i za katalýzy 0,1 ekvivalentem chlorovodíku, přidaného ve formě 35% kyseliny chlorovodíkové. Snadnost přesmyku lze demonstrovat na příkladu

8-fluorethenocytosinu **2a**, který má tendenci přesmykovat spontánně. Toto je v souladu s mechanistickými předpoklady, naznačenými v kap. 2.1.4. Navržený mechanismus přesmyku uvádí Schéma 36. Tato reakce začíná nukleofilním atakem na karbonylovou skupinu (v tomto případě je nejpravděpodobnějším nukleofilem methanol nebo methanolát), který může být katalyzován bází nebo kyselinou. Vzniká tetraedrální intermediát s sp^3 hybridizovaným uhlíkovým atomem, který se štěpí a následkem toho dojde k otevření pyrimidinového cyklu za vzniku karbamátu. Následně může dojít k rotaci imidazolového kruhu okolo jednoduché vazby. Zavření pyrimidinového kruhu probíhá z opačné strany, kde je menší sterická zábrana. Z pohledu uvedeného mechanismu jsou atomy jodu vhodnými substituenty, protože vzhledem ke své velikosti, poskytují dobrou sterickou zábranu.

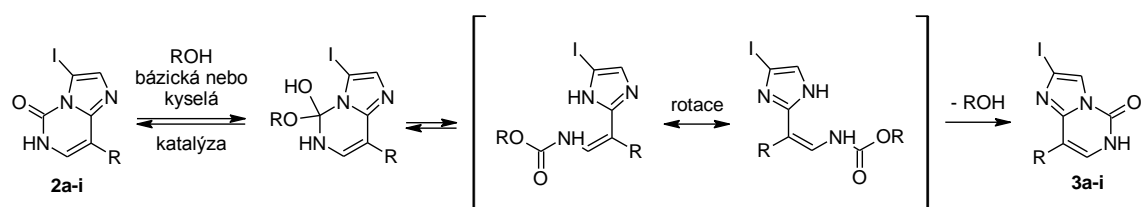


Schéma 36: Právěpodobný reakční mechanismus přesmyku 3-substituovaných ethenocytosinů typu **2** na 2-substituované ethenocytosiny typu **3**.

Na základě uvedených výsledků byla navržena sekvence reakcí, vedoucí ke dvěma typům monojodderivátů (**2a-i**; **3a-i**) a k dijodderivátům **4a-i** (Schéma 37) Reakce vycházely z devíti vybraných ethenocytosinů **1a-i**. Tyto sloučeniny byly jodovány NIS (1,1 ekv.) v DMF tak, že byla reakční směs míchána přes noc. Samotná jodace probíhala podstatně rychleji. Průběh jodace látky **1d** byl sledován pomocí TLC a již po 1 hodině reakční doby, byla prokázána kompletní konverze na produkt **2d**. Výtěžek dijodderivátu **2d** získaný při dvouhodinové reakční době byl stejný jako v případě míchání přes noc a činil 95 %. Výtěžky 3-jodethenocytosinů **2a-i** činily 87-97 %. Reakce je vysoce regioselektivní vůči pozici 3 a to dokonce i v případě, když bylo fenylové jádro substituováno donorní methoxyskupinou v pozici *para* (sloučeniny **1-4g**). V tomto případě byla za běžných podmínek pozorována přibližně 80% selektivita vůči pozici 3 ethenocytosinu, když byl NIS přidán během 10 minut při 20-30 °C. Pro zvýšení selektivity byl NIS přidáván během 8 hodin při 15-20 °C, což umožnilo izolaci čistých produktů **2g** a **4g** ve výtěžcích 96 %.

Jak již bylo zmíněno, v případě fluorderivátu **2a** docházelo k následnému přesmyku již během jodace, proto byla za běžných podmínek získána vždy směs **2a** a **3a** (výtěžek 87 %). Pro získání čistého **2a** musely být reakční podmínky upraveny tak, že byla reakce provedena v THF při 20 °C po dobu 21 hodin. Následně byl THF oddestilován za sníženého tlaku a bez externího zahřívání. Tímto postupem a po rekrystalizaci byl získán čistý **2a** ve výtěžku 35 %.

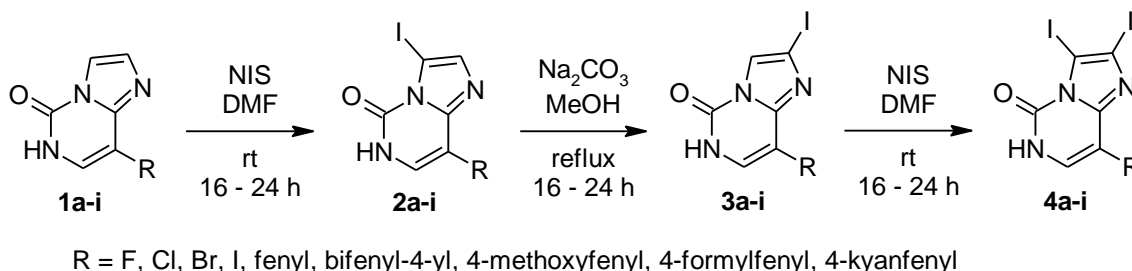


Schéma 37: Sekvence reakcí pro syntézu cílových jodovaných sloučenin.

Přesmyk 3-jodethenocytosinů **2a-i** byl realizován v refluxujícím methanolu za přítomnosti 1 ekvivalentu uhličitanu sodného (Schéma 37). Přesmyknuté produkty **3a-i** byly získány ve výtěžcích 83-97 %.

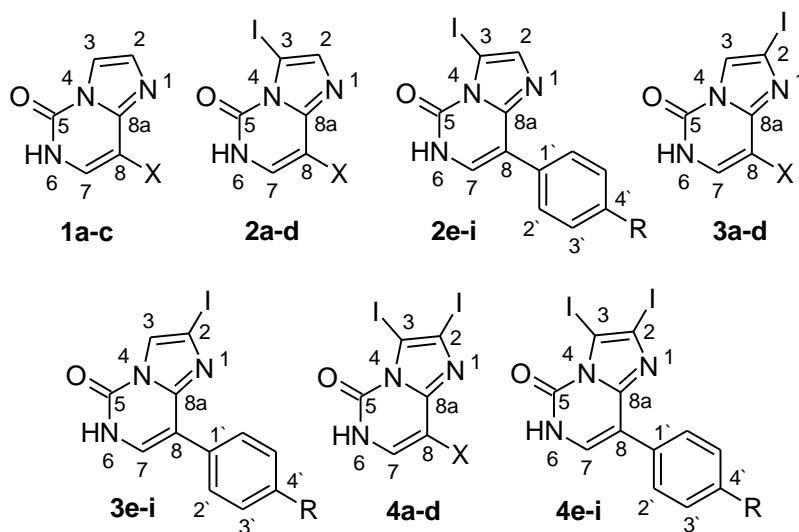
Syntetické využití tohoto přesmyku spočívá v možnosti další jodace (případně jiné substituce) do polohy 3, což vede k 2,3-disubstituovaným ethenocytosinům, které pravděpodobně nelze získat přímou substitucí. 2,3-Dijodethenocytosiny **4a-i** byly získány ve výtěžcích 84-96 % za stejných reakčních podmínek, které byly použity při první jodaci (Schéma 37).

4.2.2 Identifikace a charakterizace jodovaných ethenocytosinů

Jodované ethenocytosiny, včetně výchozích látek **1a-c** byly identifikovány a charakterizovány pomocí IČ, HRMS a NMR spektroskopie a bodem tání. Struktura 3,8-dijodderivátu **2d** byla ověřena pomocí rentgenostrukturní analýzy. (Příloha 2)

V případě sloučenin **1a-c**, **2a-i**, **3a-i**, **4a-i** (výchozí látky **1d-i** byly popsány v kap. 4.1.3) bylo provedeno kompletní přiřazení ^1H , ^{13}C a ^{15}N chemických posunů ke konkrétním atomům. K tomuto účelu byly kromě 1D NMR spekter změřeny i 2D experimenty (COSY, HMQC, HMBC). V případě čtyř sloučenin obsahujících fluor, byla změřena i ^{19}F NMR spektra. Výsledky jsou uvedeny v Tabulkách 4 a 5.

Obrázek 14 uvádí číslování atomů v jednotlivých molekulách, pro účely NMR spektroskopie.



Obrázek 14: Číslování atomů sloučenin **1a-c**, **2a-i**, **3a-i** a **4a-i** pro účely NMR.

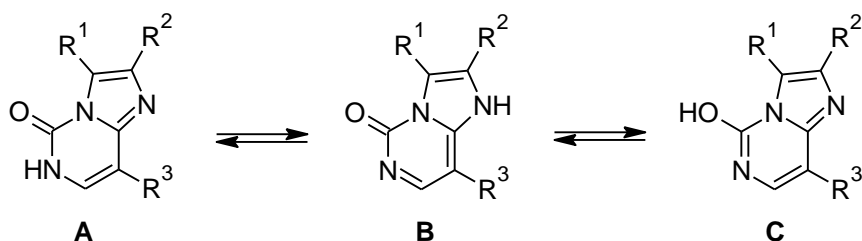


Schéma 38: Tautomerie studovaných imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onů.

Studované sloučeniny mohou existovat ve třech tautomerních formách (Schéma 38). S cílem potvrzení předpokládané tautomerní formy A u všech studovaných derivátů, byla provedena analýza NMR spekter. Protože byla ve všech 1D ^1H , ^{15}N -HMQC spektrech pozorována interakční konstanta $^1J(^{15}\text{N}, ^1\text{H}) = 92 \pm 2$ Hz, lze jednoznačně vyloučit strukturu C, která obsahuje OH skupinu. Ve spektrech 2,3-disubstituovaných derivátů **4a-i** byla pozorována $J(\text{N})^1\text{H}, ^1\text{H}) = 5,3 \pm 0,3$ Hz. U ostatních derivátů, kde byl ^1H signál širší, byla tato interakce pozorována v H,H-COSY spektrech. To musí být způsobeno interakcí $^3J(^{15}\text{N}(6)^1\text{H}, \text{C}(7)^1\text{H})$. Protony v pozicích 2 a 3 vykazují singlet v 2- nebo 3-monosubstituovaných derivátech. V případě sloučenin, majících v obou pozicích 2 a 3 protony, byly pozorovány dva

dublety s interakcí ${}^3J(\text{C}(2)^1\text{H}, \text{C}(3)^1\text{H}) = 1,5 \pm 0,2$ Hz a žádná interakce s NH protonem zde nebyla nalezena. Z těchto informací vyplývá, že tautomerní struktura A byla nepochybně potvrzena u všech studovaných látek. Protony na uhlících byly přiřazeny pomocí techniky gs-HMQC. Kvarterní uhlíky byly přiřazeny na základě gs-HMBC a proton-coupled ${}^{13}\text{C}$ NMR spekter. Přesto nebylo možné s jistotou určit polohu atomu jodu na imidazolovém kruhu, protože kvarterní uhlíkové atomy C(5) a C(8a) vykazují téměř stejný chemický posun a proton C(7) ${}^1\text{H}$ vždy interaguje s těmito kvarterními uhlíky. Proto byla struktura 3,8-dijodderivátu potvrzena rentgenostrukturní analýzou (viz níže). Poté již bylo rozlišení 2- a 3-substituce jednoduché, protože u sloučenin **2a-i** je $\delta({}^{13}\text{C}(3)\text{-I}) = 61,6\text{-}64,2$ ppm a u sloučenin **3a-i** je $\delta({}^{13}\text{C}(2)\text{-I}) = 89,9\text{-}90,3$ ppm. V případě 2,3-dijodderivátů jsou oba ${}^{13}\text{C}\text{-I}$ chemické posuny posunuty směrem k nižšímu poli, ale stále se liší o více než 30 ppm (Tabulka 4). Pro 2-jodderiváty byl uhlík C(5) pozorován jako dublet dubletu vzhledem k interakčním konstantám ${}^3J(\text{C}(5),\text{C}(3)^1\text{H})$ a ${}^3J(\text{C}(5),\text{C}(7)^1\text{H})$, zatímco uhlík C(8a) byl dubletem vzhledem k interakční konstantě ${}^3J(\text{C}(8a),\text{C}(7)^1\text{H})$. Pro 3-jodderiváty byl uhlík C(5) pozorován jako dublet vzhledem k interakci ${}^3J(\text{C}(5),\text{C}(7)^1\text{H})$, zatímco uhlík C(8a) byl dubletem dubletu vzhledem k interakčním konstantám ${}^3J(\text{C}(8a),\text{C}(2)^1\text{H})$ a ${}^3J(\text{C}(8a),\text{C}(7)^1\text{H})$. V případě 2,3-dijodderivátů byly vyšší ${}^{13}\text{C}$ chemické posuny dle zkušenosti přiřazeny uhlíku C(5) a nepatrně nižší posuny uhlíku C(8a). ${}^{19}\text{F}$ Chemické posuny sloučenin **1a**, **2a**, **3a**, **4a** jsou velmi podobné a resonují v úzkém rozmezí -167,1 až -167,6 ppm. ${}^{15}\text{N}$ Chemické posuny byly odečteny z 2D gs ${}^1\text{H}$, ${}^{15}\text{N}$ -HMBC spekter. Přiřazení signálů je založeno na faktu, že byl v ${}^1\text{H}$, ${}^{15}\text{N}$ -HMBC spektrech pozorován zbytkový dublet N-H skupiny, jejíž proton koreluje s dusíkem N(4). Typické rozmezí ${}^{15}\text{N}$ chemických posunů je následující: -110,9 až -134,5 ppm (N(1)), -183,7 až -195,8 ppm (N(4)), -242,2 až -249,6 ppm (N(6)-H) a -260,1 až -261,6 (N(6)-H) pro sloučeniny obsahující fluor.

Tabulka 4: ^1H , ^{13}C and ^{15}N chemické posuny [ppm] pro atomy číslované 1-8a v sloučeninách **1a-c**, **2a-i**, **3a-i** a **4a-i**

Slouč.	X(R)	δ (ppm)	1	2	3	4	5	6 / $^1J(^{15}\text{N}, ^1\text{H})$	7	8	8a
1a	F	$\delta(^1\text{H})$	-	7.44	7.85	-	-	11.50	7.54	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-134.5 ^a	132.4	114.1	-188.6 ^a	145.1	-261.6 ^a / n.o.	114.3 32.3 ^b	139.5 230.6 ^b	139.0 29.3 ^b
1b	Cl	$\delta(^1\text{H})$	-	7.45	7.88	-	-	11.91	7.60	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-129.7 ^a	132.3	114.0	-189.2 ^a	145.5	-249.6 ^a / n.o.	127.3	103.6	142.8
1c	Br	$\delta(^1\text{H})$	-	7.45	7.91	-	-	11.94	7.66	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-127.2 ^a	132.2	114.1	-190.3 ^a	145.7	-248.0 ^a / n.o.	129.5	90.0	143.4
		$\delta(^1\text{H})$	-	7.47	-	-	-	11.43	7.54	-	-
2a	F	$\delta(^1\text{H})$	-	7.44	-	-	-	11.81	7.50	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-130.6 ^a	140.9	64.2	-192.7 ^a	145.0	-261.2 ^a / 93.6	114.9 31.8 ^b	138.7 230.9 ^b	141.6 28.9 ^b
2b	Cl	$\delta(^1\text{H})$	-	7.45	-	-	-	11.82	7.56	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-126.2.	140.8	63.6	-194.3 ^a	146.0	248.2 ^a / 91.3	128.0	103.0	145.3
2c	Br	$\delta(^1\text{H})$	-	7.47	-	-	-	11.84	7.61	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	n.o. ^a	140.7	63.5	-194.1 ^a	146.2	-246.9 ^a / n.o.	130.2	89.5	145.8
		$\delta(^1\text{H})$	-	7.43	-	-	-	11.73	7.56	-	-
2d	I	$\delta(^1\text{H})$	-	7.44	-	-	-	11.81	7.50	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-118.9 ^a	140.5	62.9	-195.8 ^a	146.4	-243.0 ^a / 93.3	134.8	59.5	147.3
2e	H	$\delta(^1\text{H})$	-	7.44	-	-	-	11.81	7.50	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-128.1 ^a	140.8	61.7	-194.0 ^a	146.3	-247.7 ^a / 93.2	127.3	110.7	147.3
2f	Ph	$\delta(^1\text{H})$	-	7.53	-	-	-	11.87	7.56	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-125.7 ^a	140.8	61.8	-193.9 ^a	146.3	-247.7 ^a / 93.4	127.3	110.2	147.2
2g	OMe	$\delta(^1\text{H})$	-	7.43	-	-	-	11.73	7.36	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-126.6 ^a	140.8	61.6	-194.0 ^a	146.3	-248.5 ^a / 93.0	126.2	110.5	147.5
2h	CHO	$\delta(^1\text{H})$	-	7.49	-	-	-	11.97	7.65	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-126.1 ^a	140.7	62.0	-193.9 ^a	146.2	-246.4 ^a / 93.4	129.1	109.3	146.7
2i	CN	$\delta(^1\text{H})$	-	7.51	-	-	-	12.03	7.72	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-126.4 ^a	140.7	62.2	-193.9 ^a	146.6	-246.3 ^a / 92.9	129.3	109.7	146.2
		$\delta(^1\text{H})$	-	-	8.05	-	-	11.65	7.60	-	-
3a	F	$\delta(^1\text{H})$	-	-	8.05	-	-	12.00	7.61	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-122.4 ^a	90.3	118.0	-183.7 ^a	143.6	-260.1 ^a / 93.5	115.2 31.8 ^b	138.2 230.8 ^b	140.7 29.1 ^b
3b	Cl	$\delta(^1\text{H})$	-	-	8.05	-	-	12.00	7.61	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-118.6 ^a	90.2	119.3	-185.4 ^a	144.6	-249.0 ^a / n.o.	128.2	102.3	144.0
3c	Br	$\delta(^1\text{H})$	-	-	8.10	-	-	12.06	7.68	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-115.7 ^a	90.1	119.3	-185.0 ^a	145.1	-246.2 ^a / 93.0	130.4	88.6	144.2
		$\delta(^1\text{H})$	-	-	8.11	-	-	11.95	7.62	-	-
3d	I	$\delta(^1\text{H})$	-	-	8.08	-	-	12.06	7.56	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-110.9 ^a	89.9	119.2	-194.0 ^a	146.9	-242.2 ^a / 91.8	135.0	58.2	144.5
3e	H	$\delta(^1\text{H})$	-	-	8.08	-	-	12.06	7.56	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-117.8 ^a	90.3	118.1	-184.3 ^a	146.4	-247.9 ^a / 93.3	127.6	109.7	144.3
3f	Ph	$\delta(^1\text{H})$	-	-	8.11	-	-	12.10	7.66	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-118.5 ^a	90.3	118.1	-184.1 ^a	146.3	-247.9 ^a / 93.1	127.6	109.2	144.3
		$\delta(^1\text{H})$	-	-	8.06	-	-	11.98	7.45	-	-
3g	OMe	$\delta(^1\text{H})$	-	-	8.06	-	-	11.98	7.45	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-118.1 ^a	90.2	118.0	-184.1 ^a	146.5	-247.8 ^a / 93.1	126.5	109.6	144.3
3h	CHO	$\delta(^1\text{H})$	-	-	8.04	-	-	12.20	7.72	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-118.6 ^a	90.1	118.2	-184.6 ^a	145.8	-246.6 ^a / 92.4	129.3	108.3	144.2
3i	CN	$\delta(^1\text{H})$	-	-	8.03	-	-	12.22	7.74	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-118.7 ^a	90.1	118.2	-184.4 ^a	145.7	-243.3 ^a / n.o.	129.5	109.8	144.2
		$\delta(^1\text{H})$	-	-	-	-	-	11.52	7.54	-	-
4a	F	$\delta(^1\text{H})$	-	-	-	-	-	11.92	7.58	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-119.3 ^a	107.5	76.9	-187.8 ^a	144.1	-260.3 ^a / 93.6	115.7 31.4 ^b	137.9 231.0 ^b	143.3 29.0 ^b
4b	Cl	$\delta(^1\text{H})$	-	-	-	-	-	11.92	7.58	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	n.o. ^a	107.5	76.5	n.o. ^a	146.9	-249.1 ^a / n.o.	128.8	102.1	144.5
4c	Br	$\delta(^1\text{H})$	-	-	-	-	-	11.92	7.60	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-113.7 ^a	107.4	76.3	-186.7 ^a	147.4	-245.8 ^a / n.o.	131.0	88.5	144.7
		$\delta(^1\text{H})$	-	-	-	-	-	11.79	7.59	-	-
4d	I	$\delta(^1\text{H})$	-	-	-	-	-	11.79	7.59	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-125.2 ^a	107.3	75.9	-193.0 ^a	148.9	-242.7 ^a / 93.3	135.8	58.3	145.0
4e	H	$\delta(^1\text{H})$	-	-	-	-	-	11.93	7.43	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-115.1 ^a	107.7	74.7	-188.7 ^a	148.8	-247.9 ^a / 93.0	128.1	110.1	144.8
4f	Ph	$\delta(^1\text{H})$	-	-	-	-	-	11.98	7.55	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-115.1 ^a	107.7	74.8	-188.9 ^a	148.8	-247.9 ^a / 92.8	128.1	109.5	144.8
4g	OMe	$\delta(^1\text{H})$	-	-	-	-	-	11.86	7.37	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-115.0 ^a	107.7	74.6	-189.2 ^a	149.0	-248.5 ^a / 93.1	127.1	109.8	144.8
4h	CHO	$\delta(^1\text{H})$	-	-	-	-	-	12.04	7.58	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-115.5 ^a	107.6	75.0	-188.6 ^a	148.2	-246.3 ^a / 93.0	129.7	108.6	144.6
4i	CN	$\delta(^1\text{H})$	-	-	-	-	-	12.20	7.69	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	-116.0 ^a	108.1	75.2	-188.7 ^a	148.2	-246.3 ^a / 93.0	130.0	109.8	144.7

^a $\delta(^{15}\text{N})$, ^b $^1J(^{19}\text{F}, ^1\text{H})$.

Tabulka 5: ^1H , ^{13}C , ^{15}N a ^{19}F chemické posuny [ppm] pro substituenty připojené k uhlíku C(8) (benzenové kruhy nebo atom fluoru).

Sloučenina	X(R)	δ (ppm)	1`	2`	3`	4`	R	X
1a	F	$\delta(^{19}\text{F})$	-	-	-	-	-	-167.3
2a	F	$\delta(^{19}\text{F})$	-	-	-	-	-	-167.1
2e	H	$\delta(^1\text{H})$	-	7.81	7.45	7.39	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	133.0	127.8	128.3	127.6	-	-
2f	Ph	$\delta(^1\text{H})$	-	8.04	7.76	-	^a	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	132.1	128.2	126.5	139.2	^a	-
2g	OMe	$\delta(^1\text{H})$	-	7.82	6.99	-	3.84	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	125.3	129.0	113.7	158.8	55.2	-
2h	CHO	$\delta(^1\text{H})$	-	8.17	7.93	-	10.03	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	139.1	127.9	129.5	134.9	192.6	-
2i	CN	$\delta(^1\text{H})$	-	8.21	7.90	-	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	137.9	128.1	132.2	108.7	119.0	-123.3 ^b
3a	F	$\delta(^{19}\text{F})$	-	-	-	-	-	-167.6
3e	H	$\delta(^1\text{H})$	-	7.92	7.47	7.40	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	132.8	127.8	128.5	127.7	-	-
3f	Ph	$\delta(^1\text{H})$	-	8.06	7.80	-	^c	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	131.9	128.2	126.6	139.30	^c	-
3g	OMe	$\delta(^1\text{H})$	-	7.85	7.03	-	3.83	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	125.0	129.0	113.9	158.9	55.3	-
3h	CHO	$\delta(^1\text{H})$	-	8.18	7.95	-	10.03	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	138.8	127.8	129.6	135.0	192.5	-
3i	CN	$\delta(^1\text{H})$	-	8.18	7.90	-	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	137.6	127.9	132.3	107.7	119.0	-123.2 ^b
4a	F	$\delta(^{19}\text{F})$	-	-	-	-	-	-167.4
4e	H	$\delta(^1\text{H})$	-	7.81	7.45	7.39	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	132.7	127.9	128.4	127.7	-	-
4f	Ph	$\delta(^1\text{H})$	-	7.96	7.79	-	^c	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	131.8	128.3	126.6	139.3	^c	-
4g	OMe	$\delta(^1\text{H})$	-	7.75	7.02	-	3.83	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	124.9	129.1	113.8	158.9	55.3	-
4h	CHO	$\delta(^1\text{H})$	-	8.04	7.91	-	10.01	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	138.7	127.9	129.5	134.9	192.4	-
4i	CN	$\delta(^1\text{H})$	-	8.10	7.91	-	-	-
		$\delta(^{13}\text{C})$	137.6	128.2	132.3	107.6	119.0	-123.2 ^b

^a $\delta(^1\text{H}/^{13}\text{C}) = -/139.8, 7.74/126.6, 7.51/129.0, 7.41/127.6$.

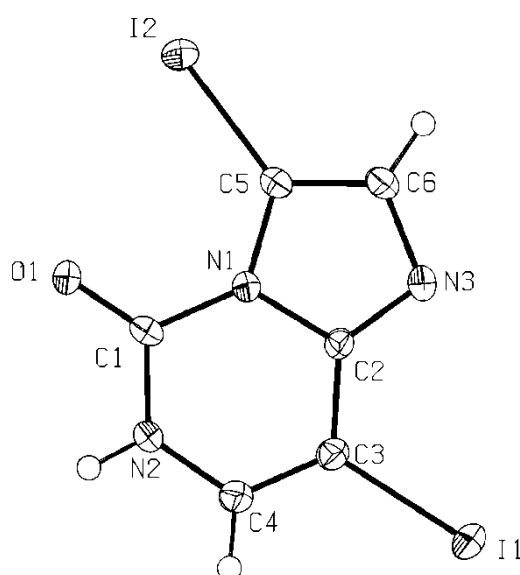
^b $\delta(^{15}\text{N})$ skupiny $-\text{C}\equiv\text{N}$.

^c $\delta(^1\text{H}/^{13}\text{C}) = -/139.7, 7.78/126.7, 7.53/129.1, 7.42/127.6$.

V IČ spektrech byly pozorovány pásy aromatických a kyselých protonů v rozmezí 2800-3500 cm^{-1} . Karbonylová skupina (pás Amid I) ethenocytosinového kruhu projevuje silnou absorbcí v rozmezí od 1702 do 1748 cm^{-1} . Další silnější pásy, typické pro sekundární amidy a heteroaromatické dvojné vazby, byly obvykle dobře

pozorovatelné v intervalech 1600-1670, 1500-1580 (pás Amid II a aromatické pásy) a 1200-1300 cm^{-1} (pás Amid III). Signály dalších funkčních skupin, jako je kyan (pás 2224-2230 cm^{-1}), methoxy (pásy 2834, 1340, 1180, 1033 cm^{-1}), aldehyd (pás 1692-1710 cm^{-1}), mono- (pásy 700 and 750 cm^{-1}) a *para*-disubstituované benzenové jádro (pás 840 cm^{-1}) byly zřetelně pozorovány. Ačkoli se pozice pásu karbonylové skupiny (Amid I) mění v rozmezí od 1702 do 1748 cm^{-1} , nebyl pozorován nějaký jednoznačný posun pro 2- nebo 3-substituované nebo 2,3-disubstituované ethenocytosiny. Posun pásu karbonylové skupiny (Amid I) je pravděpodobně způsoben intermolekulárními vazbami.

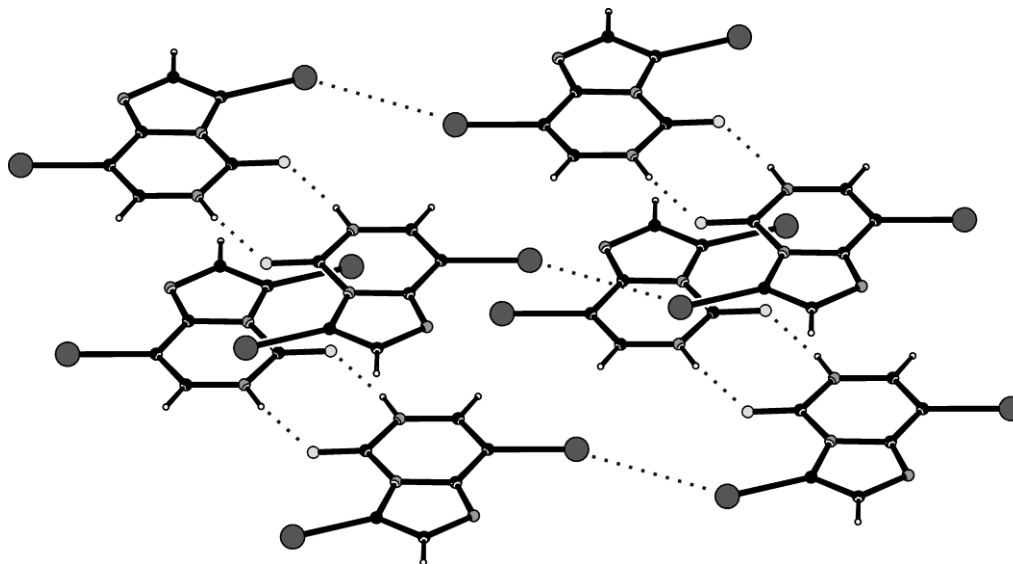
Jak již bylo diskutováno, pro nepochybné určení polohy substituce imidazolového kruhu byly použity rentgenové difrakční metody monokrystalu látky **2d** (Obrázek 15).



Obrázek 15: Molekulová struktura sloučeniny **2d**. Vybrané meziatomové vzdálenosti [Å] a úhly [°]: C1 N1 1.397(4), N1 C2 1.393(5), C2 C3 1.430(5), C3 C4 1.350(5), C4 N2 1.362(5), N2 C1 1.355(4), N1 C5 1.393(4), C5 C6 1.352(5), C6 N3 1.385(5), N3 C2 1.313(5), I1 C3 2.067(4), I2 C5 2.058(4), C1 O1 1.222(5); C1 N1 C2 124.2(3), C2 N1 C5 105.6(3), C1 N2 C4 125.7(3), C2 N3 C6 105.0(3).

Sloučenina má zcela planární strukturu a spíše lokalizovaný charakter π -elektronové hustoty, takže lze rozpoznat dvojné vazby mezi C3-C4, C2-N3 a C5-C6 atomy, které jsou kratší než popsané jednoduché vazby,^{136,138} a dokonce i kratší než je suma kovalentních poloměrů pro C-C nebo C-N.^{136,139} V tomto ohledu bylo také

detekováno významné zkrácení vazby C-I o 0,1 Å, což reflektuje krátkou intermolekulární halogenovou nekovalentní I-I (3,785(3) Å, C-I...I-C torze 169,85(11)°) interakci v heterocyklických sloučeninách (Obrázek 16).^{140,141}



Obrázek 16: Supramolekulární struktura sloučeniny **2d**, N-H...C(=O) a I...I vazby jsou znázorněny tečkovanou čarou, C-H...N kontakty a π - π interakce nejsou zobrazeny.

Vzhledem k velmi zajímavé supramolekulární struktuře sloučeniny **2d**, byly studovány i další mono- a diiodované ethenocytosiny, včetně triiodderivátu **4d**. Celkem bylo připraveno dalších 21 monokrystalů, které byly charakterizovány skupinou prof. Aleše Růžičky (Univerzita Pardubice). Předpokládáme, že výsledky budou publikovány.

4.2.3 Inhibiční aktivita ethenocytosinů vůči CDK2

Možnost tvorby silných vodíkových a halogenových vazeb ethenocytosinů byla jedním z předpokladů pro potenciální biologickou aktivitu. Předběžné výpočty, provedené týmem prof. Pavla Hobzy (Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i.) totiž poukázaly na možnou interakci připravených sloučenin s cyklin-dependentní kinázou 2 (CDK2). Všechny připravené ethenocytosiny byly proto podrobeny testování jejich inhibiční schopnosti vůči purifikované lidské CDK2 skupinou doc. Vladimíra Kryštofa (Univerzita Palackého v Olomouci). Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 6.

Tabulka 6: Inhibiční aktivita připravených ethenocytosinů vůči CDK2.

Sloučenina	R ²	R ³	R ⁸	IC ₅₀ [μM]
1a	H	H	F	>100
1b	H	H	Cl	>100
1c	H	H	Br	>100
1d	H	H	I	>100
1e	H	H	fenyl	6,6
1f	H	H	bifenyl-4-yl	>12,5
1g	H	H	4-methoxyfenyl	29,3
1h	H	H	4-formylfenyl	19,7
1i	H	H	4-kyanfenyl	17,7
1j	H	H	4-chlorfenyl	13,9
1k	H	H	4-karboxyfenyl	>100
1l	H	H	4-(trifluormethyl)fenyl	41,5
1m	H	H	thiofen-2-yl	8,7
1n	H	H	pyridin-4-yl	33,3
2a	H	I	F	>100
2b	H	I	Cl	>100
2c	H	I	Br	>100
2d	H	I	I	>100
2e	H	I	fenyl	>25
2f	H	I	bifenyl-4-yl	>12,5
2g	H	I	4-methoxyfenyl	>12,5
2h	H	I	4-formylfenyl	>12,5
2i	H	I	4-kyanfenyl	>12,5
3a	I	H	F	>100
3b	I	H	Cl	>100
3c	I	H	Br	>50

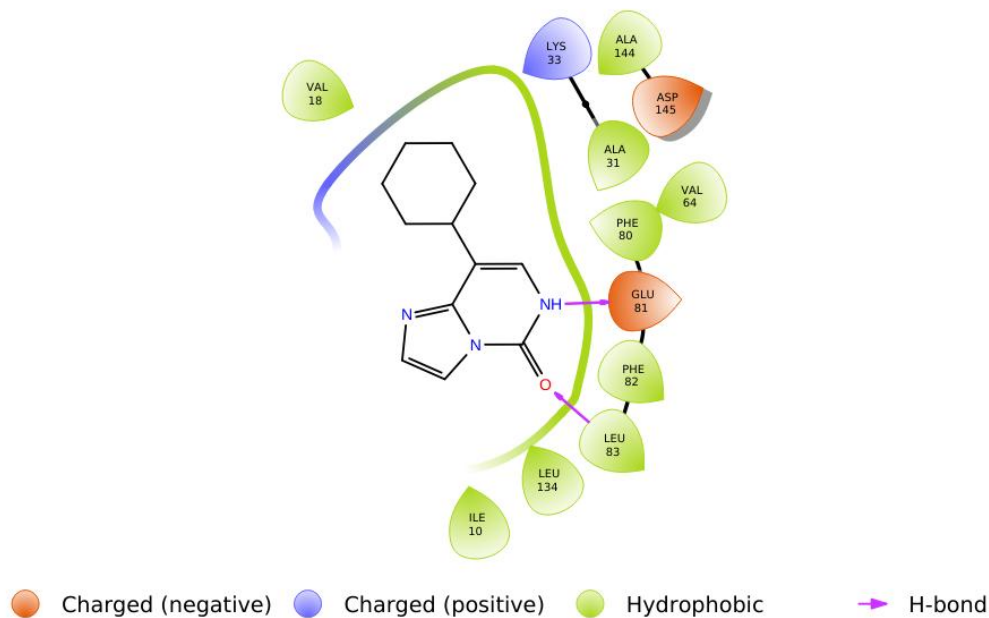
Tabulka 6: pokračování

3d	I	H	I	62,1
3e	I	H	fenyl	>25
3f	I	H	bifenyl-4-yl	>12,5
3g	I	H	4-methoxyfenyl	>25
3h	I	H	4-formylfenyl	>25
3i	I	H	4-kyanfenyl	>12,5
4a	I	I	F	>12,5
4b	I	I	Cl	>12,5
4c	I	I	Br	>12,5
4d	I	I	I	>12,5
4e	I	I	fenyl	>12,5
4f	I	I	bifenyl-4-yl	>12,5
4g	I	I	4-methoxyfenyl	>12,5
4h	I	I	4-formylfenyl	24,9
4i	I	I	4-kyanfenyl	>12,5

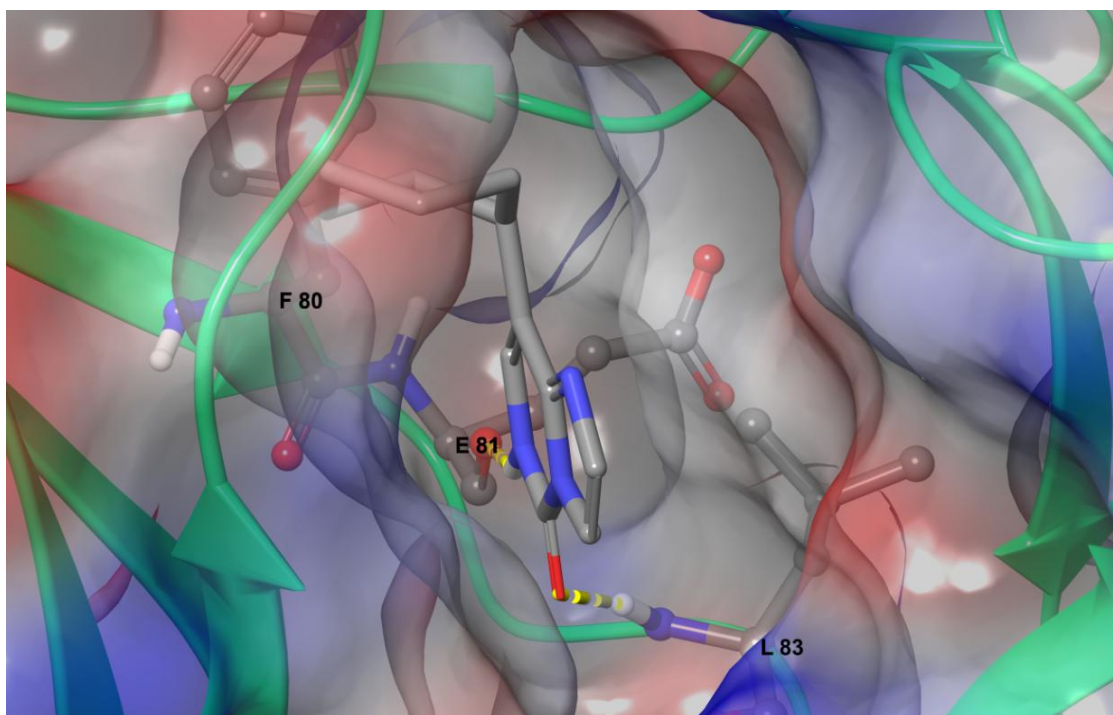
V případě 2,3-nesubstituovaných derivátů byla pozorována mírná (látky **1g-j**, **1l**, **1n**) až střední (6,6 μM **1e** a 8,7 μM u **1m**) inhibiční aktivita vůči CDK2. Bylo zjištěno, že substituce jodem, ať v poloze 2 nebo 3 nebo v obou polohách, vždy snížila inhibiční aktivitu. Vzhledem k nízké rozpustnosti způsobené přítomností jodu ve studovaných derivátech však nelze zatím jednoznačně určit vliv substituce na biologickou aktivitu. Pouze ze srovnání látek **2d**, **3d** a **1d** připadá nejvyšší inhibiční aktivita (62,1 μM oproti >100 μM pro **2d** a **1d**) na 2,8-dijodderivát **3d**. Na základě provedených biochemických měření i teoretických výpočtů byly navrženy další deriváty, u kterých se předpokládá vyšší aktivita. Jejich syntéza v současnosti dále probíhá a předpokládáme, že výsledky budou publikovány.

