

**UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE
PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA**

**Návrh štruktúr, syntéza a biologické testovanie inhibítorov
tumorovej neovaskularizácie s VEGFR-2 receptorovou
selektivitou**

Dizertačná práca

Bratislava 2013

Mgr. Lucia Lintnerová

**UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE
PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA**

**Návrh štruktúr, syntéza a biologické testovanie inhibítorov
tumorovej neovaskularizácie s VEGFR-2 receptorovou
selektivitou**

Dizertačná práca

Študijný program: Organická chémia

Študijný odbor: 1402 Organická chémia

Školiace pracovisko: Katedra organickej chémie

Školiteľ: doc. Andrej Boháč, PhD.

Evidenčné číslo: a6add49f-cd89-475c-8c1b-74e8941a0d02

Bratislava 2013

Mgr. Lucia Lintnerová



Univerzita Komenského v Bratislave
Prírodovedecká fakulta

ZADANIE ZÁVEREČNEJ PRÁCE

Meno a priezvisko študenta: Mgr. Lucia Lintnerová
Študijný program: organická chémia (Jednoodborové štúdium, doktorandské III. st., denná forma)
Študijný odbor: 4.1.16. organická chémia
Typ záverečnej práce: dizertačná
Jazyk záverečnej práce: slovenský
Sekundárny jazyk: anglický

Názov: Návrh štruktúr, syntéza a biologické testovanie inhibítorov tumorovej neovaskularizácie s VEGFR-2 receptorovou selektivitou

Cieľ: Dizertačná práca je venovaná vývoju organických inhibítorov VEGFR-2 receptoru. Navrhnuté látky budú pripravené a ich biologická aktivita bude experimentálne kvantifikovaná

Školiteľ: doc. RNDr. Andrej Boháč, CSc.
Oponent: prof. Ing. Viktor Milata, DrSc.
Oponent: prof. Ing. Ferdinand Devínsky, DrSc.
Oponent: Mgr. Juraj Kóňa, PhD.
Katedra: PriF.KOrCh - Katedra organickej chémie
PriF vedúci katedry: doc. RNDr. Martin Putala, CSc.

Dátum zadania: 01.09.2008
Dátum schválenia: 22.05.2013

prof. RNDr. Anton Gáplovský, DrSc.
garant študijného programu

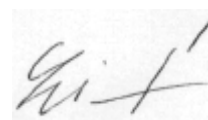
študent

školiteľ, oponent,
oponent, oponent

Čestné vyhlásenie:

Čestne prehlasujem, že som dizertačnú prácu vypracovala samostatne a použitú literatúru uvádzam v zozname.

V Bratislave,



.....
Mgr. Lucia Lintnerová

PodĎakovanie:

V prvom rade ďakujem svojmu školiteľovi, doc. RNDr. Andrejovi Boháčovi, PhD., za odbornú pomoc a cenné rady počas realizácie tejto dizertačnej práce. Ďakujem aj doc. RNDr. Marte Sališovej, CSc. a celému kolektívu katedry organickej chémie, najmä kolektívom v laboratóriách 407, 408 a 415 a kolegyniam Marcele Mudrej, PhD. a RNDr. Margarete Vojtičkovej za podporu a porozumenie.

Taktiež ďakujem kolektívu spektrálnych metód za meranie NMR spektier.

PodĎakovanie za finančnú podporu patrí aj grantovej agentúre na podporu výskumu a vývoja VEGA 2/0112/10, VEGA 1/0634/13 a COST CM0602, COST CM1106.

Špeciálne podĎakovanie patrí mojej mame za všetok čas a porozumenie, ktoré mi venovala a za jej neochvejnú podporu.

Abstrakt

Lintnerová, Lucia: Návrh štruktúr, syntéza a biologické testovanie inhibítorov tumorovej neovaskularizácie s VEGFR-2 receptorovou selektivitou. Dizertačná práca. Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra organickej chémie.

Školiteľ: doc. RNDr. Andrej Boháč, PhD.

Rozsah práce: 187 strán, 39 276 slov

Prílohy: spektrálne dáta, evidencia publikačnej činnosti

Angiogenéza, t.j. tvorba nových ciev, má značný vplyv na vývoj rakoviny v organizme. VEGFR-2 receptor má kľúčovú úlohu v procese angiogenézy a jeho inhibítory sú dôležitým nástrojom v liečbe a prevencii rakoviny. V tejto práci sme sa zamerali na prípravu inhibítorov VEGFR-2, založených na oxazol-2-amínovom skelete, odvodenom z PDB komplexu 1Y6A a 1Y6B a čiastočne aj na prípravu mimetík Sunitinibu (Sutent). Kritickým krokom pri príprave oxazol-2-amínových derivátov je samotná cyklizačná reakcia za vzniku heterocyklu oxazolu. Z tohto dôvodu prezentujeme literárnu rešerš o rôznych metódach prípravy oxazolu, resp. oxazol-2-amínu. V rámci samotnej syntézy oxazol-2-amínových derivátov sme využili niekoľko z týchto metód: A) reakciu azidoketónov a arylizokyanátov, B) reakciu brómketónov a močoviny, resp. jej derivátov, C) hydroxypyrimidínovú metódu a D) 2-chlórooxazolovú metódu na zavedenie anilínového zvyšku do polohy 2 na oxazole, E) reakciu aldehydu s TOSMICom. V rámci prípravy Sutentového mimetika a na prípravu nových "Click-chemistry" inhibítorov z ligandov odvodených od 1Y6A sme plánovali použiť "Click-chemistry" metodiku na spojenie dvoch farmakofórov cez 1,2,3-triazol. Z tohto dôvodu práca obsahuje aj krátku rešerš na tému „click-chemistry“ a jej využitia v medicínskej chémii.

Kľúčové slová: inhibícia angiogenézy, VEGFR2, 1Y6A, oxazol-2-amín, „click-chemistry“

Abstract

Lintnerová, Lucia: Design, synthesis and biological screening of tumor neovascularisation inhibitors possessing VEGFR-2 selectivity. Dissertation. Comenius University in Bratislava, Faculty of Natural Sciences, Department of Organic Chemistry.

Supervisor: Assoc. prof. RNDr. Andrej Boháč, PhD.

Thesis volume: 187 pages, 39 276 words

Appendix: spectral data, publication records

Angiogenesis - growth of new blood cells from preexisting ones - has important effect on tumor development. VEGFR-2 receptor bears a key role in the process of angiogenesis. Inhibitors of VEGFR-2 are important in treatment and prevention of angiogenesis. In this thesis we focused on preparation of VEGFR-2 inhibitors based on oxazol-2-amine moiety from PDB complex 1Y6A and 1Y6B but also partially on preparation of Sunitinib (Sutent) mimetics. Within the synthesis of oxazol-2-amine derivatives the cyclisation reaction to form an oxazole heterocycle represents a critical step. For this reason we present a review on methods for synthesis of oxazoles and aminooxazoles: A) reaction of azidoketones and arylisocyanates, B) reaction of bromoketones and urea or its derivatives, C) 2-hydroxypyrimidine methodology, D) 2-chlorooxazol method for attachment of aniline moiety on position 2 of oxazole, E) reaction of an aldehyde with TOSMIC. By a synthesis of Sutent mimetics and a preparation of "Click-chemistry" inhibitors containing fragment of 1Y6A ligand we planned to use the "Click-chemistry" approach for combining two pharmacophores via a 1,2,3-triazole linker. Therefore thesis contains also a short review about „Click-chemistry“ and its exploitation in medicinal chemistry.

Key words: angiogenesis inhibition, VEGFR2, 1Y6A, oxazol-2-amine, click-chemistry

Predhovor

Súčasná medicínska chémia je interdisciplinárnou vedou a spája poznatky organickej chémie, počítačovej chémie a biologických vied. Jej hlavnou úlohou je vývoj nových nosných štruktúr a moderných liečiv pre farmaceutický priemysel.

Vzhľadom na súčasný stav onkologických ochorení je potrebné hľadať nové prístupy liečby tohto závažného ochorenia. Inhibícia angiogenézy, ktorá má kľúčovú úlohu v procese vývoja a šírenia rakoviny v organizme, patrí momentálne k vysoko skúmaným oblastiam v medicínskej chémii. V rámci vývoja nových antiangiogeník je dôležitá znalosť miesta účinku liečiva a spôsob interakcie liečiva s jeho biologickým cieľom. Toto umožňuje ďalší vývoj nízkomolekulových liečiv prostredníctvom racionálneho prístupu a molekulového modelovania.

V rámci nášho výskumu sme tento prístup použili pri vývoji nových inhibítorov neovaskularizácie, resp. VEGFR2 receptoru, pričom sme ako východiskovú nosnú štruktúru zvolili dva známe inhibítory VEGFR2: ligand AAZ (PDB: 1Y6A) a sunitinib. Navrhli sme niekoľko nových štruktúr s cieľom pripraviť ich dostupnými metódami organickej syntézy a testovať ich biologickú aktivitu.

Obsah

Predhovor.....	7
Použité skratky	16
Grafický abstrakt	17
1. Príprava bispyridylových derivátov 22SYM, 23ASYM a 33SYM.....	17
2. Pokusy o prípravu <i>N</i> -[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl]-5-propargyloxazol-2-amínu (118)	18
3. Pokusy o prípravu 5-(but-3-ynyl)- <i>N</i> -(5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl)oxazol-2-amínu (146).....	19
4. Syntéza <i>m</i> -OR prekursorov VEGFR2 inhibítorov.....	20
5. Syntéza <i>m</i> -NO ₂ prekursoru (160c) <i>m</i> -OR a <i>m</i> -NHR VEGFR2 inhibítorov	21
6. Príprava <i>N</i> -Boc- <i>N</i> -propargylbenzoimidazolónu (179) prekursoru a pokus o prípravu sunitinibového analógu (23)	22
7. Príprava „Click-chemistry“ glycínového analógu Sunitinibu (24).....	22
Úvod.....	23
Ciele dizertačnej práce	23
TEORETICKÁ ČASŤ.....	24
1. Inhibícia angiogenézy	24
1.1. Najvýznamnejšie antiangiogeniká	27
2. Návrh štruktúr cieľových molekúl	29
2.1. Molekuly odvodené od štruktúr ligandov z komplexov PDB: 1Y6A a 1Y6B.....	29
2.1.1. Bispyridylové deriváty odvodené od AAZ a AAX ligandov.....	31
2.1.2. Ligandy pre „Click-chemistry“ odvodené od štruktúry AAZ.....	32
2.1.3. <i>m</i> -O-substituované deriváty ligandu AAZ.....	32
2.1.1. Bispyridylové deriváty odvodené od 1Y6A a 1Y6B	34
2.2. "Click-chemistry" deriváty odvodené od sunitinibu.....	35
3. „Click-chemistry“	37
3.1. Huisgenova 1,3-dipolárna cykloadícia	37

3.2. „Click-chemistry“ ako nástroj pre syntézu nových potenciálnych liečiv	39
4. Metódy prípravy 2-aminooxazolov	45
4.1. Príprava 2-aminooxazolov pomocou α -azidoacetofenónov a arylizotiokyanátov	45
4.2. Príprava 2-aminooxazolov pomocou α -halogénacetofenónov a <i>N</i> -arylmočovínových derivátov	48
4.3. Príprava oxazol-2-amínov pomocou 2-hydroxypyrimidínu (61)	51
4.4. Príprava 2-aminooxazolov z kyánamidu (66)	53
4.4.1. Príprava oxazol-2-amínov z kyánamidu a 2-hydroxyketónu.....	53
4.4.2. Príprava oxazol-2-amínov z kyánamidu a 2-diazoketónu	56
4.5. Príprava oxazol-2-amínov pomocou dichlórmetylén-dialkylimínium chloridu (73)	57
4.6. Príprava oxazol-2-amínov prešmykom z izooxazolkarbodiimidov (76).....	58
4.7. Príprava 4-kyano-5-metoxyoaxazol-2-amínov (79) prešmykom	59
4.8. Aminooxazoly 83 z <i>O</i> -propargylpseudomočovínových derivátov 81	60
5. Metódy prípravy oxazolov s vodíkom v polohe 2.....	62
5.1. Príprava oxazolov 86 z izokyannátov 84.....	62
5.2. Reakcia formamidu s 2-brómketónom 95	64
PRAKTICKÁ ČASŤ	65
Metódy a materiál.....	65
1. Príprava bispyridylových derivátov ligandu z komplexu PDB: 1Y6A.....	66
1.1. Príprava bispyridylových derivátov s couplingom v poslednom stupni.....	66
1.1.1. Syntéza 2-bróm-1-(3,5-dibrómfenyl)etanónu (98).....	66
1.1.2. Príprava 2-azido-1-(3,5-dibrómfenyl)etanónu (99).....	67
1.1.3. Príprava 5-(3,5-dibrómfenyl)- <i>N</i> -(5-etylsulfonyl-2-metoxyfenyl)oxazol-2-amínu (101)	68
1.1.4. Príprava 5-[3-bróm-5-(pyrid-2-yl)-fenyl]- <i>N</i> -(5-etylsulfonyl-2-metoxy-fenyl)oxazol-2-amínu (102) 70	
1.1.5. Príprava 5-[3,5-bis(pyrid-2-yl)-fenyl]- <i>N</i> -(5-etylsulfonyl-2-metoxy-fenyl)oxazol-2-amínu (22SYM)72	
1.1.6. Príprava 5-[3-(pyrid-2-yl)-5-(pyrid-3-yl)-fenyl]- <i>N</i> -(5-etylsulfonyl-2-metoxy-fenyl)oxazol-2-amínu (23ASYM).....	73
1.1.6. Príprava 5-[3,5-bis(pyrid-3-yl)-fenyl]- <i>N</i> -(5-etylsulfonyl-2-metoxyfenyl)-oxazol-2-amínu (33SYM)75	