Jedním z návrhů na zlepšení inhibice CDK2 je nahrazení fenylového substituentu v pozici 8 (sloučenina **1e**) za cyklohexylový. Molekulové dokování naznačuje, že karbonylová skupina a NH skupina pyrimidinového jádra mohou tvořit vodíkové vazby k reziduíům leucin 83 (Leu83/L83) a glutamát 81 (Glu81/E81) tzv. pantové oblasti (angl. „hinge region“) CDK2 (Obrázky 17 a 18). Tyto interakce nasměrují cyklohexylový zbytek do hydrofobní kapsy, kde nepolárně interaguje

s valinem 18 (Val18/V18) a fenylalaninem 80 (Phe80/F80) (Obrázky 17 a 18). Skórování naznačuje, že takovýto způsob vazby by měl být zodpovědný za nejvyšší afinitu látky **1e** z celé série.



Obrázek 17: Vazebný mód navrženého 8-cyklohexylethenocytosinu s aktivním místem CDK2 (dvojrozměrné zobrazení).



Obrázek 18: 3D interakce navrženého 8-cyklohexylethenocytosinu s aktivním místem CDK2.

4.3 Syntéza tetraarylpyrazolů

Obsah této kapitoly je založen na publikaci, která tvoří Přílohu 3 této práce:

Příloha 3: Jansa J., Schmidt R., Mamuye A. D., Castoldi L., Roller A., Pace V., Holzer W.: Synthesis of tetrasubstituted pyrazoles containing pyridinyl substituents, *Beilstein Journal of Organic Chemistry* **2017**, *13*, 895-902.

Tato práce vznikla během povinné tříměsíční stáže na Univerzitě ve Vídni, pod vedením prof. Wolfganga Holzera. Navržený postup syntézy (Schéma 39) a identifikace připravených sloučenin, budou konkretizovány v následujících kapitolách 4.3.1 až 4.3.5.

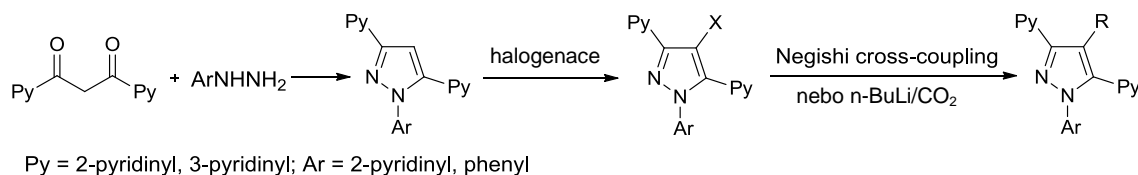


Schéma 39: Navržený postup syntézy tetrasubstituovaných pyrazolů.

4.3.1 Syntéza diketonů a 4-jodtriarylpyrazolů

Jako výchozí látky byly připraveny symetrické 1,3-diketony **1a** a **1b**, získané kondenzací ethyl 2- nebo 3-pyridinkarboxylátů s odpovídajícími 2- nebo 3-acetylpyridiny (Schéma 40).

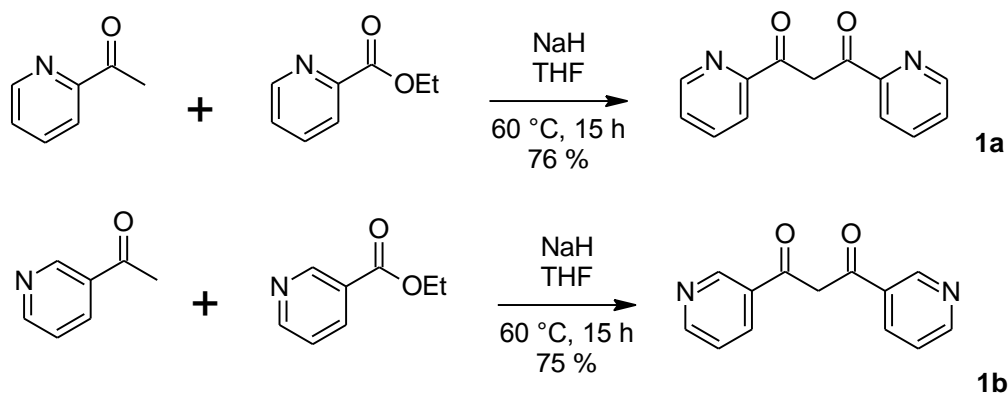


Schéma 40: Syntéza 1,3-diketonů **1a** a **1b**.

Tyto kondenzační reakce byly provedeny dle metod popsanych v literatuře,^{142,143} u nichž byl upraven postup izolace produktu. Po reakci došlo ke vzniku suspenze, která byla zfiltrována. Získaná pevná látka byla čistá sodná sůl produktu – 1,3-diketonu, která byla kyselinou octovou ve vodě převedena na odpovídající produkt **1a** nebo **1b**. Výhodou tohoto postupu je, že filtrací dojde k přečištění, a také bylo dosaženo nepatrně vyšších výtěžků než v literatuře.^{142,143} Z ¹H a ¹³C NMR spekter, měřených v CDCl₃, bylo zjištěno, že se diketony **1a** a **1b** přednostně vyskytují ve svých tautomerních enolformách (Schéma 41). To je v kontrastu s publikovanými informacemi, kde byly pozorovány pouze stopy enolformy **1a**, ale při měření v acetonu-*d*₆.¹⁴² V deuterovaném chloroformu byl stanoven poměr enol/keto cca 6,6:1 pro látku **1a** a 187:1 pro látku **1b**. Když byl diketon **1b** změřen v podstatně polárnějším dimethylsulfoxidu-*d*₆, podíl ketoformy vzrostl na cca 3 % (poměr 35:1). U enolform diketonů **1** byly pozorovány charakteristické, velké chemické posuny pro hydroxylové protony (**1a**: 15,94 ppm, **1b**: 16,52 ppm, v CDCl₃).

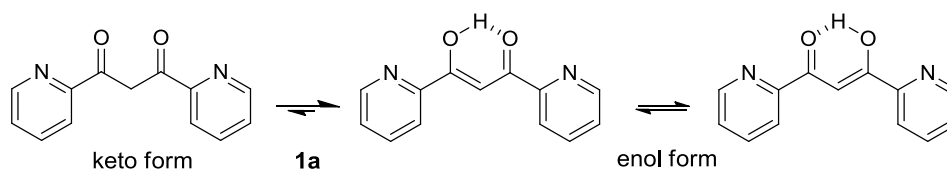


Schéma 41: Tautomerní rovnováha sloučeniny **1a**.

Reakcemi diketonů **1a** a **1b** s 2-hydrazinopyridinem nebo fenyldiazinem byly získány tri(hetero)arylpirazoly **2a-d**, které byly následně převedeny na 4-jodpyrazoly **3a-d** působením jodu a kyseliny jodičné v kyselině octové při 80 °C (Schéma 42). Kondenzační reakce, vedoucí k pyrazolovému jádru, probíhaly snadno v ethanolu, za katalýzy kyselinou chlorovodíkovou. Výtěžky činily 88-98 %.

Pro jodaci připravených pyrazolů bylo v případě syntézy **3a** nejprve testováno použití NIS v DMF nebo kyselině octové. Při použití 1,1 ekvivalentu NIS v DMF bylo nutné reakční směs zahřívát, jinak jodace neprobíhala. Při 80 °C se za těchto podmínek podařilo dosáhnout konverze cca 40 % (TLC). Při použití 1,1 ekvivalentu NIS v kyselině octové za laboratorní teploty reakce probíhala pomalu. Zahříváním na 80 °C bylo dosaženo konverze cca 90 % (TLC). Lepších výsledků bylo dosaženo působením jodu a kyseliny jodičné v kyselině octové při 80 °C. Díky přítomnosti oxidantu – kyseliny jodičné, bylo možné použití 0,55 ekvivalentu jodu. Za těchto podmínek byly

po dvouhodinové reakční době izolovány jodderiváty **3a-d** ve výtěžcích 73-83 %. Tyto sloučeniny dále sloužily jako výchozí látky pro funkcionalizaci pyrazolů v poloze 4.

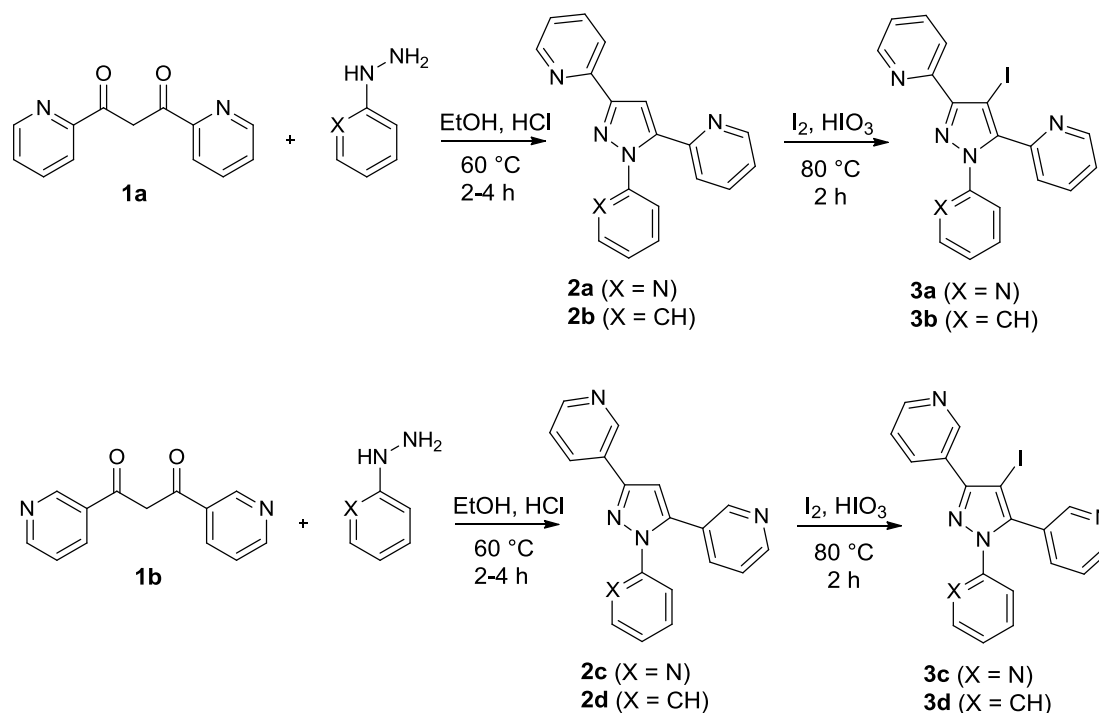


Schéma 42: Syntéza 4-jodtri(hetero)arylpirazolů **3a-d**.

4.3.2 Karboxylace 4-jodpyrazolů

U všech čtyř jodpyrazolů **3a-d** byla testována výměna jodu za lithium. Reakce byly provedeny působením 1,1 ekvivalentu *n*-BuLi při $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tato reakce probíhala rychle (1 h) a kvantitativně v případě 3,5-di-(pyridin-2-yl)-substituovaných derivátů **3a,b**. Následná reakce s oxidem uhličitým rovněž probíhala snadno a vedla k téměř kompletní konverzi na karboxylové kyseliny **4a,b**, které byly získány ve výtěžcích 87 a 78 % (Schéma 43). Naproti tomu, v případě 3,5-di-(pyridin-3-yl)-substituovaných derivátů **3c,d** byla jak výměna jodu za lithium, tak následná karboxylace značně pomalejší a nekompletní. Vzhledem k tomu jsou výtěžky karboxylových kyselin **4c,d** nižší (31 a 46 %). Zvýšená reaktivita jodderivátů **3a,b** může být vysvětlena jejich schopností chelatace a stabilizace organolithného komplexu, což v případě reakce 3-pyridylderivátů **3c,d** není možné. Pyrazol-4-karboxylové kyseliny **4a,b** jsou schopné tvořit intramolekulární vodíkovou vazbu mezi hydroxylovým protonem a sousedním pyridinovým dusíkem, což se projevuje velkým chemickým posunem tohoto protonu

(cca 18 ppm v CDCl_3). V ^{15}N NMR spektrech byl pozorován značný pokles chemického posunu dusíkového atomu, který je začleněn v pyridinovém jádře, vázaném v pozici C-5 pyrazolu (v porovnání s odpovídajícími dusíkovými atomy v sloučeninách **2a,b** a **3a,b**). Naproti tomu, ^{15}N chemické posuny pyridinových jader, vázaných v pozici C-3 pyrazolu se od sloučenin **2a,b**, **3a,b** a **4a,b** lišily jen mírně. Proto, s největší pravděpodobností, vodíková vazba vzniká mezi karboxylovým protonem a dusíkem pyridinového jádra v pozici C-5 pyrazolu, jak je naznačeno ve Schématu 43.

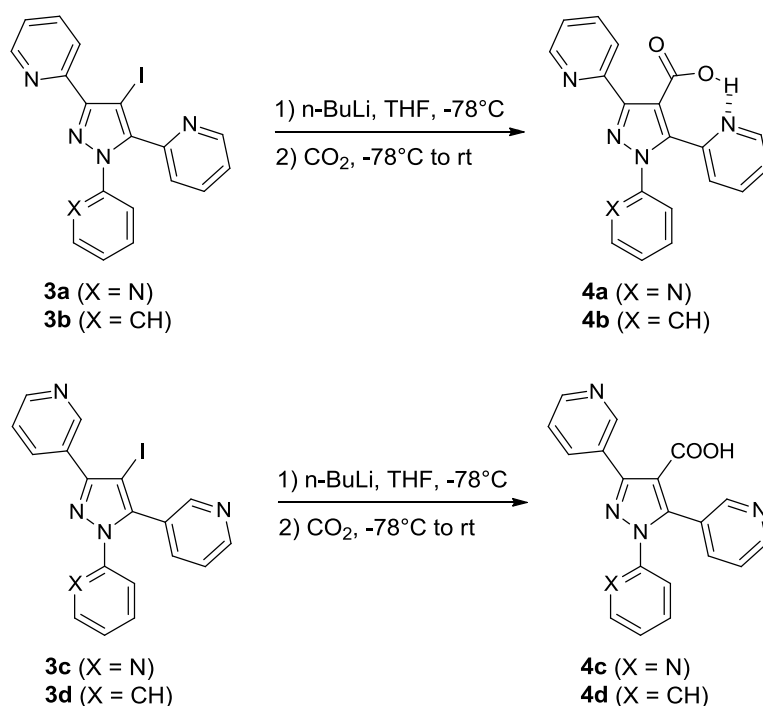


Schéma 43: Výměna jod-lithium a následná karboxylace 4-jodpyrazolů **3a-d**.

4.3.3 Arylace pyrazolů cross-coupling reakcemi

Počátečním návrhem bylo využití Suzuki-Miyaura cross-couplingu pro reakci 4-brompyrazolu **5** s kyselinou fenyloboronovou (Schéma 44). Tento bromderivát byl připraven bromací sloučeniny **2a** *N*-bromsukcinimidem (výtěžek 67 %), která byla provedena za podmínek refluxu v acetonitrilu po dobu 2 hodin. Suzuki-Miyaura reakce **5** s kyselinou fenyloboronovou byla katalyzována $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ za různých podmínek, např. $\text{Cs}_2\text{CO}_3/\text{DMF}$; $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{DMF}$; $\text{Cs}_2\text{CO}_3/\text{dioxan-H}_2\text{O}$; $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{dioxan-H}_2\text{O}$, což ovšem vždy vedlo k rychlé dehalogenaci, takže byla izolována výchozí látka **2a**, obvykle doprovázená bifenylem (produkt homocouplingu kyseliny fenyloboronové). Proto byly tyto reakce provedeny s mikrovlnným ohřevem (150 °C, 800 W), což vedlo ke stejnému

výsledku – dehalogenaci. Suzuki-Miyaura reakce byla testována i za podmínek (4 ekv. $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{EtOH}-\text{H}_2\text{O}$ 4:1/ $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ 5 mol %, 24 h reflux), které byly účinné při arylaci imidazopyrimidinů (viz kap. 4.1.2), v tomto případě byl reakčním partnerem jodderivát **3a**. I za těchto podmínek došlo ke kompletní dehalogenaci, vedoucí k **2a**.

Byly studovány i další reakce typu cross-coupling. Principiálně lze pro zavedení arylového substituentu do polohy 4 pyrazolu využít celou řadu cross-coupling reakcí, protože molekula neobsahuje žádné citlivé funkční skupiny. Reakce jodpyrazolu **3a** s fenylmagnesium bromidem (Kumada cross-coupling)¹⁴⁴ opět poskytla dehalogenovaný pyrazol **2a** a bifenyl (Schéma 44).

Jodpyrazol **3a** byl podroben i cross-coupling reakci s fenyllithiem, za podmínek, které popsali Feringa *et al.*¹⁴⁵ Při těchto reakcích je klíčové použití ředěných organolithných sloučenin a jejich pomalé dávkování, které bylo zajištěno z injekční stříkačky, pomocí automatického dávkovače (tzv. syringe pump). Touto metodou došlo ke vzniku poměrně složité směsi, ve které byl hlavním produktem opět **2a** (dehalogenace) a bifenyl (homocoupling). Byl pozorován i vznik malého množství žádaného produktu **6a** a produktu homocouplingu – dimeru **7a**. Vznikala také sloučenina **8** (výtěžek 16 %), která je výsledkem nukleofilního ataku fenyllithia na pyridinové jádro, připojené k pyrazolovému dusíku N-1 (Schéma 44).

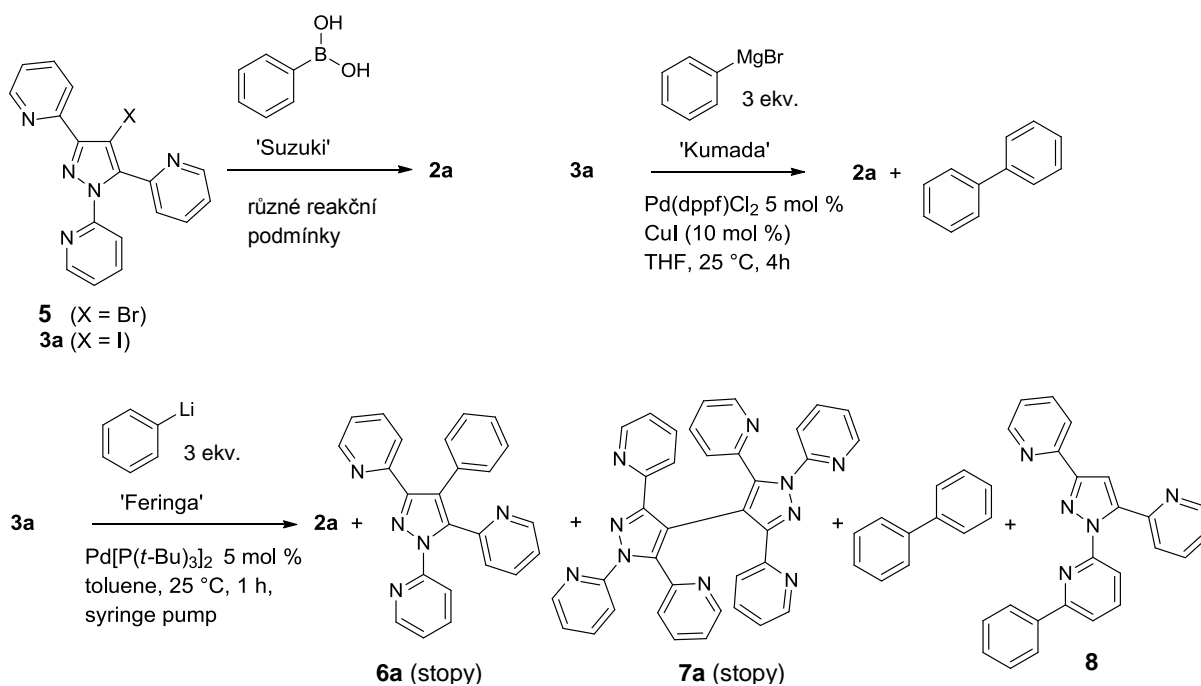


Schéma 44: Zkoušené cross-coupling reakce 4-halogenpyrazolů **5** a **3a**.

Cross-coupling organolithné sloučeniny byl testován i v obrácené variantě (Schéma 45), kdy jako elektrofil sloužil brombenzen, a k němu byl pomalu přidáván lithný komplex, předem připravený z **3a** a *n*-butyllithia (viz kap. 4.3.2). Hlavní reakcí byla opět dehalogenace, produkující **2a**. Vznik produktu **6a** a dimeru **7a** byl pozorován pouze ve stopovém množství, vznik látky **8** nebyl pozorován.

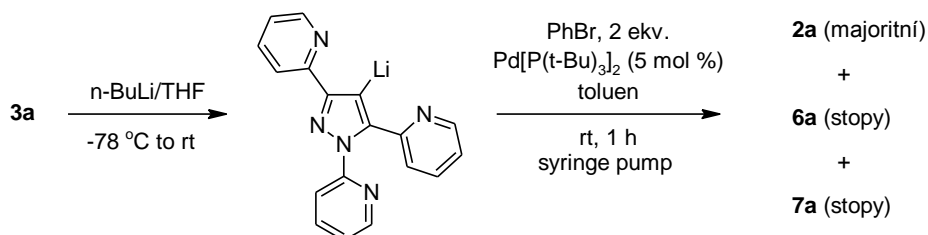


Schéma 45: Obrácená varianta „Feringa“ cross-coupling reakce **3a**

4.3.4 Negishi cross-coupling 4-jodpyrazolů **3a-d**

Kromě výše uvedených cross-coupling reakcí, které, vzhledem vedlejší dehalogenaci, nevedly k požadovaným produktům, byly testovány i reakce s organozinečnatými sloučeninami ve smyslu Negishi reakce. Tato reakce je výhodná z pohledu žádané substituce 2-pyridylem, protože na rozdíl od 2-pyridylboronové kyseliny,¹⁴⁶ je 2-pyridylzinkum bromid stabilní a komerčně dostupný.

Byla optimalizována reakce mezi jodpyrazolem **3a** a 2-pyridylzinkum bromidem, která byla nejprve katalyzována Pd(PPh₃)₄ v THF. V reakční směsi byl pomocí TLC stanoven nezreagovaný **3a** a opět byl pozorován značný podíl dehalogenace (izolovaný výtěžek **2a** činil 34 %). Konverze na žádaný produkt **9a** byla nízká. Následně byl katalyzátor zaměněn za Pd(dppf)Cl₂, čímž došlo k podstatnému nárůstu selektivity reakce, jejímž hlavním produktem byl žádaný **9a**. Dehalogenace prakticky nebyla pozorována, ale stupeň konverze zatím nebyl uspokojivý. Proto byla testována kokatalýza jodidem měďným,¹⁴⁷ která vedla k prakticky kompletní konverzi na **9a** s malým podílem dehalogenace. Důležitým faktorem byla i správná izolace produktu, kdy bylo nutné organický extrakt promývat roztokem amoniaku a zbavit ho tak zinečnatých solí. Jinak se produkt nedařilo těchto solí zbavit krystalizací ani preparativní sloupcovou chromatografií. Za optimalizovaných podmínek byly provedeny reakce jodpyrazolů **3a,b** s různými organozinečnatými sloučeninami, které

vedly k produktům **6a,b** a **9a,b** až **11a,b** (Schéma 46). Výtěžky se pohybovaly v širokém rozmezí 19-87%.

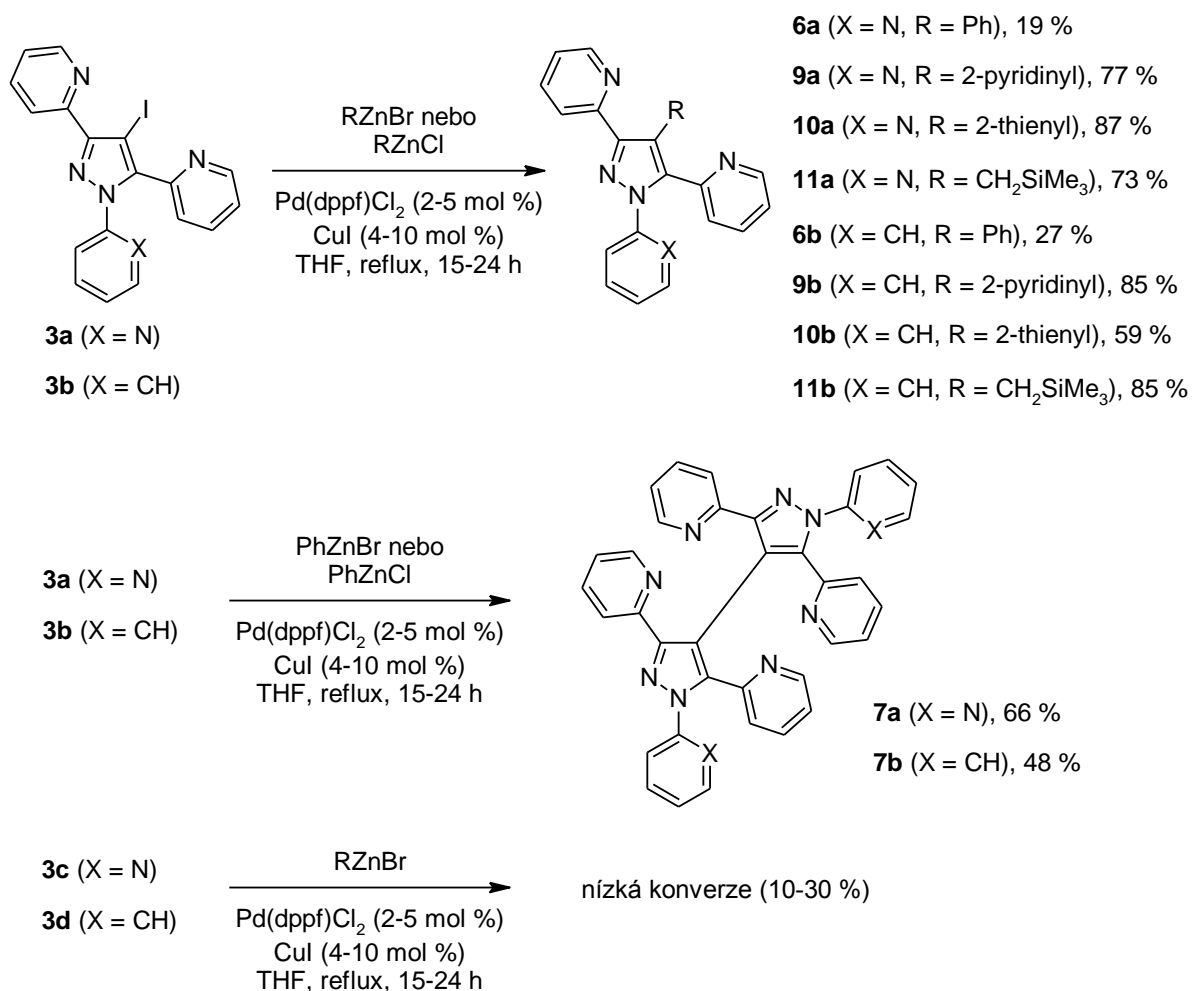


Schéma 46: Negishi cross-coupling reakce 4-jodpyrazolů **3a,b**.

Je zajímavé, že nejnižších výtěžků bylo dosaženo při reakcích s fenzylzinkum halogenidy. Důvodem byl vznik vedlejších produktů **7a,b**, pocházejících z homocouplingových reakcí aryljodidů **3a,b** (Schéma 46, uprostřed). Homocoupling je pravděpodobně způsoben snadnou výměnou jodu za zinek působením fenzylzinkum halogenidu na jodderiváty **3a,b**. Homocoupling pak může probíhat ve smyslu Negishi reakce. Je zajímavé, že natolik stericky stíněné organohalogenidy **3a,b** jsou schopny vytvořit vazbu uhlík-uhlík se čtyřmi pyridylovými substituenty v *ortho* polohách. Navíc bylo dosaženo dobrých výtěžků látek **7a,b** (66 a 48 %). Bylo zjištěno, že selektivita vůči homocouplingové reakci roste s vyšším přebytkem fenzylzinkum halogenidu.

V modelové reakci jodderivátu **3b** s dvěma ekvivalenty fenylzinkum bromidu bylo sloupcovou chromatografií izolováno 48 % bipyrazolu **7b**, 27 % žádaného fenylderivátu **6b** a 25 % produktu dehalogenace **2b** (Schéma 47). Když byla analogická reakce provedena v 1,2-dimethoxyethanu nedocházelo ani k dehalogenaci, ani ke cross-couplingu a byl izolován nezreagovaný jodderivát. To opět potvrzuje důležitost správné volby rozpouštědla při cross-coupling reakcích. S cílem dosažení vyššího výtěžku fenylderivátů **6a,b**, byla Negishi reakce provedena i v obrácené variantě (Schéma 48). Za těchto podmínek vznikly pouze stopy žádaného produktu **6a**, hlavním produktem byl opět **2a**.

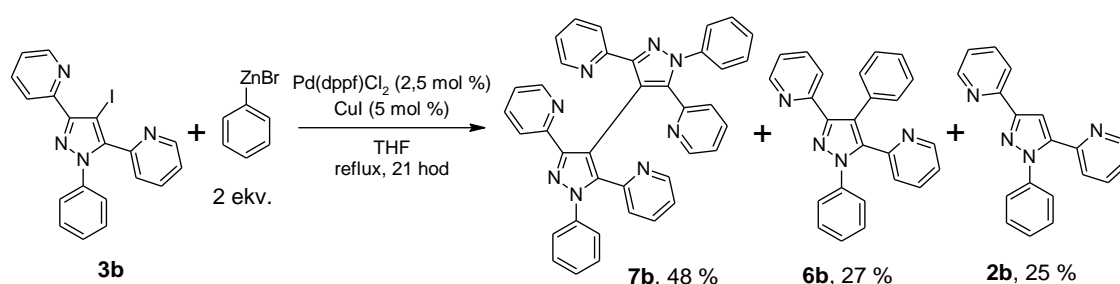


Schéma 47: Zastoupení produktů při reakci **3b** s 2 ekvivalenty PhZnBr.

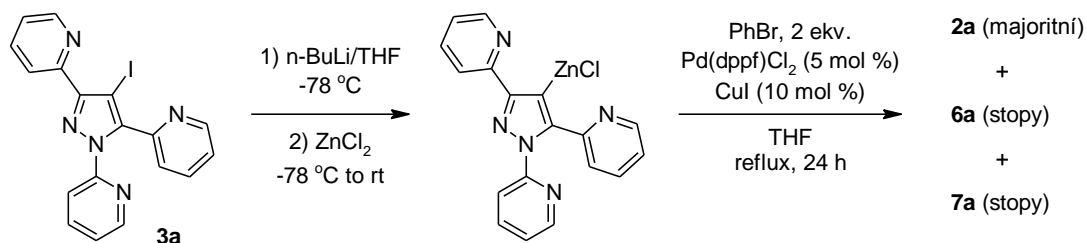


Schéma 48: Obrácená varianta Negishi couplingu.

Při arylaci heteroaromatickými substituenty (reakce s 2-pyridylzinkum bromidem a 2-thienylzinkum chloridem) byly homocouplingová a dehalogenační reakce minoritní a tyto reakce poskytly dobré výtěžky 59-87 %. Dobré výsledky byly dosaženy i při spojování s sp³ hybridizovaným uhlíkem (produkty **11a,b**, výtěžky 73 a 85 %). Reakce byly provedeny s 2 ekvivalenty komerčně dostupného organozinkum bromidu nebo se 3 ekvivalenty *in situ* připraveného organozinkum chloridu. Podrobnosti o syntetických postupech lze nalézt v „Supporting information“ k publikovanému článku (viz Příloha 3). Podobně jako v případě lithiace a karboxylace, byla pozorována

nízká reaktivita 3-pyridyl-substituovaných pyrazolů **3c,d** i při Negishi cross-coupling reakcích (Schéma 46, dole). Konverze na požadované produkty činily pouze 10-30 %, produkty nebyly izolovány. Nižší reaktivita **3c,d** může být způsobena tím, že dusíky 3-pyridylových substituentů nejsou konjugovány s uhlíkem nesoucím atom jodu. V důsledku toho není vazba C-I tolik aktivována, jako v případě sloučenin **3a,b**. Dalším důvodem zvýšené reaktivity sloučenin **3a,b** by mohla být možnost stabilizace chelatací (podobně jako při lithiaci a karboxylaci, viz kap. 4.3.2) během katalytického cyklu.

Reakce jodpyrazolu **3a** s (fenylethynyl)zinkum chloridem se ukázala být poměrně neselektivní. Při pokusech o izolaci požadovaného produktu krystalizací a sloupcovou chromatografií byla izolována zajímavá sloučenina (výtěžek cca 14 %). Po pečlivé NMR a HRMS analýze byla její struktura navržena jako pyrazolo[3,4-*a*]chinolizin-6-ium (**12**). Tato struktura byla potvrzena rentgenostrukturní analýzou (Obrázek 19), která také poskytla informaci o aniontu, kterým je jodid. Podrobné informace o rentgenostrukturní analýze jsou uvedeny v příloze 3 (část „Supporting information“).

V reakci se jodid vyskytuje jako odstupující skupina, a také je obsažen v kokatalyzátoru CuI. Možným vysvětlením vzniku sloučeniny **12** je intramolekulární cyklizace meziprojektu 4-alkynylpyrazolu za reakčních podmínek použitých při Negishi couplingu (Schéma 49).

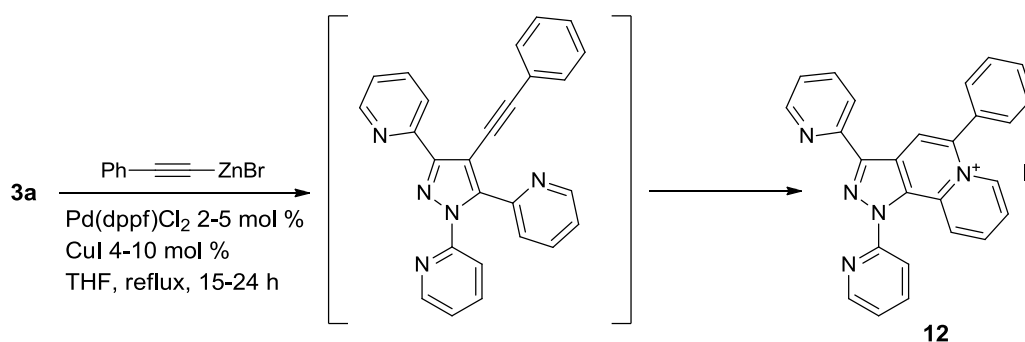
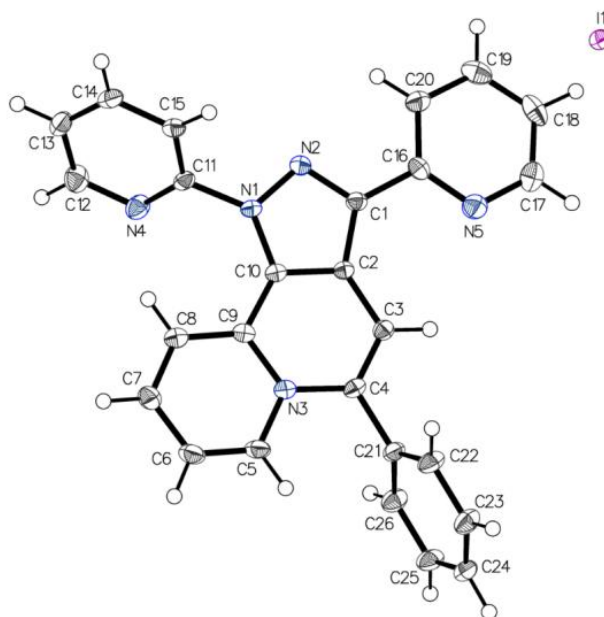


Schéma 49: Vznik pyrazolochinolizinium jodidu **12**.



Obrázek 19: Molekulová struktura sloučeniny **12**.

4.3.5 Identifikace a charakterizace připravených pyrazolů

Všechny připravené pyrazoly, včetně výchozích diketonů byly identifikovány a charakterizovány pomocí HRMS a NMR spektroskopie a bodem tání. U některých sloučenin byla provedena i elementární analýza. Struktura pyrazolochinolizinium jodidu **12** byla ověřena pomocí rentgenostrukturní analýzy. (Příloha 3)

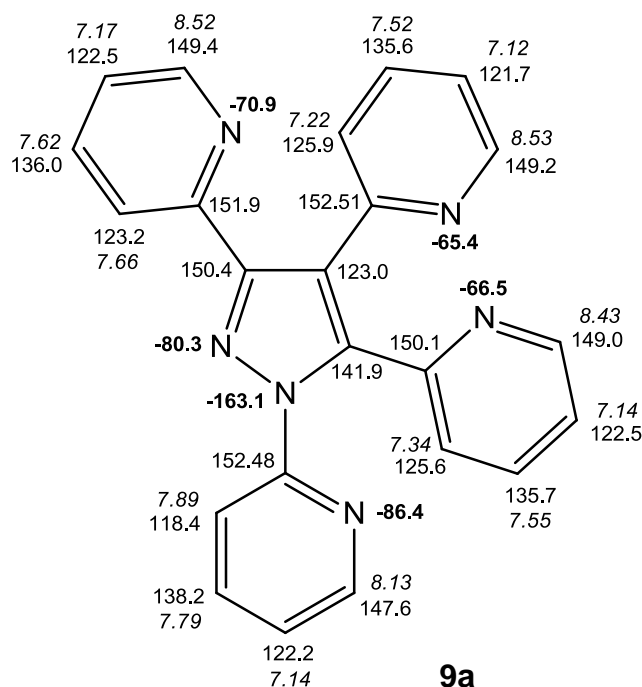
Bylo provedeno jednoznačné přiřazení všech ^1H a ^{13}C a téměř všech ^{15}N NMR chemických posunů ke konkrétním atomům. K tomuto účelu byly použity techniky 1D a 2D NMR spektroskopie, zejména ^1H -coupled ^{13}C NMR spektra, APT, gs-HSQC, gs-HMBC, gs-HSQC-TOCSY, COSY, TOCSY a NOESY spektroskopie.

Tautomerie diketonů **1a,b** a vodíková vazba v karboxylové kyselině **4a** již byly popsány v předchozích kapitolách. 4-Jodpyrazoly **3a-d** jsou charakteristické značným posunem signálu uhlíku C-4 směrem k vyššímu poli, ve srovnání s prekurzory **2a-d**. To je důsledek α -efektu těžkého atomu jodu. U všech sloučenin nesoucích pyridylové substituenty bylo možné rozlišit jednotlivé dusíkové atomy. ^{15}N NMR chemické posuny odpovídající pyridylu, vázanému na dusík N-1 pyrazolu jsou poněkud nižší, než v případech pyridylových substituentů, vázaných v polohách pyrazolu C-3, C-5 (nebo C-4). Z těchto dusíkových atomů býval nejméně stíněný ten, který byl součástí pyridylu na C-3. Pyridiniový (N^+) dusík ve sloučenině **12** vykazuje značný posun k vyššímu poli

(δ_{N-6} -176.2 ppm) oproti “běžným” ^{15}N NMR chemickým posunům pyridylových substituentů, vázaných na C-5 ($\delta \sim -62$ to -70 ppm). To je v perfektní shodě s pozorovaným cca 100 ppm posunem směrem k vyššímu poli, ke kterému dochází při převedení pyridinu na jeho hydrochlorid.¹⁴⁸

Zajímavým jevem jsou neobvykle vysoké ^1H NMR chemické posuny protonů H-3 (a vzácněji i H-5) na pyridinových cyklech (v samotném pyridinu je $\delta_{H-3/5}$ cca 7,4 ppm). Například sloučenina **11a** má δ_{H-3} pyridinu v pozici C-3 8,09 ppm, zatímco odpovídající δ_{H-5} je pouze 7,22 ppm. Možným vysvětlením je blízkost dusíkových volných elektronových párů N-2 pyrazolu nebo sousedních pyridinových, které ovlivňují zmíněné protony elektrostatickým polem, což způsobí vyšší chemické posuny. To bylo popsáno v případě 2,2'-bipyridinů^{149,150} a dalších srovnatelných systémů.¹⁵¹

Obrázek 20 zobrazuje kompletní NMR data pro případ tetrapyridylpyrazolu **9a**. Na tomto příkladu lze pozorovat výše diskutované trendy chemických posunů. Chemické posuny jsou pro ostatní sloučeniny uvedeny v příloze 3 (část „Supporting information“).



Obrázek 20: ^1H NMR (kurzíva), ^{13}C NMR a ^{15}N NMR (tučně) chemické posuny sloučeniny **9a** (v CDCl_3).

4.4 Syntéza derivátů *p*-terfenyl-4-olu

Obsah této kapitoly je založen na publikaci, která tvoří Přílohu 4 této práce:

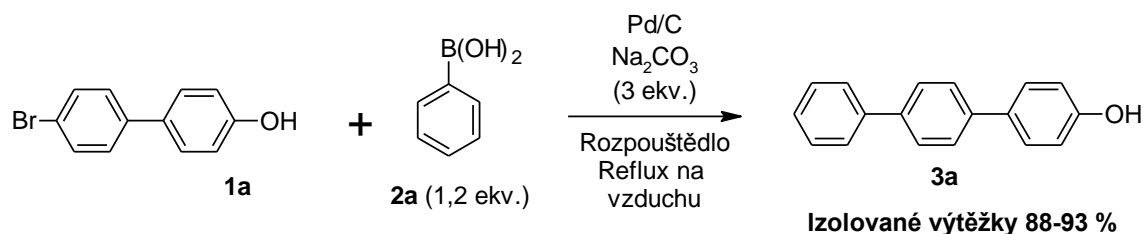
Příloha 4: Jansa J., Řezníček T., Jambor R., Bureš F., Lyčka A.: Synthesis of Hydroxy-Substituted *p*-Terphenyls and some Larger Oligophenylenes *via* Palladium on Charcoal Catalyzed Suzuki-Miyaura Reaction, *Advanced Synthesis and Catalysis* **2017**, 359, 339-350.

Cílové *p*-terfenyl-4-oly (*p*-terfenoly) byly připraveny reakcí mezi 4'-brom- (**1a**) nebo 4'-jodbifenyl-4-olu (**1b**) s 1,05-1,2 ekvivalentem odpovídající boronové kyseliny (**2a-w**). Jako katalyzátor byl používán 5% Pd/C Type 394 (vlhký), který produkuje firma Johnson Matthey. Jedná se o katalyzátor s distribucí palladia na povrchu částic aktivního uhlí (tzv. eggshell catalyst), stupeň redukce palladia je nízký a katalyzátor má vysoký obsah vody přes 55 %. Tento katalyzátor se ukázal být efektivní v našich předchozích testech,¹⁵² kde projevil podobnou katalytickou aktivitu jako katalyzátor Degussa Type E 105 CA/W,^{120,153} který je designovaný speciálně pro cross-coupling. Alkoholická rozpouštědla jsou popisována jako jedna z neúčinnějších pro zamýšlenou Suzuki-Miyaura reakci (viz kap. 2.3), proto jim a jejich směsím s vodou byla věnována hlavní pozornost. Výhodami takových rozpouštědel je jejich přijatelnost vůči životnímu prostředí, biodegradabilita, nízká cena, přijatelná toxicita a dobrá aplikovatelnost v procesní chemii. Další důležitou složkou reakční směsi je báze, zde byl preferován uhličitán sodný, který má výše uvedené výhody. Všechny dále uvedené reakce byly provedeny praktickým způsobem - jednoduchým refluxováním reakční směsi na vzduchu a bez přídavku ligandu.

Nejdříve byla testována syntéza nesubstituovaného derivátu *p*-terfenyl-4-olu **3a** (Tabulka 7). Byl sledován vliv rozpouštědla a množství katalyzátoru na průběh reakce. Reakce byla provedena ve třech základních alkoholech (MeOH, EtOH a *i*-PrOH, Tabulka 7, body 1-3) a probíhala podstatně rychleji v MeOH či EtOH, než v *i*-PrOH. Nejlepšího výsledku bylo dosaženo v methanolu (kompletní konverze již po 3 h), proto v něm byla snižována dávka katalyzátoru z původního 1 mol % až na 0,05 mol % (body 4-7). Klesající množství katalyzátoru mělo vliv na rychlost reakce, ale i při velmi nízké dávce katalyzátoru 0,05 mol % bylo po 7 hodinách dosaženo výborné konverze 98 % (bod 7). Při použití směsi MeOH s vodou, a dokonce i čisté vody, jakožto rozpouštědel, bylo rovněž dosaženo výborných výsledků (body 8-10). Obecně lze konstatovat, že při

prodloužení reakční doby z 3 na 7, případně 24 hodin, bylo dosaženo dobrých výtěžků ve všech případech. Proto bylo zapotřebí prozkoumat reaktivitu méně reaktivních – elektronově chudých arylboronových kyselin, jak je uvedeno v Tabulkách 8 a 9.

Tabulka 7: Optimalizace reakčních podmínek.

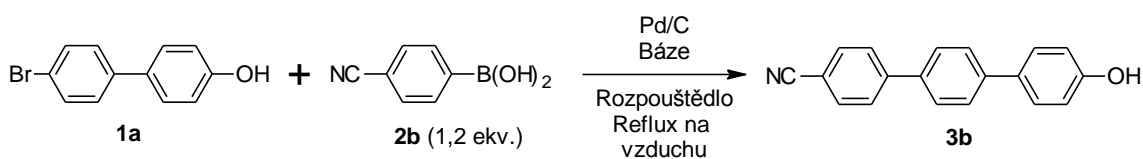


Bod	Rozpouštědlo	Pd/C [mol %]	Konverze [%] ^{a)}	
			3 h	7 h
1	MeOH	1	100	100
2	EtOH	1	97	99
3	<i>i</i> -PrOH	1	80	92
4	MeOH	0.5	98	100
5	MeOH	0.25	98	100
6	MeOH	0.1	95	99
7	MeOH	0.05	94	98
8	MeOH/H ₂ O 1:1	1	99	99
9	MeOH/H ₂ O 1:10	1	96	98
10	H ₂ O	1	85	91 (95) ^{b)}

^{a)} Stanoveno HPLC a založeno na výchozím halogenidu. Izolované výtěžky po rekrystalizaci byly v rozmezí 88-93 %.

^{b)} Stanoveno po 24 h.

Byla studována reakce mezi **1a** a 4-kyanfenylboronovou kyselinou **2b** (Tabulka 8). Jako rozpouštědlo byl zvolen methanol (Tabulka 8, body 1-4), ale konverze nepřekročila 87 % a stejného výsledku bylo dosaženo v případě použití *n*-propylalkoholu (bod 5). Nejlepších konverzí 94-96 % bylo dosaženo při použití ethanolu nebo směsi MeOH/H₂O 4:1 (body 6-10). Byly testovány i jiné báze než uhličitan sodný. V případě použití K₂CO₃ (bod 3) byla pozorována nízká konverze 39 %. S bázemi NaHCO₃ a Na₃PO₄·12 H₂O (body 4 a 8) bylo možné dosažení podobných konverzí, jako s Na₂CO₃, ale reakce probíhaly pomaleji, což bylo pozorováno pomocí HPLC.

Tabulka 8: Průzkum reaktivity **1a** vůči kyselině 4-kyanfenylboronové **2b**.

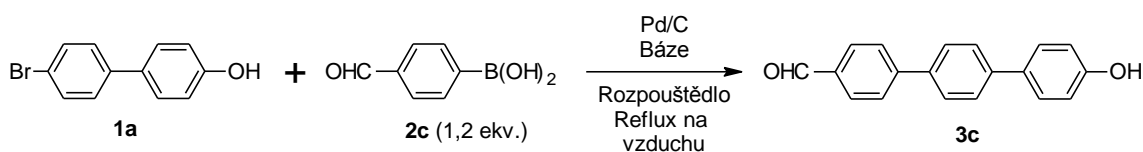
Bod	Rozpouštědlo	Báze (3 ekv.)	Pd/C [mol %]	Konverze [%] ^{a)}		Výtěžek [%] ^{b)}
				7 h	24 h	
1	MeOH	Na ₂ CO ₃	0.1	76	82	65
2	MeOH	Na ₂ CO ₃	0.5	85	87	75
3	MeOH	K ₂ CO ₃	0.5	39	n.d. ^{c)}	n.d. ^{c)}
4	MeOH	NaHCO ₃	0.5	83	87	73
5	<i>n</i> -PrOH	Na ₂ CO ₃	0.5	83	87	73
6	EtOH	Na ₂ CO ₃	0.5	92	94	84
7	EtOH	Na ₂ CO ₃	0.1	84	89	78
8	EtOH	Na ₃ PO ₄ · 12 H ₂ O	0.5	87	94	82
9	MeOH/H ₂ O 4:1	Na ₂ CO ₃	0.5	94	94	85
10	MeOH/H ₂ O 4:1	Na ₂ CO ₃	1	93	96	88

^{a)} Stanoveno HPLC a založeno na výchozím halogenidu.

^{b)} Izolované výtěžky po rekrystalizaci.

^{c)} n.d.: Nebylo stanoveno.

Optimalizace reakce mezi **1a** a 4-formylfenylboronovou kyselinou **2c** je uvedena v Tabulce 9. Na základě předchozích výsledků (viz Tabulka 8) bylo předpokládáno, že nejlepšího výsledku bude dosaženo v ethanolu. Ovšem, i při použití relativně vysoké dávky katalyzátoru (2 mol %) bylo po 24 hodinách refluxu v reakční směsi stanoveno pouze 71 % žádaného produktu **3c** (Tabulka 9, bod 3). Methanol a především jeho směs s vodou v poměru 4:1 se projeví jako mnohem výhodnější reakční prostředí (body 4-8). Dávka katalyzátoru mohla být zredukována na 1 mol % (bod 8) a přesto bylo dosaženo téměř kvantitativní konverze. Přídavek vody do ethanolu nepomohl zlepšit průběh reakce (bod 9).

Tabulka 9: Průzkum reaktivity **1a** vůči kyselině 4-formylfenylboronové **2c**.

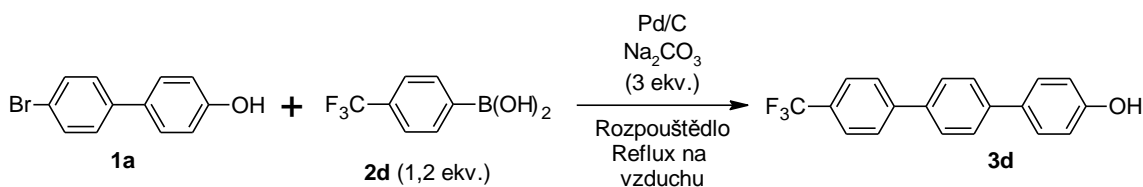
Bod	Rozpouštědlo	Báze (3 ekv.)	Pd/C [mol %]	Konverze [%] ^{a)}		Výtěžek [%] ^{b)}
				7 h	24 h	
1	EtOH	Na ₂ CO ₃	0.5	32	36	n.d. ^{c)}
2	EtOH	Na ₃ PO ₄ · 12 H ₂ O	0.5	16	n.d. ^{c)}	n.d. ^{c)}
3	EtOH	Na ₂ CO ₃	2	49	71	n.d. ^{c)}
4	MeOH	Na ₂ CO ₃	0.1	21	n.d. ^{c)}	n.d. ^{c)}
5	MeOH	Na ₂ CO ₃	1	66	95	78
6	MeOH	Na ₂ CO ₃	2	92	99	85
7	MeOH/H ₂ O 4:1	Na ₂ CO ₃	0.5	80	87	69
8	MeOH/H ₂ O 4:1	Na ₂ CO ₃	1	88	99	87
9	EtOH/H ₂ O 4:1	Na ₂ CO ₃	0.5	36	40	n.d. ^{c)}

^{a)} Stanoveno HPLC a založeno na výchozím halogenidu.

^{b)} Izolované výtěžky po rekrystalizaci.

^{c)} n.d.: Nebylo stanoveno.

Výše uvedené poznatky byly dále potvrzeny při couplingu **1a** s kyselinou 4-(trifluormethyl)fenylboronovou **2d**. Systém rozpouštědel MeOH/H₂O 4:1 se ukázal jako nejefektivnější a umožnil zredukovat dávky katalyzátoru až na 0,1 mol % (Tabulka 10).

Tabulka 10: Reakce **1a** s kyselinou 4-(trifluormethyl)fenylboronovou **2d**.

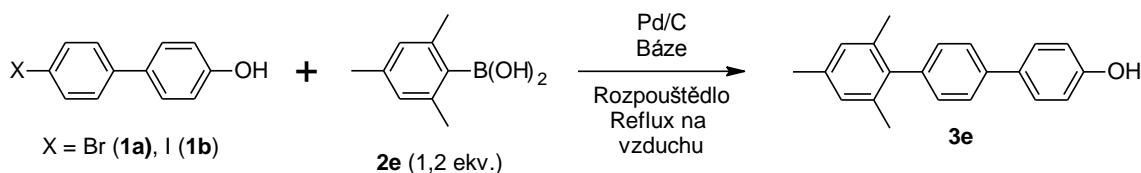
Bod	Rozpouštědlo	Pd/C [mol %]	Konverze [%] ^{a)}		Výtěžek [%] ^{b)}
			7 h	24 h	
1	MeOH	0.1	84	92	83
2	EtOH	0.5	92	93	77
3	MeOH/H ₂ O 4:1	0.5	100	n.d. ^{c)}	91
4	MeOH/H ₂ O 4:1	0.1	98	n.d. ^{c)}	92

^{a)} Stanoveno HPLC a založeno na výchozím halogenidu.

^{b)} Izolované výtěžky po rekrystalizaci.

^{c)} n.d.: Nebylo stanoveno.

Další práce byla zaměřena na průzkum reaktivity **1a** a 4'-jodbifenyl-4-olu **1b** s kyselinou mesitylboronovou **2e**, jakožto reprezentativním příkladem stericky stíněného reagentu (Tabulka 11). Je dobře známo, že při Suzuki-Miyaura couplingu se stericky stíněnými boronovými kyselinami je správný výběr báze zásadní pro úspěšný průběh reakce.⁶⁰ V tomto ohledu byly jako efektivní popsány báze Ba(OH)₂¹⁵⁴ a TiOH¹⁵⁵ pro reakci mesitylboronové kyseliny **2e** s jodbenzenem za katalýzy Pd(PPh₃)₄. Ve srovnání s běžně používaným Na₂CO₃, jsou báze jako NaOH, K₃PO₄ a Cs₂CO₃ schopny urychlit reakci a dosáhnout dobré konverze.¹⁵⁴ Protože jsou soli thallia a baria toxické, testy byly zahájeny s použitím NaOH (Tabulka 12, body 4-9) a KOH (bod 10). Oproti Na₂CO₃ (body 1-2) tyto báze významně zlepšily konverzi reakce. Zajímavé je, že Cs₂CO₃ (bod 3) byl zcela neefektivní. Podobně, jako u předchozích výsledků (Tabulka 8, bod 3), projevila draselná sůl mnohem nižší účinnost, než sodné soli (Tabulka 11, bod 10). Přestože bylo dosaženo kompletních konverzí při použití hydroxidů (Tabulka 11, body 4-10), tyto reakce bromderivátu **1a** byly ve velké míře (22-50%) doprovázeny vznikem vedlejších produktů. Tyto nečistoty byly detekovány pomocí HPLC v poměru cca 1:1 a byly identifikovány pomocí HRMS a z NMR spekter. Jedná se o produkt dehalogenace bifenylyl-4-ol a produkt homocouplingu *p*-quaterfenyl-4,4''-diol. Přechištění produktu rekrystalizací bylo obtížné, protože tyto nečistoty měly tendenci krystalovat společně s produktem **3e**. Míra vzniku těchto nečistot závisela na aplikovaných reakčních podmínkách. Jejich množství narůstalo při použití nižších katalytických dávek a vyšších dávek hydroxidu, a při vyloučení přídavku vody do reakční směsi (Tabulka 11, body 4-10). Při použití 2 ekvivalentů NaOH bylo možné dosáhnout uspokojivé konverze 72 % (bod 8), a to bez významného množství vedlejších produktů. Přesto se surový produkt nepodařilo vyčistit standardní rekrystalizací, protože výchozí brombifenyl **1a** krystaloval společně s produktem **3e**. Výborných výsledků bylo dosaženo, když byl výchozí látkou jodderivát **1b** (Tabulka 11, body 11-15). Produkt **3e** byl získán v téměř kvantitativním výtěžku, dokonce při dávce katalyzátoru 0,1 mol % (bod 15).

Tabulka 11: Průzkum reaktivity bromderivátu **1a** a jodderivátu **1b** vůči kyselině mesitylboronové **2e**.

Bod	X	Rozpouštědlo	Báze (ekv.)	Pd/C [mol %]	Konverze [%] ^{a)}		Výtěžek [%] ^{b)}
					7 h	24 h	
1	Br	EtOH	Na ₂ CO ₃ (3)	0.5	11	20	n.d. ^{d)}
2	Br	MeOH/H ₂ O 4:1	Na ₂ CO ₃ (3)	2	26	53	n.d. ^{d)}
3	Br	MeOH/H ₂ O 4:1	Cs ₂ CO ₃ (3)	2	1	n.d. ^{d)}	n.d. ^{d)}
4	Br	MeOH/H ₂ O 4:1	NaOH (4)	2	100 (36) ^{c)}	n.d. ^{d)}	n.d. ^{d)}
5	Br	MeOH/H ₂ O 4:1	NaOH (4)	0,5	98 (45) ^{c)}	n.d. ^{d)}	n.d. ^{d)}
6	Br	MeOH/H ₂ O 4:1	NaOH (3)	2	100 (27) ^{c)}	n.d. ^{d)}	n.d. ^{d)}
7	Br	MeOH/H ₂ O 4:1	NaOH (2.5)	2	63	95 (22) ^{c)}	n.d. ^{d)}
8	Br	MeOH/H ₂ O 4:1	NaOH (2)	2	67	72	n.d. ^{d)}
9	Br	MeOH	NaOH (3)	2	87 (50) ^{c)}	n.d. ^{d)}	n.d. ^{d)}
10	Br	MeOH/H ₂ O 4:1	KOH (3)	2	69	98 (30) ^{c)}	n.d. ^{d)}
11	I	MeOH/H ₂ O 4:1	Na ₂ CO ₃ (3)	2	67	81	n.d. ^{d)}
12	I	MeOH/H ₂ O 4:1	NaOH(3)	2	100	n.d. ^{d)}	90
13	I	MeOH/H ₂ O 4:1	NaOH(3)	1	100	n.d. ^{d)}	93
14	I	MeOH/H ₂ O 4:1	NaOH(3)	0.5	100	n.d. ^{d)}	94
15	I	MeOH/H ₂ O 4:1	NaOH(3)	0.1	99	100	94

^{a)} Stanoveno HPLC a založeno na výchozím halogenidu.

^{b)} Izolované výtěžky po rekrystalizaci.

^{c)} Byly pozorovány vedlejší produkty, jejich podíl v reakční směsi je uveden v závorkách.

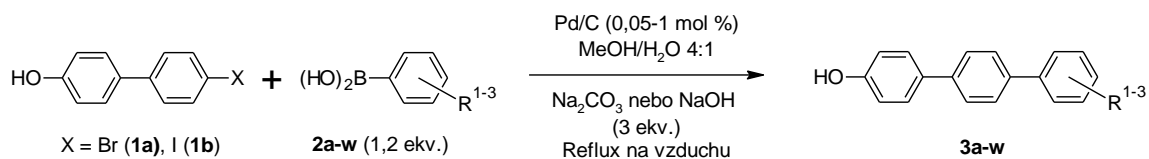
^{d)} n.d.: Nebylo stanoveno.

Výše uvedené reakce umožnily návrh vhodných reakčních podmínek pro cross-coupling elektronově chudých i stericky stíněných boronových kyselin. Za optimalizovaných podmínek byla praktickým způsobem připravena série *p*-terfenyl-4-olů **3a-w** s dobrými až vynikajícími výtěžky, výsledky uvádí Tabulka 12. Kromě již uvedených sloučenin byly připraveny různé *para* substituované sloučeniny **3f-l**, včetně těch, nesoucích silné elektronakceptorní substituenty, jako je nitro (**3i**) a karboxylová kyselina (**3h**). Jsou uvedeny i dva příklady *meta* substituovaných sloučenin, nesoucích hydroxymethyl (**3m**) a dva atomy fluoru (**3n**). Tento syntetický protokol je efektivní i pro různé *ortho* substituované sloučeniny **3o-t**. Prakticky kvantitativní konverze bylo také dosaženo v případech reakcí 2-fluorofenyl- (**2p**) a 2-ethoxy-5-chlorfenylboronových kyselin (**2r**), ale také naftalen-1-boronové kyseliny **2s** a bifenyl-2-boronové kyseliny **2t**, za standardních podmínek a s pouhými 0,1 mol % Pd/C. Chlorovaná fenylová jádra za těchto podmínek nereagovaly, tato chemoselektivita byla pozorována v případě reakcí chlorovaných fenyloboronových kyselin **2g** a **2r**.

Optimalizované podmínky, nalezené během reakcí s mesitylboronovou kyselinou **2e** (Tabulka 11, bod 15), byly úspěšně aplikovány pro coupling 2,4,6-triisopropylfenylboronové kyseliny **2o**. Bylo dosaženo kompletní konverze eduktu **1b** (Tabulka 12, bod 15), ale při reakci vznikaly dva vedlejší produkty. Jednalo se o bifenyl-4-ol (14 %) a výchozí 2,4,6-triisopropylfenylboronovou kyselinu **2o** (19 %), které byly identifikovány v surovém produktu pomocí NMR spektroskopie. Zvýšením dávky katalyzátoru na 0,5 resp. 2 mol % nedošlo ke zlepšení výtěžku a čistoty produktu **3o**, který byl získán ve výtěžku 63 % po standardní rekrystalizaci, provedené při laboratorní teplotě. Za nízké teploty totiž docházelo ke krystalizaci výchozí boronové kyseliny **2o**.

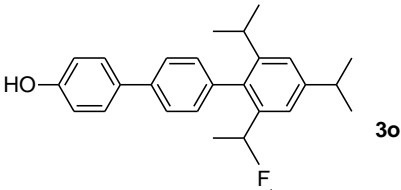

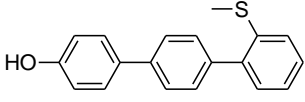
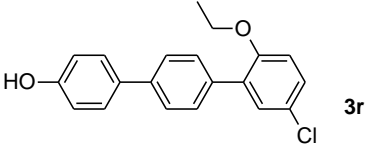
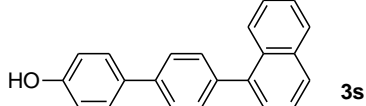
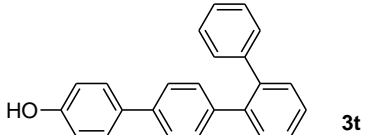
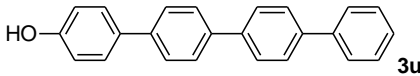
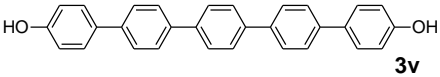
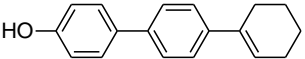
V případech reakcí boronových kyselin **2k** a **2q**, obsahujících ve své struktuře atom síry, byly pozorovány nižší stupně konverze, a to především u thioanisol-2-boronové kyseliny **2q**, dokonce při použití 2 mol % katalyzátoru. Toto je s největší pravděpodobností způsobeno částečnou otravou katalyzátoru působením síry.¹⁵⁶ Rozdíl v konverzi je dobře viditelný při porovnání výsledků, dosažených při syntéze **3k** s výsledky analogického methoxyderivátu **3f**. Procedura je dobře aplikovatelná i pro syntézu větších oligofenylů, jako jsou *p*-quaterfenyl-4-ol **3u** a *p*-quinquefenyl-4,4'-diol **3v**, které byly úspěšně syntetizovány (Tabulka 12, body 21 a 22). *p*-Quinquefenyl **3v** byl získán reakcí benzen-1,4-diboronové kyseliny **2v** s dvěma ekvivalenty 4'-bromobifenyl-4-olu **1a**.

V některých případech byl přebytek odpovídající boronové kyseliny zredukován z běžně používaných 1,2 na 1,05 ekvivalentu, bez negativního vlivu na výtěžek (Tabulka 12, body 9 a 15). To bylo důležité zejména v případech, kdy boronové kyseliny **2i** a **2o**, obsažené v surových produktech, krystalovaly společně s produkty **3i** a **3o**. Coupling s cyklohexen-1-ylboronovou kyselinou **2w** (bod 23) proběhl také snadno, ale v tomto případě bylo pro dosažení dobré konverze nutné použití 2 ekvivalentů **2w**, pravděpodobně z důvodu horší stability této boronové kyseliny.

Tabulka 12: Přehled připravených *p*-terfenylů.

Bod	X	RB(OH) ₂	Produkt	Báze	Pd/C [mol %]	Konverze [%] ^{a)}		Výtěžek [%] ^{b)}
						7 h	24 h	
1	Br	2a	3a	Na ₂ CO ₃	0.05	100	n.d. ^{c)}	93
2	Br	2b	3b	Na ₂ CO ₃	1	93	96	88
3	Br	2c	3c	Na ₂ CO ₃	1	88	99	87
4	Br	2d	3d	Na ₂ CO ₃	0.1	98	n.d. ^{c)}	92
5	I	2e	3e	NaOH	0.1	99	100	94
6	Br	2f	3f	Na ₂ CO ₃	0.1	100	n.d. ^{c)}	91
7	Br	2g	3g	Na ₂ CO ₃	0.1	100	n.d. ^{c)}	90
8	Br	2h	3h	Na ₂ CO ₃	0.1	99	n.d. ^{c)}	89
9	Br	2i	3i	Na ₂ CO ₃	0.1	96	98	89 ^{d)}
10	Br	2j	3j	Na ₂ CO ₃	0.1	99	n.d. ^{c)}	92
11	Br	2k	3k	Na ₂ CO ₃	0.5	91	94	86
12	Br	2l	3l	Na ₂ CO ₃	1	92	98	88
13	Br	2m	3m	Na ₂ CO ₃	0.1	99	n.d. ^{c)}	87
14	Br	2n	3n	Na ₂ CO ₃	0.1	99	n.d. ^{c)}	88

Tabulka 12: Pokračování.

15	I	2o		NaOH	0.1	n.d. ^{c)}	100 ^{e)}	63 ^{d)}
16	Br	2p		Na ₂ CO ₃	0.1	100	n.d. ^{c)}	92
17	I	2q		NaOH	2	83	91	66
18	Br	2r		Na ₂ CO ₃	0.1	98	99	88
19	Br	2s		Na ₂ CO ₃	0.1	99	n.d. ^{c)}	95
20	Br	2t		Na ₂ CO ₃	0.1	100	n.d. ^{c)}	93
21	Br	2u		Na ₂ CO ₃	0.1	100	n.d. ^{c)}	95
22	Br	2v		Na ₂ CO ₃	0.1	n.d. ^{c)}	n.d. ^{c)}	84 ^{f)}
23	Br	2w		Na ₂ CO ₃	1	96	98	81 ^{g)}

^{a)} Stanoveno HPLC a založeno na výchozím halogenidu.

^{b)} Izolované výtěžky po rekrystalizaci.

^{c)} n.d.: Nebylo stanoveno.

^{d)} Reakce s 1,05 ekv. boronové kyseliny.

^{e)} Stanoveno pomocí ¹H NMR surového produktu, který obsahoval 14 % bifenylyl-4-olu a 19 % výchozí **2o**.

^{f)} Získáno reakcí 4'-bromobiphenyl-4-olu **1a** s benzen-1,4-diboronovou kyselinou **2v** (0,5 ekv.).

^{g)} Reakce s 2 ekvivalenty cyklohexen-1-ylboronové kyseliny.

Mnoho autorů popsalo možnost přímé recyklace Pd/C katalyzátoru po provedení Suzuki-Miyaura reakce.^{123a,124,125,126,128a,128c} Tyto testy byly obvykle provedeny na příkladu reakce aktivovaných reagentů a s relativně vysokými dávkami katalyzátoru (obvykle 1-5 mol %). Pro úspěšnou recyklaci katalyzátoru v množství 0,2 mol %, byla popsána možnost jeho reoxidace jodem.^{153c} V této práci bylo předpokládáno, že pro použití v procesní chemii jsou nízké katalytické dávky výhodnější než jeho recyklace. Během reakce se mění oxidační stav palladia, dochází ke změnám povrchu katalyzátoru

a distribuce palladia. Použitím recyklovaného katalyzátoru se obvykle zhoršuje reprodukovatelnost výsledků (viz přehledný článek¹¹⁸). Použitý katalyzátor může být rafinován, takže nedochází ke ztrátám drahého kovu. Z tohoto pohledu je důležité, aby kov zůstal v použitém katalyzátoru zachován, to znamená, aby nedocházelo k jeho ztrátám během reakce.

Byly provedeny recyklační testy s oběma obecnými postupy (syntéza látek **3a** a **3e** dle Tabulky 12), při použití 0,5 mol % Pd/C (Tabulky 13 a 14). V obou případech byla pozorována nižší konverze, a především reakční rychlost. Přestože by se některé výsledky v Tabulkách 13 a 14 mohly zdát uspokojivé, nutno poznamenat, že uvedené reakce probíhaly kvantitativně již po sedmi hodinách s 0,05 až 0,1 mol % katalyzátoru. Z toho vyplývá, že je výhodnější reakci provést pětikrát až desetkrát s čerstvým katalyzátorem, než recyklovat 0,5 mol % katalyzátoru s nejistým výsledkem.

Tabulka 13: Recyklační test pro reakci **1a** s kyselinou fenylboronovou **2a** (0,5 mol % Pd/C).