1.2. Príprava bispyridylových derivátov so Stilleho couplingom v prvom stupni	77
1.2.1. Príprava 3',5'-bis(pyrid-2-yl)acetofenónu (103)	77
1.2.2. Príprava 3'-bróm-5'-(pyrid-2-yl)acetofenónu (104)	78
1.2.3. Príprava 3'-(pyrid-2-yl)-5'-(pyrid-3-yl)acetofenónu (105)	79
1.2.4. Príprava 2-bróm-3',5'-bis(pyrid-2-yl)acetofenónu (106)	81
2. Príprava "Click-chemistry" oxazol-2-amínových ligandov	83
2.1. Pokus o prípravu <i>N</i> -[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl]-5-propargyloxazol-2-amínu (118)	83
2.1.1. Príprava 1-brómacetónu (111)	83
2.1.2. Príprava 1-azidoacetónu (112)	84
2.1.3. Príprava <i>N</i> -(5-etylsulfonyl-2-metoxyphenyl)-5-metyloxazol-2-amínu (113)	85
2.1.4. Príprava <i>N</i> -(5-etylsulfonyl-2-metoxyphenyl)-5-(brómmetyl)oxazol-2-amínu (114)	86
2.1.5. Príprava etyl 2-{2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-yl}acetátu (115)	87
2.1.6. Príprava 2-{2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-yl}acetaldehydu (116)	88
2.1.7. Príprava metyl 2-{2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-yl}acetátu (117)	88
2.2. Pokus o prípravu 2-{2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-yl}etanolu (124) z dietylsukcinátu (119)	89
2.2.1. Príprava dietyl 2-formylsukcinátu (120)	89
2.2.2. Príprava etyl 4-oxobutyrátu (121)	90
2.2.3. Príprava etyl 3-bróm-4-oxobutyrátu (122)	91
2.3. Pokus o prípravu 2-{2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-yl}etanolu (124) z etyl acetoacetátu (125)	92
2.3.1. Príprava etyl 4-bróm-3-oxobutyrátu (126)	92
2.3.2. Príprava etyl 4-azido-3-oxobutyrátu (127)	93
2.3.3. Príprava etylesteru kys. 2-[2-(aminoaryl)oxazo-5-yl]octovej (128)	94
2.3.4. Príprava 2-{2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-yl}etanolu (124)	95
2.4. Príprava 2-(2-aminooxazo-5-yl)etanolu (131) z THF (129)	96
2.4.1. Príprava 2,3-dichlór-tetrahydrofuránu (130)	96
2.4.2. Príprava 2-(2-aminooxazo-5-yl)etanolu (131)	97
2.5. Príprava 2-(2-aminooxazo-5-yl)etanolu (131) z γ -butyrolaktónu (132)	98
2.5.1. Príprava 2-hydroxytetrahydrofuránu (133) redukciou	98

2.6. Príprava 2-(2-aminooxazo-5-yl)etanolu (131) z bután-1,4-diolu (134)	99
2.6.1. Príprava 2-hydroxytetrahydrofuránu (133) oxidáciou	99
2.7. Príprava <i>N</i> -(5-etylsulfonyl-2-metoxy-fenyl)-5-propargyloxazol-2-amínu (118) z tetrametoxypopánu (135).....	100
2.7.1. Príprava 3,3-dimetoxypopánu (136).....	100
2.7.2. Príprava 5-(2,2-dimetoxetyl)oxazolu (137)	101
2.8. Príprava <i>N</i> -(5-etylsulfonyl-2-metoxy-fenyl)-5-propargyloxazol-2-amínu (118) metódou couplingu	102
2.8.1. Príprava {2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxifenylamino]oxazol-5-yl}metanolu (142)	102
2.8.2. Príprava 5-(chlórmetyl)- <i>N</i> -[5-(etylsulfonyl)-2-metoxifenyl]oxazol-2-amínu (143)	103
2.8.3. Príprava <i>N</i> -(5-etylsulfonyl-2-metoxy-fenyl)-5-propargyloxazol-2-amínu (118) pomocou Stilleho couplingu	104
2.8.4. Príprava <i>N</i> -(5-etylsulfonyl-2-metoxy-fenyl)-5-propargyloxazol-2-amínu (118) alternatívnym couplingom.....	105
2.8.5. Príprava 2-{2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxifenylamino]oxazol-5-yl}acetonitrilu (144).....	106
3. Príprava <i>m</i> -O-Substituovaných derivátov odvodených od 1Y6A z kyseliny 3-bróm-5-hydroxybenzoovej (147)	107
3.1. Príprava 3-bróm-5-hydroxyacetofenónu (148).....	107
3.2. Príprava α -Azido-3-bróm-5-(metoxymetyloxy)-acetofenónu (151) - 1. metóda	108
3.2.1. Príprava α ,3-dibróm-5-hydroxyacetofenónu (149).....	108
3.2.2. Príprava α -azido-3-bróm-5-hydroxyacetofenónu (150)	109
3.2.3. Príprava α -Azido-3-bróm-5-metoxymetyloxy-acetofenónu (151)	110
3.3. Príprava α -azido-3-bróm-5-(metoxymetyloxy)-acetofenónu (151) - 2. metóda	111
3.3.1. Príprava α ,3-Dibróm-5-metoxymetyloxy-acetofenónu (152).....	111
3.4. Príprava α -Azido-3-bróm-5-metoxymetyloxy-acetofenónu (151) - 3. metóda	112
3.4.1. Príprava 3-Bróm-5-metoxymetyloxy-acetofenónu (153)	112
3.4.2. Príprava α ,3-Dibróm-5-metoxymetyloxy-acetofenónu (152).....	113
3.5. Príprava α -Azido-3-bróm-5-metoxy-acetofenónu (156)	114
3.5.1. Príprava 3-Bróm-5-metoxyacetofenónu (154)	114
3.5.2. Príprava α ,3-Dibróm-5-metoxyacetofenónu (155)	115
3.5.3. Príprava α -Azido-3-bróm-5-metoxyacetofenónu (156).....	116

3.6. Príprava α -Azido-3-bróm-5-benzyloxy-acetofenónu (159)	116
3.6.1. Príprava 3-Bróm-5-benzyloxyacetofenónu (157).....	117
3.6.2. Príprava α ,3-Dibróm-5-benzyloxyacetofenónu (158)	118
3.6.3. Príprava α -Azido-3-bróm-5-benzyloxyacetofenónu (159)	119
3.7. Príprava <i>m</i> -metoxy a <i>m</i> -benzyloxy derivátov oxazol-2-amínov (161).....	119
3.7.1. Príprava 5-(3-bróm-5-metoxyfenyl)- <i>N</i> -[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl]oxazol-2-amínu (160a, 161a)	120
3.7.2. Príprava 5-(3-bróm-5-benzyloxyfenyl)- <i>N</i> -[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl]oxazol-2-amínu (160b, 161b)	121
4. Príprava <i>m</i> -O-substituované deriváty odvodené od 1Y6A z kyseliny 3-nitrobenzoovej (162)	122
4.1. Príprava kyseliny 3-bróm-5-nitrobenzoovej (163)	122
4.2. Príprava α ,3-dibróm-5-nitroacetofenónu (164)	123
4.3. Príprava α -azido-3-bróm-5-nitroacetofenónu (165)	124
4.4. Príprava 5-(3-bróm-5-nitrofenyl)- <i>N</i> -[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl]oxazol-2-amínu (160c, 161c)	125
5. Použitie 2-hydroxypyrimidínovej metódy na prípravu vybraných oxazol-2-amínov	126
5.1. Overenie 2-hydroxypyrimidínovej metódy s <i>m</i> -Br-substituovaným substrátom	126
5.1.1. Príprava 1-[2-(3-brómfenyl)-2-oxoetyl]pyrimidin-2(1H)-ónu (167).....	126
5.1.2. Príprava 2-(3-brómfenyl)oxazolo[3,2- <i>a</i>]pyrimidín-4-ium perchlorátu (168)	127
5.1.3. Príprava 5-(3-brómfenyl)oxazol-2-amínu (169).....	127
5.2. Príprava 5-(3-bróm-5-nitrofenyl)oxazol-2-amínu (172).....	128
5.2.1. Príprava 1-[2-(3-bróm-5-nitro-fenyl)-2-oxoetyl]pyrimidin-2(1H)-ónu (170)	128
5.2.2. Príprava 2-(3-bróm-5-nitrofenyl)oxazolo[3,2- <i>a</i>]pyrimidín-4-ium perchlorátu (171)	129
5.2.3. Príprava 5-(3-bróm-5-nitrofenyl)oxazol-2-amínu (172).....	130
5.3. Príprava 5-(3-bróm-5-nitrofenyl)- <i>N</i> -{5-(etylsulfonyl)-2-metoxy-fenyl}oxazol-2-amínu (160c) 2-hydroxypyrimidínovou metódou	132
5.3.1. Príprava 5-(3-bróm-5-nitrofenyl)-2-chlóroxazolu (173).....	132
5.3.2. Príprava 5-(3-bróm-5-nitrofenyl)- <i>N</i> -[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl]oxazol-2-amínu (160c)	133
6. Syntéza „Click-chemistry“ derivátov odvodených od sunitinibu	135

6.1. Príprava <i>N</i> -Propargylbenzoimidazolónu (177) a <i>N</i> -Boc- <i>N</i> -propargylbenzoimidazolónu (179).....	135
6.1.1. Príprava benzoimidazolónu (175)	135
6.1.2. Propargylácia benzoimidazolónu (176, 177).....	136
6.1.3. Príprava <i>N</i> -Boc-benzoimidazolónu (178).....	137
6.1.4. Propargylácia <i>N</i> -Boc-benzoimidazolónu (179)	138
6.2. Príprava 1-azido-4-(dietylamo)-bután-4-ónu (183) - Metóda A	139
6.2.1. Príprava 4-(dietylamo)bután-2-ónu (181)	139
6.2.2. Príprava 1-bróm-4-(dietylamo)bután-2-ónu (182)	140
6.2.3. Príprava 1-azido-4-(dietylamo)bután-2-ónu (183)	140
6.3. Príprava 1-azido-4-(dietylamo)-bután-4-ónu (183) - Metóda B	141
6.3.1. Príprava 1-azido-4-(dietylamo)butan-2-ónu (183) Mannichovou kondenzáciou	141
6.4. Syntéza „Click-chemistry“ 4-dietylamo-buta-2-nónového derivátu (23) alternatívnou metódou	142
6.4.1. „Príprava 3-Boc-1-[[1-(2-oxopropyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl]metyl]-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-2(3 <i>H</i>)-ónu (184).....	142
6.4.2. Príprava „Click chemistry“ mimetika Sutentu (23) Mannichovou kondenzáciou	143
6.5. Príprava „Click-chemistry“ glycinového derivátu Sutentu (24).....	144
6.5.1. Príprava 3-Boc-1-[(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methyl]-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-2(3 <i>H</i>)-ónu (188a).....	144
6.5.2. Príprava 3-Boc-1-[[1-(2-aminoacetyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl]metyl]-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-2(3 <i>H</i>)-ónu (189)	146
VÝSLEDKY A DISKUSIA	147
1. Syntéza a biologická aktivita navrhnutých bispyridylových derivátov AAZ (22SYM, 23ASYM a 33SYM)	147
1.1. Syntéza bispyridylových derivátov 1Y6A (22SYM, 23ASYM, 33SYM)	147
1.1.1. Príprava bispyridylových derivátov s couplingom ako posledným stupňom	147
1.1.2. Príprava bispyridylových derivátov so Stilleho couplingom ako prvým stupňom	148
1.2. Výsledky biologických testov bispyridylových derivátov	149
1.2.1. 22SYM inhibuje delenie endoteliálnych a tumorových buniek	154
1.2.2. 22SYM vyvoláva apoptózu endoteliálnych buniek	154
1.2.3. 22SYM inhibuje schopnosť endoteliálnych buniek tvoriť kapiláry	155