Použití Pd/C ^{a)}	Konverze [%] ^{b)}		
	3 h	7 h	24 h
1.	99	100	100
2.	90	96	98
3.	56	59	72

^{a)} Provedeno dle obecného postupu (Příloha 4) z bromderivátu **1a**. Katalyzátor byl izolován během rekrystalizace a byl přímo recyklován do další stejné reakce.

^{b)} Stanoveno HPLC a založeno na výchozím halogenidu.

Tabulka 14: Recyklační test pro reakci **1b** s kyselinou mesitylboronovou **2e** (0,5 mol % Pd/C).

Použití Pd/C ^{a)}	Konverze [%] ^{b)}		
	3 h	7 h	24 h
1.	99	100	100
2.	96	96	97
3.	90	98	99

^{a)} Provedeno dle obecného postupu (Příloha 4) z jodderivátu **1b**. Katalyzátor byl izolován během rekrystalizace a byl přímo recyklován do další stejné reakce.

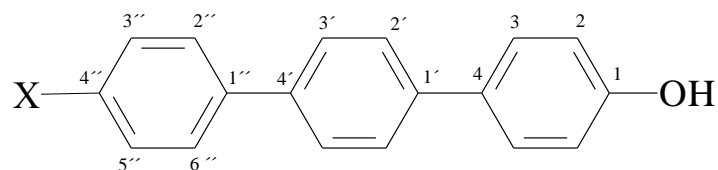
^{b)} Stanoveno HPLC a založeno na výchozím halogenidu.

Důležitým hlediskem katalyzovaných reakcí je udržitelnost vzácných kovů. Proto byla provedena měření obsahu palladia v použitých katalyzátorech pomocí ICP-OES. U třikrát použitého katalyzátoru po procedurách, popsáných v Tabulkách 13 a 14 došlo k významnému poklesu obsahu Pd. Bylo ztraceno 69 % (procedura v Tabulce 13) a 40 % (procedura v Tabulce 14) původní hmoty Pd. Následně byl obsah

Pd stanoven po první reakci s 0,5 mol % Pd/C (bez recyklace) a bylo vynecháno, případně upraveno okyselení během zpracování reakční směsi (viz Příloha 4, Experimentální část). V případě syntézy **3a** bylo okyselení zcela vynecháno a v případě syntézy **3e**, kde byl produkt po reakci ve formě fenolátu, byla k okyselení použita kyselina octová místo chlorovodíkové. Za těchto podmínek došlo ke ztrátě 11 % původní hmoty Pd v případě syntézy **3a**, 19 % Pd bylo ztraceno v případě syntézy **3e**. Je velmi pravděpodobné, že okyselení částečně způsobuje ztráty Pd.

Syntéza sloučenin **3a**, **3i** a **3n** byla ověřena ve větším měřítku (20 gramů v případě **3i** a **3n** a dokonce 50 gramů v případě **3a**). Získané výsledky byly shodné s těmi, dosaženými v měřítku 2 gramů. Všechny připravené sloučeniny byly charakterizovány body tání, NMR a HRMS spektry a elementární analýzou. V některých případech bylo možné i kompletní přiřazení ^1H a ^{13}C NMR chemických posunů ke konkrétním atomům (Tabulka 15).

Připravené *p*-terfenoly dále slouží pro přípravu nesymetricky substituovaných *p*-quaterfenylů (viz Schéma 1), jejichž syntéza probíhá a je v plánu dosažené výsledky publikovat.

Tabulka 15: ^1H a ^{13}C chemické posuny (δ , ppm) vybraných *p*-terfenolů v $\text{DMSO-}d_6$ 

H/C číslo	3a X = H		3b X = 4-CN		3c X = 4-CHO		3d X = 4-CF ₃		3f X = 4-OCH ₃		3g X = 4-Cl		3h X = 4-COOH		3i X = 4-NO ₂	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	9.65	157.4	9.69	157.6	9.69	157.6	9.70	157.6	9.62	157.2	9.65	157.4	9.68	157.4	9.69	157.6
2	6.92	115.9	6.93	115.9	6.93	115.9	6.92	116.0	6.92	115.9	6.92	115.9	6.93	116.0	6.87	115.9
3	7.59	127.8	7.62	127.9	7.62	127.9	7.62	127.9	7.58	127.6	7.59	127.8	7.60	127.9	7.59	127.9
4	-	130.4	-	130.0	-	130.1	-	130.1	-	130.5	-	130.2	-	130.2	-	129.9
1'	-	139.3	-	140.6	-	136.6	-	140.4	-	138.6	-	139.7	-	136.9	-	140.8
2'	7.71	127.2	7.77	126.6	7.77	126.6	7.77	126.7	7.70	126.4	7.72	126.6	7.72	126.6	7.75	126.7
3'	7.76	126.5	7.84	127.8	7.87	127.7	7.84	127.6	7.72	126.6	7.76	127.1	7.79	127.5	7.84	127.8
4'	-	138.1	-	136.1	-	140.5	-	136.5	3.41	137.8	-	138.6	-	140.2	-	135.6
1''	-	139.8	-	144.3	-	145.5	-	143.9	-	132.2	-	136.7	-	144.0	-	146.2
2''	7.52	126.5	7.96	127.3	8.00	127.1	7.98	127.3	7.66	127.6	7.56	129.0	7.85	126.6	8.00	127.5
3''	7.73	129.1	7.96	133.0	8.05	130.3	7.86	125.9	7.08	114.5	7.78	128.3	8.08	130.2	8.30	124.3
4''	7.42	127.4	-	109.9	-	135.1	-	128.2	-	158.9	-	132.3	-	129.6	-	146.5
X	-	-	-	119.0	10.10	192.8	-	124.3	3.41	55.3	-	-	12.80	167.4	-	-

4.5 Příprava Pd komplexů a testování jejich katalytické aktivity

Obsah této kapitoly je založen na publikaci, která tvoří Přílohu 5 této práce:

Příloha 5: Jansa J., Řezníček T., Dostál L., Růžičková Z., Bureš F., Jambor R.: Amidophosphine stabilized palladium complexes catalyse Suzuki-Miyaura cross-couplings in aqueous media, *Applied Organometallic Chemistry* **2016**, *30*, 1036-1042.

V rámci této práce byly především připraveny ligandy L^1PPh_2 a L^2PPh_2 a jejich komplexy s chloridem palladnatým **1** a **2**. Příprava a charakterizace ligandů L^1PPh_2 a L^2PPh_2 a komplexů **1** a **2** již byla publikována.¹³³ V rámci této práce byly tyto sloučeniny připraveny ve větším měřítku optimalizovaným postupem, viz kap. 6 (Experimentální část).

Byly provedeny testy katalytické aktivity připravených komplexů, včetně amidofosfinových komplexů **3-6**. Byl připraven hydrochlorid komplexu **1** a byla určena jeho struktura (sloučenina **7**). Byla testována možnost využití protonace komplexu **1** k jeho izolaci po provedené cross-coupling reakci.

4.5.1 Syntéza fosfinových ligandů L^1PPh_2 a L^2PPh_2

Syntéza ligandů L^1PPh_2 a L^2PPh_2 probíhala dle Schématu 50. V obou případech byla nejprve provedena lithiace výchozího 1,3-bis[(*N,N*-dimethylamino)methyl]benzenu (L^1) nebo 1,3-bis(*tert*-butoxymethyl)benzenu (L^2), která byla provedena pomocí *n*-butyllithia v hexanu za laboratorní teploty po dobu 24 hodin. K lithnému komplexu byl následně během 1 hodiny přidán difenylfosfinchlorid v ekvimolárním množství. Surové produkty s čistotou cca 95 % bylo možné izolovat extrakcí v kvantitativním výtěžku. Čisté produkty byly získány rekrystalizací z methanolu. Přestože je sloučenina L^1PPh_2 známa jako kapalina,¹⁵⁷ při dostatečném ochlazení methanolického roztoku (-20 až -30 °C) došlo ke krystalizaci. Produkt L^1PPh_2 byl získán čistý a krystalický ve výtěžku 83 %. Při laboratorní teplotě však dochází k jeho tání, proto je ho zapotřebí filtrovat přes vychlazenou aparaturu, včas ho přemístit do vychlazené prachovnice a skladovat v mrazicím boxu. Takto připravený krystalický produkt L^1PPh_2 lze bez

problémů navažovat a používat ho např. jako ligand. Produkt L^2PPh_2 byl po rekrystalizaci izolován ve výtěžku 71 %.

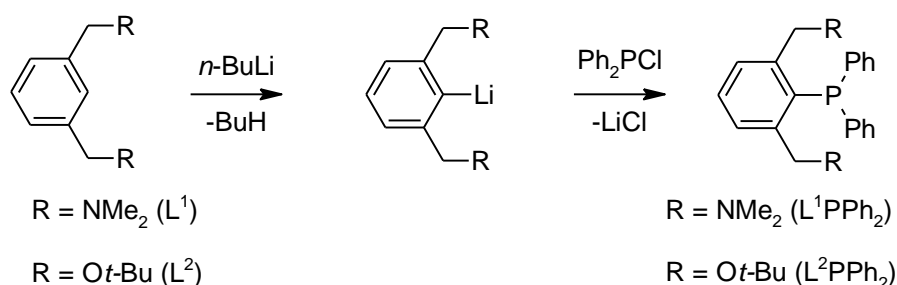


Schéma 50: Princip syntézy ligandů L^1PPh_2 a L^2PPh_2 .

4.5.2 Syntéza palladnatých komplexů

Získané fosfinové ligandy L^1PPh_2 a L^2PPh_2 podléhají komplexaci s chloridem palladnatým (Schéma 51 a 52). Podle substituce výchozího ligandu, může komplex vznikat v stechiometrickém poměru 1:1 nebo 2:1 (poměr ligandu k $PdCl_2$). Komplex 1:1 vzniká, je-li substituent R schopen chelátovat atom palladia (typické pro $R = NMe_2$). Podle poměru komplexace se liší i konfigurace komplexu, komplex **1** má konfiguraci *cis* a komplex **2** konfiguraci *trans*.

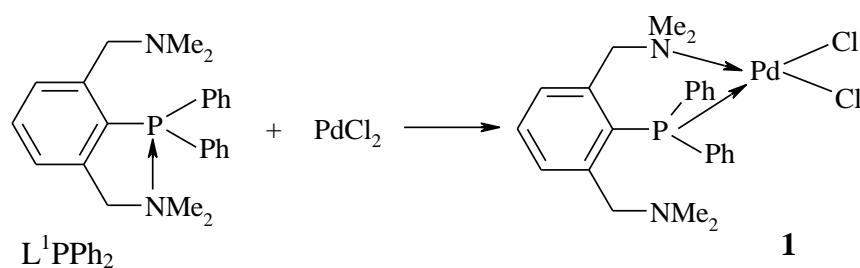


Schéma 51: Syntéza komplexu **1**.

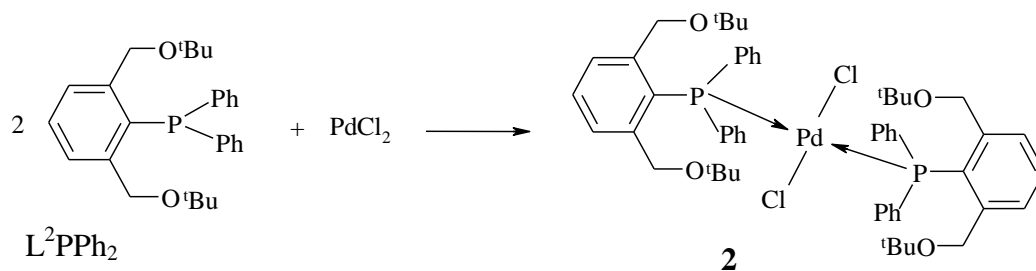


Schéma 52: Syntéza komplexu **2**.

Syntéza komplexů **1** a **2** byla provedena v tetrahydrofuranu a dichlormethanu za laboratorní teploty. Průběh reakcí byl monitorován pomocí ^{31}P NMR spektroskopie.

Při syntéze komplexu **1** (Schéma 51), provedené v tetrahydrofuranu, bylo zapotřebí velmi dlouhé reakční doby. Až po 14 dnech obsah výchozího ligandu L^1PPh_2 klesl na cca 3 % (po týdnu bylo v reakční směsi stanoveno 38 % ligandu L^1PPh_2). Během reakční doby došlo k tvorbě suspenze, proto byl přidán dichlormethan a poté mohla být směs zfiltrována. Po oddestilování rozpouštědla byl produkt rozmíchán v hexanu a odfiltrován. Komplex **1** byl získán čistý ve výtěžku 89 %. Následně byla tato komplexační reakce provedena v dichlormethanu. Při analýze vzorků reakční směsi bylo zjištěno, že po 23 hodinách bylo přítomno 18 % výchozího ligandu L^1PPh_2 a po 67 hodinách byla konverze kompletní. Navíc bylo viditelné, že se prakticky všechny chlorid palladnatý rozpustil. Komplex **1** byl získán čistý ve výtěžku 99 %.

Při syntéze komplexu **2** (Schéma 52), provedené v tetrahydrofuranu, také docházelo ke vzniku suspenze produktu, kterou bylo nutné rozpustit přidávkem dichlormethanu, aby mohl být odfiltrován nezreagovaný chlorid palladnatý. Reakce trvala 14 dní, bylo dosaženo výtěžku 92 %. Podobně, jako při syntéze komplexu **1**, byl vhodnějším rozpouštědlem dichlormethan. Při míchání reakční směsi za laboratorní teploty docházelo k postupnému rozpouštění chloridu palladnatého, výchozí ligand L^2PPh_2 i vznikající komplex byly rozpuštěné. Při monitorování reakce byl pozorován postupný nárůst konverze, např. po 10 dnech bylo stanoveno 63 % komplexu **2**. Bylo zjištěno, že dobrým ukazatelem konce reakce je úplné rozpuštění chloridu palladnatého, ke kterému došlo po 13 dnech. Vznikl oranžový roztok, který mohl být zfiltrován. Po oddestilování dichlormethanu byl produkt rozmíchán v hexanu a odfiltrován. Komplex **2** byl získán čistý ve výtěžku 93 %.

Bylo prokázáno, že lze komplexy **1** a **2** připravit jednoduše a s výborným výtěžkem. Nevýhodou uvedených postupů je dlouhá reakční doba, která by mohla být zkrácena použitím vyšších teplot. Produkty jsou stabilní na vzduchu, takže jejich zpracování nebylo nutné provádět v inertní atmosféře.

Aminoskupinu komplexu **1** je možné protonovat a dosáhnout tak jeho rozpustnosti ve vodě. Tento fakt lze prakticky využít k izolaci komplexu **1** po provedení jím katalyzované reakce. Z organické fáze byl po provedení Suzuki-Miyaura reakce komplex **1** extrahován do vodné fáze o pH cca 5. Po odpaření vodné fáze byl zbytek podroben ^{31}P NMR analýze, kde byl nalezen signál s chemickým posunem 18,4 ppm, který byl přisouzen vzniku komplexu **7**. Tato sloučenina **7** byla také připravena reakcí **1**

s ekvimolárním množstvím HCl (Schéma 53) a byla charakterizována NMR spektroskopií v deuterované vodě, struktura byla potvrzena rentgenostrukturní analýzou. Změnou pH, např. přidavkem uhličitanu sodného, lze hydrochlorid **7** převést zpět na komplex **1**, který se vysráží z vodného roztoku.

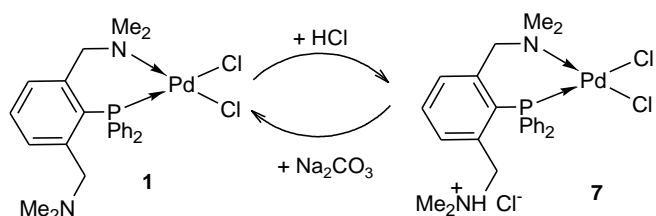
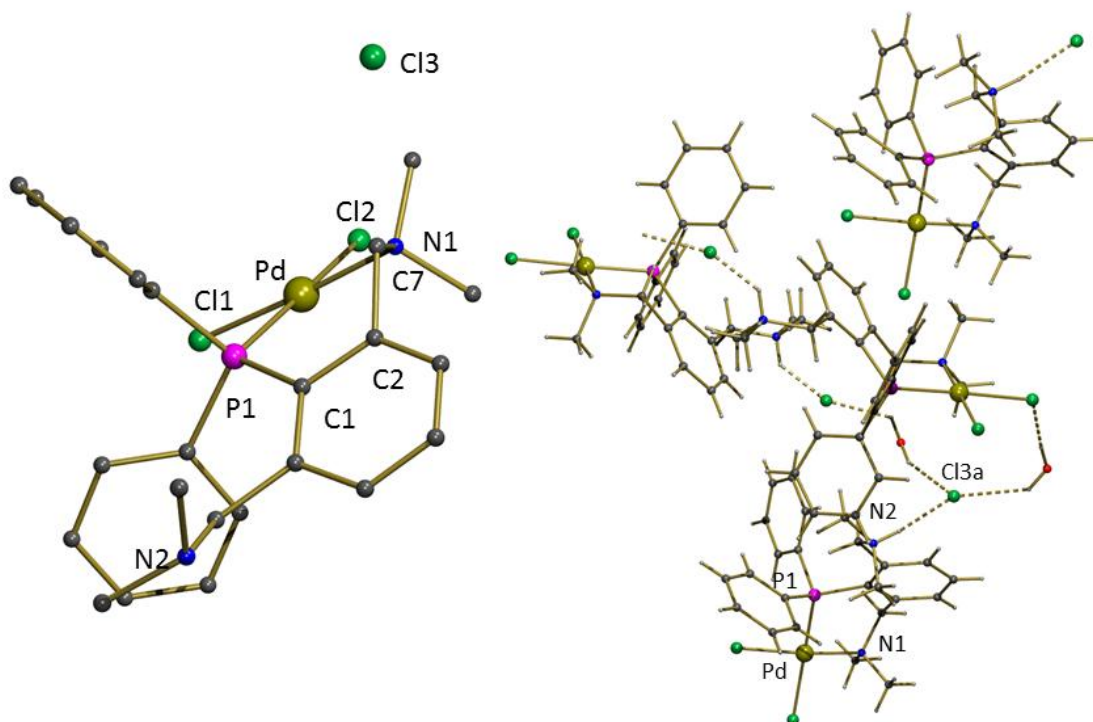


Schéma 53: Syntéza hydrochloridu **7** a jeho regenerace na výchozí komplex **1**.

Izolovaný komplex **7** jevil ^{31}P NMR signál 18,4 ppm, což je srovnatelné s posunem výchozího komplexu **1** (19,4 ppm).¹³³ V porovnání s výchozím ligandem L^1PPh_2 ($\delta^{31}\text{P} = -16,5$ ppm) tak komplexací došlo k posunu směrem k nižšímu poli. V ^1H NMR spektru látky **7** byl pozorován AB spinový systém (δ_{A} 3,25; δ_{B} 3,75) s interakční konstantou $J_{\text{AB}} \approx 12$ Hz a široký singlet s $\delta = 4,19$ ppm pro CH_2N skupiny a dva signály při $\delta = 2,73$ a $\delta = 2,76$ ppm pro CH_3 skupiny ligandu L^1PPh_2 . V ^1H NMR spektru byl pozorován i signál odpovídající NH skupině při $\delta = 4,28$ ppm. Tyto informace naznačují přítomnost dvou neekvivalentních CH_2NMe_2 skupin. Jedna z těchto skupin koordinuje atom palladia tak, jak je tomu v komplexu **1**. Druhá CH_2NMe_2 skupina je protonována chlorovodíkem. V důsledku existence amoniové skupiny je sloučenina **7** dobře rozpustná ve vodě.

Struktura látky **7** byla potvrzena rentgenostrukturní analýzou (Obrázek 21). Podrobné informace o struktuře **7** jsou uvedeny v Příloze 4. Touto analýzou bylo potvrzeno, že koordinační číslo dvoumocného palladia je 4, a že ligandy jsou v uspořádání *cis*. Vazebná délka Pd1-P1 je 2.2522(10) Å, což odpovídá popsáním fosfinovým a fosfitovým komplexům Pd(II) (2.2-2.4 Å)¹⁵⁸ i komplexu **1** (2.2543(9) Å).¹³³ Délka vazby Pd1-N1 je 2.097(3) Å, což ukazuje na silnou koordinaci dusíku na palladium. Tato hodnota je srovnatelná s podobnými monomerními N-koordinovanými Pd komplexy, kde byly nalezeny vzdálenosti Pd-N 2.073-2.155 Å.¹⁵⁸ Druhý dusíkový atom N2 je protonovaný – tvoří amoniovou skupinu, která je kompenzována chloridovým anionem. Vodíkový atom amoniové skupiny tvoří vodíkové vazby s chloridovým anionem další molekuly (Obrázek 21).



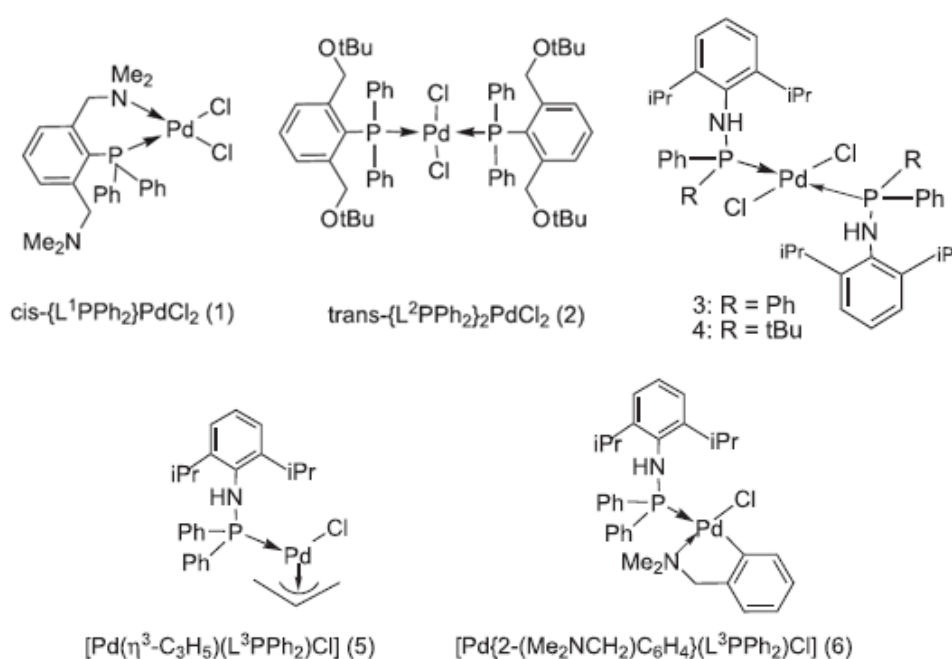
Obrázek 21: Molekulová struktura sloučeniny **7** (vlevo). Vodíkové atomy, voda a ethanol byly pro přehlednost vynechány. Vybrané meziatomové vzdálenosti [Å] a úhly [°]: Pd1-N1 2.097(3), Pd1-P1 2.2522(10), Pd1-Cl1 2.3038(10), Pd1-Cl2 2.3749(11), N1-Pd1-P1 94.14(10), N1-Pd1-Cl1 177.65(10), P1-Pd1-Cl1 86.59(4), N1-Pd1-Cl2 92.00(10), P1-Pd1-Cl2 173.77(4), Cl1-Pd1-Cl2 87.32(4).

Vodíkové vazby v krystalové struktuře látky **7** (vpravo).

4.5.3 Testování katalytické aktivity

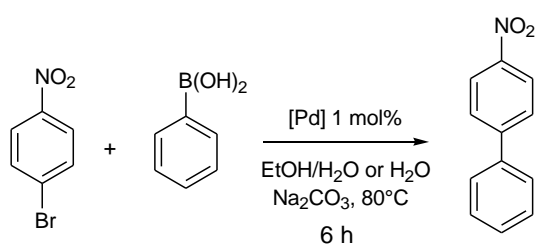
Všechny připravené palladiové komplexy **1-6** (Obrázek 22) byly použity pro katalýzu Suzuki-Miyaura reakce mezi 4-nitrobenzenbromidem a kyselinou fenylboronovou. Tyto reakce byly provedeny pod atmosférou argonu, ve vodném prostředí (ethanol-voda nebo voda), v přítomnosti Na_2CO_3 a 1 mol % katalyzátoru. Reakce byly monitorovány pomocí GC/MS, výsledky jsou uvedeny v Tabulce 16. Pro srovnání jsou výsledky uvedeny i pro komerčně dostupný komplex $[(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2]$. Všechny testované komplexy projevily dobrou katalytickou aktivitu, pouze sloučenina **5** poskytla horší výsledek při katalýze ve vodě, proto nebyla dále testována. Ve směsi EtOH/H₂O 4:1

bylo nejlepšího výsledku dosaženo s komerčním katalyzátorem, následovaným komplexy **3,4** a **6**. Při přechodu na systém EtOH/H₂O 2:1 a čistou vodu však rostla katalytická aktivita připravených komplexů na úkor komerčního. V případě amidofosfinových komplexů **3-6** může katalytická aktivita do určité míry souviset s aciditou PNH protonů, která je dle ¹H NMR chemických posunů nejvyšší u látky **6** ($\delta = 6,40$ ppm) a nejnižší u látky **5** ($\delta = 4,33$ ppm), viz Příloha 5, část „Supporting information“. V základním prostředí, v kterém Suzuki-Miyaura cross-coupling probíhá, se mohou uplatňovat rozpustnější deprotonované formy komplexů **3-6**.



Obrázek 22: Komplexy Pd, použité v testech katalytické aktivity.

Tabulka 16: Katalytická aktivita komplexů **1-6** v Suzuki-Miyaura cross-coupling reakci ve vodném prostředí.



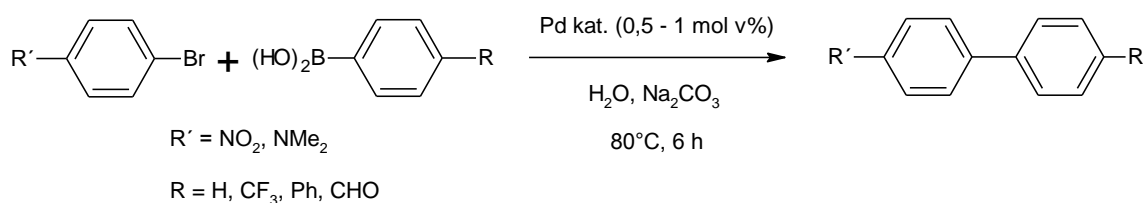
Katalyzátor	EtOH/H ₂ O	EtOH/H ₂ O	H ₂ O
	(4:1)	(2:1)	
Konverze (%) ^[a]			
[(PPh ₃) ₂ PdCl ₂]	100	97	96
1	95	97	99
2	97	99	99
3	99	95	98
4	99	96	99
5	97	97	76
6	99	99	99

^[a] Stanoveno GC/MS.

Dále byly komplexy **1-4** a **6** využity jako katalyzátory reakce mezi 4-substituovanými fenylbromidy a 4-substituovanými boronovými kyselinami. Reakce byly provedeny ve vodě, výsledky uvádí Tabulka 17. Jako reagenty byly testovány arylbromidy s elektrondonorními (NMe₂) i elektronakceptorními substituenty (NO₂). U všech komplexů **1-4** a **6** byla pozorována podstatně vyšší katalytická aktivita než v případě komerčně dostupného [(PPh₃)₂PdCl₂]. Komplex **1**, mající *cis* uspořádání atomů chloru vykázal nižší aktivitu než komplexy **2-4**, které mají uspořádání *trans*. Na rozdíl od ostatních komplexů ale aktivita sloučeniny **1** neklesla při použití poloviční katalytické dávky. Komplex **4**, který obsahuje objemnější *tert*-butylovou skupinu, obecně projevila lepší katalytickou aktivitu než jeho analog, nesoucí fenyl, komplex **3**. V případě reakce s elektronově bohatším *N,N*-dimethyl-4-bromanilinem byly konverze, v případě použití všech katalyzátorů, dle očekávání horší, nejlepší výsledek zde poskytl komplex **6** (75 %). Byly vypočítány tzv. turnover numbers (TON) a turnover frequencies (TOF), viz Příloha 5, část „Supporting information“. Nejlepší hodnoty TON (198) a TOF (33 h⁻¹) jsou nižší než hodnoty dosažené při katalýze Pd na grafenoxidu ve vodě.^{159,160} Pro srovnání, nejlepších hodnoty, dosažené při výše uvedené katalýze Pd/C (kap. 4.4) jsou 1960 (TON) a 280 h⁻¹ (TOF). Při porovnávání výsledků je třeba uvažovat, že testování komplexů **1-6** probíhalo ve vodě, bez použití organického rozpouštědla, kdy je katalytická aktivita obecně vždy horší.

Za stejných reakčních podmínek byla studována i reakce 4-chlorbenzonitrilu s kyselinou fenylboronovou, ale konverze nepřesáhla 17 %, viz Příloha 5, část „Supporting information“.

Tabulka 17: Katalytická aktivita komplexů **1-4** a **6** při Suzuki-Miyaura cross-coupling reakci ve vodě.



Katalyzátor	$\text{R}' = \text{NO}_2$ $\text{R} = \text{CF}_3$	$\text{R}' = \text{NO}_2$ $\text{R} = \text{Ph}$	$\text{R}' = \text{NO}_2$ $\text{R} = \text{CHO}$	$\text{R}' = \text{NO}_2$ $\text{R} = \text{H}$	$\text{R}' = \text{NMe}_2$ $\text{R} = \text{H}$	$\text{R}' = \text{NO}_2$ $\text{R} = \text{H}$
	Konverze (%) ^[a]					
$[(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2]$	47	35	34	96	19	46 ^[b]
1	65	72	71	99	62	99 ^[b]
2	88	85	89	99	65	96 ^[b]
3	81	81	89	98	69	90 ^[b]
4	84	88	93	99	67	93 ^[b]
6	83	83	81	99	75	91 ^[b]

^[a] Stanoveno GC/MS.

^[b] 0,5 mol % katalyzátoru.

5. Závěr

V rámci této disertační práce byly připraveny 5-halogenované cytosiny, jejichž cyklizace s chloracetaldehydem vedla k derivátům imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu (ethenocytosinu). Reakcí 8-jodethenocytosinu **1d** s aryl- či heteroarylboronovými kyselinami bylo připraveno deset 8-arylovaných derivátů (výtěžky 61-90 %), u nichž byla vyhodnocena biologická aktivita na rakovinových buněčných liniích a inhibice CDK2. Dva deriváty poskytly nadějně výsledky (8-(4-kyanfenyl)ethenocytosin **1i** ($IC_{50} = 1,45 \mu\text{M}$ na CCRF-CEM) a 8-(bifenyl-4-yl)ethenocytosin **1f** ($IC_{50} = 2,84 \mu\text{M}$ na CEM-DNR bulk). U dvou derivátů (substituce fenylem a 2-thienylem) byla stanovena střední inhibiční aktivita vůči CDK2 (6,6 μM **1e** a 8,7 μM u **1m**).

V další fázi byla vyvinuta strategie syntézy 3-jod-, 2-jod a 2,3-dijodethenocytosinů. Když byla pozice 8 ethenocytosinu obsazena, jodace probíhala snadno a selektivně působením NIS v DMF do polohy 3. To bylo nepochybně potvrzeno rentgenostrukturní analýzou 3,8-dijodethenocytosinu **2d** a NMR spektroskopii. Bylo zjištěno, že 3-jodethenocytosiny přesmykují za bazické i kyselé katalýzy na odpovídající 2-jodderiváty, což bylo vysvětleno přesmykem Dimrothova typu, který probíhá při otevření šestičlenného kruhu a jeho opětovném zavření z druhé strany molekuly. Získané 2-jodethenocytosiny byly opět jodovány NIS v DMF do polohy 3, což vedlo k syntéze devíti 2,3-dijodethenocytosinů. Obě jodační reakce i přesmyk vykazovaly dobré výtěžky 83-98 %. Všechny připravené ethenocytosiny byly důkladně charakterizovány ^1H , ^{13}C a ^{15}N NMR spektroskopii. Bylo zjištěno, že s výjimkou látky **2d** substituce jodem vždy snížila inhibiční aktivitu vůči CDK2. Vzhledem k nízké rozpustnosti způsobené přítomností jodu ve studovaných derivátech však nelze zatím jednoznačně určit vliv substituce na biologickou aktivitu.

Kondenzační reakcí 1,3-dipyridinyl-1,3-propandionů s 2-hydrazinopyridinem nebo fenylyhydrazinem byly připraveny 1,3,5-trisubstituované pyrazoly, které byly jodovány jodem za přítomnosti kyseliny jodičné za vzniku 4-jodpyrazolů **3a-d**. Působením *n*-BuLi došlo k výměně jodu za lithium a následnou reakcí s oxidem uhličitým byly získány čtyři pyrazol-4-karboxylové kyseliny ve výtěžcích 31-87 %. 2-Pyridyl-substituované jodpyrazoly **3a,b** sloužily jako výchozí sloučeniny pro různé cross-coupling reakce při kterých obvykle docházelo k významné dehalogenaci. Jako účinná se projevila Negishi reakce katalyzovaná Pd(dppf)Cl₂/CuI v THF. Za těchto podmínek bylo připraveno osm tetrasubstituovaných pyrazolů ve výtěžcích 19-87 %.

Nejnižší výtěžky byly překvapivě pozorovány v případě couplingu fenylzinečnatých sloučenin, za vzniku produktů **6a,b** (19 a 27 %), kdy docházelo k významné homocouplingové reakci, což umožnilo izolovat hexaarylbiopyrazoly **7a,b** ve výtěžcích 66 a 48 %. Během této práce byly izolovány i zajímavé vedlejší produkty – látka **8** a pyrazolochinolizinium jodid **12**, jehož struktura byla potvrzena rentgenostrukturní analýzou. Všechny připravené sloučeniny byly důkladně charakterizovány ^1H , ^{13}C a ^{15}N NMR spektroskopii. Podobně jako v případě lithiace a karboxylace, byla pozorována nízká reaktivita 3-pyridyl-substituovaných jodpyrazolů **3c,d** i při Negishi cross-coupling reakcích, jejichž produkty nebyly izolovány.

Byl vyvinut nový a obecný syntetický protokol pro Pd/C katalyzovanou Suzuki-Miyaura reakci, jehož aplikací byla připravena série 23 derivátů *p*-terfenyl-4-olu ve výtěžcích 66-95 %. Reakce byly provedeny na vzduchu a s minimálními dávkami katalyzátoru. Cross-coupling reakce s elektronově velmi chudými boronovými kyselinami (4-kyanfenyl-, 4-formylfenyl a 4-nitrofenyl) vyžadovaly k dosažení kompletní konverze 1 mol % katalyzátoru. Naproti tomu, reakce s méně, ale přesto deaktivovanými fenylboronovými kyselinami (4- CF_3 , 4-COOH, 4-Cl nebo 3,5-F) byly kompletní během 7 hodin s pouhými 0,1 mol % Pd/C. Za těchto podmínek byly provedeny i reakce se stericky stíněnými 2-substituovanými a dokonce i 2,6-disubstituovanými fenylboronovými kyselinami. V případě 2,6-disubstituovaných byl jako elektrofil používán jodderivát s hydroxidem sodným, jakožto účinnější bázi. Byly provedeny recyklační testy katalyzátoru. Možnosti nízkých dávek jsou dle mého názoru v těchto případech významnější než jeho recyklace, ale důležitým faktorem je udržitelnost drahého kovu. Proto byla provedena měření obsahu palladia v použitých katalyzátorech a bylo prokázáno, že reakce lze realizovat se ztrátou Pd 11-19 %.

Byla zdokonalena syntéza pincer-fosfinových ligandů L^1PPh_2 a L^2PPh_2 , z kterých byly připraveny Pd komplexy **1** a **2** a ve vodě rozpustný hydrochlorid komplexu **1**, jehož struktura byla ověřena rentgenostrukturní analýzou. Tvorbu hydrochloridu lze potenciálně využít pro izolaci použitého katalyzátoru po provedení cross-coupling reakce. Připravené komplexy, včetně nových komplexů s amidofosfinovými ligandy byly testovány jako katalyzátory Suzuki-Miyaura reakce ve vodě a projevíly střední katalytickou aktivitu.

Další práce je zaměřena na syntézu modifikovaných ethenocytosinů s vyšší inhibiční aktivitou vůči CDK a na syntézu nesymetricky substituovaných *p*-quaterfenylů z již připravených *p*-terfenyl-4-olů. Z těchto aktivit jsou očekávány další publikační výstupy.

6. Experimentální část

Veškeré experimentální postupy a charakterizace látek jsou uvedeny v již vydaných publikacích, které byly vypracovány v rámci této práce a tvoří její Přílohy 1-5. Dále jsou v kapitolách 6.1 a 6.2 popsány zdokonalené postupy syntézy ligandů L^1PPh_2 a L^2PPh_2 a jejich komplexů s chloridem palladnatým **1** a **2** (viz kap. 4.5).

6.1 Příprava fosfinových ligandů L^1PPh_2 a L^2PPh_2

{2,6-bis[(*N,N*-dimethylamino)methyl]fenyl}difenyfosfin (L^1PPh_2)^{133,157}

Do 250 ml Schlenkovy baňky bylo předloženo 10 g (52 mmol) 1,3-bis[(*N,N*-dimethylamino)methyl]benzenu (L^1). Aparatura byla inertizována argonem a bylo přidáno 100 ml suchého *n*-hexanu. Do vzniklého roztoku bylo během 23 min přidáno 22,2 ml (54,6 mmol) roztoku *n*-butyllitha (2,46 M v hexanu) pomocí stříkačky. Reakční směs se barvila do žluté až oranžové barvy a byla ve formě roztoku. Reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 24 h. Následně bylo během 1 h přidáno 9,5 ml (11,5 g; 52 mmol) difenyfosfinchloridu. Byla pozorována mírně exotermní reakce a docházelo ke vzniku béžové suspenze. Reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 24 h, a poté bylo přidáno 100 ml vody. Postupně vznikala emulze, která byla míchána po dobu 20 min. Malé množství nerozpustného lepivého podílu, který pravděpodobně vzniká hydrolyzou zbytkového difenyfosfinchloridu, ulpělo na stěnách baňky, takže nebylo nutné směs filtrovat. Organická vrstva byla oddělena a následně promyta 50 ml vody. Organický extrakt byl vysušen pomocí síranu sodného a zfiltrován. Po oddestilování veškerého rozpouštědla na rotační vakuové odparce bylo získáno 19,9 g produktu ve formě žluté medovité látky (výtěžek 102 %). Produkt byl analyzován pomocí NMR spektroskopie, přičemž z ^{31}P NMR spektra byla vypočítána čistota cca 95 mol %, další nečistotou byl výchozí L^1 se zastoupením cca 5 mol %. Surový produkt (19,25 g) byl za varu rozpuštěn v 50 ml methanolu. Bylo přidáno malé množství (cca 0,3 g) karborafinu a po přibližně 5 minutovém refluxu byla horká směs zfiltrována přes filtrační nuč s fritou, na které byla předem vytvořena tenká vrstva křemeliny. Filtrační koláč byl promýván 30 ml horkého methanolu. Následně byl filtrát umístěn do mrazicího boxu (-20 °C) na tři dny. Vyloučený produkt byl odfiltrován na filtrační nuči s fritou, která byla předem ochlazená v mrazicím boxu. Filtrační koláč byl

promýván 30 ml methanolu, vychlazeného na cca $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po krátkém prosátí vzduchem byl produkt rychle přemístěn do vychlazené skleněné prachovnice tak, aby nedošlo k jeho roztátí. Produkt se skladuje v mrazicím boxu. Bylo získáno 15,6 g produktu L^1PPh_2 ve formě bílé krystalické látky (výtěžek krystalizace 81 %). Struktura a čistota byla ověřena pomocí ^1H , ^{13}C a ^{31}P NMR spektroskopie, spektra se shodovala s publikovanými.¹⁵⁷

[2,6-bis(terc-butoxymethyl)fenyl]difenyfosfin (L^2PPh_2)¹³³

Do 250 ml Schlenkovy baňky bylo předloženo 10 g (39,9 mmol) 1,3-bis(*tert*-butoxymethyl)benzenu (L^2). Aparatura byla inertizována argonem a bylo přidáno 100 ml suchého *n*-hexanu. Do vzniklého roztoku bylo během 20 min přidáno 17,1 ml (41,9 mmol) roztoku *n*-butyllitha (2,46 M v hexanu) pomocí stříkačky. Reakční směs se barvila do oranžové až červené barvy a po cca 30 min byl pozorován vznik suspenze. Reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 25 h. Následně bylo během 1 h přidáno 7,3 ml (8,8 g; 39,9 mmol) difenyfosfinchloridu. Byla pozorována mírně exotermní reakce a docházelo ke vzniku nažloutlé suspenze. Reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 24 h, a poté bylo přidáno 100 ml vody. Postupně vznikala emulze, která byla míchána po dobu 1 h. Malé množství nerozpustného lepivého podílu, který pravděpodobně vzniká hydrolyzou zbytkového difenyfosfinchloridu, ulpělo na stěnách baňky, takže nebylo nutné směs filtrovat. Organická vrstva byla oddělena a následně promyta 50 ml vody. Organický extrakt byl vysušen pomocí síranu sodného a zfiltrován. Po oddestilování veškerého rozpouštědla na rotační vakuové odparce bylo získáno 17,6 g produktu ve formě světle žlutozelené medovité látky (výtěžek 101 %). Při stání produktu docházelo k jeho postupné krystalizaci. Produkt byl analyzován pomocí NMR spektroskopie, přičemž z ^{31}P NMR spektra byla vypočítána čistota cca 87 mol %, hlavní nečistotou byl výchozí L^2 se zastoupením cca 10 mol %. Surový produkt byl za varu rozpuštěn v 50 ml methanolu. Bylo přidáno malé množství (cca 0,3 g) karborafinu a po přibližně 5 minutovém refluxu byla horká směs zfiltrována přes filtrační nuč s fritou, na které byla předem vytvořena tenká vrstva křemeliny. Filtrační koláč byl promýván 30 ml horkého methanolu. Během ochlazování filtrátu na laboratorní teplotu docházelo ke krystalizaci produktu. Následně byl filtrát ochlazen v lednici, a poté umístěn do mrazicího boxu ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) přes noc. Vyloučený produkt byl odfiltrován a usušen volně na vzduchu po dobu 3 h. Bylo získáno 12,3 g produktu L^2PPh_2 ve formě bílé krystalické látky (výtěžek 71 %).

Struktura a čistota byla ověřena pomocí ^1H , ^{13}C a ^{31}P NMR spektroskopie, spektra se shodovala s publikovanými.¹³³

6.2 Příprava palladnatých komplexů 1 a 2

cis-{2,6-bis[(*N,N*-dimethylamino)methyl]fenyldifenylfosfin}-dichloropalladnatý komplex (1)¹³³

Do 250 ml Schlenkovy baňky bylo předloženo 2,34 g (6,22 mmol) ligandu L^1PPh_2 o čistotě cca 95 %. Aparatura byla inertizována argonem a bylo přidáno 100 ml dichlormethanu. Do vzniklého roztoku byl přidán 1 g (5,64 mmol) chloridu palladnatého. Vzniklá suspenze byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 68 h. Reakce byla monitorována pomocí ^{31}P NMR spektroskopie, byly odebírány vzorky reakční směsi (cca 0,3 ml), které byly po naředění deuterovaným chloroformem analyzovány. V čase 23 h byla stanovena konverze 82 % a po 67 h již nebyl výchozí ligand v reakční směsi pozorován vůbec. Prakticky se veškerý chlorid palladnatý rozpustil a reakční směs byla ve formě žlutého až oranžového roztoku. Po uplynutí reakční doby byla směs zfiltrována přes filtrační nuč s fritou, na které byla předem vytvořena tenká vrstva křemeliny. Reakční baňka a filtr byly promyty 20 ml dichlormethanu. Následně bylo veškeré rozpouštědlo odpařeno na rotační vakuové odparce. Bylo získáno 3,52 g produktu žlutooranžového pevného produktu, ke kterému bylo přidáno 100 ml hexanu a vzniklá suspenze byla míchána pod atmosférou argonu po dobu 3 dnů. Produkt byl odfiltrován a promýván 50 ml hexanu. Následně byl usušen volně na vzduchu po dobu 2 h. Bylo získáno 3,1 g komplexu **1** ve formě žlutooranžového prášku (výtěžek 99 %). Struktura a čistota byla ověřena pomocí ^1H , ^{13}C a ^{31}P NMR spektroskopie, spektra se shodovala s publikovanými.¹³³

***trans*-bis{[2,6-bis(*tert*-butoxymethyl)fenyl]difenyfosfin}-dichloropalladnatý komplex (**2**)¹³³**

Do 250 ml Schlenkovy baňky bylo předloženo 5,15 g (11,85 mmol) rekrystalovaného ligandu **1**. Aparatura byla inertizována argonem a bylo přidáno 100 ml dichlormethanu. Do vzniklého roztoku byl přidán 1 g (5,64 mmol) chloridu palladnatého. Vzniklá suspenze byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 14 dní. Reakce byla monitorována pomocí ³¹P NMR spektroskopie, byly odebírány vzorky reakční směsi (cca 0,3 ml), které byly po naředění deuterovaným chloroformem analyzovány. Po 13 dnech míchání došlo k rozpuštění veškerého chloridu palladnatého, což indikuje konec reakce. Reakční směs byla ve formě oranžového roztoku. Po uplynutí reakční doby byla směs zfiltrována přes filtrační nuč s fritou, na které byla předem vytvořena tenká vrstva křemeliny. Reakční baňka a filtr byly promyty 20 ml dichlormethanu. Následně bylo veškeré rozpouštědlo odpařeno na rotační vakuové odparce. Bylo získáno 6,97 g žlutooranžového pevného produktu, ke kterému bylo přidáno 100 ml hexanu a vzniklá suspenze byla míchána po dobu 24 h. Produkt byl odfiltrován a promýván 50 ml hexanu. Následně byl usušen volně na vzduchu po dobu 2 h. Bylo získáno 5,46 g komplexu **2** ve formě žlutooranžového prášku (výtěžek 93 %). Struktura a čistota byla ověřena pomocí ¹H, ¹³C a ³¹P NMR spektroskopie, spektra se shodovala s publikovanými.¹³³

7. Seznam použité literatury

1. Hampl, F.; Rádl, S.; Paleček, J. *Farmakochemie, 3. upravené a rozšířené vydání*; Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha, **2015**.
2. Thomson Reuters Integrity, <https://integrity.thomson-pharma.com/>
3. Vermes, A.; Guchelaar, H.-J.; Dankert, J. *J. Antimicrob. Chemother.* **2000**, *46*, 171.
4. Harsanyi, A.; Conte, A.; Pichon, L.; Rabion, A.; Grenier, S.; Sandford, G. *Org. Process Res. Dev.* **2017**, *21*, 273.
5. Jiang, Y. L.; Patel, P.; Klein, S. M. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 7034.
6. Wempen, I.; Fox, J. J. *J. Med. Chem.* **1963**, *6*, 688.
7. Taguchi, H.; Wang, S. Y. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 4385.
8. Johnson, T. B.; Johns, C. O. *J. Biol. Chem.* **1906**, *1*, 305.
9. Chunavala, K. C.; Joshi, G.; Suresh, E.; Adimurthy, S. *Synthesis* **2011**, *4*, 635.
10. Rival, Y.; Grassy, G.; Michel, G. *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40*, 1170.
11. Vasudevan, A.; Mavandadi, F.; Chen, L.; Gangjee, A. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 634.
12. Joule, J. A.; Mills, K. *Heterocyclic Chemistry, fifth edition*; Wiley-Blackwell, **2010**.
13. Elliot, A. J.; Guzik, H.; Soler, J. R. *J. Heterocycl. Chem.* **1982**, *19*, 1437.
14. Bangade, V. M.; Reddy, B. C.; Thakur, P. B.; Babu, B. M.; Meshram, H. M. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 4767.
15. Harrison, T. S.; Keating, G. M. *CNS Drugs* **2005**, *19*, 65.
16. Gueiffier, A.; Lhassani, M.; Elhakmaoui, A.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Chavignon, O.; Teulade, J. C.; Kerbal, A.; Essassi, E. M.; Debouzy, J. C.; Witvrouw, M.; Blache, Y.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Chapat, J. P. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2856.
17. Gudmundsson, K. S.; Johns, B. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2735.
18. Moraski, G. C.; Markley, L. D.; Hipskind, P. A.; Boshoff, H.; Cho, S.; Franzblau, S. G.; Miller, M. J. *ACS Med. Chem. Lett.* **2011**, *2*, 466.
19. Moraski, G. C.; Markley, L. D.; Chang, M.; Cho, S.; Franzblau, S. G.; Hwang, C. H.; Boshoff, H.; Miller, M. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 2214.

20. Lin, H.; Erhard, K.; Hardwicke, M. A.; Luengo, J. I.; Mack, J. F.; McSurdy-Freed, J.; Plant, R.; Raha, K.; Rominger, C. M.; Sanchez, R. M.; Schaber, M. D.; Schulz, M. J.; Spengler, M. D.; Tedesco, R.; Xie, R.; Zeng, J. J.; Rivero, R. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 2230.
21. Vilchis-Reyes, M. A.; Zentella, A.; Martínez-Urbina, M. A.; Guzmán, Á.; Vargas, O.; Apan, M. T. R.; Gallegos, J. L. V.; Díaz, E. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 379.
22. López-Martínez, M.; Salgado-Zamora, H.; Campos-Aldrete, M. E.; Trujillo-Ferrara, J. G.; Correa-Basurto, J.; Mexica-Ochoa, C. *Med. Chem. Res.* **2012**, *21*, 415.
23. Rival, Y.; Grassy, G.; Taudou, A.; Ecalle, R. *Eur. J. Med. Chem.* **1991**, *26*, 13.
24. Andreani, A.; Rambaldi, M.; Locatelli, A.; Bossa, R.; Salvatore, G.; Galatulas, I. *Eur. J. Med. Chem.* **1994**, *29*, 339.
25. Abignente, E.; Sacchi, A.; Laneri, S.; Rossi, F.; Amico, M. D.; Berrino, L.; Calderaro, V.; Parrillo, C. *Eur. J. Med. Chem.* **1994**, *29*, 279.
26. Abignente, E.; Arena, F.; De Caprariis, P.; Luraschi, E.; Sacchi, A.; Lampa, E.; Berrino, L.; Donnoli, D. *Farmaco* **1991**, *46*, 1099.
27. Hirabayashi, A.; Mukaiyama, H.; Kobayashi, H.; Shiohara, H.; Nakayama, S.; Ozawa, M.; Tsuji, E.; Miyazawa, K.; Misawa, K.; Ohnota, H.; Isaji, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 9247.
28. Spitzer, W. A.; Victor, F.; Don Pollock, G.; Hayes, J. S. *J. Med. Chem.* **1998**, *31*, 1590.
29. Kochetkov, N. K.; Shibaev, V. N.; Kost, A. A. *Tetrahedron Lett.* **1971**, *12*, 1993.
30. Karskela, T.; Klika, K. D.; Lönnberg, H. *Collect. Czech Chem. Commun.* **2011**, *76*, 1043.
31. Seela, F.; Schweinberger, E.; Xu, K.; Sirivolu, V. R.; Rosemeyer, H.; Becker, E. M. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 3471.
32. Kayasuga-Mikado, K.; Hashimoto, T.; Negishi, T.; Negishi, K.; Hayatsu, H. *Chem. Pharm. Bull.* **1980**, *28*, 932.
33. Guchhait, S. K.; Madaan, C. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 56.
34. Albaugh, P. A.; Marshall, L.; Gregory, J.; White, G.; Hutchison, A.; Ross, P. C.; Gallagher, D. W.; Tallman, J. F.; Crago, M.; Cassela, J. V. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 5043.
35. Kifli, N.; De Clerq, E.; Balzarini, J.; Simons, C. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 4245.

36. Mansour, T. S.; Evans, C. A.; Charron, M.; Korba, B. E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 303.
37. Mansour, T. S.; Evans, C. A.; Siddiqui, M. A.; Charron, M.; Zacharie, B.; Nguyen-Ba, N.; Lee, N.; Korba, B. *Nucleos. Nucleot.* **1997**, *16*, 993.
38. Siddiqui, A.; Cimpoaia, A.; Preville, P. PCT Int. Appl. Patent WO 0149700 A1, **2001**.
39. Conn, P. J.; Linsley, C. W.; Stauffer, S. R.; Bartolome-Nebreda, J. M.; Macdonald, G. J.; Conde-Ceide, S.; Jones, C. K.; Martin-Martin, M. L.; Tong, H. M. PCT Int. Appl. Patent WO 2012125732 A1, **2012**.
40. Martín-Martín, M. L.; Bartolomé-Nebreda, J. M.; Conde-Ceide, S.; de Diego, S. A. A.; López, S.; Martínez-Vituro, C. M.; Tong, H. M.; Lavreysen, H.; Mcdonald, G. J.; Steckler, T.; Mackie, C.; Bridges, T. M.; Daniels, J. S.; Niswender, C. M.; Noetzel, M. J.; Jones, C. K.; Conn, P. J.; Lindsley, C. W.; Stauffer, S. R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 1310.
41. Loge, C.; Guillon, R.; Montoir, D.; Pagniez, F.; Le Pape, P. PCT Int. Appl. Patent WO 2017020944 A1, **2017**.
42. Paolini, J. P.; Robins, R. K. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 4085.
43. Saldabol, N. O.; Giller, S. A. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1976**, *12*, 1155.
44. Zhuang, Z.-P.; Kung, M.-P.; Wilson, A.; Lee, C.-W.; Plössl, K.; Hou, C.; Holtzman, D. M.; Kung, H. F. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 237.
45. Oudot, R.; Costes, P.; Allouchi, H.; Pouvreau, M.; Abarbri, M.; Gueiffier, A.; Enguehard- Gueiffier, C. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 9576.
46. Enguehard, C.; Renou, J.-L.; Collot, V.; Hervet, M.; Rault, S.; Gueiffier, A. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 6572.
47. Gueiffier, A.; Viols, H.; Chapat, J. P.; Chavignon, O.; Teulade, J. C.; Dauphin, G. *J. Heterocyclic Chem.* **1990**, *27*, 421.
48. Siegel, S.; Wilmen, A.; Röhrig, S.; Svenstrup, N.; Gnoth, M. J.; Heitmeier, S.; Rester, U.; Zubov, D.; Stayle, J.; Sperzel, M. PCT Int. Appl. Patent WO 2008113469 A2, **2008**.
49. Su, W.-G.; Dai, G.; Xiao, K.; Jia, H.; Venable, J. D.; Bembenek, S. D. PCT Int. Appl. Patent WO 2014015675 A1, **2014**.
50. Bo, Y. Y.; Liu, L.; Nishimura, N.; Norman, M. H.; Siegmund, A. C.; Tamayo, N. A.; Yang, K. PCT Int. Appl. Patent WO 2010108074 A2, **2010**.
51. Dimroth, O. *Liebigs Ann. Chem.* **1909**, 183.

52. El Ashry, E. S. H.; El Kilany, Y.; Rashed, N. Assafir, H. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1999**, *75*, 79.
53. Guerret, P.; Jacquier, R.; Maury, G. *J. Heterocyclic Chem.* **1971**, *8*, 643.
54. Jacquier, R.; Lopez, H.; Maury, G. *J. Heterocyclic Chem.* **1973**, *10*, 755.
55. Ivancsics, C.; Zbiral, E. *Liebigs Ann. Chem.* **1975**, 1934.
56. Bhat, B.; Cruickshank, K. A.; Leonard, N. J. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 2028.
57. Bhat, B.; Leonard, N. J. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 2030.
58. Arnold, W.; Büttelmann, B.; Heitz, M.-P.; Wyler, R. *Heterocycles* **1996**, *43*, 2607.
59. a) N. Miyaura, K. Yamada, A. Suzuki, *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 3437-3440; b) N. Miyaura, A. Suzuki, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 866-867.
60. A. de Meijere, F. Diederich, *Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions, 2 nd ed., Vol. 1*, Wiley-VCH, Weinheim, **2004**.
61. Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 4467.
62. Hudson, R. H. E.; Dambenieks, A. K. *Heterocycles* **2006**, *68*, 1325.
63. Garg, G.; Pande, M.; Agrawal, A.; Li, J.; Kumar, R. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 1771.
64. Mayer, E.; Valis, L.; Huber, R.; Amann, N.; Wagenknecht, H.-A. *Synthesis* **2003**, 2335.
65. Raindlová, V.; Pohl, R.; Hocek, M. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 4080.
66. Huang, Y.; Zhang, J.; Yu, Z.; Zhang, H.; Wang, Y.; Lingel, A.; Qi, W.; Gu, J.; Zhao, K.; Shultz, M. D.; Wang, L.; Fu, X.; Sun, Y.; Zhang, Q.; Jiang, X.; Zhang, J.; Zhang, C.; Li, L.; Zeng, J.; Feng, L.; Zhang, C.; Liu, Y.; Zhang, M.; Zhang, L.; Zhao, M.; Gao, Z.; Liu, X.; Fang, D.; Guo, H.; Mi, Y.; Gabriel, T.; Dillon, M. P.; Atadja, P.; Oyang, C. *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 2215.
67. Boys, M. L.; Burgess, L. E.; Groneberg, R. D.; Harvey, D. M.; Huang, L.; Kercher, T.; Kraser, C. F.; Laird, E.; Tarlton, E.; Zhao, Q. PCT Int Appl Patent WO 2011130146 A1, 2011.
68. Le Manach, C.; Paquet, T.; Brunschwig, C.; Njoroge, M.; Han, Z.; González Cabrera, D.; Bashyam, S.; Dhinakaran, R.; Taylor, D.; Reader, J.; Botha, M.; Churchyard, A.; Lauterbach, S.; Coetzer, T. L.; Birkholtz, L.-M.; Meister, S.; Winzeler, E. A.; Waterson, D.; Witty, M. J.; Wittlin, S.; Jiménez-Díaz, M.-B.; Santos Martínez, M.; Ferrer, S.; Angulo-Barturen, I.; Street, L. J.; Chibale, K. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 8713.

69. a) Louie, J.; Hartwig, J. F. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3609; b) Guram, A. S.; Rennels, R. A.; Buchwald, S. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 1348.
70. Marie, E.; Bouclé, S.; Enguehard-Gueiffier, C.; Gueiffier, A. *Molecules* **2012**, *17*, 10683.
71. Jose, G.; Suresha Kumara, T. H.; Nagendrappa, G.; Sowmya, H. B. V.; Sriram, D.; Yogeewari, P.; Sridevi, J. P.; Row, T. N. G.; Hosamani, A. A.; Ganapathy, P. S. S.; Chandrika, N.; Narendra, L. V. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *89*, 616.
72. Firmansyah, D.; Banasiewicz M.; Gryko, D. T. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 1367.
73. Enguehard-Gueiffier, C.; Musiu, S.; Henry, N.; Véron, J.-B.; Mavel, S.; Neyts, J.; Leyssen, P.; Paeshuyse, J.; Gueiffier, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *64*, 448.
74. Dheer, D.; Reddy, K. R.; Rath, S. K.; Sangwan, P. L.; Das, P.; Shankar, R. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 38033.
75. Liu, Q.-X.; He, B.-Y.; Qian, P.-C.; Shao, L.-X. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 1151.
76. Kleemann, A.; Engel, J.; Kutscher, B.; Reichert, D. *Pharmaceutical Substances, 3rd ed.*; Thieme: Stuttgart/New York, Germany/USA, **1999**.
77. Elguero, J.; Goya, P.; Jagerovic, N.; Silva, A. M. S. *Targets Heterocycl. Syst.* **2002**, *6*, 52–98.
78. Pérez-Fernández, R.; Goya, P.; Elguero, J. *ARKIVOC* **2014**, 233–293.
79. Schmidt, A.; Dreger, A. *Curr. Org. Chem.* **2011**, *15*, 1423–1463.
80. Lamberth, C. *Heterocycles* **2007**, *71*, 1467–1502.
81. Elguero, J. Pyrazoles and their Benzo Derivatives. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*; Katrizky, A. R.; Rees, C. W., Eds.; Pergamon: Oxford, **1984**; Vol. 5, pp 167–303.
82. Jachak, M. N.; Bagul, S. M.; Birari, D. R.; Ghagare, M. G.; Kazi, M. A.; Toche, R. G.; Mathadet, V. T. *J. Fluoresc.* **2010**, *20*, 787–796.
83. Goetzinger, A. C.; Thesseling, F. A.; Hoppe, C.; Mueller, T. J. J. *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 10328–10338.
84. Bremer, A; Ruff, C. M.; Girnt, D.; Muellich, U.; Rothe, J.; Roesky, P. W.; Panak, P. J.; Karpov, A.; Mueller, T. J. J.; Denecke, M. A.; Geist, A. *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 5199–5207.
85. Potapov, A. S.; Domina, G. A.; Petrenko, T. V.; Khlebnikov, A. I. *Polyhedron* **2012**, *33*, 150–157.

86. Keter, F. K.; Darkwa, J. *Biometals* **2012**, *25*, 9–21.
87. Rainer, G.; Kruger, U.; Klemm, K. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **1981**, *31*, 649–55.
88. Penning, T. D.; Talley, J. J.; Bertenshaw, S. R.; Carter, J. S.; Collins, P. W.; Docter, S.; Graneto, M. J.; Lee, L. F.; Malecha, J. W.; Miyashiro, J. M.; Rogers, R. S.; Rogier, D. J.; Yu, S. S.; Anderson, G. D.; Burton, E. G.; Cogburn, J. N.; Gregory, S. A.; Koboldt, C. M.; Perkins, W. E.; Seibert, K.; Veenhuizen, A. W.; Zhang, Y. Y.; Isakson, P. C. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1347–1365.
89. Huebner, V. D.; Lin, X.; James, I.; Chen, L.; Desai, M.; Krywult, B.; Singh, R.; Wang, L. A. PCT Int. Appl. WO2000007996 A2, **2000**.
90. Stauffer, S. R.; Huang, Y. R.; Aron, Z. D.; Coletta, C. J.; Sun, J.; Katzenellenbogen, B. S.; Katzenellenbogen, J. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 151–161.
91. Zhang, J.; Didierlaurent, S.; Fortin, M.; Lefrancois, D.; Uridat, E.; Vevert, J. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 2575–2578.
92. Yahyavi, H.; Hosseinzadeh, F.; Karimi, N.; Moghimi, S.; Mahdavi, M.; Nadri, H.; Moradi, A.; Shafiee, A.; Foroumadi, A. *Zeitschr. Naturforsch. B* **2016**, *71*, 973–977.
93. Mukherjee, S.; Salini, P. S.; Srinivasan, A.; Peruncheralathan, S. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 17148–17151.
94. Stanovnik, B.; Svete, J. Product class 1: pyrazoles. In *Science of Synthesis* **2002**, *12*, 15–225.
95. Murray, W. V.; Wachter, M. P. *J. Heterocyclic Chem.* **1989**, *26*, 1389.
96. Cottineau, B.; Chenault, J. *Synlett* **2002**, 769–770.
97. Despotopoulou, C.; Klier, L.; Knochel, P. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 3326–3329.
98. Morita, T.; Kobayashi, D.; Matsumura, K.; Johmoto, K.; Uekusa, H.; Fuse, S.; Takahashi, T. *Chem. Asian J.* **2015**, *10*, 1626–1630.
99. Jedinák, L.; Cankař, P. *Eur. J. Org. Chem.* **2016**, 2013–2023.
100. Jedinák, L.; Zátopková, R.; Zemánková, H.; Šustková, A.; Cankař, P. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 157–169.
101. Milstein, D.; Stille, J. K. *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, *100*, 3636.
102. Jeon, S. L.; Choi, J. H.; Kim, B. T.; Jeong, I. H. *J. Fluorine. Chem.* **2007**, 128, 1191–1197.
103. Negishi, E.; King, A. O.; Okukado, N. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 1821–1823.

104. Wiethan, C.; Rosa, W. C.; Bonacorso, H. G.; Stradiotto, M. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 2352.
105. Bruno, N. C.; Tudge, M. T.; Buchwald, S. L. *Chem. Sci.* **2013**, *4*, 916.
106. Düfert, M. A.; Billingsley, K. L.; Buchwald, S. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, *135*, 12877.
107. Yang, Y.; Oldenhuis, N. J.; Buchwald, S. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 615.
108. Li, X.; He, L.; Chen, H.; Wu, W.; Jiang, H. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 3636.
109. J.-K. Liu, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 2209-2223.
110. a) M. Roberti, D. Pizzirani, M. Recanatini, D. Simoni, S. Grimaudo, A. Di Cristina, V. Abbadessa, N. Gebbia, M. Tolomeo, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 3012-3018; b) A. Kamal, M. K. Reddy, T. B. Shaik, Rajender, Y. V. V. Srikanth, V. S. Reddy, G. B. Kumar, S. V. Kalivendi, *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *50*, 9-17; c) J. Qiu, B. Zhao, Y. Shen, W. Chen, Y. Ma, Y. Shen, *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *68*, 192-202; d) J. Qiu, B. Zhao, W. Zhong, Y. Shen, H. Lin, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *94*, 427-435.
111. S. Yonezawa, T. Komurasaki, K. Kawada, T. Tsuru, M. Fuji, A. Kugimiya, N. Haga, S. Mitsumori, M. Inagaki, T. Nakatani, Y. Tamura, S. Takechi, T. Taishi, M. Ohtani, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 5831-5837.
112. a) T.-H. Lee, C.-S. Hsu, *Liquid Crystals* **2014**, *41*, 1235-1245; b) T.-H. Lee, J.-T. Chen, C.-S. Hsu, *Liquid Crystals* **2015**, *42*, 104-112.
113. C. Li, M. Liu, N. G. Pschirer, M. Baumgarten, K. Müllen, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 6817-6855.
114. X.-L. Li, X. Ouyang, M. Liu, Z. Ge, J. Peng, Y. Cao, S.-J. Su, *J. Mater. Chem. C*, **2015**, *3*, 9233-9239.
115. L. A. Adrio, J. M. A. Míguez, K. K. Hii, *Org. Prep. Proced. Int.* **2009**, *41*, 331-358.
116. a) F. Rajabi, W. R. Thiel, *Adv. Synth. Catal.* **2014**, *356*, 1873-1877; b) D.-H. Lee, M.-J. Jin *Org. Lett.* **2011**, *13*, 252-255; c) N. Marion, O. Navarro, J. Mei, E. D. Stevens, N. M. Scott, S. P. Nolan, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 4101-4111; d) T. E. Barder, S. D. Walker, J. R. Martinelli, S. L. Buchwald, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4685-4696; e) T. J. Colacot, H. A. Shea, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3731-3734; f) C. Baillie, L. Zhang, J. Xiao, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7779-7782;

- g) A. S. Guram, X. Wang, E. E. Bunel, M. M. Faul, R. D. Larsen, M. J. Martinelli, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5104-5112.
117. a) Q. Zhao, C. Li, C. H. Senanayake, W. Tang, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 2261-2265; b) T. Tu, Z. Sun, W. Fang, M. Xu, Y. Zhou, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 4250-4253; c) S. D. Walker, T. E. Barder, J. R. Martinelli, S. L. Buchwald, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1871-1876; d) G. Altenhoff, R. Goddard, C. W. Lehmann, F. Glorius, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15195-15201; e) G. Altenhoff, R. Goddard, C. W. Lehmann, F. Glorius, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3690-3693.
118. S. Hübner, J. G. de Vries, V. Farina, *Adv. Synth. Catal.* **2016**, *358*, 3-25.
119. G. Marck, A. Villiger, R. Buchecker, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 3277-3280.
120. R. G. Heidenreich, K. Köhler, J. G. E. Krauter, J. Pietsch, *Synlett* **2002**, 1118-1122.
121. D. A. Conlon, B. Pipik, S. Ferdinand, C. R. LeBlond, J. R. Sowa, Jr., B. Izzo, P. Collins, G.-J. Ho, J. M. Williams, Y.-J. Shi, Y. Sun, *Adv. Synth. Catal.* **2003**, *345*, 931-935.
122. C. R. LeBlond, A. T. Andrews, Y. Sun, J. R. Sowa, Jr., *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1555-1557.
123. a) F.-X. Felpin, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 8575-8578; b) M. G. Organ, S. Mayer, *J. Comb. Chem.* **2003**, *5*, 118-124.
124. a) T. Maegawa, Y. Kitamura, S. Sako, T. Udzu, A. Sakurai, A. Tanaka, Y. Kobayashi, K. Endo, U. Bora, T. Kurita, A. Kozaki, Y. Monguchi, H. Sajiki, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 5937-5943; b) Y. Kitamura, S. Sako, A. Tsutsui, Y. Monguchi, T. Maegawa, Y. Kitade, H. Sajiki, *Adv. Synth. Catal.* **2010**, *352*, 718-730.
125. C. Liu, X. Rao, Y. Zhang, X. Li, J. Qiu, Z. Jin, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 4345-4350.
126. G. Zhang, *Synthesis* **2005**, 537-542.
127. D. S. Ennis, J. McManus, W. Wood-Kaczmar, J. Richardson, G. E. Smith, A. Carstairs, *Org. Process Res. Dev.* **1999**, *43*, 248-252.
128. a) H. Sakurai, T. Tsukuda, T. Hirao, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 2721-2722; b) J. S. Freundlich, H. E. Landis, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 4275-4279; c) B. Schmidt, M. Riemer, M. Karras, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 8680-8688; d) B. Schmidt, M. Riemer, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 4104-4118.

129. R. H. Taylor, F.-X. Felpin, *Org. Lett.* **2007**, 9, 2911-2914.
130. Casalnuovo, A. L.; Calabrese, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 4324.
131. Herrmann, W. A.; Kohlpaintner, C. W. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, 32, 1524.
132. Shaughnessy, K. H.; *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 1827.
133. T. Řezníček, L. Dostál, A. Růžička, J. Kulhánek, F. Bureš, R. Jambor, *Appl. Organomet. Chem.* **2011**, 25, 173.
134. M. Aydemir, A. Baysal, N. Gürbüz, I. Özdemir, B. Gümgüm, S. Özkar, N. Caylak, L. T. Yıldırım, *Appl. Organometal. Chem.* **2010**, 24, 17.
135. Žinić, B.; Krizmanić, I.; Vikić-Topić, D.; Žinić, M. *Croat. Chem. Acta* **1999**, 72, 957.
136. Allen, F. H.; Kennard, O.; Watson, D. G.; Brammer, L.; Orpen, A. G.; Taylor, R. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1987**, S1-S19.
137. Barrio, J. R.; Sattsangi, P. D.; Gruber, B. A.; Dammann, L. G.; Leonard, N. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 7408.
138. Pyykkö, P.; Atsumi, M. *Chem. Eur. J.* **2009**, 15, 186.
139. Pyykkö, P.; Atsumi, M. *Chem. Eur. J.* **2009**, 15, 12770.
140. Metrangolo, P.; Resnati, G. *Halogen bonding: fundamentals and applications. Structure and Bonding, Vol. 126*; Springer: Berlin **2008**.
141. Awwadi, F. F.; Willett, R. D.; Peterson, K. A.; Twamley, B. *Chem. Eur. J.* **2006**, 12, 8952.
142. Andrews, P. C.; Deacon, G. B.; Frank, R.; Fraser, B. H.; Junk, P. C.; MacLellan, J. G.; Massi, M.; Moubaraki, B.; Murray, K. S.; Silberstein, M. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2009**, 744-751.
143. Ferles, M.; Kafka, S.; Šilhánková, A.; Šputová, M. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1981**, 46, 1167-1172.
144. a) Corriu, R. J. P.; Masse, J. P. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1972**, 144a; b) Tamao, K.; Sumitani, K.; Kumada, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 4374.
145. Giannerini, M.; Fañanás-Mastral, M.; Feringa, B. L. *Nature Chem.* **2013**, 5, 667-672.
146. Liu, Y.; Milo, L. J.; Lai, J. H. *ARKIVOC* **2013**, (i), 135-153.
147. Corley, E. G.; Conrad, K.; Murry, J. A.; Savarin, C.; Holko, J.; Boice, G. *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 5120-5123.
148. Duthaler, R. O.; Roberts, J. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 4969-4973.

149. Spotswood, T. M.; Tanzer, C. I. *Tetrahedron Lett.* **1967**, *10*, 911–915.
150. Castellano, S.; Günther, H.; Ebersole, S. *J. Phys. Chem.* **1965**, *69*, 4166–4176.
151. Arbačiauskiene, E.; Vilkauskaite, G.; Šačkus, A.; Holzer, W. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 1880–1890.
152. Nепublikované výsledky.
153. a) K. Köhler, R. G. Heidenreich, J. G. E. Krauter, J. Pietsch, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 622-631; b) M. Lysén, K. Köhler, *Synlett* **2005**, 1671-1674; c) M. Lysén, K. Köhler, *Synthesis* **2006**, 692-698.
154. T. Watanabe, N. Miyaura, A. Suzuki, *Synlett* **1992**, 207-210.
155. J. C. Anderson, H. Namli, C. A. Roberts, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 15123-15134.
156. a) M. D. Argyle, C. H. Bartholomew, *Catalysts* **2015**, *5*, 145-269; b) P. Albers, J. Pietsch, S. F. Parker, *J. Mol. Catal. A*, **2001**, *173*, 275-286.
157. F. Carré, C. Chuit, R. J. P. Corriu, P. Monforte, N. K. Nayyar, C. Reyé, *J. Organomet. Chem.* **1995**, *499*, 147-154.
158. S. Maggini, *Coord. Chem. Rev.* **2009**, *253*, 1793.
159. R. Nie, J. Shi, W. Du, Z. Hou, *Appl. Catal. A* **2014**, *4*, 731.
160. S. J. Hoseini, H. Ghanavat Khozestan, R. Hashemi Fath, *RSC Adv.*, **2015**, *5*, 47701.