1.2.4. 22SYM inhibuje migračnú schopnosť endoteliálnych buniek.....	155
1.2.5. 22SYM inhibuje <i>in vivo</i> angiogénu v teste zebrafish embryí	156
2. Pokusy o prípravu "Click" ligandu <i>N</i> -[5-(etylsulfonyl)-2-metoxifynyl]-5-propargyloxazol-2-amínu (118).....	158
2.1. Príprava 5-propargyl-oxazol-2-amínu 118 z acetónu (110)	158
2.2. Pokus o prípravu "Click" ligandu 5-propargyloxazol-2-amínu 118 z tetrametoxypopánu (135).....	159
2.3. Pokus o prípravu "Click" ligandu 5-propargyloxazol-2-amínu 118 couplingom.....	160
3. Pokusy o prípravu druhého "Click" ligandu 5-(but-3-ínyl)- <i>N</i> -(5-(etylsulfonyl)-2-metoxifynyl)oxazol-2-amínu (146)	161
3.1. Pokus o prípravu but-3-ínyloxazol-2-amínu 146 z dietylsukcinátu (119).....	161
3.2. Pokus o prípravu but-3-ínyloxazol-2-amínu 146 z etylacetoacetátu (125)	162
3.3. Pokus o prípravu "Click" ligandu but-3-ínyloxazol-2-amínu 146 z THF (129), γ -butyrolaktónu (132) a bután-1,4-diolu (134).....	163
4. Syntéza <i>m</i> -OR AAZ derivátov - prekursorov VEGFR2 inhibítorov	165
4.1. Príprava α -azido-3-bróm-5-(metoxymetoxi)acetofenónu (151).....	165
4.2. Príprava α -azido-3-bróm-5-metoxiacetofenónu (156) a α -azido-3-bróm-5-benzylxyacetofenónu (159)	166
5. Syntéza <i>m</i> -NO ₂ prekursoru (160c) <i>m</i> -OR a <i>m</i> -NHR VEGFR2 inhibítorov.....	168
5.1. Príprava <i>m</i> -NO ₂ prekursoru (160c) azaylidovou metódou.....	168
5.2. Overenie 2-hydroxypyrimidínovej metódy s 2,3'-dibrómacetofenónom (166).....	169
5.3. Syntéza <i>m</i> -NO ₂ prekursoru (160c) 2-hydroxypyrimidínovou metódou	170
6. Porovnanie metód na prípravu oxazol-2-amínov	171
6.1. Použitie azaylidovej metódy.....	171
6.2. Použitie 2-hydroxypyridínovej a 2-chlóroxazolovej metódy	173
7. Príprava <i>N</i> -Boc- <i>N</i> -propargylbenzoimidazolónu (179) prekursoru a pokus o prípravu sunitinibového analógu (23).....	174
7.1. Príprava <i>N</i> -Boc- <i>N</i> -propargylbenzoimidazolónu (179)	174
7.2. Príprava 1-azido-4-(dietylamo)-bután-4-ónu (183).....	175

7.3. „Click-chemistry“ syntéza 4-(diethylamino)buta-2-ónového derivátu 23 odvedeného od sunitinibu alternatívnou metódou	176
8. Príprava glycínového analógu sinitinibu (24)	177
Záver.....	178
Zoznam použitej literatúry.....	181
Teoretická časť	181
Praktická časť	184
Výstupy z dizertačnej práce.....	187
1. Účasť na zahraničných a domácich konferenciách.....	187
2. Publikačná činnosť	187
Prílohy	188

Použité skratky

AChE - acetyl cholín esteráza

AIBN - azoisobutyronitril

bFGF- **b**asic **F**ibroblast **G**rowth **F**actor, zásaditý fibroblastový rastový faktor

DBU - 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-én

DEAD - dietyléster kys. azadikarboxylovej

DIAD - diizopropylester kys. azadikarboxylovej

DIPEA - diizopropyletylamín

DMF - dimetylformamid

DMSO - dimetylsulfoxid

DPPA - difenylfosforylazid

EA - etyl-acetát

EGF - **E**pidermal **G**rowth **F**actor, epidermálny rastový faktor

HB - **H**ydrogen **B**ond, vodíková väzba

HFI - hydrofóbná interakcia

HUVEC - **H**uman **U**mbilical **V**ascular **E**ndothelial **C**ells, ľudské popučníkové cievne endoteliálne bunky

IC₅₀ - koncentrácia s 50 %-nou inhibičnou účinnosťou

LDA - lítium diizopropylamid

LiHMDS - lítium hexametyldisilazán

MMP - matrixové metaloproteázy

MW - mikrovlnné žiarenie

PPB - pyridínium perbromid

SMEAH - sodium bis(2-metoxyetoxy)aluminium hydrid

TFE - 2,2,2-trifluóretanol

THF - tetrahydrofurán

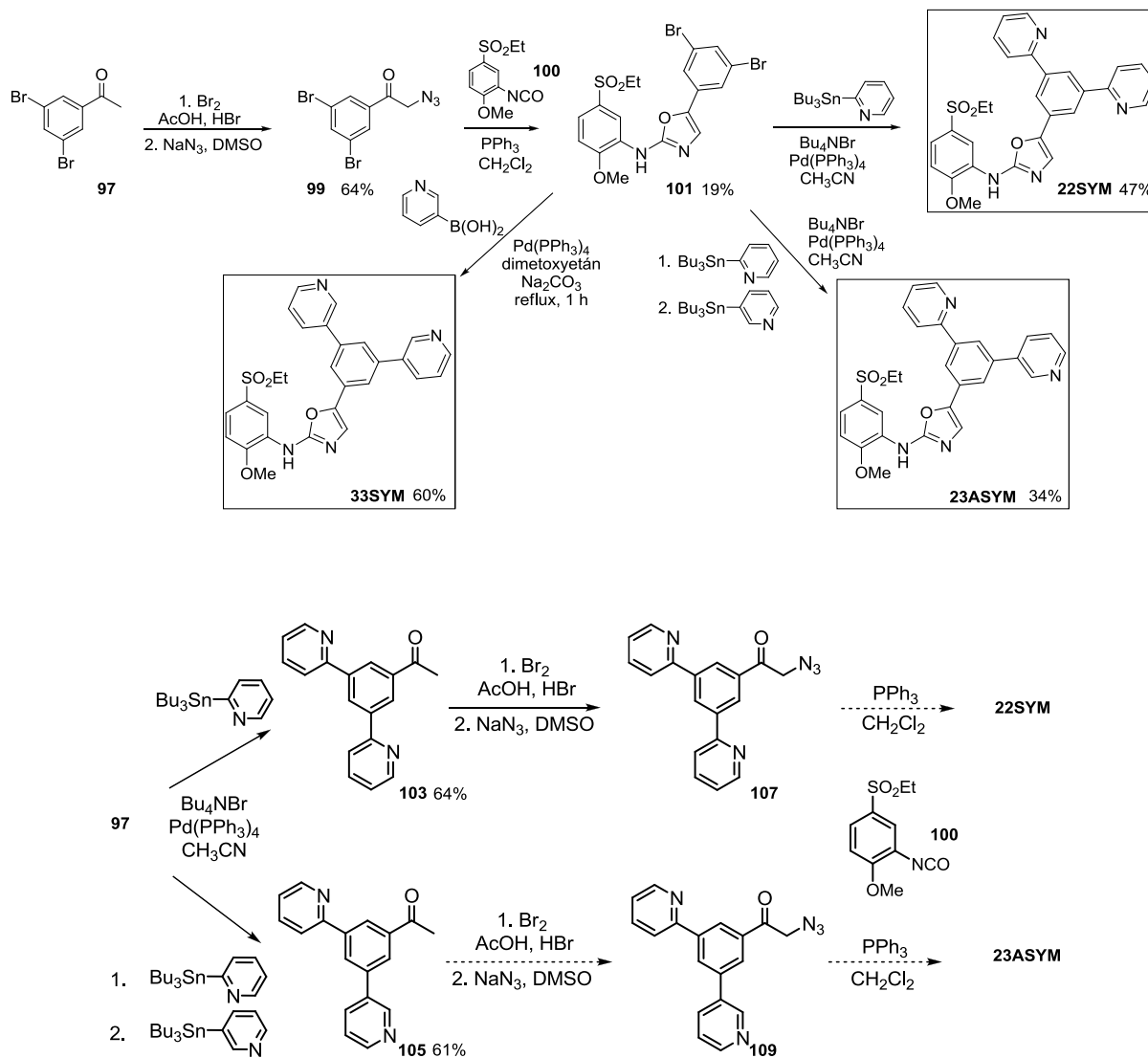
VDA - **V**ascular **D**isrupting **A**gent, činidlo na rozrušenie ciev

VEGF - **V**ascular **E**ndothelial **G**rowth **F**actor, cievny endoteliálny rastový faktor

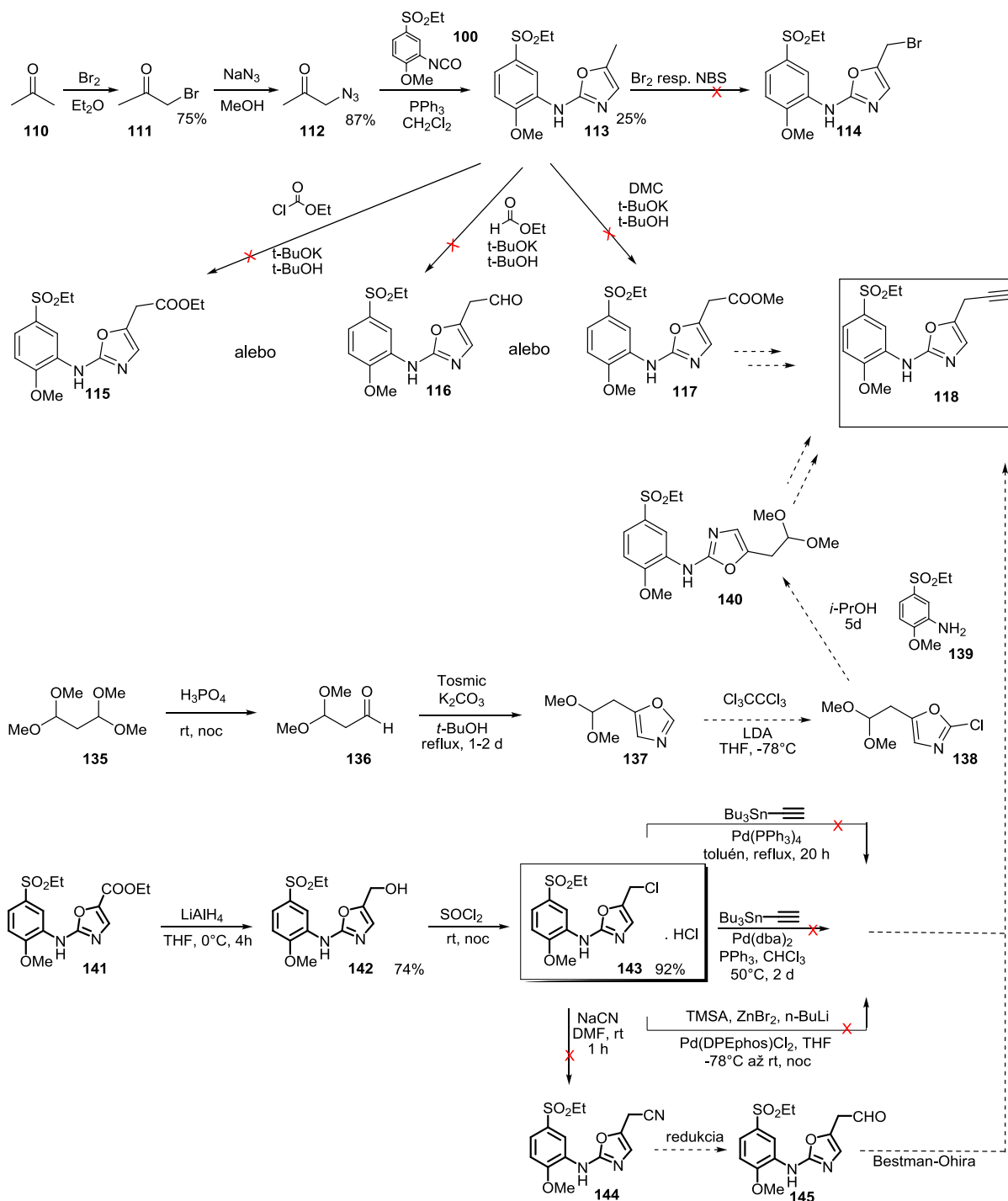
VEGFR-1 (2, 3) - **V**ascular **E**ndothelial **G**rowth **F**actor **R**eceptor 1 (resp. 2 alebo 3), receptor pre cievny endoteliálny rastový faktor 1 (resp. 2 alebo 3)