Příloha 1

Příloha 1: Jansa J., Lyčka A., Padělková Z., Grepl M., Konečný P., Hajdúch M., Džubák P.: New imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-ones derived from cytosine: synthesis, structure and cytotoxic activity, *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2015**, *52*, 1382-1389.

Příloha 2

Příloha 2: Jansa J., Lyčka A., Růžička A., Grepl M., Vaněček J.: Synthesis, structure and rearrangement of iodinated imidazo[1,2-*c*]pyrimidine-5(6*H*)-ones derived from cytosine, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 27-36.

Příloha 3

Příloha 3: Jansa J., Schmidt R., Mamuye A. D., Castoldi L., Roller A., Pace V., Holzer W.: Synthesis of tetrasubstituted pyrazoles containing pyridinyl substituents, *Beilstein Journal of Organic Chemistry* **2017**, *13*, 895-902.

Příloha 4

Příloha 4: Jansa J., Řezníček T., Jambor R., Bureš F., Lyčka A.: Synthesis of Hydroxy-Substituted *p*-Terphenyls and some Larger Oligophenylenes via Palladium on Charcoal Catalyzed Suzuki-Miyaura Reaction, *Advanced Synthesis and Catalysis* **2017**, 359, 339-350.

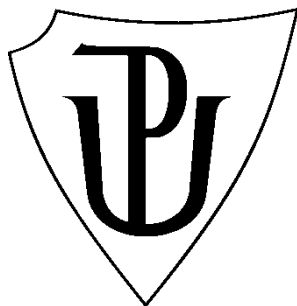
Příloha 5

Příloha 5: Jansa J., Řezníček T., Dostál L., Růžičková Z., Bureš F., Jambor R.: Amidophosphine stabilized palladium complexes catalyse Suzuki-Miyaura cross-couplings in aqueous media, *Applied Organometallic Chemistry* **2016**, *30*, 1036-1042.

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra organické chemie



**Arylace imidazopyrimidinů, pyrazolů a bifenyliů
cross-coupling reakcemi**

SOUHRN DISERTAČNÍ PRÁCE

Autor:

Ing. Josef Jansa

Vedoucí práce:

prof. Ing. Antonín Lyčka, DrSc.

Olomouc 2017

Tato disertační práce je založena na výzkumu, provedeném v rámci studijního programu P1417 – Chemie (obor Organická chemie) na Katedře organické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci.

Autor: **Ing. Josef Jansa**
Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci
Výzkumný ústav organických syntéz a.s. (VUOS a.s.), Rybitví

Školitel: **prof. Ing. Antonín Lyčka, DrSc.**
Výzkumný ústav organických syntéz a.s. (VUOS a.s.), Rybitví
Katedra chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Hradec Králové

Oponenti: **prof. Ing. Antonín Klásek, DrSc.**
Ústav chemie, Fakulta technologická, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

doc. Ing. Stanislav Rádl, CSc.
Ústav organické chemie, Fakulta chemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
Zentiva k.s., Praha

Tento souhrn byl vydán dne, **2017**.

Obhajoba této disertační práce proběhne dne, **2017** před komisí pro obhajobu disertační práce na Katedře organické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, 17. listopadu 12, Olomouc.

Tato disertační práce je dostupná na Katedře organické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, 17. listopadu 12, Olomouc.

Abstrakt

Tato disertační práce je zaměřena převážně na arylaci aromatických a heteroaromatických molekul cross-coupling reakcemi. Z 5-halogenovaných cytosinů byly připraveny imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-ony (ethenocytosiny) a byla studována jejich arylace do polohy 8. Jodací těchto sloučenin byly získány 3-jodethenocytosiny, které přesmykují na 2-jodderiváty. Po přesmyku byly další jodací připraveny 2,3-dijodethenocytosiny. Byla stanovena cytotoxicita těchto sloučenin na rakovinových buněčných liniích a inhibice CDK2. Některé látky poskytly zajímavé výsledky. Kondenzační reakcí byly připraveny 1,3,5-triarylpyrazoly, které byly jodovány do polohy 4 a byly studovány možnosti substituce jodu. Výměna jodu za lithium a následná karboxylace vedla k pyrazol-4-karboxylovým kyselinám. Negishi cross-coupling reakce se projevila jako účinná a umožnila syntézu tetrasubstituovaných pyrazolů. Byly izolovány i produkty homocouplingu (bipyrazoly) a některé další nečekané produkty. Pomocí heterogenně katalyzované (Pd/C) Suzuki-Miyaura reakce byla připravena série *p*-terfenyl-4-olů a několik vyšších oligofenylenových sloučenin. Reakce prováděné bez ligandu, na vzduchu a s nízkými katalytickými dávkami jsou popsány pro celou řadu různě substituovaných fenyloboronových kyselin, včetně stericky či elektronově deaktivovaných. Komplexací pincer a amidofosfinových ligandů s chloridem palladnatým byly připraveny palladiové komplexy a byla studována jejich katalytická aktivita při Suzuki-Miyaura reakci ve vodném prostředí.

Abstract

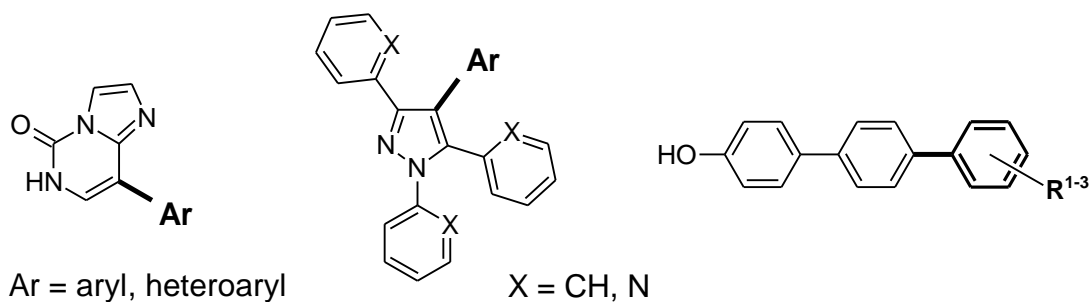
This Ph.D. thesis deals with arylation of aromatic and heteroaromatic molecules by cross-coupling reactions. Imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-ones (ethenocytosines) were prepared from 5-halogenocytosines and their arylation to position 8 was studied. 3-Iodoethenocytosines were obtained by iodination of ethenocytosines and these compounds rearranged to 2-iododerivatives. Further iodination after rearrangement led to 2,3-diiododerivatives. Cytotoxicity on cancer cell lines and CDK2 inhibition were evaluated and some compounds showed interesting results. 1,3,5-triarylpyrazoles were prepared by condensation reaction and were iodinated to position 4 and the possibilities of substitution of iodine were studied. Lithium/iodine exchange and subsequent carboxylation led to pyrazole-4-carboxylic acids. Negishi cross-coupling reaction turned out to be effective and facilitated the synthesis of tetrasubstituted pyrazoles. Homocoupling products (bipyrazoles) and some further unexpected products were isolated. The series of *p*-terphenyl-4-ols and some larger oligophenylenes were prepared by means of heterogeneously catalyzed (Pd/C) Suzuki-Miyaura reaction. Ligand free reactions carried out without exclusion of air and with low catalyst loadings are described for differently substituted phenylboronic acids including sterically and electronically deactivated ones. Palladium complexes were prepared by the reactions of pincer and amidophosphine ligands with palladium chloride and their catalytic activity in Suzuki-Miyaura reaction under aqueous media was studied.

Obsah

1. Úvod.....	6
2. Cíl práce	8
2.1 Imidazopyrimidiny	8
2.2 Pyrazoly.....	8
2.3 Terfenyly	8
2.4 Palladnaté komplexy	8
3. Výsledky a diskuse.....	9
3.1 Syntéza a arylace imidazo[1,2- <i>c</i>]pyrimidin-5(6 <i>H</i>)-onů	9
3.1.1 Syntéza 5-halogencytosinů.....	9
3.1.2 Syntéza 8-halogenethenocytosinů a jejich arylace.....	10
3.1.3 Biologická aktivita 8-arylethenocytosinů.....	11
3.2 Jodace a přesmyky ethenocytosinů	12
3.2.1 Syntéza monojod- a dijudethenocytosinů.....	12
3.2.2 Identifikace a charakterizace jodovaných ethenocytosinů.....	13
3.2.3 Inhibiční aktivita ethenocytosinů vůči CDK2	16
3.3 Syntéza tetraarylpyrazolů	16
3.3.1 Syntéza diketonů a 4-jodtriarylpyrazolů	17
3.3.2 Karboxylace 4-jodpyrazolů	17
3.3.3 Negishi cross-coupling 4-jodpyrazolů 3a-d	18
3.3.4 Identifikace a charakterizace připravených pyrazolů.....	21
3.4 Syntéza derivátů <i>p</i> -terfenyl-4-olu.....	23
3.5 Příprava Pd komplexů a testování jejich katalytické aktivity	27
3.5.1 Syntéza fosfinových ligandů L ¹ PPh ₂ a L ² PPh ₂	27
3.5.2 Syntéza palladnatých komplexů.....	28
3.5.3 Testování katalytické aktivity	30
4. Závěr.....	33
5. Seznam použité literatury	36

1. Úvod

Tato disertační práce se zabývá převážně arylací aromatických molekul pomocí cross-coupling reakcí. Jako výchozí substráty pro tyto syntézy byly zvoleny jednak heterocyklické sloučeniny odvozené od cytosinu a pyrazolu, tak fenylenové sloučeniny, odvozené převážně od bifenyly a *p*-terfenylu (Obrázek 1). Cross-coupling reakce představují všestrannou a efektivní metodu k budování vazeb uhlík-uhlík, uhlík-dusík, uhlík-kyslík či uhlík-síra v organických molekulách. Tvorba vazeb uhlík-uhlík je jednou ze základních myšlenek organické syntézy a cross-coupling reakce představují obecnou metodu jejich tvorby. V roce 2010 byla za objev těchto reakcí udělena Nobelova cena (R. F. Heck, E. Negishi, A. Suzuki).



Obrázek 1: Klíčové vazby C-C, budované v rámci této práce (vyznačeno tučně).

Cytosin, jakožto nukleová báze, je základním stavebním prvkem nukleových kyselin. Jeho strukturní modifikace mohou vést k biologicky aktivním látkám. Jednou z modifikací cytosinu (a analogicky také adeninu a guaninu) je jeho reakce s α -halogenkarbonylovými sloučeninami za vzniku kondenzovaného heterocyklu - imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu, který také bývá nazýván ethenocytosin. Tyto látky lze halogenovat a podrobit cross-coupling reakcím. Vzhledem k přítomnosti poměrně kyselého amidického vodíku je vhodnou metodou Suzuki-Miyaura cross-coupling.

Deriváty pyrazolu mají široké uplatnění, zejména jako léčiva. Tyto sloučeniny mají také zajímavé koordinační vlastnosti, zejména po přidání dalších koordinačních center. Proto byla pozornost věnována především pyridin-2-yl substituentům, které byly zavedeny do různých pozic pyrazolového jádra. Principiálně lze pro zavedení arylového substituentu do polohy 4 pyrazolu využít celou řadu cross-coupling reakcí, protože molekula neobsahuje žádné citlivé funkční skupiny.

p-Terfenylové sloučeniny byly navrženy jako vhodné výchozí sloučeniny pro syntézu nesymetricky substituovaných *p*-quaterfenylů (Schéma 1), a zároveň jako modelové produkty pro optimalizaci cross-coupling reakce. Vzhledem k přítomnosti fenolické hydroxyskupiny v molekule výchozího 4'-halogenbifenyl-4-olu je Suzuki-Miyaura reakce vhodnou metodou, nevyžadující chránění hydroxyly. V těchto případech lze využít heterogenní katalýzu pomocí Pd/C katalyzátoru. V rámci zvyšování efektivity cross-coupling reakcí, nejsou studovány jen heterogenně katalyzované reakce, ale i homogenní katalyzátory a ligandy, které jsou schopné katalyzovat tyto reakce ve vodném prostředí. Bylo připraveno několik palladiových komplexů a na podobných příkladech Suzuki-Miyaura reakce byla studována jejich katalytická aktivita ve vodném prostředí.

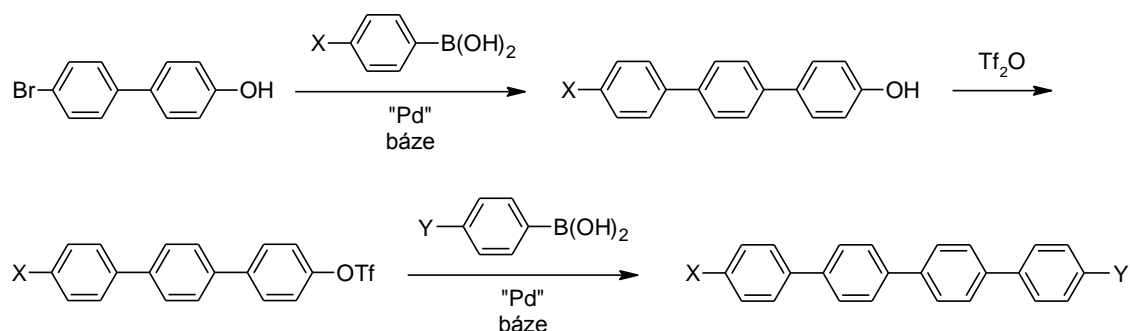


Schéma 1: Navržená syntéza nesymetricky substituovaných *p*-quaterfenylů.

2. Cíl práce

Cíle práce lze definovat podle jednotlivých typů studovaných látek následujícím způsobem:

2.1 Imidazopyrimidiny

1. Příprava halogenovaných cytosinů.
2. Cyklizace vedoucí k imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onům.
3. Arylace imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu v poloze 8.
4. Halogenace a přesmyky imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu.

2.2 Pyrazoly

1. Syntéza diketonů a triarylpyrazolů.
2. Halogenace triarylpyrazolů do polohy 4.
3. Substituce halogenu pomocí vhodné cross-coupling reakce – syntéza tetrasubstituovaných pyrazolů.

2.3 Terfenyly

1. Syntéza derivátů *p*-terfenyl-4-olu.
2. Optimalizace Pd/C katalyzované Suzuki-Miyaura reakce s cílem nalezení efektivních podmínek (bez nutnosti chránění hydroxyskupiny, nízké dávky katalyzátoru, jednoduchost provedení).

2.4 Palladnaté komplexy

1. Příprava ligandů a jejich komplexů s chloridem palladnatým.
2. Ověření katalytické aktivity připravených komplexů v Suzuki-Miyaura reakci ve vodném prostředí.

3. Výsledky a diskuse

Tato kapitola pojednává o výsledcích syntézy, charakterizaci a o některých vlastnostech cílových sloučenin, v posloupnosti, naznačené v kapitole 2 „Cíl práce“. Uvedené výsledky jsou podloženy již publikovanými články.^{1,2,15,26,28} Navíc jsou zde uvedeny některé dosud nepublikované informace. Číslování sloučenin je převzato z publikovaných článků.^{1,2,15,26,28}

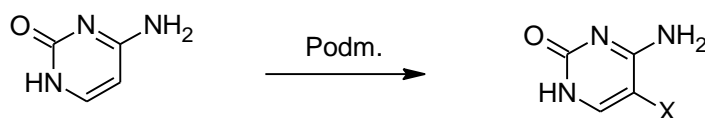
3.1 Syntéza a arylace imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onů

Obsah této kapitoly je založen na těchto publikacích: Jansa J., Lyčka A., Padělková Z., Grepl M., Konečný P., Hajdúch M., Džubák P.: New imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-ones derived from cytosine: synthesis, structure and cytotoxic activity, *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2015**, 52, 1382-1389.¹

Jansa J., Lyčka A., Růžička A., Grepl M., Vaněček J.: Synthesis, structure and rearrangement of iodinated imidazo[1,2-*c*]pyrimidine-5(6*H*)-ones derived from cytosine, *Tetrahedron* **2015**, 71, 27-36.²

3.1.1 Syntéza 5-halogencytosinů

Ve větším měřítku (10-100 g) byla provedena jodace, bromace a chlorace cytosinu (Schéma 2) dle metod popsanych v literatuře.³⁻⁶ Reakční podmínky a výtěžky dosažené při halogenacích cytosinu uvádí Schéma 2. 5-Fluorecytosin je komerčně dostupný, poněvadž se jedná o generickou antifungální látku (flucytosin).



X = Cl, 95 %, Podm: NCS / AcOH / 75 °C / 4 h

X = Br, 58 %, Podm: 1) Br₂ / H₂O / rt, 2) Na₂CO₃ / H₂O

X = I, 82 %, Podm: I₂ / KOH / H₂O / rt, 70 min, pak reflux 2 h

Schéma 2: Halogenace cytosinu, provedené v rámci této práce.

3.1.2 Syntéza 8-halogenethenocytosinů a jejich arylace

5-Halogenované cytosiny byly podrobeny reakcím s chloracetaldehydem ve vodě a v přítomnosti octanu sodného. Takto byly připraveny imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-ony (8-halogenethenocytosiny) **1a-d** (Schéma 3) ve výtěžcích 66-86 %. V další fázi byla optimalizována arylace jodderivátu **1d** pomocí Suzuki-Miyaura couplingu⁷ s arylboronovými kyselinami (Schéma 3). Za optimalizovaných podmínek bylo dosaženo prakticky kompletních konverzí v případě reakcí všech použitých boronových kyselin, což bylo detekováno tenkovrstvou chromatografií. Pouze v případě reakce **1d** s velmi deaktivovanou 4-pyridylboronovou kyselinou, bylo pro dosažení kompletní konverze na produkt **1n** nutné použití 5 mol % katalyzátoru Pd(dppf)Cl₂ ve směsi rozpouštědel ethanol-voda 4:1. 8-Arylované ethenocytosiny **1e-n** byly získány ve výtěžcích 61-90 % (Schéma 3).

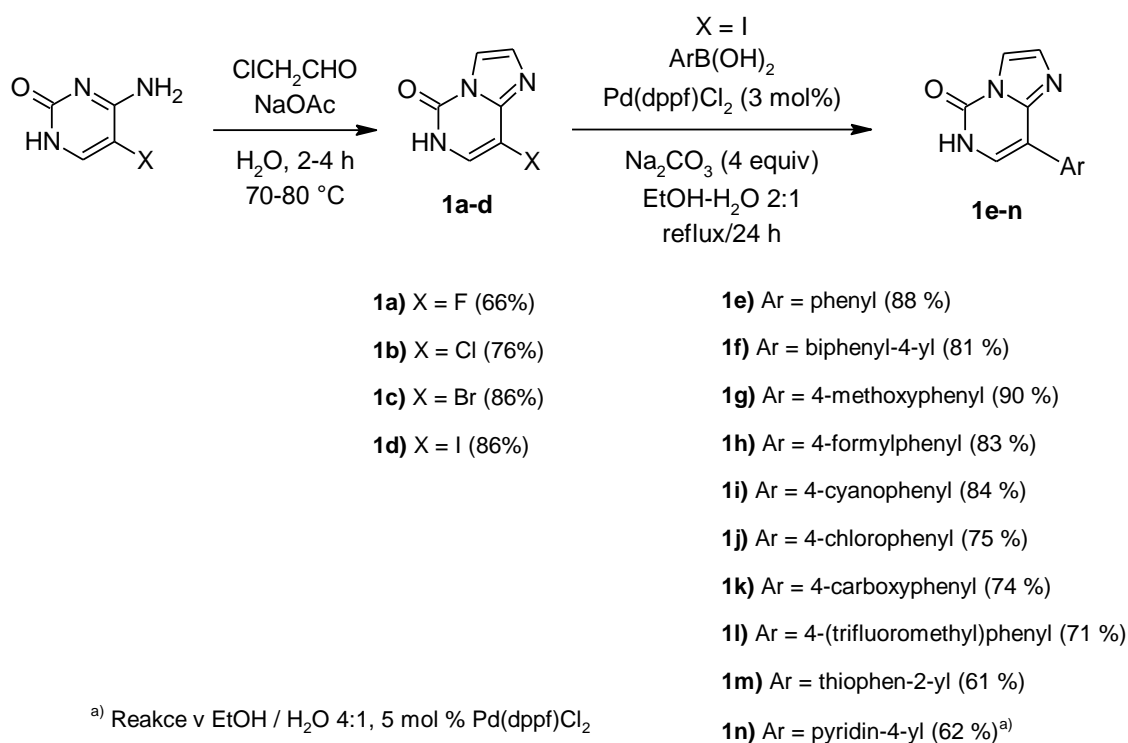
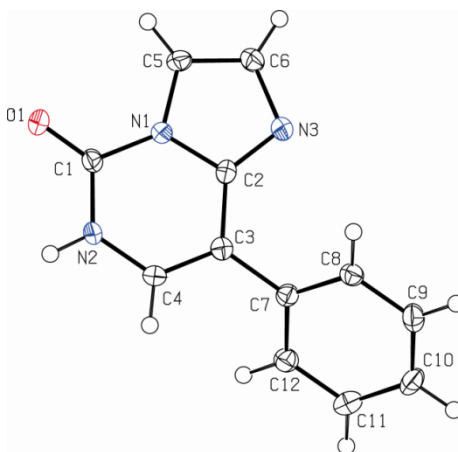


Schéma 3: Syntéza 8-substituovaných ethenocytosinů (výtěžky jsou uvedeny v závorkách).

8-Arylované ethenocytosiny **1e-n**, včetně výchozího jodderivátu **1d** byly identifikovány a charakterizovány pomocí IČ, HRMS a NMR spektroskopie, dále bodem tání a elementární analýzou. Struktura fenylderivátu **1e** byla ověřena pomocí rentgenostrukturní analýzy (Obrázek 2). V případě sloučenin **1d** a **1e-n**, bylo provedeno kompletní přiřazení ¹H a ¹³C chemických posunů ke konkrétním atomům. K tomuto účelu byly kromě 1D NMR spekter změřeny i 2D experimenty (COSY, HMQC, HMBC). U vybraných derivátů byla změřena i ¹⁵N NMR spektra.¹



Obrázek 2: Molekulová struktura sloučeniny **1e**.

3.1.3 Biologická aktivita 8-aryloethenocytosinů

8-Arylované ethenocytosiny **1e-n**, včetně výchozího jodderivátu **1d** byly podrobeny testům cytotoxicity na nádorových buněčných liniích a normálních lidských buňkách (Tabulka 1). Výsledky byly publikovány.¹

Tabulka 1: Cytotoxické aktivity sloučenin **1d-n** (IC₅₀, μM).^a

Sloučenina	CCRF-CEM	CEM-DNR bulk	K562	K562-Tax	A549	HCT116	HCT116p53-/-	MRC-5	BJ
1d	46.15	48.99	47.37	44.63	50.00	50.00	18.61	48.33	50.00
1e	50.00	45.69	49.72	45.51	50.00	46.14	35.58	50.00	50.00
1f	8.59	2.84	15.20	8.85	10.13	20.20	15.12	7.00	0.66
1g	45.74	41.56	47.75	39.79	47.31	49.35	35.52	50.00	50.00
1h	32.63	20.28	34.21	23.48	9.04	50.00	18.47	50.00	48.69
1i	1.45	18.84	17.71	28.72	5.07	42.49	8.83	35.27	7.29
1j	36.87	34.84	35.81	37.70	44.69	37.53	35.89	44.45	43.71
1k	50.00	49.72	48.12	48.38	50.00	50.00	18.75	50.00	50.00
1l	28.20	32.89	10.74	34.20	40.42	34.83	25.57	50.00	50.00
1m	44.65	42.78	50.00	43.35	50.00	50.00	18.75	50.00	50.00
1n	50.00	46.94	50.00	46.07	50.00	50.00	18.75	50.00	50.00

^a Cytotoxická aktivita byla stanovena MTT testem po třídenní inkubaci. Uvedené hodnoty IC₅₀ jsou z 3 nezávislých experimentů se směrodatnou odchylkou 10-25% od průměrných hodnot.

Obecně je cytotoxická aktivita studovaných látek spíše nižší, ale dva deriváty poskytly nadějně výsledky. Jedná se o 8-(4-kyanfenyl)ethenocytosin **1i** (IC₅₀ = 1,45 μM na CCRF-CEM) a 8-(bifenyl-4-yl)ethenocytosin **1f** (IC₅₀ = 2,84 μM na CEM-DNR bulk). Některé další deriváty vykazují mírnou cytotoxickou aktivitu (Tabulka 1). Pro případ

nejaktivnější sloučeniny **1i** byla provedena studie buněčného cyklu na CCRF-CEM lymfoblastech v při jedno- až pětinasobné IC₅₀ koncentraci po dobu 24 hodin. Nebyl pozorován žádný efekt na buněčný cyklus.

3.2 Jodace a přesmyky ethenocytosinů

Obsah této kapitoly je založen na publikaci: Jansa J., Lyčka A., Růžička A., Grepl M., Vaněček J.: Synthesis, structure and rearrangement of iodinated imidazo[1,2-*c*]pyrimidine-5(6*H*)-ones derived from cytosine, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 27-36.²

3.2.1 Syntéza monoiod- a diiodethenocytosinů

Další práce byla zaměřena na jodaci připravených ethenocytosinů. Zamýšlené jodderiváty by mohly sloužit pro další substituci imidazopyrimidinového jádra. První pokusy o jodaci ethenocytosinového jádra byly provedeny na nesubstituovaném imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu⁸ a na jeho 8-jodderivátu **1d**. Překvapivě byly získány rozdílné produkty při jodaci 1,2 ekvivalentem *N*-jodsukcinimidu (NIS) ve vroucím acetonitrilu a v DMF za laboratorní teploty. Přes veškerou snahu o rozlišení polohy substituce pomocí NMR spektroskopie, se správnou polohu jodu nepodařilo přesvědčivě určit. Hlavní důvod byl ten, že se nedařilo rozlišit kvarterní atomy uhlíku C(5) a C(8a), viz kap. 3.2.2. Z tohoto důvodu byla provedena rentgenostrukturní analýza sloučeniny **2d** (viz kap. 3.2.2.), která jednoznačně prokázala, že se jedná o 3,8-dijodderivát. Tak bylo nepochybně potvrzeno, že jodace probíhá za mírných podmínek regioselektivně do polohy 3. Bylo zjištěno, že při refluxu sloučeniny **2d** v přítomnosti báze nebo kyseliny dochází k přesmyku Dimrothova typu⁹ na 2,8-dijodderivát **3d**.

Navržený mechanismus přesmyku uvádí Schéma 4. Tato reakce začíná nukleofilním atakem na karbonylovou skupinu (v tomto případě je nejpravděpodobnějším nukleofilem methanol nebo methanolát), který může být katalyzován bází nebo kyselinou.

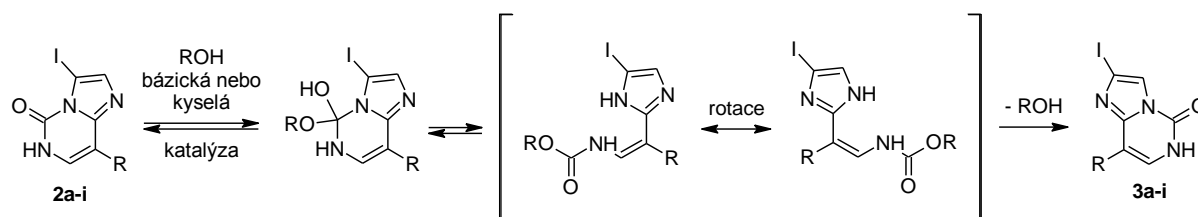


Schéma 4: Pravděpodobný reakční mechanismus přesmyku 3-substituovaných ethenocytosinů typu **2** na 2-substituované ethenocytosiny typu **3**.

Vzniká tetraedrální intermediát s sp^3 hybridizovaným uhlíkovým atomem, který se štěpí a následkem toho dojde k otevření pyrimidinového cyklu za vzniku karbamátu. Následně může dojít k rotaci imidazolového kruhu okolo jednoduché vazby. Zavření pyrimidinového kruhu probíhá z opačné strany, kde je menší sterická zábrana. Z pohledu uvedeného mechanismu jsou atomy jodu vhodnými substituenty, protože vzhledem ke své velikosti, poskytují dobrou sterickou zábranu.

Na základě uvedených výsledků byla navržena sekvence reakcí, vedoucí ke dvěma typům monoiodderivátů (**2a-i**; **3a-i**) a k diiodderivátům **4a-i** (Schéma 5) Reakce vycházely z devíti vybraných ethenocytosinů **1a-i**. Tyto sloučeniny byly jodovány NIS (1,1 ekv.) v DMF. Výtěžky 3-jodethenocytosinů **2a-i** činily 87-97 %.

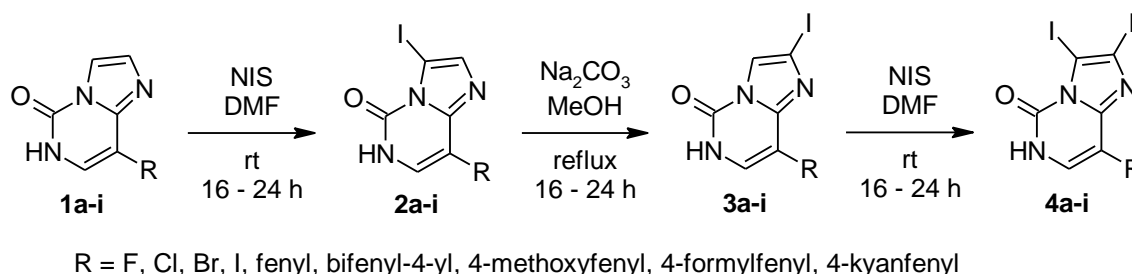


Schéma 5: Sekvence reakcí pro syntézu cílových jodovaných sloučenin.

Přesmyk 3-jodethenocytosinů **2a-i** byl realizován v refluxujícím methanolu za přítomnosti 1 ekvivalentu uhličitanu sodného. Přesmyknuté produkty **3a-i** byly získány ve výtěžcích 83-97 %.

Syntetické využití tohoto přesmyku spočívá v možnosti další jodace (případně jiné substituce) do polohy 3, což vede k 2,3-disubstituovaným ethenocytosinům, které pravděpodobně nelze získat přímou substitucí. 2,3-Dijodethenocytosiny **4a-i** byly získány ve výtěžcích 84-96 % za stejných reakčních podmínek, které byly použity při první jodaci (Schéma 5).

3.2.2 Identifikace a charakterizace jodovaných ethenocytosinů

Jodované ethenocytosiny, včetně výchozích látek **1a-c** byly identifikovány a charakterizovány pomocí IČ, HRMS a NMR spektroskopie a bodem tání. Struktura 3,8-dijodderivátu **2d** byla ověřena pomocí rentgenostrukturní analýzy.²

V případě sloučenin **1a-c**, **2a-i**, **3a-i**, **4a-i** bylo provedeno kompletní přiřazení ^1H , ^{13}C a ^{15}N chemických posunů ke konkrétním atomům. K tomuto účelu byly kromě 1D NMR spekter změřeny i 2D experimenty (COSY, HMQC, HMBC). V případě čtyř sloučenin

obsahujících fluor, byla změřena i ^{19}F NMR spektra. Číslování atomů v jednotlivých molekulách, pro účely NMR spektroskopie je naznačeno ve Schématu 6.

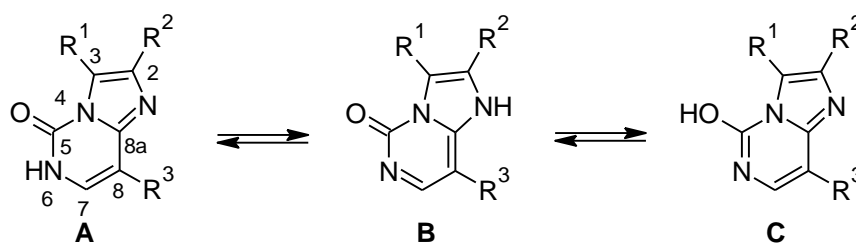
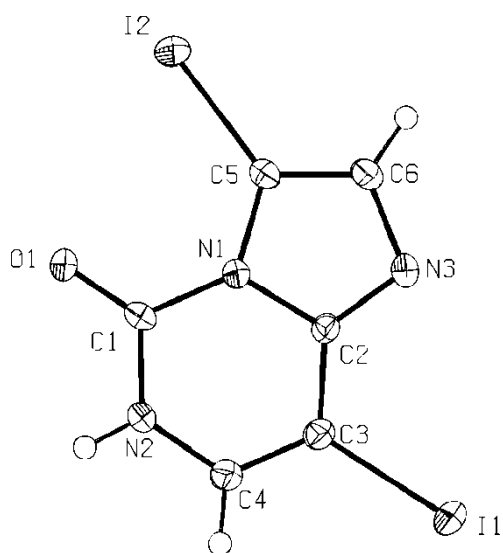


Schéma 6: Tautomerie a číslování studovaných imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onů.

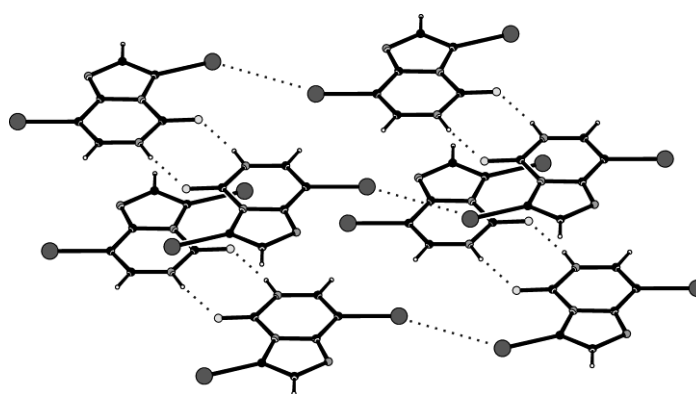
Studované sloučeniny mohou existovat ve třech tautomerních formách (Schéma 6). S cílem potvrzení předpokládané tautomerní formy A u všech studovaných derivátů, byla provedena analýza NMR spekter. Protože byla ve všech 1D $g\text{s}^{1}\text{H}$, ^{15}N -HMQC spektrech pozorována interakční konstanta $^1J(^{15}\text{N}, ^1\text{H}) = 92 \pm 2$ Hz, lze jednoznačně vyloučit strukturu C, která obsahuje OH skupinu. Ve spektrech 2,3-disubstituovaných derivátů **4a-i** byla pozorována $J((\text{N})^1\text{H}, ^1\text{H}) = 5,3 \pm 0,3$ Hz. U ostatních derivátů, kde byl ^1H signál širší, byla tato interakce pozorována v H,H-COSY spektrech. To musí být způsobeno interakcí $^3J(^{15}\text{N}(6)^1\text{H}, \text{C}(7)^1\text{H})$. Protony v pozicích 2 a 3 vykazují singlet v 2- nebo 3-monosubstituovaných derivátech. V případě sloučenin, majících v obou pozicích 2 a 3 protony, byly pozorovány dva dublety s interakcí $^3J(\text{C}(2)^1\text{H}, \text{C}(3)^1\text{H}) = 1,5 \pm 0,2$ Hz a žádná interakce s NH protonem zde nebyla nalezena. Z těchto informací vyplývá, že tautomerní struktura A byla nepochybně potvrzena u všech studovaných látek. Protony na uhlících byly přiřazeny pomocí techniky $g\text{s}$ -HMQC. Kvarterní uhlíky byly přiřazeny na základě $g\text{s}$ -HMBC a proton-coupled ^{13}C NMR spekter. Přesto nebylo možné s jistotou určit polohu atomu jodu na imidazolovém kruhu, protože kvarterní uhlíkové atomy C(5) a C(8a) vykazují téměř stejný chemický posun a proton C(7) ^1H vždy interaguje s těmito kvarterními uhlíky. Proto byla struktura 3,8-dijodderivátu potvrzena rentgenostrukturní analýzou (viz níže). Poté již bylo rozlišení 2- a 3-substituce jednoduché, protože u sloučenin **2a-i** je $\delta(^{13}\text{C}(3)\text{-I}) = 61,6\text{-}64,2$ ppm a u sloučenin **3a-i** je $\delta(^{13}\text{C}(2)\text{-I}) = 89,9\text{-}90,3$ ppm. V případě 2,3-dijodderivátů jsou oba $^{13}\text{C}\text{-I}$ chemické posuny posunuty směrem k nižšímu poli, ale stále se liší o více než 30 ppm. Pro 2-jodderiváty byl uhlík C(5) pozorován jako dublet dubletu vzhledem k interakčním konstantám $^3J(\text{C}(5), \text{C}(3)^1\text{H})$ a $^3J(\text{C}(5), \text{C}(7)^1\text{H})$, zatímco uhlík C(8a) byl dubletem vzhledem k interakční konstantě $^3J(\text{C}(8a), \text{C}(7)^1\text{H})$. Pro 3-jodderiváty byl uhlík C(5) pozorován jako dublet vzhledem k interakci $^3J(\text{C}(5), \text{C}(7)^1\text{H})$, zatímco uhlík C(8a) byl

dubletem dubletu vzhledem k interakčním konstantám ${}^3J(\text{C}(\mathbf{8a}),\text{C}(2)^1\text{H})$ a ${}^3J(\text{C}(\mathbf{8a}),\text{C}(7)^1\text{H})$. V případě 2,3-dijodderivátů byly vyšší ${}^{13}\text{C}$ chemické posuny dle zkušenosti přiřazeny uhlíku C(5) a nepatrně nižší posuny uhlíku C(8a). ${}^{19}\text{F}$ Chemické posuny sloučenin **1a**, **2a**, **3a**, **4a** jsou velmi podobné a resonují v úzkém rozmezí -167,1 až -167,6 ppm. ${}^{15}\text{N}$ Chemické posuny byly odečteny z 2D gs ${}^1\text{H},{}^{15}\text{N}$ -HMBC spekter. Přiřazení signálů je založeno na faktu, že byl v ${}^1\text{H},{}^{15}\text{N}$ -HMBC spektrech pozorován zbytkový dublet N-H skupiny, jejíž proton koreluje s dusíkem N(4). Typické rozmezí ${}^{15}\text{N}$ chemických posunů je následující: -110,9 až -134,5 ppm (N(1)), -183,7 až -195,8 ppm (N(4)), -242,2 až -249,6 ppm (N(6)-H) a -260,1 až -261,6 (N(6)-H) pro sloučeniny obsahující fluor.