Grafický abstrakt

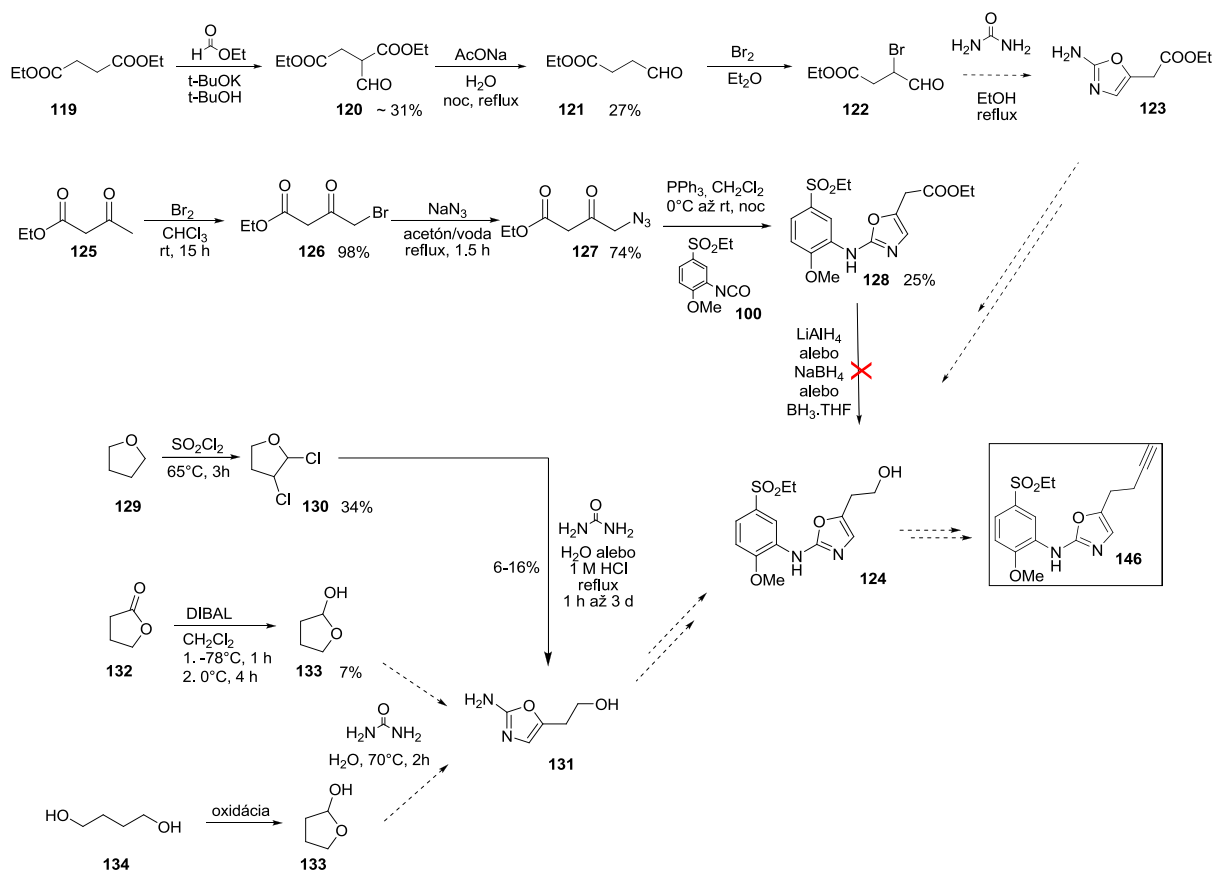
1. Príprava bispyridylových derivátov 22SYM, 23ASYM a 33SYM



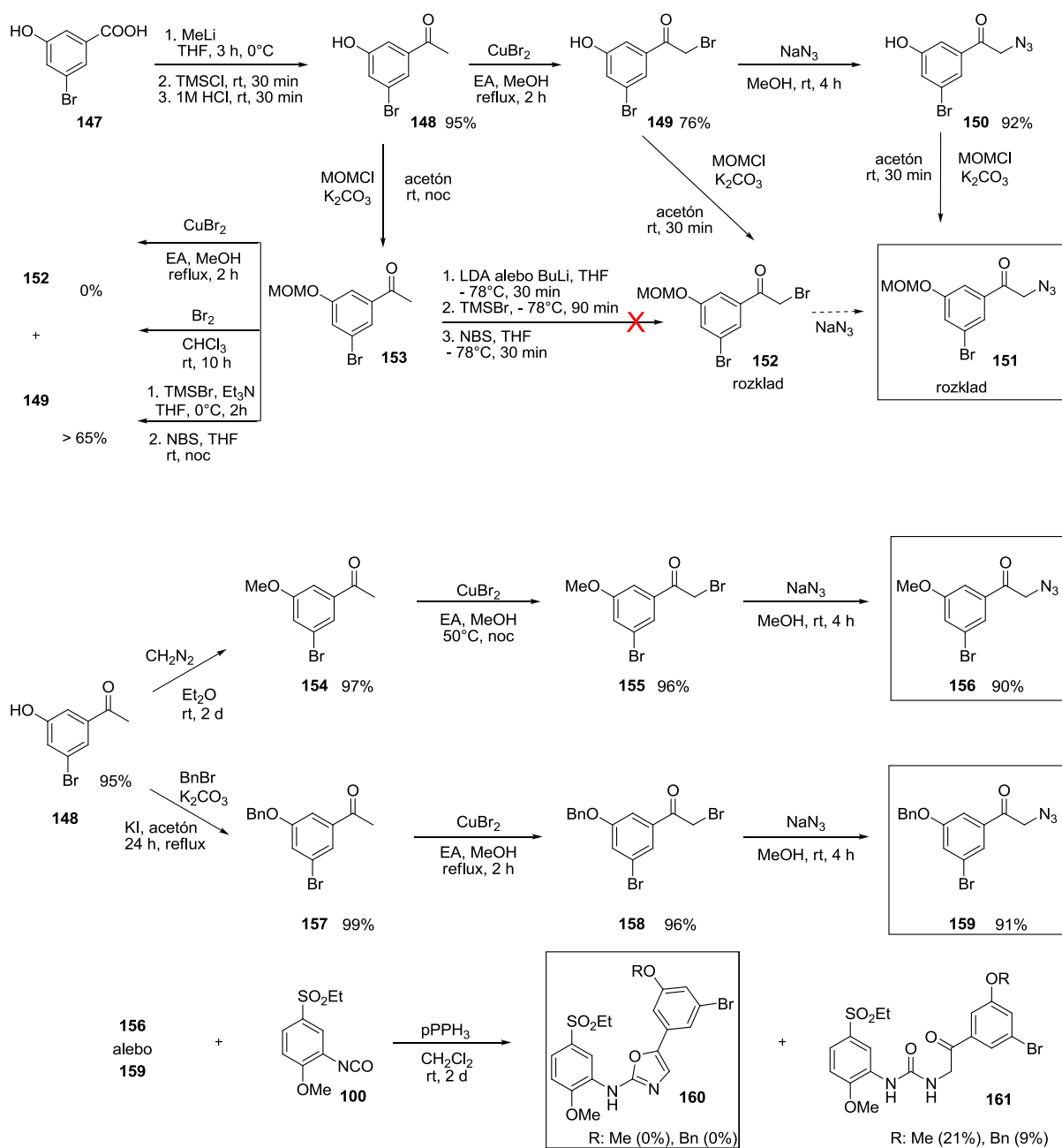
2. Pokusy o prípravu *N*-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl]-5-propargyloxazol-2-amínu (118)



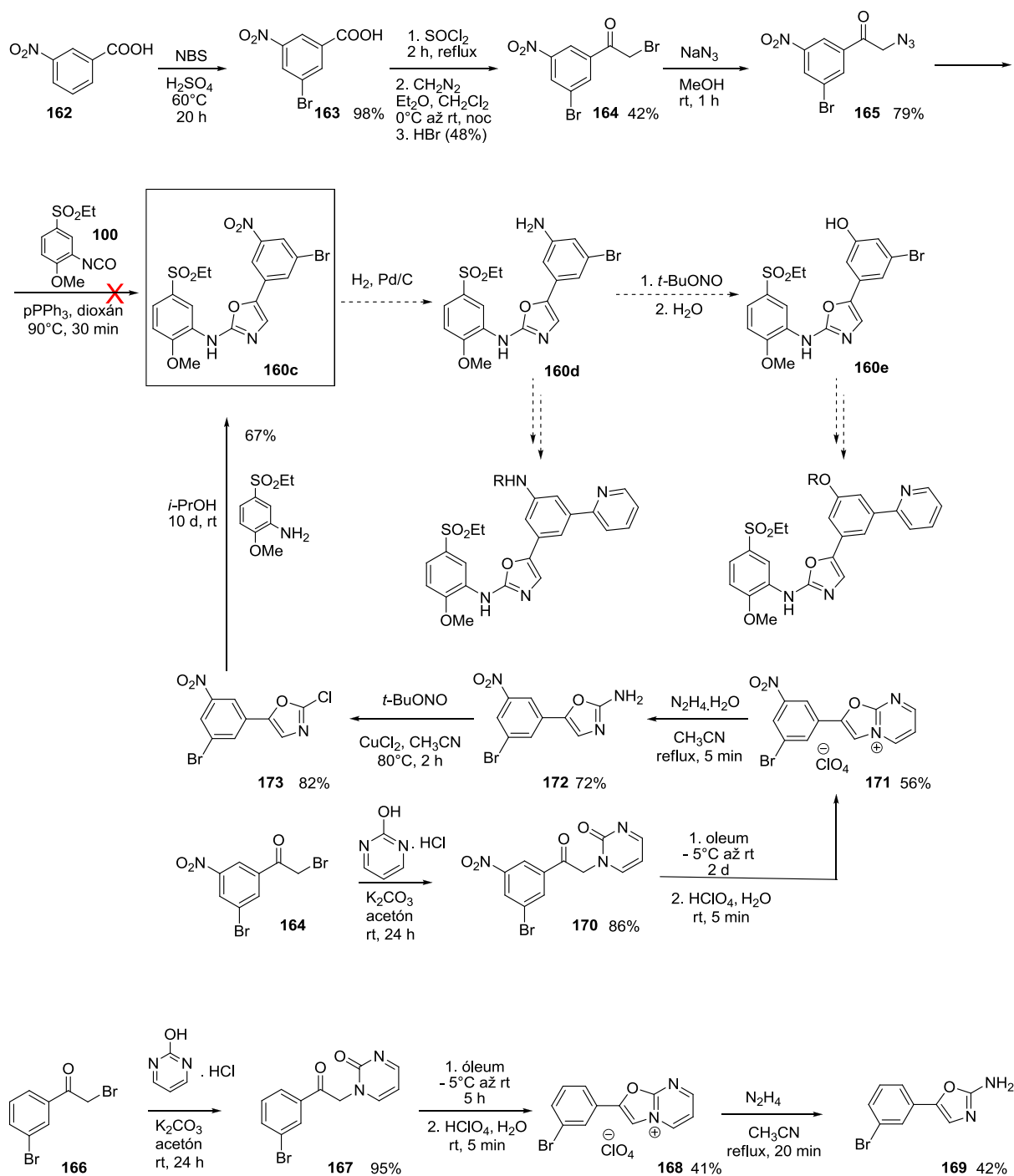
3. Pokusy o přípravu 5-(but-3-ynyl)-*N*-(5-(ethylsulfonyl)-2-metoxyfenyl)oxazol-2-amínu (146)



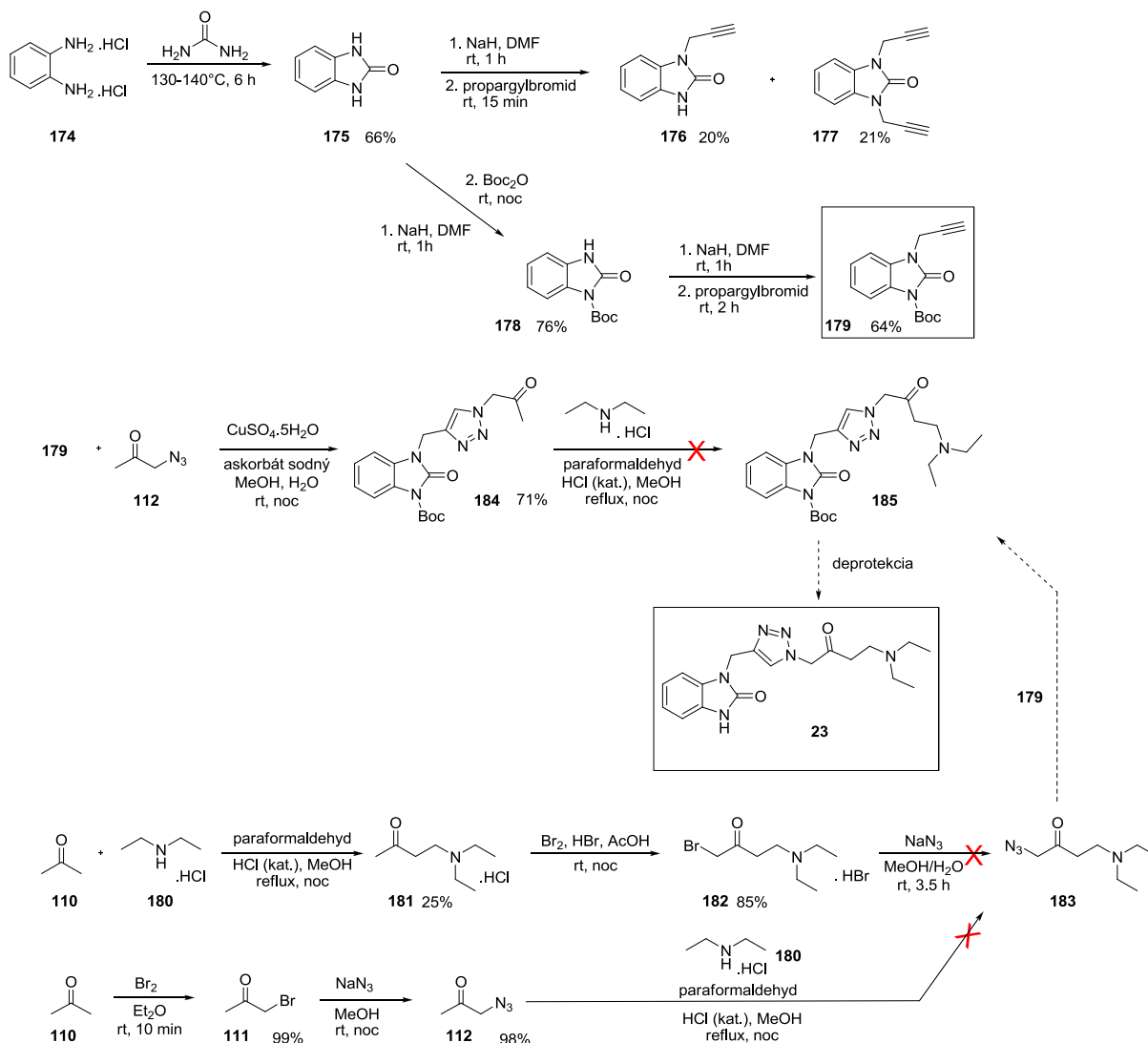
4. Syntéza *m*-OR prekurzorov VEGFR2 inhibítorov



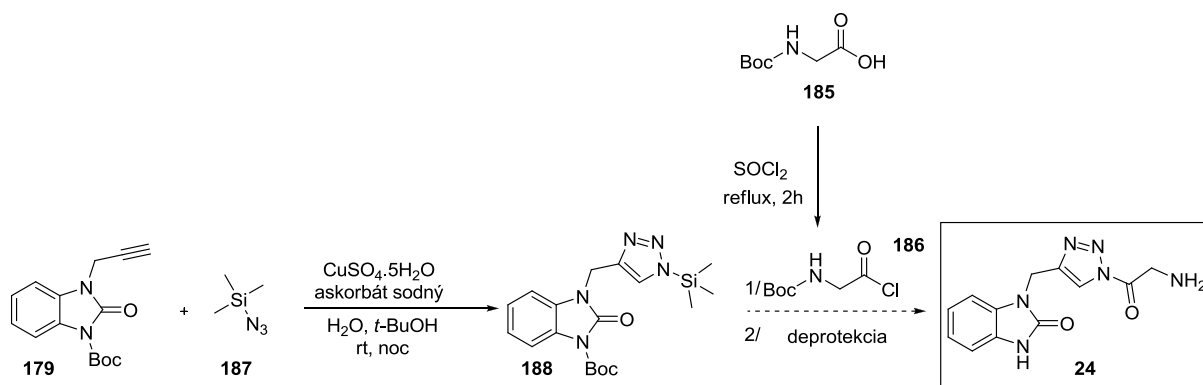
5. Syntéza *m*-NO₂ prekurzoru (160c) *m*-OR a *m*-NHR VEGFR2 inhibítorov



6. Príprava *N*-Boc-*N*-propargylbenzoimidazolónu (179) prekursoru a pokus o prípravu sunitinibového analógu (23)



7. Príprava „Click-chemistry“ glycínového analógu Sunitinibu (24)



Úvod

Liečba rakoviny je stále vo väčšine prípadov odkázaná na chemoterapiu, rádioterapiu alebo na chirurgické odstránenie nádorov. V posledných rokoch sa však objavilo niekoľko anti-angiogeník, ktoré predstavujú šetrnejší a neinvazívny prístup k liečbe rakoviny. Ako sa zistilo na množstve nedávno uskutočnených klinických pokusov, inhibítory angiogenézy (antiangiogeniká) sú v kombinácii s chemoterapiou vhodné terapeutiká využiteľné pri spomalení, či zastavení rastu tumorov a ich metastáz. Ich toxicita je oproti bežným chemoterapeutikám nízka, pričom mechanizmus pôsobenia týchto látok na tumor je odlišný od klasickej chemoterapie.

Medicínska chémia sa kombináciou organickej chémie, molekulárnej biológie, chemoinformatiky a výpočtových metód snaží racionálne dizajnovat' a pripravovat' látky, ktoré by mohli rozšíriť súbor použiteľných anti-angiogeník. Jeden z bežne používaných postupov v medicínskej chémii vychádza zo štruktúry známeho inhibítora, tzv. "hit molecule" a pomocou úpravy jeho štruktúry (napr. pridať/odobrať/obmeniť funkčné skupiny, zmeniť kruh, upraviť bočné reťazce z hľadiska ich priestorovej náročnosti, dĺžky linkerov atď.) objaviť molekuly s výhodnejšími vlastnosťami - či už farmakodynamickými alebo farmakokinetickými. Z tohto dôvodu sme vybrali dve nosné štruktúry: ligand z PDB komplexu 1Y6A a sunitinib (aktívna zložka liečiva Sutent), ktoré už sami o sebe majú významnú biologickú aktivitu. Pomocou *in silico* metód nájsť deriváty, alebo bioizostéry, ktoré by sa vyznačovali väčším počtom interakcií s VEGFR2 TK proteínom a teda by mohli mať lepšiu aktivitu, iné farmakokinetické a toxické vlastnosti a následne tieto látky pripraviť za účelom ich biologického testovania.

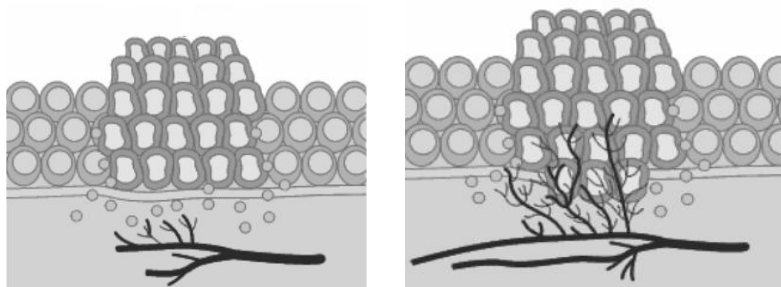
Ciele dizertačnej práce

- vývoj novo navrhnutých inhibítorov VEGFR-2 odvodených z komplexu PDB: 1Y6A (bispyridylové a nové *meta* a *para* substituované deriváty)
- vývoj "Click-chemistry" ligandov zameraných na VEGFR2 inhibíciu
- vývoj mimetík sunitinibu (aktívna zložka liečiva Sutent, Pfizer)
- porovnanie a vyhodnotenie metodík na prípravu ťažko dostupných oxazol-2-amínov
- vyhodnotenie bioaktivít pripravených derivátov a návrh mechanizmu ich biologického účinku vo VEGFR2 tyrozín kinázových variantoch

TEORETICKÁ ČASŤ

1. Inhibícia angiogenézy

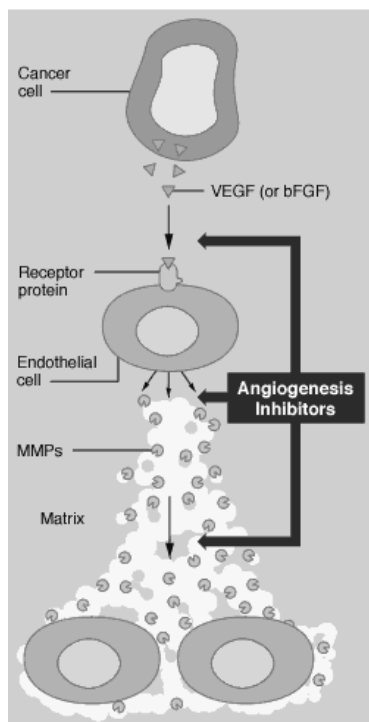
Angiogenéza je proces tvorby nových ciev, ktorý vyžaduje delenie endoteliálnych buniek, z ktorých je tvorená vnútorná stena ciev. Delenie endoteliálnych buniek nastáva, ak sa v organizme vyskytuje zvýšená koncentrácia rastových faktorov (špeciálnych signálnych molekúl viažucich sa na receptory na povrchu endoteliálnych buniek, napr. VEGF, b-FGF). Angiogenéza využíva aj spoluúčasť ďalších biologických činiteľov (napr. aktivitu matrixových metaloproteináz, nízku hladinu rastových inhibítorov a pod.). Za normálnych okolností (zdravý stav organizmu) sa angiogenéza vyskytuje vo fáze vývoja organizmu (v embryonálnom a nedospelom období života organizmu), počas tehotenstva a tiež v prípade hojenia poranení. Angiogenézu sú schopné vyvolávať aj rakovinové bunky produkovaním rastových faktorov (Obrázok 1).



Obrázok 1: Vyvolanie angiogenézy nádorom (zelené: rakovinové bunky, ružové: endoteliálne bunky, červené: cievy a nové cievy, modré: rastové faktory).

Vplyvom nádoru sa za normálnych okolností relatívne neaktívne endoteliálne bunky (deleniev kľudovom stave nastáva raz za ca. 2-3 roky) delia raz za 2-3 dni. . Nová cieva rastie k zdroju, v smere koncentračného gradientu rastových faktorov, t.j. k nádoru. Rakovinové bunky prostredníctvom nových ciev získajú nový zdroj živín a kyslíka ku ktorému predtým nemali prístup a teda sa môžu nerušene deliť a tumor sa môže ďalej rozvíjať.

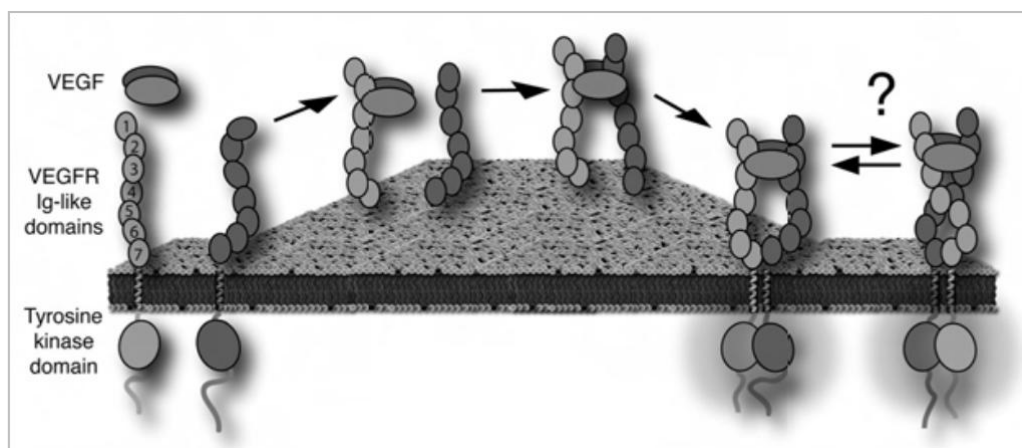
Angiogenéza je relatívne komplexný proces, ktorý sa dá zastaviť zasiahnutím do niektorého s ním súvisiaceho deja (Obrázok 2). Existuje niekoľko možností inhibície:



1. inhibícia medzibunkovej komunikácie (blokovanie rastových faktorov)
2. inhibícia receptorov na endoteliálnych či ich aktivujúcich bunkách (VEGFR-2, FGFR, EGFR...)
3. inhibícia proteolytických enzýmov (MMP2, MMP9...)
4. vyvolávanie apoptózy endoteliálnych buniek
5. depolymerizácia mikrotubúl endoteliálnych buniek
6. zníženie tvorby krvných doštičiek (obsahujú veľké množstvo rastových faktorov, najmä VEGF).