Jak již bylo diskutováno, pro nepochybné určení polohy substituce imidazolového kruhu byly použity rentgenové difrakční metody monokrystalu látky **2d** (Obrázky 3 a 4).



Obrázek 3: Molekulová struktura sloučeniny **2d**.



Obrázek 4: Supramolekulární struktura sloučeniny **2d**, N-H...C(=O) a I...I vazby jsou znázorněny tečkovanou čarou, C-H...N kontakty a π - π interakce nejsou zobrazeny.

Sloučenina má zcela planární strukturu a spíše lokalizovaný charakter π -elektronové hustoty, takže lze rozpoznat dvojně vazby mezi C3-C4, C2-N3 a C5-C6 atomy, které jsou kratší než popsané jednoduché vazby,^{10,11} a dokonce i kratší než je suma kovalentních poloměrů pro C-C nebo C-N.^{10,12} V tomto ohledu bylo také detekováno významné zkrácení vazby C-I o 0,1 Å, což reflektuje krátkou intermolekulární halogenovou nekovalentní I-I (3,785(3) Å, C-I...I-C torze 169,85(11)°) interakci v heterocyklických sloučeninách (Obrázek 4).^{13,14} Vzhledem k velmi zajímavé supramolekulární struktuře sloučeniny **2d**, byly studovány i další mono- a diiodované ethenocytosiny, včetně triiodderivátu **4d**. Celkem bylo

připraveno dalších 21 monokrystalů, které byly charakterizovány skupinou prof. Aleše Růžičky (Univerzita Pardubice). Předpokládáme, že výsledky budou publikovány.

3.2.3 Inhibiční aktivita ethenocytosinů vůči CDK2

Možnost tvorby silných vodíkových a halogenových vazeb ethenocytosinů byla jedním z předpokladů pro potenciální biologickou aktivitu. Předběžné výpočty, provedené týmem prof. Pavla Hobzy (Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i.) totiž poukázaly na možnou interakci připravených sloučenin s cyklin-dependentní kinázou 2 (CDK2). Všechny připravené ethenocytosiny byly proto podrobeny testování jejich inhibiční schopnosti vůči purifikované lidské CDK2 skupinou doc. Vladimíra Kryštofa (Univerzita Palackého v Olomouci). V případě 2,3-nesubstituovaných derivátů byla pozorována mírná (látky **1g-j**, **1l**, **1n**) až střední (6,6 μM **1e** a 8,7 μM u **1m**) inhibiční aktivita vůči CDK2. Bylo zjištěno, že substituce jodem, ať v poloze 2 nebo 3 nebo v obou polohách, vždy snížila inhibiční aktivitu. Vzhledem k nízké rozpustnosti způsobené přítomností jodu ve studovaných derivátech však nelze zatím jednoznačně určit vliv substituce na biologickou aktivitu. Pouze ze srovnání látek **2d**, **3d** a **1d** připadá nejvyšší inhibiční aktivita (62,1 μM oproti >100 μM pro **2d** a **1d**) na 2,8-dijodderivát **3d**. Na základě provedených biochemických měření i teoretických výpočtů byly navrženy další deriváty, u kterých se předpokládá vyšší aktivita. Jejich syntéza v současnosti dále probíhá a předpokládáme, že výsledky budou publikovány.

3.3 Syntéza tetraarylpyrazolů

Obsah této kapitoly je založen na publikaci: Jansa J., Schmidt R., Mamuye A.D., Castoldi L., Roller A., Pace V., Holzer W.: Synthesis of tetrasubstituted pyrazoles containing pyridinyl substituents, *Beilstein Journal of Organic Chemistry* **2017**, *13*, 895-902.¹⁵

Tato práce vznikla během povinné tříměsíční stáže na Univerzitě ve Vídni, pod vedením prof. Wolfganga Holzera. Zamýšlený postup syntézy uvádí Schéma 7.

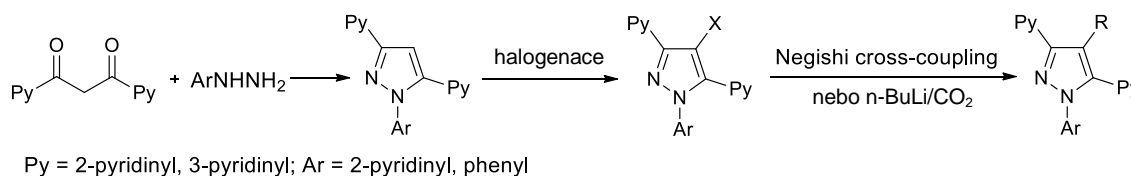


Schéma 7: Navržený postup syntézy tetrasubstituovaných pyrazolů.

3.3.1 Syntéza diketonů a 4-jodtriarylpyrazolů

Jako výchozí látky byly dle upravených metod popsanych v literatuře,^{16,17} připraveny symetrické 1,3-diketonu **1a** a **1b**, ve výtěžcích 76 a 75 %. Reakcemi diketonů **1a** a **1b** s 2-hydrazinopyridinem nebo fenylhydrazinem byly získány tri(hetero)arylpyrazoly **2a-d**, které byly následně převedeny na 4-jodpyrazoly **3a-d** (Schéma 8). Kondenzační reakce, vedoucí k pyrazolovému jádru, probíhaly snadno v ethanolu, za katalýzy kyselinou chlorovodíkovou. Výtěžky činily 88-98 %. Následné jodační reakce byly provedeny působením jodu a kyseliny jodičné v kyselině octové při 80 °C. Díky přítomnosti oxidantu – kyseliny jodičné, bylo možné použití 0,55 ekvivalentu jodu. Za těchto podmínek byly po dvouhodinové reakční době izolovány jodderiváty **3a-d** ve výtěžcích 73-83 %. Tyto sloučeniny dále sloužily jako výchozí látky pro funkcionalizaci pyrazolů v poloze 4.

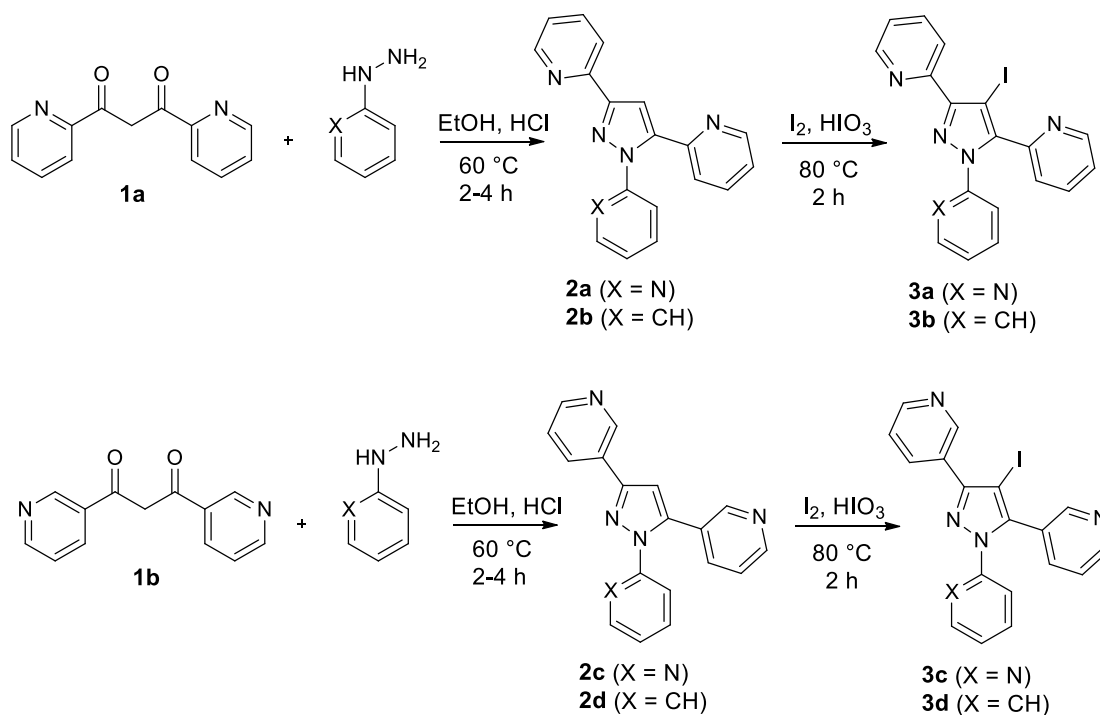


Schéma 8: Syntéza 4-jodtri(hetero)arylpyrazolů **3a-d**.

3.3.2 Karboxylace 4-jodpyrazolů

U všech čtyř jodpyrazolů **3a-d** byla testována výměna jodu za lithium. Reakce byly provedeny působením 1,1 ekvivalentu *n*-BuLi při -78 °C. Tato reakce probíhala rychle (1 h) a kvantitativně v případě 3,5-di-(pyridin-2-yl)-substituovaných derivátů **3a,b**. Následná reakce s oxidem uhličitým rovněž probíhala snadno a vedla k téměř kompletní konverzi na karboxylové kyseliny **4a,b**, které byly získány ve výtěžcích 87 a 78 % (Schéma 9). Naproti

tomu, v případě 3,5-di-(pyridin-3-yl)-substituovaných derivátů **3c,d** byla jak výměna jodu za lithium, tak následná karboxylace značně pomalejší a nekompletní. Vzhledem k tomu jsou výtěžky karboxylových kyselin **3c,d** nižší (31 a 46 %). Zvýšená reaktivita jodderivátů **3a,b** může být vysvětlena jejich schopností chelatace a stabilizace organolithního komplexu, což v případě reakce 3-pyridylderivátů **3c,d** není možné.

Pyrazol-4-karboxylové kyseliny **4a,b** jsou schopné tvořit intramolekulární vodíkovou vazbu mezi hydroxylovým protonem a sousedním pyridinovým dusíkem (Schéma 9), což se projevuje velkým chemickým posunem tohoto protonu (cca 18 ppm v CDCl₃) a značným poklesem chemického posunu dusíkového atomu, který je začleněn v pyridinovém jádře, vázaném v pozici C-5 pyrazolu.

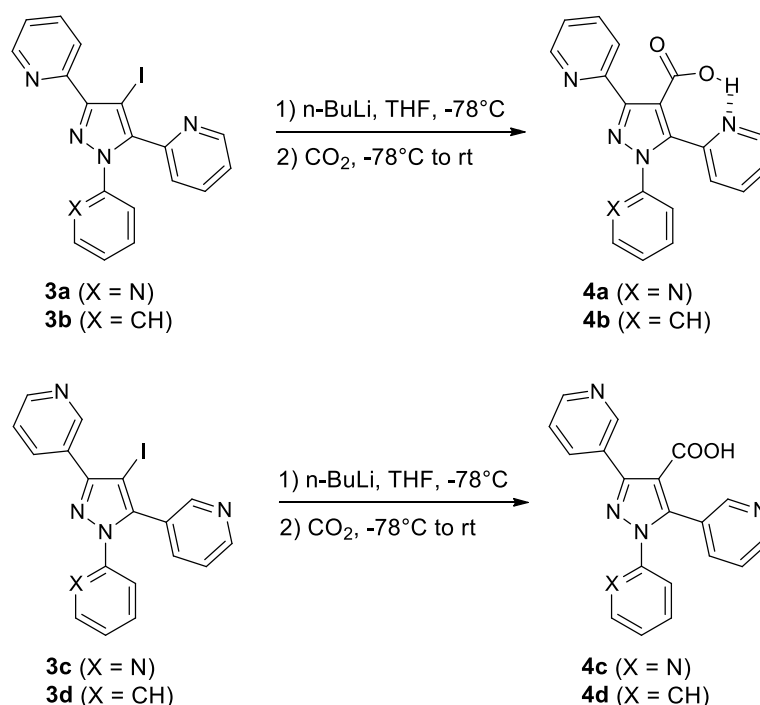


Schéma 9: Výměna jodu-lithium a následná karboxylace 4-jodpyrazolů **3a-d**.

3.3.3 Negishi cross-coupling 4-jodpyrazolů **3a-d**

Počátečním návrhem pro arylaci připravených jodpyrazolů **3a-d** bylo využití Suzuki-Miyaura cross-couplingu⁷ s kyselinou fenyloboronovou. Dále byly testovány reakce s fenylmagnesium bromidem (Kumada cross-coupling)¹⁸ a s fenyllithiem za podmínek, které popsali Feringa *et al.*¹⁹ Tyto cross-coupling reakce nevedly k požadovaným produktům, vzhledem k vedlejší dehalogenaci. Dále byly testovány reakce s organozinečnatými sloučeninami ve smyslu Negishi reakce.²⁰

Byla optimalizována reakce mezi jodpyrazolem **3a** a 2-pyridylzinkum bromidem, která byla nejprve katalyzována Pd(PPh₃)₄ v THF. Tyto podmínky opět vedly k převažující dehalogenaci. Konverze na žádaný produkt **9a** byla nízká. Následně byl katalyzátor zaměněn za Pd(dppf)Cl₂, čímž došlo k podstatnému nárůstu selektivity reakce, jejímž hlavním produktem byl žádaný **9a**. Dehalogenace prakticky nebyla pozorována, ale stupeň konverze zatím nebyl uspokojivý. Proto byla testována kokatalýza jodidem měďným,²¹ která vedla k prakticky kompletní konverzi na **9a** s malým podílem dehalogenace. Za optimalizovaných podmínek byly provedeny reakce jodpyrazolů **3a,b** s různými organozinečnatými sloučeninami, které vedly k produktům **6a,b** a **9a,b** až **11a,b** (Schéma 10). Výtěžky se pohybovaly v širokém rozmezí 19-87%.

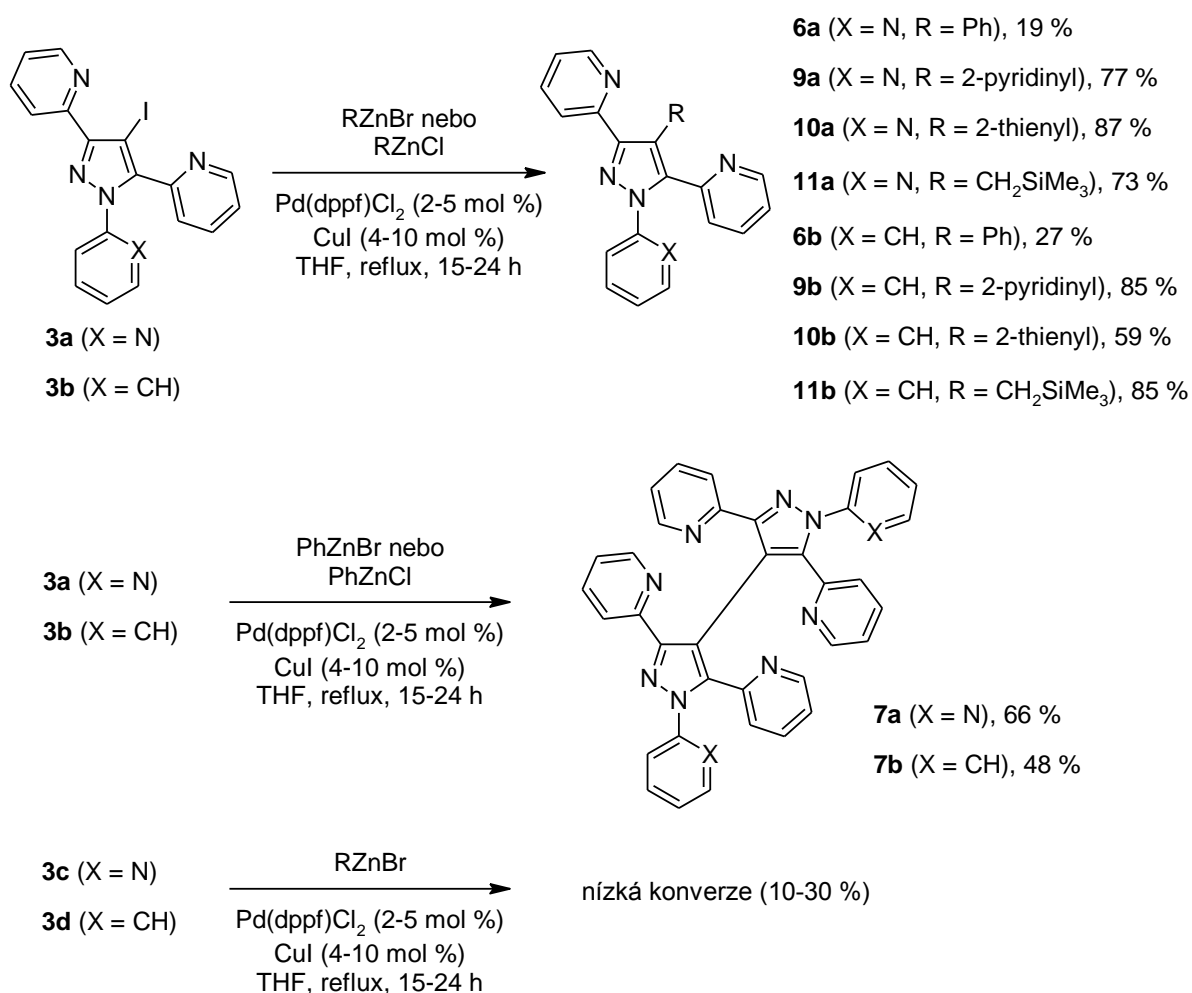


Schéma 10: Negishi cross-coupling reakce 4-jodpyrazolů **3a,b**.

Je zajímavé, že nejnižších výtěžků bylo dosaženo při reakcích s fenzylzinkum halogenidy. Důvodem byl vznik vedlejších produktů **7a,b**, pocházejících z homocouplingových reakcí aryljodidů **3a,b** (Schéma 10, uprostřed). Homocoupling je

pravděpodobně způsoben snadnou výměnou jodu za zinek působením fenylzinkum halogenidu na jodderiváty **3a,b**. Homocoupling pak může probíhat ve smyslu Negishi reakce. Je zajímavé, že natolik stericky stíněné organohalogenidy **3a,b** jsou schopny vytvořit vazbu uhlík-uhlík se čtyřmi pyridylovými substituenty v *ortho* polohách. Navíc bylo dosaženo dobrých výtěžků látek **7a,b** (66 a 48 %). Bylo zjištěno, že selektivita vůči homocouplingové reakci roste s vyšším přebytkem fenylzinkum halogenidu.

Při arylaci heteroaromatickými substituenty (reakce s 2-pyridylzinkum bromidem a 2-thienylzinkum chloridem) byly homocouplingová a dehalogenační reakce minoritní a tyto reakce poskytly dobré výtěžky 59-87 %. Dobré výsledky byly dosaženy i při spojování s sp^3 hybridizovaným uhlíkem (produkty **11a,b**, výtěžky 73 a 85 %).

Podobně jako v případě lithiace a karboxylace, byla pozorována nízká reaktivita 3-pyridyl-substituovaných pyrazolů **3c,d** i při Negishi cross-coupling reakcích (Schéma 10, dole). Konverze na požadované produkty činily pouze 10-30 %, produkty nebyly izolovány. Nižší reaktivita **3c,d** může být způsobena tím, že dusíky 3-pyridilových substituentů nejsou konjugovány s uhlíkem nesoucím atom jodu. V důsledku toho není vazba C-I tolik aktivována, jako v případě sloučenin **3a,b**. Dalším důvodem zvýšené reaktivity sloučenin **3a,b** by mohla být možnost stabilizace chelatací (podobně jako při lithiaci a karboxylaci, viz kap. 3.3.2) během katalytického cyklu.

Reakce jodpyrazolu **3a** s (fenylethynyl)zinkum chloridem se ukázala být poměrně neselektivní. Při pokusech o izolaci požadovaného produktu byla izolována zajímavá sloučenina (výtěžek cca 14 %). Po pečlivé NMR a HRMS analýze byla její struktura navržena jako pyrazolo[3,4-*a*]chinolizin-6-ium (**12**). Tato struktura byla potvrzena rentgenostrukturální analýzou (Obrázek 5), která také poskytla informaci o aniontu, kterým je jodid. Možným vysvětlením vzniku sloučeniny **12** je intramolekulární cyklizace meziprojektu 4-alkynylpyrazolu za reakčních podmínek použitých při Negishi couplingu (Schéma 11).

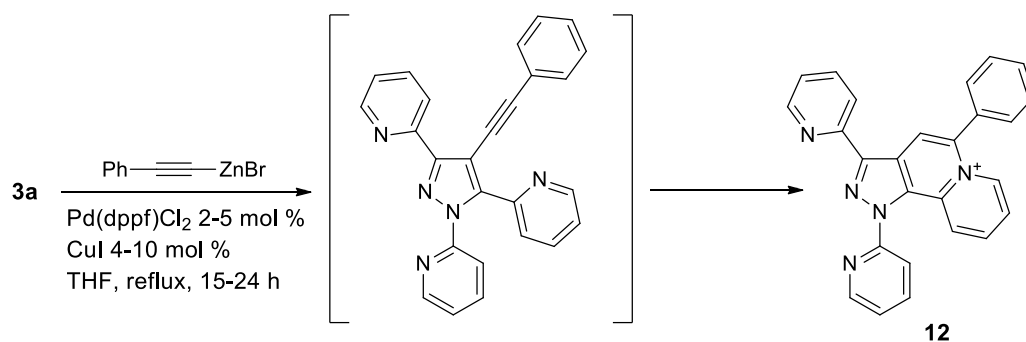
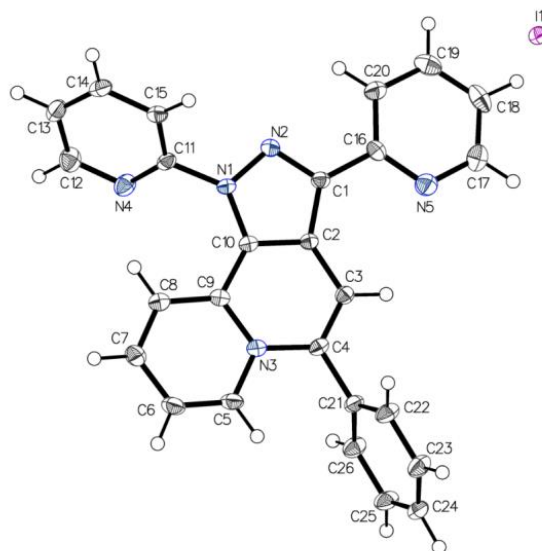


Schéma 11: Vznik pyrazolochinolizinium jodidu **12**.



Obrázek 5: Molekulová struktura sloučeniny **12**.

3.3.4 Identifikace a charakterizace připravených pyrazolů

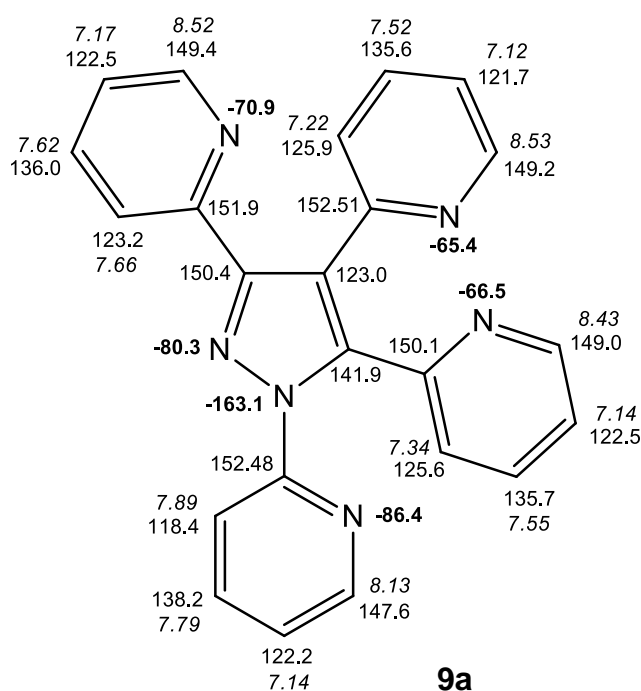
Všechny připravené pyrazoly, včetně výchozích diketonů byly identifikovány a charakterizovány pomocí HRMS a NMR spektroskopie a bodem tání. U některých sloučenin byla provedena i elementární analýza. Struktura pyrazolochinolizinium jodidu **12** byla ověřena pomocí rentgenostrukturní analýzy.¹⁵

Bylo provedeno jednoznačné přiřazení všech ¹H a ¹³C a téměř všech ¹⁵N NMR chemických posunů ke konkrétním atomům. K tomuto účelu byly použity techniky 1D a 2D NMR spektroskopie, zejména ¹H-coupled ¹³C NMR spektra, APT, gs-HSQC, gs-HMBC, gs-HSQC-TOCSY, COSY, TOCSY a NOESY spektroskopie.

4-Jodpyrazoly **3a-d** jsou charakteristické značným posunem signálu uhlíku C-4 směrem k vyššímu poli, ve srovnání s prekurzory **2a-d**. To je důsledek α -efektu těžkého atomu jodu. U všech sloučenin nesoucích pyridylové substituenty bylo možné rozlišit jednotlivé dusíkové atomy. ¹⁵N NMR chemické posuny odpovídající pyridylu, vázanému na dusík N-1 pyrazolu jsou poněkud nižší, než v případech pyridylových substituentů, vázaných v polohách pyrazolu C-3, C-5 (nebo C-4). Z těchto dusíkových atomů býval nejméně stíněný ten, který byl součástí pyridylu na C-3. Pyridiniový (N⁺) dusík ve sloučenině **12** vykazuje značný posun k vyššímu poli (δ_{N-6} -176.2 ppm) oproti „běžným“ ¹⁵N NMR chemickým posunům pyridylových substituentů, vázaných na C-5 ($\delta \sim -62$ to -70 ppm). To je v perfektní shodě s pozorovaným cca 100 ppm posunem směrem k vyššímu poli, ke kterému dochází při převedení pyridinu na jeho hydrochlorid.²²

Zajímavým jevem jsou neobvykle vysoké ^1H NMR chemické posuny protonů H-3 (a vzácněji i H-5) na pyridinových cyklech (v samotném pyridinu je $\delta_{\text{H-3/5}}$ cca 7,4 ppm). Například sloučenina **11a** má $\delta_{\text{H-3}}$ pyridinu v pozici C-3 8,09 ppm, zatímco odpovídající $\delta_{\text{H-5}}$ je pouze 7,22 ppm. Možným vysvětlením je blízkost dusíkových volných elektronových párů N-2 pyrazolu nebo sousedních pyridinových, které ovlivňují zmíněné protony elektrostatickým polem, což způsobí vyšší chemické posuny. To bylo popsáno v případě 2,2'-bipyridinů^{23,24} a dalších srovnatelných systémů.²⁵

Obrázek 6 zobrazuje kompletní NMR data pro případ tetrapyridylpyrazolu **9a**. Na tomto příkladu lze zpozorovat výše diskutované trendy chemických posunů.



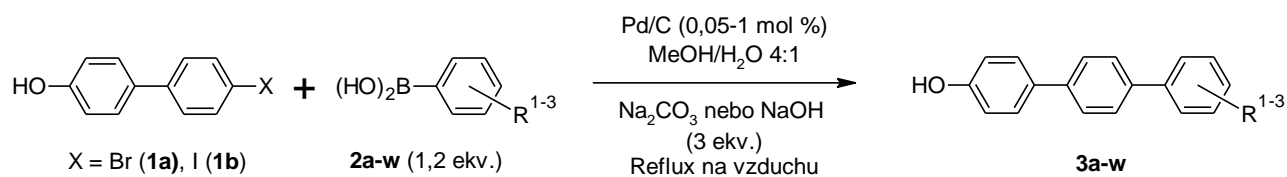
Obrázek 6: ^1H NMR (kurzíva), ^{13}C NMR a ^{15}N NMR (tučně) chemické posuny sloučeniny **9a** (v CDCl_3).

3.4 Syntéza derivátů *p*-terfenyl-4-olu

Obsah této kapitoly je založen na publikaci: Jansa J., Řezníček T., Jambor R., Bureš F., Lyčka A.: Synthesis of Hydroxy-Substituted *p*-Terphenyls and some Larger Oligophenylenes *via* Palladium on Charcoal Catalyzed Suzuki-Miyaura Reaction, *Advanced Synthesis and Catalysis* **2017**, 359, 339-350.²⁶

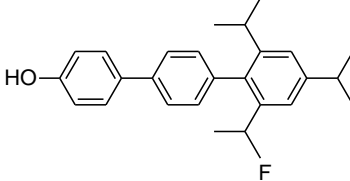
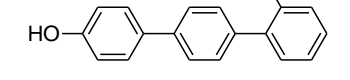
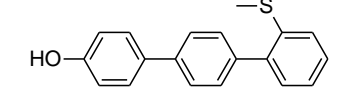
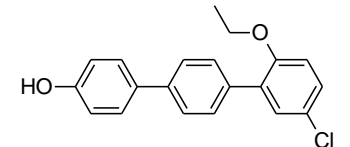
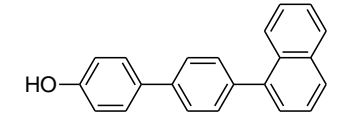
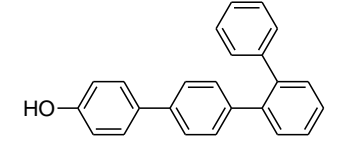
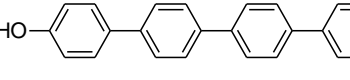
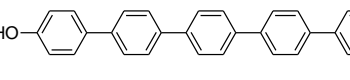
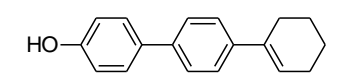
Cílové *p*-terfenyl-4-oly (*p*-terfenoly) byly připraveny heterogenně katalyzovanou Suzuki-Miyaura reakcí mezi 4'-brom- (**1a**) nebo 4'-jodbifenyl-4-olu (**1b**) s 1,05-1,2 ekvivalentem odpovídající boronové kyseliny (**2a-w**). Jako katalyzátor byl používán 5% Pd/C Type 394 (vlhký), který produkuje firma Johnson Matthey. Jedná se o katalyzátor s distribucí palladia na povrchu částic aktivního uhlí (tzv. eggshell catalyst), stupeň redukce palladia je nízký a katalyzátor má vysoký obsah vody přes 55 %. Hlavní pozornost byla věnována alkoholickým rozpouštědlům a jejich směsím s vodou. Výhodami takových rozpouštědel je jejich přijatelnost vůči životnímu prostředí, biodegradabilita, nízká cena, přijatelná toxicita a dobrá aplikovatelnost v procesní chemii. Další důležitou složkou reakční směsi je báze, zde byl preferován uhličitan sodný, který má výše uvedené výhody. Všechny dále uvedené reakce byly provedeny praktickým způsobem - jednoduchým refluxováním reakční směsi na vzduchu a bez přidavku ligandu.

Byly studovány a optimalizovány reakce **1a** či **1b** s boronovými kyselinami (fenylboronovou **2a**, 4-kyanfenylboronovou **2b**, 4-formylfenylboronovou **2c**, 4-(trifluormethyl)fenylboronovou **2d** a mesitylboronovou **2e**). Na základě rozsáhlého souboru výsledků byly nalezeny optimální a univerzální reakční podmínky, které byly aplikovány pro cross-coupling elektronově chudých i stericky stíněných boronových kyselin. Systém rozpouštědel MeOH/H₂O 4:1 se ukázal jako nejefektivnější a umožnil zredukovat dávky katalyzátoru až na 0,1 mol % u většiny reakcí. Za optimalizovaných podmínek byla praktickým způsobem připravena série *p*-terfenyl-4-olů **3a-w** s dobrými až vynikajícími výtěžky, výsledky uvádí Tabulka 2.

Tabulka 2: Přehled připravených *p*-terfenylů.

Bod	X	RB(OH) ₂	Produkt	Báze	Pd/C [mol %]	Konverze [%] ^{a)}		Výtěžek [%] ^{b)}
						7 h	24 h	
1	Br	2a	3a	Na ₂ CO ₃	0.05	100	n.d. ^{c)}	93
2	Br	2b	3b	Na ₂ CO ₃	1	93	96	88
3	Br	2c	3c	Na ₂ CO ₃	1	88	99	87
4	Br	2d	3d	Na ₂ CO ₃	0.1	98	n.d. ^{c)}	92
5	I	2e	3e	NaOH	0.1	99	100	94
6	Br	2f	3f	Na ₂ CO ₃	0.1	100	n.d. ^{c)}	91
7	Br	2g	3g	Na ₂ CO ₃	0.1	100	n.d. ^{c)}	90
8	Br	2h	3h	Na ₂ CO ₃	0.1	99	n.d. ^{c)}	89
9	Br	2i	3i	Na ₂ CO ₃	0.1	96	98	89 ^{d)}
10	Br	2j	3j	Na ₂ CO ₃	0.1	99	n.d. ^{c)}	92
11	Br	2k	3k	Na ₂ CO ₃	0.5	91	94	86
12	Br	2l	3l	Na ₂ CO ₃	1	92	98	88
13	Br	2m	3m	Na ₂ CO ₃	0.1	99	n.d. ^{c)}	87
14	Br	2n	3n	Na ₂ CO ₃	0.1	99	n.d. ^{c)}	88

Tabulka 2: Pokračování.

15	I	2o		NaOH	0.1	n.d. ^{c)}	100 ^{e)}	63 ^{d)}
16	Br	2p		Na ₂ CO ₃	0.1	100	n.d. ^{c)}	92
17	I	2q		NaOH	2	83	91	66
18	Br	2r		Na ₂ CO ₃	0.1	98	99	88
19	Br	2s		Na ₂ CO ₃	0.1	99	n.d. ^{c)}	95
20	Br	2t		Na ₂ CO ₃	0.1	100	n.d. ^{c)}	93
21	Br	2u		Na ₂ CO ₃	0.1	100	n.d. ^{c)}	95
22	Br	2v		Na ₂ CO ₃	0.1	n.d. ^{c)}	n.d. ^{c)}	84 ^{f)}
23	Br	2w		Na ₂ CO ₃	1	96	98	81 ^{g)}

^{a)} Stanoveno HPLC a založeno na výchozím halogenidu.

^{b)} Izolované výtěžky po rekrystalizaci.

^{c)} n.d.: Nebylo stanoveno.

^{d)} Reakce s 1,05 ekv. boronové kyseliny.