Obrázok 2: Proces angiogenézy: od rakovinovej bunky po delenie endoteliálnych buniek.

Veľmi výhodnou sa zdá byť inhibícia receptorov na povrchu endoteliálnych buniek, hlavne kľúčového angiogénneho VEGFR-2 receptoru, ktorý sa skladá z extracelulárnej časti, obsahujúcej väzobné miesto pre VEGF (**V**ascular **E**ndothelial **G**rowth **F**actor, cievny rastový endoteliálny proteín), transmembránovej lipofilnej časti a intracelulárnej časti obsahujúcej tyrozín kinázovú doménu, ktorá sa aktivuje ligandom vyvolanou receptorovou homodimerizáciou (Obrázok 3).

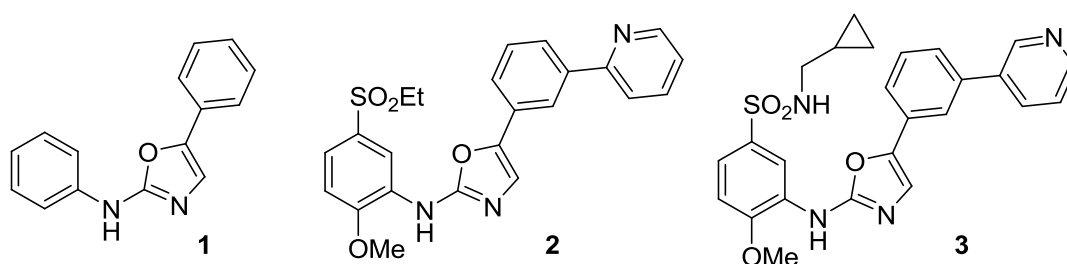


Obrázok 3: Aktivácia VEGFR-2 receptoru naviazaním signálnej molekuly VEGF. VEGF sa viaže na monomérnu extracelulárnu časť VEGFR-2, a to na imunoglobulínu podobné domény

2 a 3. Následne sa na VEGF viaže druhá monomérna jednotka VEGFR-2. Pomocou interakcií medzi imunoglobulínu podobnými doménami 7 oboch monomérov dôjde k priblíženiu monomérov intrecelulárnych tyrozín kináz a tvorbe aktívneho diméru schopného autofosforylovať kinázy navzájom a následne fosforylovať aj iné intercelulárne proteíny. Predpokladá sa, že existuje aj interakcia medzi imoglobulínu podobnými doménami 4 a 5 v tomto diméri, ktorá má mať stabilizačný charakter. Mechanizmus dimerizácie bol pozorovaný pomocou elektrónovej mikroskopie¹.

Nedávno boli objavené nové potenciálne inhibítory VEGFR-2² receptoru. Sú to deriváty 2-anilino-5-fenyloxazolu (**1**) (Obrázok 5), ktorý sa vyznačuje aktivitou voči VEGFR-2 ($IC_{50} = 1,2 \mu M$). Látka **1** inhibovala aj VEGF-vyvolané delenie ľudských pupočníkových cievnych endoteliálnych buniek (HUVEC) s $IC_{50} = 3 \mu M$. 2-Anilino-5-fenyl-1,3-oxazol (**1**) sa vyznačoval selektivitou, pretože menej účinne inhiboval delenie HUVEC vyvolané bázickým fibroblastovým rastovým faktorom ($IC_{50} = 24 \mu M$).

Harris so spolupracovníkmi² preto modifikovali túto základnú štruktúru na oboch aromatických kruhoch, s cieľom nájsť inhibítory s lepšou aktivitou. Z viac ako 40 novopripravených derivátov oxazolu **1** sa na základe *in vitro* testov voči VEGFR-2 vyčlenili ako najúčinnšie dva nové oxazol-2-amíny **2** (PDB: 1Y6A) a **3** (PDB: 1Y6B) s IC_{50} 22nM a 39 nM (Obrázok 4).



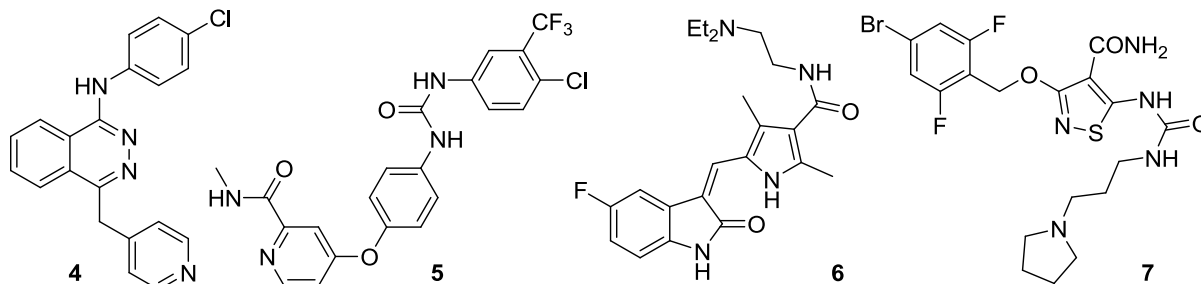
Obrázok 4: Štruktúrne vzorce aktívnych derivátov 2-aminooxazolu.

¹ Ruch, C.; Skiniotis, G.; Steinmetz, M.O.; Walz, T. ; Ballmer-Hofer, K. *Nat. Struct. Molec. Biol.* **2007**, 14, 249-250.

² Harris, P.A.; Cheung, M.; Hunter III., R.N.; Veal, J.M.; Nolte, R.T.; Wang, L.; Liu, W.; Crosby, R.M.; Johnson, J.H.; Epperly, A.H.; Kuma, R.; Luttrell, D.K.; Stafford, J.A. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 1610-1619.

1.1. Najvýznamnejšie antiangiogeniká

Je známych niekoľko účinných nízkomolekulových inhibítorov intracelulárnej časti VEGFR-2, patria sem napr. Vatalanib (**4**) (firma Novartis), Nexavar (**5**) (Bayer), SU11248 (**6**) (Sutent, Pfizer) a CP-547,632 (**7**) (Pfizer) (Obrázok 5). Podobne ako 1Y6A a 1Y6B sa viažu v ATP väzobnom mieste intracelulárnej časti (tyrozínkinázy) z VEGFR-2.



Obrázok 5: Štruktúry niektorých známych inhibítorov VEGFR-2 tyrozín kinázy.

Vatalanib (**4**) má voči tyrozínkináze VEGFR-2 inhibičnú konštantu IC_{50} 50 nM a vyznačuje sa vysokou selektivitou. Znižuje delenie VEGF aktivovaných buniek HUVEC (IC_{50} = 16 nM, t.j. inhibícia s 50%-nou účinnosťou sa dosahuje už pri 16 nM). Látka bola testovaná aj v biologických testoch a aj v klinických testoch na pacientoch.

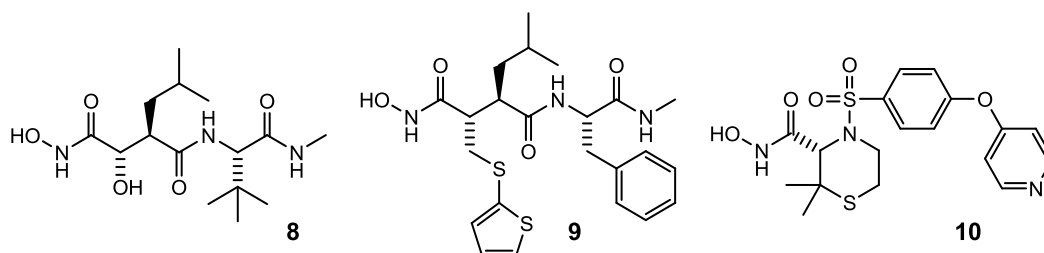
Nexavar (Bayer, sorafenib tosylát **5**)³ sa používa na liečbu nádoru pečene (hepatocelulárneho karcinómu). Tiež sa používa na liečbu pokročilého nádoru obličiek, keď bežná liečba nepomohla zastaviť ochorenie alebo sa zvažilo, že nie je vhodná. Nexavar je takzvaný multikinázový inhibítor. Pôsobí spomaľovaním miery rastu nádorových buniek a prerušením zásobovania krvou, ktorá podporuje nádorové bunky v raste.

Sutent (Pfizer, sunitinib L-malát **6**)⁴ je liek, ktorý sa používa na liečbu rakoviny tým, že zabraňuje aktivite určitej skupiny proteínov, o ktorých je známe, že sa zúčastňujú na raste a šírení rakovinových buniek. Je to liečivo, ktoré sa používa na liečbu karcinómu z obličkových buniek, formy rakoviny obličiek, ktorá zahŕňa nádorové zmeny v bunkách obličkových tubulov. Používa sa tiež na liečbu zhubného gastrointestinálneho stromálneho tumoru (GIST). GIST je druh rakoviny žalúdka a čriev. Vzniká pri nekontrolovanom raste buniek podporného tkaniva v týchto orgánoch. SUTENT potláča rast týchto buniek.

³ <http://www.nobelplus.sk/web/humanne-lieky/detail/nexavar-17503.html>.

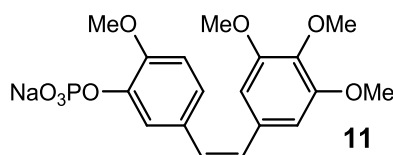
⁴ <http://www.nobelplus.sk/web/humanne-lieky/detail/sutent-25556.html>.

Ďalšími významnými inhibítormi angiogenézy sú inhibítory maticových metaloproteáz (MMPs). MMPs sú dôležité v procese novotvorby ciev, keďže hydrolyzujú proteíny nachádzajúce sa v intercelulárnom maticu a tým ho narúšajú, vytvárajú priestor, ktorým môžu cievy rásť. Existuje až 20 rôznych MMPs, pričom pri inhibícii angiogenézy najväčšiu úlohu zohrávajú MMP-1, 2, 3, 7 a 9. Dobrými inhibítormi MMPs sú napr. Batimastat (**8**), Marimastat (**9**) a Prinomastat (**10**) (Obrázok 6). MMP majú vo svojom aktívnom mieste zinočnatý ión, na ktorý sa viažu kyslíky z karboxámovej kyseliny **CONHOH** prítomné v týchto troch inhibítoroch. Táto väzba je jedna z kľúčových pri inhibícii MMPs.



Obrázok 6: Najvýznamnejšie MMPs inhibítory: Batimastat (**8**), Marimastat (**9**) a Prinomastat (**10**).

Ďalšími zaujímavými zlúčeninami, ktoré dokážu ovplyvniť angiogenézu sú látky označované ako VDA (Vascular Disrupting Agents), ktoré sú schopné reverzibilne depolymerizovať mikrotubuly endoteliálnych buniek. Endoteliálne bunky, za normálnych okolností ploché bunky, stratia svoj vnútrobunkový skelet a stanú sa z nich bunky guľaté. Vďaka svojmu guľatému tvaru zablokujú cievy, čím sa prietok krvi dramaticky zníži. Dočasným znížením prietoku krvi utrpia najmä bunky, ktoré sa rýchlo delia, t.j. rakovinové bunky. Za 2 - 6 hodín tak dôjde k hemoragickej nekróze, t.j. bunkovej smrti v dôsledku nedostatku prísunu kyslíku a živín. Najznámejším VDA je Combretastatin A4 fosfát (**11**) (Obrázok 7), ktorý je momentálne vo fáze klinických testov.

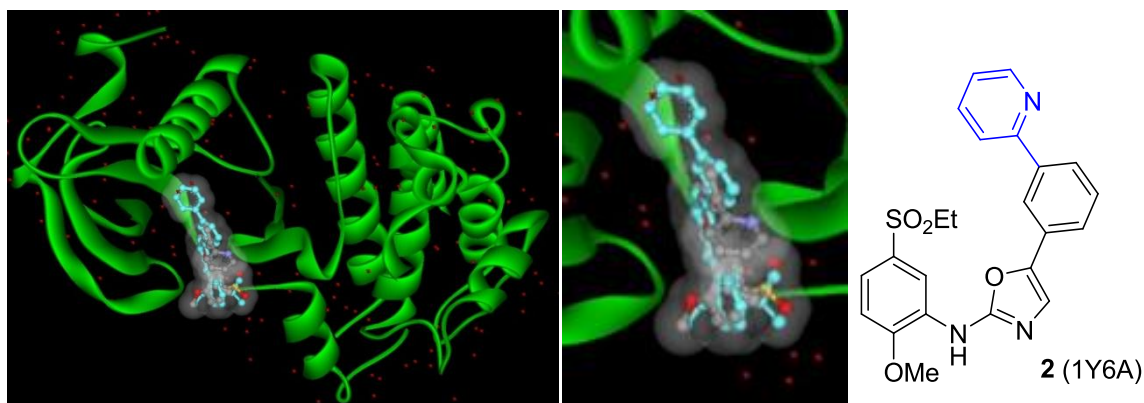


Obrázok 7: Combretastatin A4 fosfát (**11**).

2. Návrh štruktúr cieľových molekúl

2.1. Molekuly odvodené od štruktúr ligandov z komplexov PDB: 1Y6A a 1Y6B

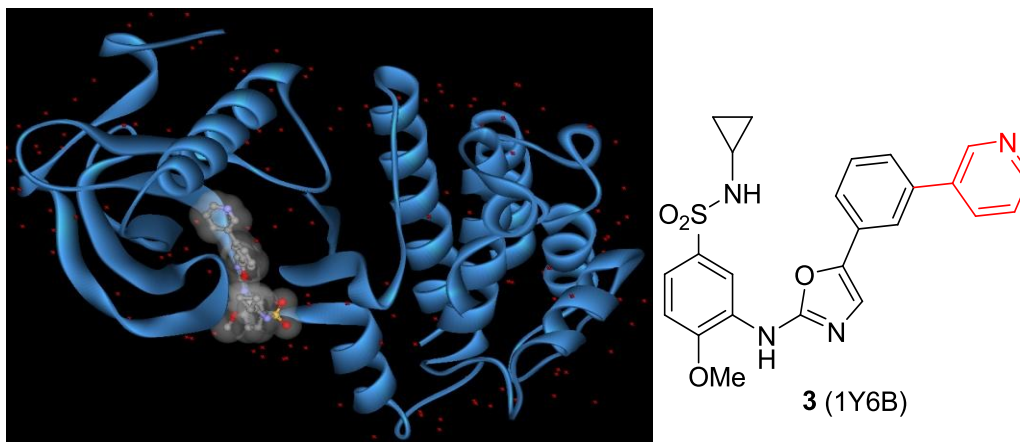
1Y6A je označenie pre PDB komplex *N*-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl]-5-[3-(pyridín-2-yl)fenyl]oxazol-2-amínu (**2**, nazývaného aj **AAZ**) a intracelulárnej domény receptora VEGFR-2. Jeho priestorové usporiadanie bolo určené pomocou Röntgenovej štruktúrnej analýzy. Pre inhibítor **AAZ** bola určená inhibičná enzymatická koncentrácia $IC_{50} = 22$ nM (VEGFR2). Uvedomili sme si, že tento komplex je výnimočný, lebo sa v aktívnom mieste kinázy môže jeho ligand výnimočne viazať v dvoch rôznych konformáciách (Obrázok 8). Na základe analýzy informácií z PDB databázy je možné určiť miesto viazania sa ligandu v aktívnom mieste, aktívnu(e) konformáciu(e) ligandu, dôležité interakcie v komplexe proteín-ligand a identifikovať farmakofórické časti ligandu. Súčasne môžeme navrhnúť nové farmakofórické skupiny na už existujúci skelet, ak RTG analýza odhalí vhodné neobsadené amikokyselinové zvyšky, alebo kavitu v aktívnom mieste proteínu.



Obrázok 8: PDB komplex **1Y6A** obsahujúci VEGFR-2 TK s inhibítorom **2** (**AAZ**), ktorý sa v proteíne vyskytuje v dvoch aktívnych konformáciách, pričom sa v nich výrazne líši poloha pyrid-2-ylového kruhu (dve štruktúry: tyrkysová a farebná podľa atómov).

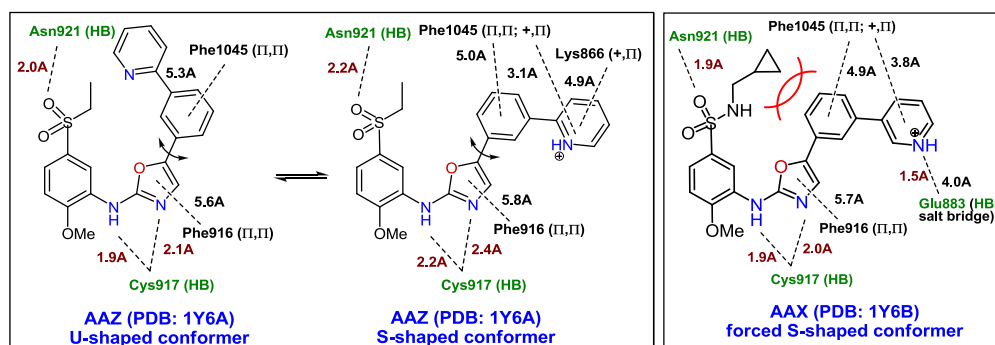
1Y6B je komplex ligandu **AAX** viazanom v ATP aktívnom mieste v intercelulárnej časti VEGFR2. Inhibítor **AAX** má $IC_{50} = 39$ nM (VEGFR2) a v molekule obsahuje pyridín-3-ylový

zvyšok, ktorý má v tyrozínkináze len jednu zaznamenanú konformáciu (Obrázok 9). Líši sa od **1Y6A** polohou dusíka v pyridínovom jadre a N-cyklopropylmetylsulfónamidovou skupinou, ktorá vynucuje svojim objemom existenciu len jedného konforméru.



Obrázok 9: Komplex 1Y6B s ligandom **AAX** a intracelulárnou časťou VEGFR-2.

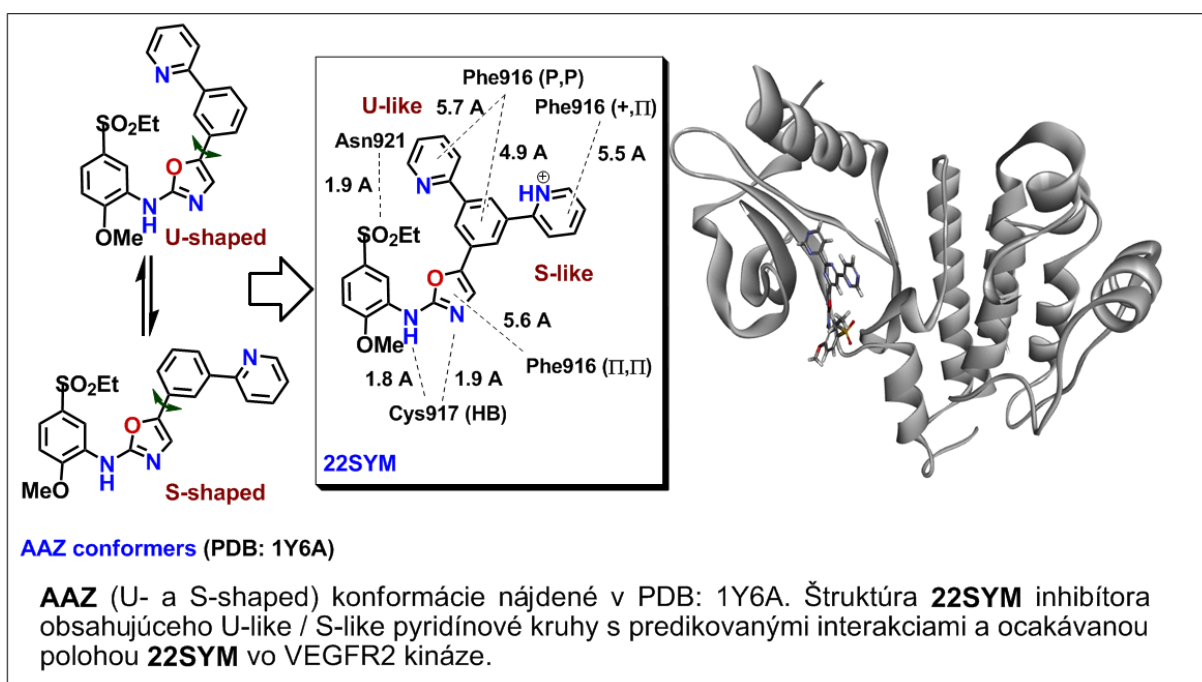
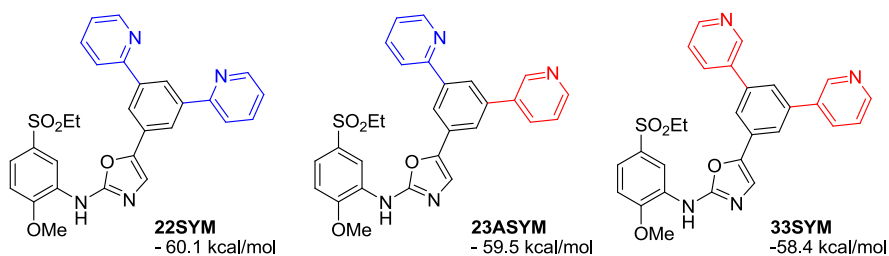
Základné typy interakcií dôležitých z hľadiska farmakodynamiky sú: elektrostatické interakcie (ióny, dipóly ...), vodíkové väzby a hydrofóbne interakcie Van der Waalsovho typu. Interakčná mapa **AAZ** aj **AAX** (Obrázok 10) naznačuje, že významnými z hľadiska vodíkových interakcií sú etylsulfonfyl a aminooxazol. Arylpyridínová časť je zase významná z hľadiska hydrofóbnych interakcií, stacked interakcií, ako aj pre interakcie indukovaného dipólu s protonizovaným dusíkom pyridínu. Táto časť molekuly má pre nás význam aj z iného hľadiska. V blízkosti arylu sa nachádza v aktívnom mieste kinázy nevyužitý priestor obsadený aminokyselinovými zvyškami VEGFR2 kinázy. Zapojenie tohto soľný mostík obsahujúceho vrečka pridaním vhodných substituentov na ligand napr. do polohy *meta* alebo *para* voči oxazolu na fenyle nesúcom pyridylovú skupinu by mohlo mať významný vplyv na aktivitu takýchto derivátov.



Obrázok 10: Analýza interakcií **AAZ** a **AAX** z komplexov PDB: **1Y6A** a **1Y6B** s intracelulárnou časťou **VEGFR-2** receptoru. Dôležité interakcie predstavujú vodíkové väzby, elektrostatické interakcie a slabšie, ale častejšie sa vyskytujúce Van der Waalsove sily (nezobrazené).

2.1.1. Bispyridylové deriváty odvodené od **AAZ** a **AAX** ligandov

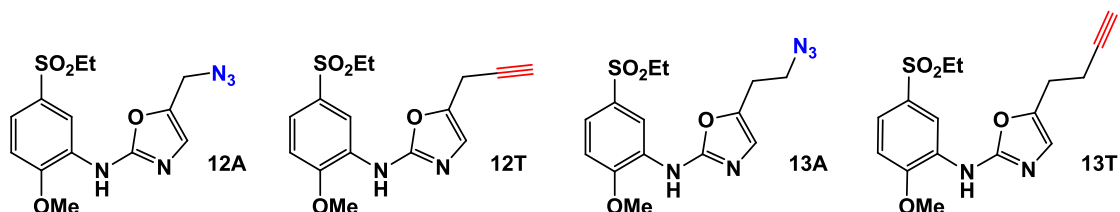
Superimpozíciou oboch aktívnych konformérov **AAZ** ligandu z Röntgeno-štruktúrnej analýzy z PDB komplexu **1Y6A** (Obrázok 10) boli navrhnuté tri štruktúry zlúčenín, u ktorých očakávame väčšiu aktivitu ako má samotný ligand **AAZ** vzhľadom na zvýšený počet farmakofórických skupín a ich interakcií v danom proteíne. Navrhnuté molekuly **22SYM**, **23ASYM**, **33SYM** sa navzájom líšia polohou dusíka na pyridínových kruhoch (kombinácie polôh 2 a 3 dusíka v pyridyloch).