^{e)} Stanoveno pomocí ¹H NMR surového produktu, který obsahoval 14 % biphenyl-4-olu a 19 % výchozí 2o.

^{f)} Získáno reakcí 4'-bromobiphenyl-4-olu 1a s benzen-1,4-diboronovou kyselinou 2v (0,5 ekv.).

^{g)} Reakce s 2 ekvivalenty cyklohexen-1-ylboronové kyseliny.

V této práci bylo předpokládáno, že pro použití v procesní chemii jsou nízké katalytické dávky výhodnější než jeho recyklace. Během reakce se mění oxidační stav palladia, dochází ke změnám povrchu katalyzátoru a distribuce palladia. Použitím recyklovaného katalyzátoru se obvykle zhoršuje reprodukovatelnost výsledků (viz přehledný článek²⁷). Použitý katalyzátor může být rafinován, takže nedochází ke ztrátám drahého kovu. Z tohoto pohledu je důležité, aby kov zůstal v použitém katalyzátoru zachován, to znamená, aby nedocházelo k jeho ztrátám během reakce. Byly provedeny recyklační testy s oběma obecnými postupy (syntéza látek 3a a 3e dle Tabulky 2), při použití 0,5 mol % Pd/C

(Tabulky 3 a 4). V obou případech byla pozorována nižší konverze, a především reakční rychlost. Přestože by se některé výsledky v Tabulkách 3 a 4 mohly zdát uspokojivé, nutno poznamenat, že uvedené reakce probíhaly kvantitativně již po sedmi hodinách s 0,05 až 0,1 mol % katalyzátoru. Z toho vyplývá, že je výhodnější reakci provést pětkrát až desetkrát s čerstvým katalyzátorem, než recyklovat 0,5 mol % katalyzátoru s nejistým výsledkem.

Tabulka 3: Recyklační test pro reakci **1a** s kyselinou fenylboronovou **2a** (0,5 mol % Pd/C).

Použití Pd/C ^{a)}	Konverze [%] ^{b)}		
	3 h	7 h	24 h
1.	99	100	100
2.	90	96	98
3.	56	59	72

^{a)} Provedeno dle obecného postupu²⁶ z bromderivátu **1a**. Katalyzátor byl izolován během rekrystalizace a byl přímo recyklován do další stejné reakce.

^{b)} Stanoveno HPLC a založeno na výchozím halogenidu.

Tabulka 4: Recyklační test pro reakci **1b** s kyselinou mesitylboronovou **2e** (0,5 mol % Pd/C).

Použití Pd/C ^{a)}	Konverze [%] ^{b)}		
	3 h	7 h	24 h
1.	99	100	100
2.	96	96	97
3.	90	98	99

^{a)} Provedeno dle obecného postupu²⁶ z jodderivátu **1b**. Katalyzátor byl izolován během rekrystalizace a byl přímo recyklován do další stejné reakce.

^{b)} Stanoveno HPLC a založeno na výchozím halogenidu.

Důležitým hlediskem katalyzovaných reakcí je udržitelnost vzácných kovů. Proto byla provedena měření obsahu palladia v použitých katalyzátorech pomocí ICP-OES. U třikrát použitého katalyzátoru po procedurách, popsanych v Tabulkách 3 a 4 došlo k významnému poklesu obsahu Pd. Bylo ztraceno 69 % (procedura v Tabulce 3) a 40 % (procedura v Tabulce 4) původní hmoty Pd. Následně byl obsah Pd stanoven po první reakci s 0,5 mol % Pd/C (bez recyklace) a bylo vynecháno, případně upraveno okyselení během zpracování reakční směsi. Za těchto podmínek došlo ke ztrátě 11 % původní hmoty Pd v případě syntézy **3a**, 19 % Pd byl ztraceno v případě syntézy **3e**. Je velmi pravděpodobné, že okyselení částečně způsobuje ztráty Pd.

Syntéza sloučenin **3a**, **3i** a **3n** byla ověřena ve větším měřítku (20 gramů v případě **3i** a **3n** a dokonce 50 gramů v případě **3a**). Získané výsledky byly shodné s těmi, dosaženými v měřítku 2 gramů. Všechny připravené sloučeniny byly charakterizovány body tání, NMR a HRMS spektry a elementární analýzou. V některých případech bylo možné i kompletní přiřazení ¹H a ¹³C NMR chemických posunů ke konkrétním atomům.

Připravené *p*-terfenoly dále slouží pro přípravu nesymetricky substituovaných *p*-quaterfenylů (viz Schéma 1), jejichž syntéza probíhá a je v plánu dosažené výsledky publikovat.

3.5 Příprava Pd komplexů a testování jejich katalytické aktivity

Obsah této kapitoly je založen na publikaci: Jansa J., Řezníček T., Dostál L., Růžičková Z., Bureš F., Jambor R.: Amidophosphine stabilized palladium complexes catalyse Suzuki-Miyaura cross-couplings in aqueous media, *Applied Organometallic Chemistry* **2016**, *30*, 1036-1042.²⁸

V rámci této práce byly především připraveny ligandy L^1PPh_2 a L^2PPh_2 a jejich komplexy s chloridem palladnatým **1** a **2**. Příprava a charakterizace ligandů L^1PPh_2 a L^2PPh_2 a komplexů **1** a **2** již byla publikována.²⁹ V rámci této práce byly tyto sloučeniny připraveny ve větším měřítku. Byly provedeny testy katalytické aktivity připravených komplexů, včetně amidofosfinových komplexů **3-6**. Byl připraven hydrochlorid komplexu **1** a byla určena jeho struktura (sloučenina **7**). Byla testována možnost využití protonace komplexu **1** k jeho izolaci po provedené cross-coupling reakci.

3.5.1 Syntéza fosfinových ligandů L^1PPh_2 a L^2PPh_2

Syntéza ligandů L^1PPh_2 a L^2PPh_2 probíhala dle Schématu 12. V obou případech byla nejprve provedena lithiace výchozího 1,3-bis[(*N,N*-dimethylamino)methyl]benzenu (L^1) nebo 1,3-bis(*tert*-butoxymethyl)benzenu (L^2), která byla provedena pomocí *n*-butyllithia v hexanu za laboratorní teploty po dobu 24 hodin. K lithnému komplexu byl následně během 1 hodiny přidán difenylfosfinchlorid v ekvimolárním množství. Surové produkty s čistotou cca 95 % bylo možné izolovat extrakcí v kvantitativním výtěžku. Čisté produkty byly získány rekrystalizací z methanolu ve výtěžcích 83 % (L^1PPh_2) a 71 % (L^2PPh_2).

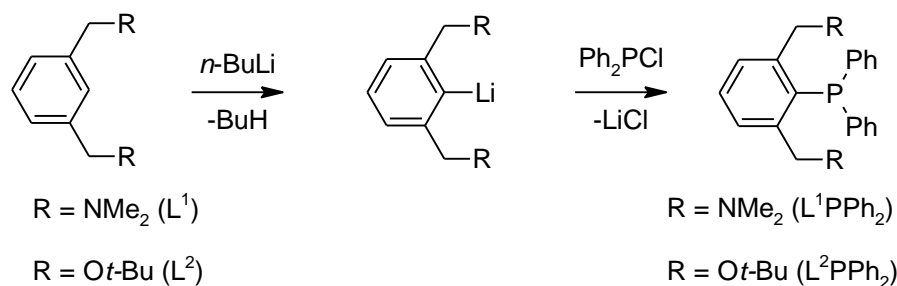


Schéma 12: Princip syntézy ligandů L^1PPh_2 a L^2PPh_2 .

3.5.2 Syntéza palladnatých komplexů

Získané fosfinové ligandy L^1PPh_2 a L^2PPh_2 podléhají komplexaci s chloridem palladnatým (Schéma 13 a 14). Podle substituce výchozího ligandu, může komplex vznikat v poměru 1:1 nebo 2:1 (poměr ligandu k $PdCl_2$). Komplex 1:1 vzniká, je-li substituent R schopen chelátovat atom palladia (typické pro $R = NMe_2$). Podle poměru komplexace se liší i konfigurace komplexu, komplex **1** má konfiguraci *cis* a komplex **2** konfiguraci *trans*.

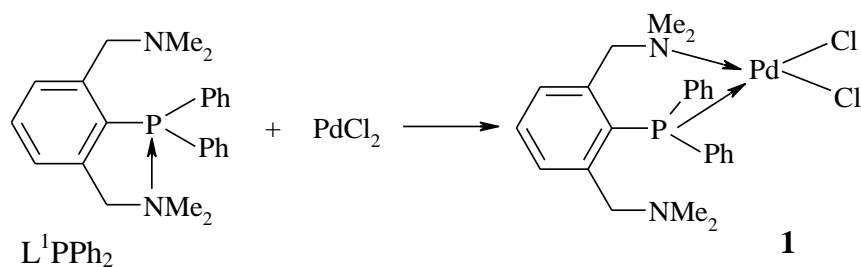


Schéma 13: Syntéza komplexu 1.

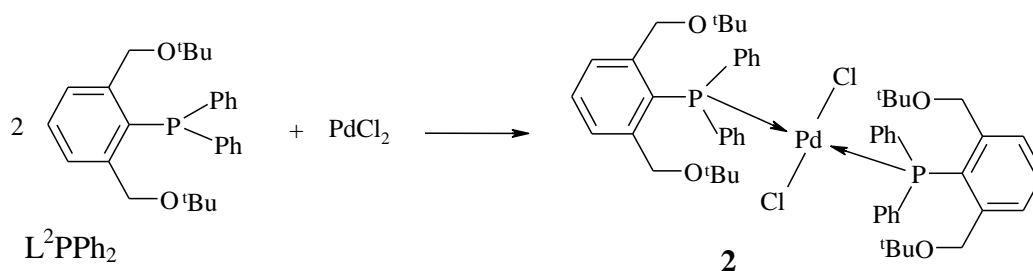


Schéma 14: Syntéza komplexu 2.

Syntéza komplexů **1** a **2** byla provedena v tetrahydrofuranu a dichlormethanu za laboratorní teploty. Průběh reakcí byl monitorován pomocí ^{31}P NMR spektroskopie. V obou případech bylo lepších výsledků dosaženo v dichlormethanu (kratší reakční doba, vyšší výtěžek). Při syntéze komplexu **1** (Schéma 13), provedené v dichlormethanu, byla k dosažení kompletní konverze zapotřebí reakční doba 67 hodin. Komplex **1** byl získán čistý ve výtěžku 99 %. Za analogických podmínek byl připraven komplex **2**, ale reakční doba vzrostla na 13 dní. Komplex **2** byl získán čistý ve výtěžku 93 %.

Aminoskupinu komplexu **1** je možné protonovat a dosáhnout tak jeho rozpustnosti ve vodě. Tento fakt lze prakticky využít k izolaci komplexu **1** po provedení jím katalyzované reakce. Z organické fáze byl po provedení Suzuki-Miyaura reakce komplex **1** extrahován do vodné fáze o pH cca 5. Po odpaření vodné fáze byl zbytek podroben ^{31}P NMR analýze, kde byl nalezen signál s chemickým posunem 18,4 ppm, který byl přisouzen vzniku komplexu **7**.

Tato sloučenina **7** byla také připravena reakcí **1** s ekvimolárním množstvím HCl (Schéma 15) a byla charakterizována NMR spektroskopií v deuterované vodě, struktura byla potvrzena rentgenostrukturní analýzou. Změnou pH, např. přidávkem uhličitanu sodného, lze hydrochlorid **7** převést zpět na komplex **1**, který se vysráží z vodného roztoku.

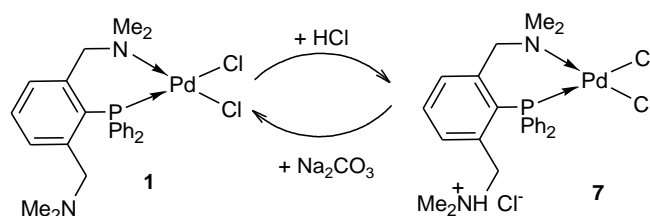
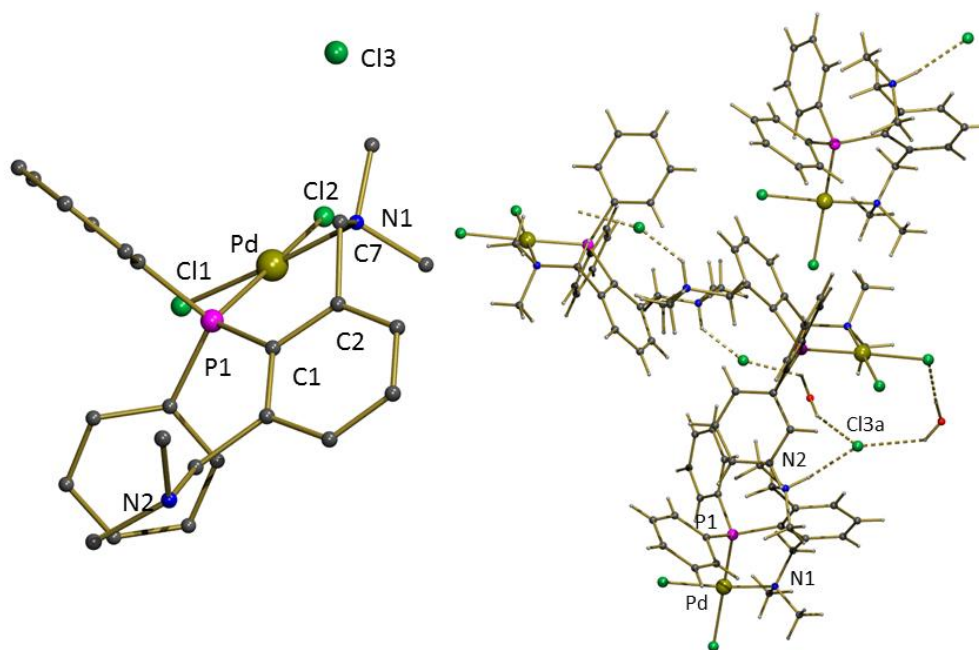


Schéma 15: Syntéza hydrochloridu **7** a jeho regenerace na výchozí komplex **1**.

Izolovaný komplex jevil ³¹P NMR signál 18,4 ppm, což je srovnatelné s posunem výchozího komplexu **1** (19,4 ppm).²⁹ V porovnání s výchozím ligandem L¹PPh₂ (δ³¹P = -16,5 ppm) tak komplexací došlo k posunu směrem k nižšímu poli. V ¹H NMR spektru látky **7** byl pozorován AB spinový systém (δ_A 3,25; δ_B 3,75) s interakční konstantou J_{AB} ≈ 12 Hz a široký singlet s δ = 4,19 ppm pro CH₂N skupiny a dva signály při δ = 2,73 a δ = 2,76 ppm pro CH₃ skupiny ligandu L¹PPh₂. V ¹H NMR spektru byl pozorován i signál odpovídající NH skupině při δ = 4,28 ppm. Tyto informace naznačují přítomnost dvou neekvivalentních CH₂NMe₂ skupin. Jedna z těchto skupin koordinuje atom palladia tak, jak je tomu v komplexu **1**. Druhá CH₂NMe₂ skupina je protonována chlorovodíkem. V důsledku existence amoniové skupiny je sloučenina **7** dobře rozpustná ve vodě.

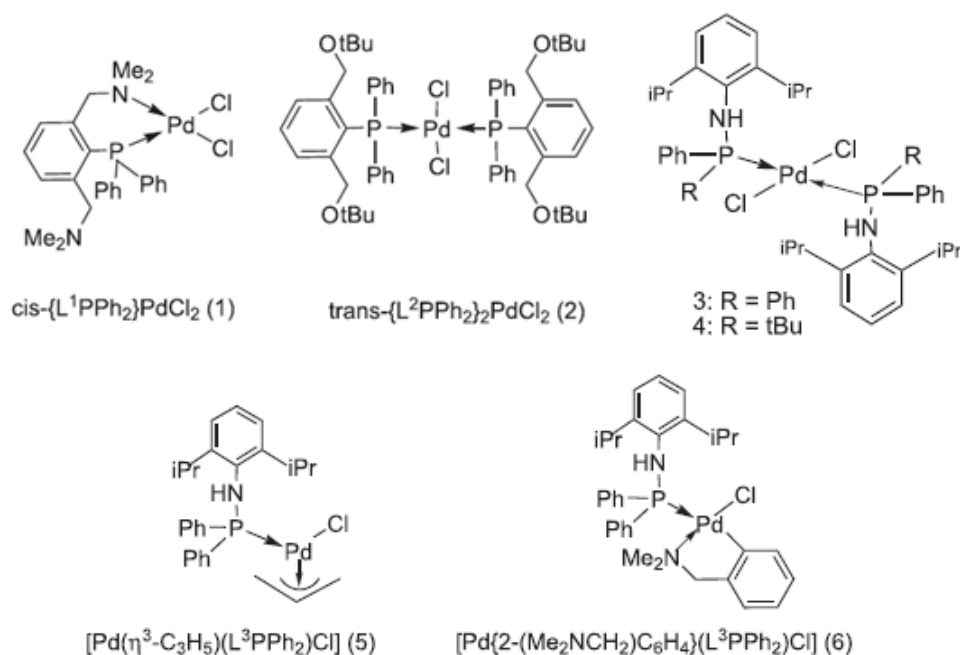
Struktura látky **7** byla potvrzena rentgenostrukturní analýzou (Obrázek 7).²⁸ Bylo potvrzeno, že koordinační číslo dvoumocného palladia je 4, a že ligandy jsou v uspořádání *cis*. Vazebná délka Pd1-P1 je 2.2522(10) Å, což odpovídá popsáním fosfinovým a fosfitovým komplexům Pd(II) (2.2-2.4 Å)³⁰ i komplexu **1** (2.2543(9) Å).²⁹ Délka vazby Pd1-N1 je 2.097(3) Å, což ukazuje na silnou koordinaci dusíku na palladium. Tato hodnota je srovnatelná s podobnými monomerními N-koordinovanými Pd komplexy, kde byly nalezeny vzdálenosti Pd-N 2.073-2.155 Å).³⁰ Druhý dusíkový atom N2 je protonovaný – tvoří amoniovou skupinu, která je kompenzována chloridovým aniontem. Vodíkový atom amoniové skupiny tvoří vodíkové vazby s chloridovým aniontem další molekuly (Obrázek 7)



Obrázek 7: Molekulová struktura sloučeniny **7** (vlevo). Vodíkové atomy, voda a ethanol byly pro přehlednost vynechány. Vodíkové vazby v krystalové struktuře látky **7** (vpravo).

3.5.3 Testování katalytické aktivity

Všechny připravené palladiové komplexy **1-6** (Obrázek 8) byly použity pro katalýzu Suzuki-Miyaura reakce mezi 4-nitrobenzenbromidem a kyselinou fenyloboronovou (Tabulka 5). Pro srovnání jsou výsledky uvedeny i pro komerčně dostupný komplex $[(PPh_3)_2PdCl_2]$. Všechny testované komplexy projevily dobrou katalytickou aktivitu, pouze sloučenina **5** poskytla horší výsledek při katalýze ve vodě, proto nebyla dále testována. Ve směsi EtOH/H₂O 4:1 bylo nejlepšího výsledku dosaženo s komerčním katalyzátorem, následovaným komplexy **3,4** a **6**. Při přechodu na systém EtOH/H₂O 2:1 a čistou vodu však rostla katalytická aktivita připravených komplexů na úkor komerčního. V případě amidofosfinových komplexů **3-6** může katalytická aktivita do určité míry souviset s aciditou PNH protonů, která je dle ¹H NMR chemických posunů nejvyšší u látky **6** ($\delta = 6,40$ ppm) a nejnižší u látky **5** ($\delta = 4,33$ ppm).²⁸ V bázičím prostředí, v kterém Suzuki-Miyaura cross-coupling probíhá, se mohou uplatňovat rozpustnější deprotonované formy komplexů **3-6**.



Obrázek 8: Komplexy Pd, použité v testech katalytické aktivity.

Tabulka 5: Katalytická aktivita komplexů 1-6 v Suzuki-Miyaura cross-coupling reakci ve vodném prostředí.

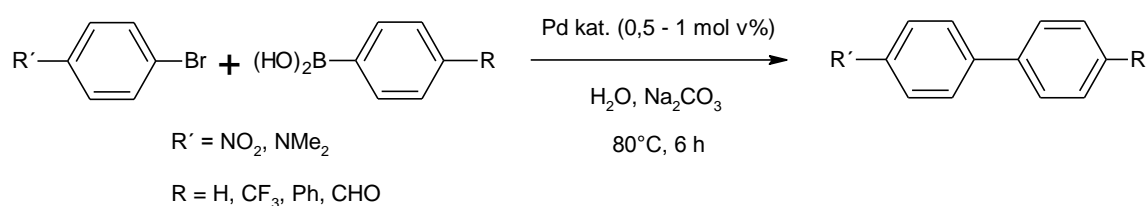
Katalyzátor	EtOH/H ₂ O	EtOH/H ₂ O	H ₂ O
	(4:1)	(2:1)	
Konverze (%) ^[a]			
$[(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2]$	100	97	96
1	95	97	99
2	97	99	99
3	99	95	98
4	99	96	99
5	97	97	76
6	99	99	99

^[a] Stanoveno GC/MS.

Dále byly komplexy **1-4** a **6** využity jako katalyzátory reakce mezi 4-substituovanými fenylbromidy a 4-substituovanými boronovými kyselinami (Tabulka 6). Reakce byly provedeny ve vodě. U všech komplexů **1-4** a **6** byla pozorována podstatně vyšší katalytická aktivita než v případě komerčně dostupného $[(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2]$. Komplex **1**, mající *cis* uspořádání atomů chloru vykázal nižší aktivitu než komplexy **2-4**, které mají uspořádání

trans. Na rozdíl od ostatních komplexů ale aktivita sloučeniny **1** neklesla při použití poloviční katalytické dávky. Komplex **4**, který obsahuje objemnější *tert*-butylovou skupinu, obecně projevil lepší katalytickou aktivitu než jeho analog, nesoucí fenyl, komplex **3**. V případě reakce s elektronově bohatším *N,N*-dimethyl-4-bromanilinem byly konverze, v případě použití všech katalyzátorů, dle očekávání horší, nejlepší výsledek zde poskytl komplex **6** (75 %).

Tabulka 6: Katalytická aktivita komplexů **1-4** a **6** při Suzuki-Miyaura cross-coupling reakci ve vodě.



Katalyzátor	R' = NO ₂ R = CF ₃	R' = NO ₂ R = Ph	R' = NO ₂ R = CHO	R' = NO ₂ R = H	R' = NMe ₂ R = H	R' = NO ₂ R = H
	Konverze (%) ^[a]					
[(PPh ₃) ₂ PdCl ₂]	47	35	34	96	19	46 ^[b]
1	65	72	71	99	62	99 ^[b]
2	88	85	89	99	65	96 ^[b]
3	81	81	89	98	69	90 ^[b]
4	84	88	93	99	67	93 ^[b]
6	83	83	81	99	75	91 ^[b]

^[a] Stanoveno GC/MS.

^[b] 0,5 mol % katalyzátoru.

4. Závěr

V rámci této disertační práce byly připraveny 5-halogenované cytosiny, jejichž cyklizace s chloracetaldehydem vedla k derivátům imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-onu (ethenocytosinu). Reakcí 8-jodethenocytosinu **1d** s aryl- či heteroarylboronovými kyselinami bylo připraveno deset 8-arylovaných derivátů (výtěžky 61-90 %), u nichž byla vyhodnocena biologická aktivita na rakovinových buněčných liniích a inhibice CDK2. Dva deriváty poskytly nadějně výsledky (8-(4-kyanfenyl)ethenocytosin **1i** ($IC_{50} = 1,45 \mu\text{M}$ na CCRF-CEM) a 8-(bifenyl-4-yl)ethenocytosin **1f** ($IC_{50} = 2,84 \mu\text{M}$ na CEM-DNR bulk). U dvou derivátů (substituce fenylem a 2-thienylem) byla stanovena střední inhibiční aktivita vůči CDK2 ($6,6 \mu\text{M}$ **1e** a $8,7 \mu\text{M}$ u **1m**).

V další fázi byla vyvinuta strategie syntézy 3-jod-, 2-jod a 2,3-dijodethenocytosinů. Když byla pozice 8 ethenocytosinu obsazena, jodace probíhala snadno a selektivně působením NIS v DMF do polohy 3. To bylo nepochybně potvrzeno rentgenostrukturní analýzou 3,8-dijodethenocytosinu **2d** a NMR spektroskopii. Bylo zjištěno, že 3-jodethenocytosiny přesmykují za bazické i kyselé katalýzy na odpovídající 2-jodderiváty, což bylo vysvětleno přesmykem Dimrothova typu, který probíhá při otevření šestičlenného kruhu a jeho opětovném zavření z druhé strany molekuly. Získané 2-jodethenocytosiny byly opět jodovány NIS v DMF do polohy 3, což vedlo k syntéze devíti 2,3-dijodethenocytosinů. Obě jodační reakce i přesmyk vykazovaly dobré výtěžky 83-98 %. Všechny připravené ethenocytosiny byly důkladně charakterizovány ^1H , ^{13}C a ^{15}N NMR spektroskopii. Bylo zjištěno, že s výjimkou látky **2d** substituce jodem vždy snížila inhibiční aktivitu vůči CDK2. Vzhledem k nízké rozpustnosti způsobené přítomností jodu ve studovaných derivátech však nelze zatím jednoznačně určit vliv substituce na biologickou aktivitu.

Kondenzační reakcí 1,3-dipyridinyl-1,3-propandionů s 2-hydrazinopyridinem nebo fenylhydrazinem byly připraveny 1,3,5-trisubstituované pyrazoly, které byly jodovány jodem za přítomnosti kyseliny jodičné za vzniku 4-jodpyrazolů **3a-d**. Působením *n*-BuLi došlo k výměně jodu za lithium a následnou reakcí s oxidem uhličitým byly získány čtyři pyrazol-4-karboxylové kyseliny ve výtěžcích 31-87 %. 2-Pyridyl-substituované jodpyrazoly **3a,b** sloužily jako výchozí sloučeniny pro různé cross-coupling reakce při kterých obvykle docházelo k významné dehalogenaci. Jako účinná se projevila Negishi reakce katalyzovaná Pd(dppf)Cl₂/CuI v THF. Za těchto podmínek bylo připraveno osm tetrasubstituovaných pyrazolů ve výtěžcích 19-87 %. Nejnižší výtěžky byly překvapivě pozorovány v případě couplingu fenylzinečnatých sloučenin, za vzniku produktů **6a,b** (19 a 27 %), kdy docházelo

k významné homocouplingové reakci, což umožnilo izolovat hexaarylbipyrazoly **7a,b** ve výtěžcích 66 a 48 %. Během této práce byly izolovány i zajímavé vedlejší produkty – látka **8** a pyrazolochinolizinium jodid **12**, jehož struktura byla potvrzena rentgenostrukturní analýzou. Všechny připravené sloučeniny byly důkladně charakterizovány ^1H , ^{13}C a ^{15}N NMR spektroskopii. Podobně jako v případě lithiace a karboxylace, byla pozorována nízká reaktivita 3-pyridyl-substituovaných jodpyrazolů **3c,d** i při Negishi cross-coupling reakcích, jejichž produkty nebyly izolovány.

Byl vyvinut nový a obecný syntetický protokol pro Pd/C katalyzovanou Suzuki-Miyaura reakci, jehož aplikací byla připravena série 23 derivátů *p*-terfenyl-4-olu ve výtěžcích 66-95 %. Reakce byly provedeny na vzduchu a s minimálními dávkami katalyzátoru. Cross-coupling reakce s elektronově velmi chudými boronovými kyselinami (4-kyanfenyl-, 4-formylfenyl a 4-nitrofenyl) vyžadovaly k dosažení kompletní konverze 1 mol % katalyzátoru. Naproti tomu, reakce s méně, ale přesto deaktivovanými fenylboronovými kyselinami (4- CF_3 , 4- COOH , 4- Cl nebo 3,5- F) byly kompletní během 7 hodin s pouhými 0,1 mol % Pd/C. Za těchto podmínek byly provedeny i reakce se stericky stíněnými 2-substituovanými a dokonce i 2,6-disubstituovanými fenylboronovými kyselinami. V případě 2,6-disubstituovaných byl jako elektrofil používán jodderivát s hydroxidem sodným, jakožto účinnější bázi. Byly provedeny recyklační testy katalyzátoru. Možnosti nízkých dávek jsou dle mého názoru v těchto případech významnější než jeho recyklace, ale důležitým faktorem je udržitelnost drahého kovu. Proto byla provedena měření obsahu palladia v použitých katalyzátorech a bylo prokázáno, že reakce lze realizovat se ztrátou Pd 11-19 %.

Byla zdokonalena syntéza pincer-fosfinových ligandů L^1PPh_2 a L^2PPh_2 , z kterých byly připraveny Pd komplexy **1** a **2** a ve vodě rozpustný hydrochlorid komplexu **1**, jehož struktura byla ověřena rentgenostrukturní analýzou. Tvorbu hydrochloridu lze potenciálně využít pro izolaci použitého katalyzátoru po provedení cross-coupling reakce. Připravené komplexy, včetně nových komplexů s amidofosfinovými ligandy byly testovány jako katalyzátory Suzuki-Miyaura reakce ve vodě a projevíly střední katalytickou aktivitu.

Další práce je zaměřena na syntézu modifikovaných ethenocytosinů s vyšší inhibiční aktivitou vůči CDK a na syntézu nesymetricky substituovaných *p*-quaterfenylů z již připravených *p*-terfenyl-4-olů. Z těchto aktivit jsou očekávány další publikační výstupy.

Publikace autora

Publikace, které vznikly v rámci této disertační práce:

1. Jansa J., Lyčka A., Padělková Z., Grepl M., Konečný P., Hajdúch M., Džubák P.: New imidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6*H*)-ones derived from cytosine: synthesis, structure and cytotoxic activity, *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2015**, 52, 1382-1389.
2. Jansa J., Lyčka A., Růžička A., Grepl M., Vaněček J.: Synthesis, structure and rearrangement of iodinated imidazo[1,2-*c*]pyrimidine-5(6*H*)-ones derived from cytosine, *Tetrahedron* **2015**, 71, 27-36.
3. Jansa J., Schmidt R., Mamuye A.D., Castoldi L., Roller A., Pace V., Holzer W.: Synthesis of tetrasubstituted pyrazoles containing pyridinyl substituents, *Beilstein Journal of Organic Chemistry* **2017**, 13, 895-902.
4. Jansa J., Řezníček T., Jambor R., Bureš F., Lyčka A.: Synthesis of Hydroxy-Substituted *p*-Terphenyls and some Larger Oligophenylenes *via* Palladium on Charcoal Catalyzed Suzuki-Miyaura Reaction, *Advanced Synthesis and Catalysis* **2017**, 359, 339-350.
5. Jansa J., Řezníček T., Dostál L., Růžičková Z., Bureš F., Jambor R.: Amidophosphine stabilized palladium complexes catalyse Suzuki-Miyaura cross-couplings in aqueous media, *Applied Organometallic Chemistry* **2016**, 30, 1036-1042.

Postery, prezentované v rámci této disertační práce:

1. Jansa J., Růžička A., Lyčka A.: Nové deriváty 8-arylimidazo[1,2-*c*]pyrimidin-5(6-*H*)-onů, odvozené od cytosinu (poster), 64. Sjezd asociací českých a slovenských chemických společností, Olomouc 2012, *Chemické listy* **2012**, 106 (6), 558.
2. Jansa J., Růžička A., Lyčka A.: Synthesis, structure and rearrangement of iodinated imidazo[1,2-*c*]pyrimidine-5(6*H*)-ones derived from cytosine (poster), 15th Blue Danube Symposium on Heterocyclic Chemistry, Olomouc 1-5. září 2013.

Tato práce vznikla za podpory následujících grantových projektů:

1. Ev. č. FR-TI1/202 „Cross-coupling reakce: pokročilé metody pro syntézu a výrobu chemických specialit“ (2008-2013), Ministerstvo průmyslu a obchodu ČR.
2. Ev. č. FR-TI4/177 „Nové katalyzátory a jejich aplikace pro cross-coupling v ekologicky přijatelných rozpouštědlech“ (2012-2015), Ministerstvo průmyslu a obchodu ČR.
3. Ev. č. CZ.1.07/2.2.00/28.0184 „Inovace vzdělávání v chemii a biologii s ohledem na aktuální trendy v biomedicínálním výzkumu“ (2012-2015), Ministerstvo školství mládeže a tělovýchovy ČR.

5. Seznam použité literatury

1. Jansa, J.; Lyčka, A.; Padělková, Z.; Grepl, M.; Konečný, P.; Hajdúch, M.; Džubák, P. *J. Heterocyclic Chem.* **2015**, *52*, 1382-1389.
2. Jansa, J.; Lyčka, A.; Růžička, A.; Grepl, M.; Vaněček, J., *Tetrahedron* **2015**, *71*, 27-36.
3. Jiang, Y. L.; Patel, P.; Klein, S. M. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 7034.
4. Wempen, I.; Fox, J. J. *J. Med. Chem.* **1963**, *6*, 688.
5. Taguchi, H.; Wang, S. Y. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 4385.
6. Johnson, T. B.; Johns, C. O. *J. Biol. Chem.* **1906**, *1*, 305.
7. a) N. Miyaura, K. Yamada, A. Suzuki, *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 3437-3440; b) N. Miyaura, A. Suzuki, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 866-867.
8. Barrio, J. R.; Sattsangi, P. D.; Gruber, B. A.; Dammann, L. G.; Leonard, N. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 7408.
9. El Ashry, E. S. H.; El Kilany, Y.; Rashed, N. Assafir, H. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1999**, *75*, 79.
10. Allen, F. H.; Kennard, O.; Watson, D. G.; Brammer, L.; Orpen, A. G.; Taylor, R. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1987**, S1-S19.
11. Pyykkö, P.; Atsumi, M. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 186.
12. Pyykkö, P.; Atsumi, M. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 12770.
13. Metrangolo, P.; Resnati, G. *Halogen bonding: fundamentals and applications. Structure and Bonding, Vol. 126*; Springer: Berlin **2008**.
14. Awwadi, F. F.; Willett, R. D.; Peterson, K. A.; Twamley, B. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 8952.
15. Jansa, J.; Schmidt, R.; Mamuye, A. D.; Castoldi, L.; Roller, A.; Pace V.; Holzer W. *Beilstein J. Org. Chem.* **2017**, *13*, 895-902.
16. Andrews, P. C.; Deacon, G. B.; Frank, R.; Fraser, B. H.; Junk, P. C.; MacLellan, J. G.; Massi, M.; Moubaraki, B.; Murray, K. S.; Silberstein, M. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2009**, 744-751.
17. Ferles, M.; Kafka, S.; Šilhánková, A.; Šputová, M. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1981**, *46*, 1167-1172.
18. a) Corriu, R. J. P.; Masse, J. P. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1972**, 144a; b) Tamao, K.; Sumitani, K.; Kumada, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 4374.
19. Giannerini, M.; Fañanás-Mastral, M.; Feringa, B. L. *Nature Chem.* **2013**, *5*, 667-672.

20. Negishi, E.; King, A. O.; Okukado, N. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 1821–1823.
21. Corley, E. G.; Conrad, K.; Murry, J. A.; Savarin, C.; Holko, J.; Boice, G. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5120–5123.
22. Duthaler, R. O.; Roberts, J. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 4969–4973.
23. Spotswood, T. M.; Tanzer, C. I. *Tetrahedron Lett.* **1967**, *10*, 911–915.
24. Castellano, S.; Günther, H.; Ebersole, S. *J. Phys. Chem.* **1965**, *69*, 4166–4176.
25. Arbačiauskiene, E.; Vilkauskaite, G.; Šačkus, A.; Holzer, W. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 1880–1890.
26. Jansa, J.; Řezníček, T.; Jambor, R.; Bureš, F.; Lyčka, A. *Adv. Synth. Catal.* **2017**, *359*, 339–350.
27. S. Hübner, J. G. de Vries, V. Farina, *Adv. Synth. Catal.* **2016**, *358*, 3–25.
28. Jansa, J.; Řezníček, T.; Dostál, L.; Růžičková, Z.; Bureš, F.; Jambor, R., *Appl. Organomet. Chem.* **2016**, *30*, 1036–1042.
29. T. Řezníček, L. Dostál, A. Růžička, J. Kulhánek, F. Bureš, R. Jambor, *Appl. Organomet. Chem.* **2011**, *25*, 173.
30. S. Maggini, *Coord. Chem. Rev.* **2009**, *253*, 1793.