Obrázok 11: Štruktúry navrhnutých bispirydylových derivátov **22SYM**, **23ASYM** a **33SYM**, ich vypočítané hodnoty väzobných energií (software UCF Dock 3.6) pre intracelulárnu časť VEGFR-2 receptora (hore). Štruktúra konformérov **AAZ** ligandu, analýza počítačom predpovedaných **22SYM** interakcií, ako aj predikovaná poloha **22SYM** ligandu vo VEGFR2 variante z PDB: 1Y6B (dole).

2.1.2. Ligandy pre „Click-chemistry“ odvodené od štruktúry **AAZ**

Ďalším cieľom projektu je príprava ligandov odvodených od farmakofórického ligandu **AAZ**, ktoré by mali byť použité pre „Click-chemistry“ spájanie molekúl. Tieto ligandy budú mať zachovanú *N*-aryl-2-aminooxazolovú štruktúru pochádzajúcu z **AAZ**, ale budú sa líšiť substituentom v polohe 5 na oxazole, kde namiesto pôvodného aromatického systému budú mať pripojený jedno alebo dvojmetylénový linker zakončený azidom, alebo trojitou väzbou. Tieto ligandy budú použité v kombinácii s linkerami odvodenými od napr. sorafenibu (z lieku Nexavar, Bayer) v „Click-chemistry“ reakcií pri príprave vysoko účinných inhibítorov VEGFR-2 kinázy.

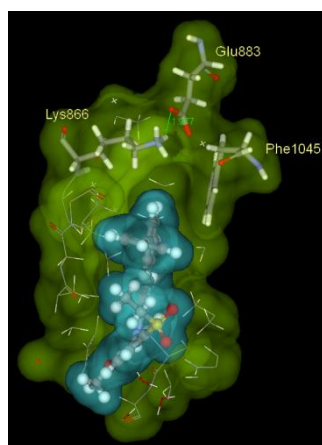


Obrázok 12: Cieľové ligandy pre „Click-chemistry“ syntézu s linkerom zakončeným buď trojitou väzbou alebo azidovou funkčnou skupinou.

2.1.3. *m*-O-substituované deriváty ligandu **AAZ**

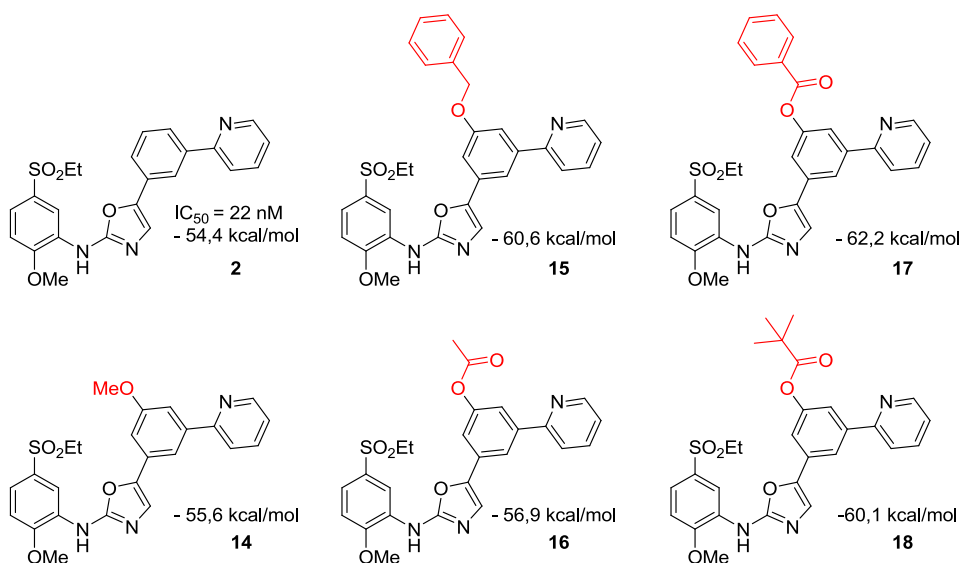
Ďalšími navrhnutými látkami odvodenými od štruktúry **AAZ** ligandu sú jeho *m*-O-substituované deriváty (Obrázok 14). Z RTG štruktúrnej analýzy vieme, že v blízkosti **AAZ** inhibítora sa nachádza neobsadený solný mostík obsahujúce vrecko (SBP Salt Bridge Containing Pocket) tvorené tromi aminokyselinami: Lys866, Glu883 a Phe1045 (Obrázok 13). Rozhodli sme sa toto vrecko využiť na zvýšenie väzbovosti nových inhibítorov, čo by sa

malo priaznivo odzrkadliť aj na inhibičných koncentráciách a prípadne aj na selektivite inhibítorov.



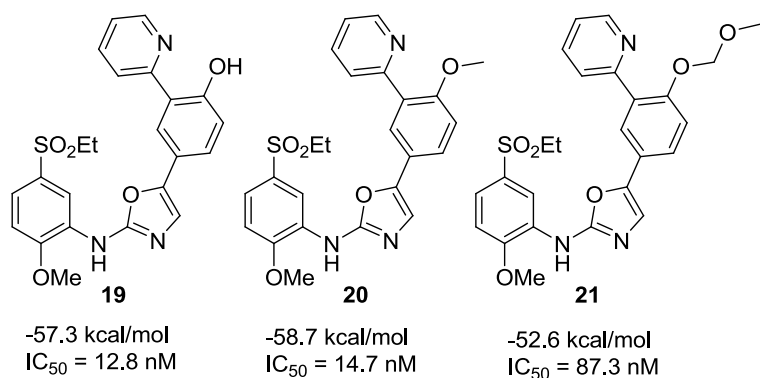
Obrázok 13. RTG štruktúrna analýza komplexu ligandu **AAZ** a intracelulárnej časti VEGFR-2 (vľavo) so zobrazením neobsadeného soľný mostík obsahujúceho vrečka, kam sa podľa počítačových predikcií hodia nové *m*-O-substituované deriváty **AAZ**.

Relatívna väzobná energia ligandu **AAZ** vo VEGFR2 proteíne z komplexu PDB: 1Y6A je -54.4 kcal/mol. V tom istom dokovacom experimente sme získali predikcie väzobných energií navrhnutých inhibítorov (Obrázok 14). Tieto hodnoty sú výhodnejšie (-55,6 až -62,2 kcal/mol), t.j. mala by vznikáť pevnejšia väzba medzi novým inhibítorom a väzobným miestom VEGFR2 receptora.



Obrázok 14: **AAZ** ligand **2** a navrhnuté deriváty **14** - **18** s predpovedanými väzobnými energiami pre VEGFR2 receptor.

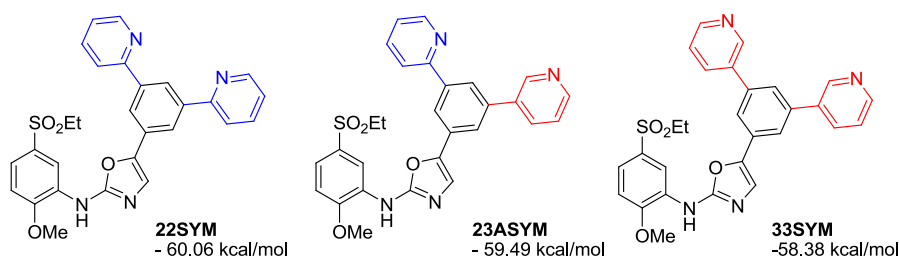
Prítomnosť a funkčnosť SBCP vrečka bola dokázaná na našich nedávno vyvinutých inhibítoroch *p*-OH, *p*-OMe a *p*-OMOM ktoré predstavujú tiež substituované deriváty **AAZ** ligandu (Obrázok 14). Súčasne bola pomocou týchto derivátov overená aj správnosť použitej metodiky *in silico* výpočtov.



Obrázok 15: Pripravené -OH, -OMe a -OMOM deriváty odvodené od AAZ s ich vypočítanými väzobnými energiami a IC₅₀ hodnotami získanými z enzymatických biologických testov.

2.1.1. Bispyridylové deriváty odvodené od 1Y6A a 1Y6B

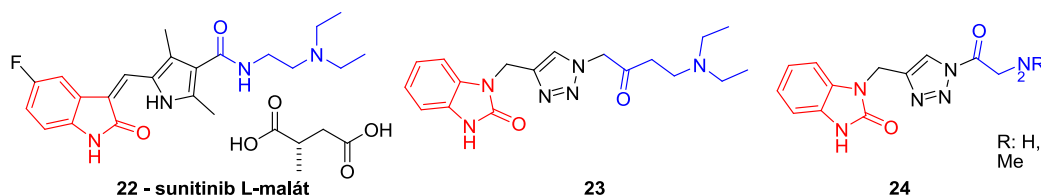
Superimpozíciou oboch aktívnych konformérov **1Y6A** a komplexu **1Y6B** z Röntgenoštruktúrnej analýzy z PDB databázy (Obrázok 8 a 10) boli navrhnuté tri nové inhibítory, u ktorých očakávame väčšiu aktivitu a selektivitu vzhľadom na zvýšený počet farmakofórových skupín a ich stérických nárokov v danom proteíne (väčší počet interakcií napr. Van der Waalsovými interakciami aromatických jadier s oboma lipofilnými vreckami v aktívnom mieste VEGFR-2 a možnými H-väzbami dusíkov pyridylov). Navrhnuté molekuly sa líšia polohou dusíka na pyridínovom kruhu (*orto* a *meta* polohy).



Obrázok 11: Štruktúry cieľových bispyridylových derivátov **22SYM**, **23ASYM** a **33SYM** a ich vypočítané hodnoty inhibičných energií voči intracelulárnej tyrozínkinázovej časti VEGFR-2 receptora.

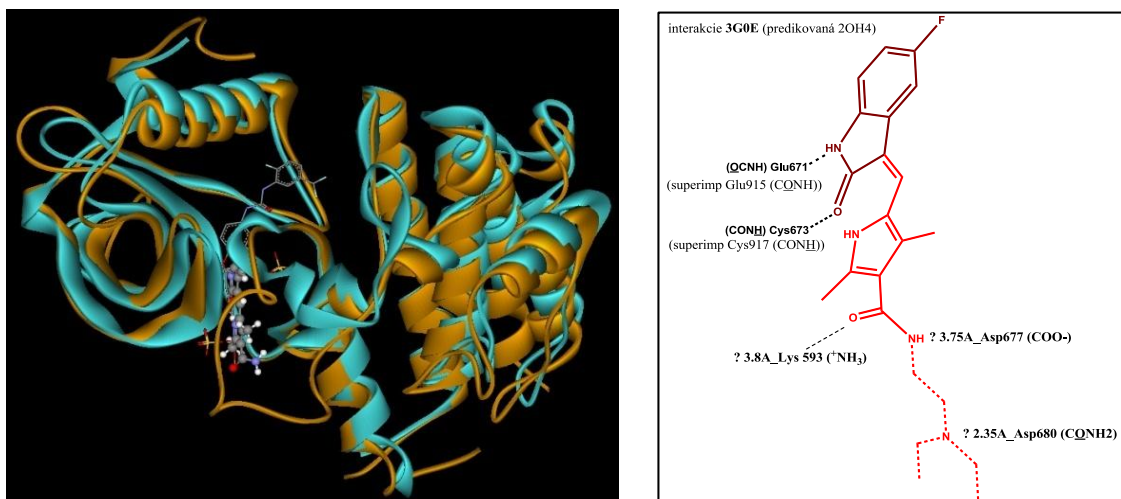
2.2. "Click-chemistry" deriváty odvodené od sunitinibu

Sunitinib L-malát, aktívna zložka lieku Sutent, je selektívny inhibítor niekoľkých dôležitých receptorov (VEGFR-2, PDGFR- α , c-Kit...). Bol zavedený firmou Pfizer a v roku 2006 bol uznaný FDA USA ako antiangiogenikum používané pri liečbe stromálnych tumorov a nádorov ľadvín. Liečivo má polyvalentný účinok pri inhibícii angiogenézy. Blokuje c-Kit, ktorý je u pacientov s rakovinou zmutovaný tak, že má veľmi vysokú aktivitu a tým pádom delenie buniek a angiogenéza je veľmi rýchla. Ďalej blokuje PDGFR- α , ktorý sa nachádza v krvných doštičkách, a inhibuje tiež VEGFR-2, ktorý priamo súvisí s tvorbou nových ciev. Sunitinib je svojou schopnosťou blokovať tieto dôležité receptory veľmi účinným liekom blokujúcim angiogenézu, rastu tumorov a metastáz v organizme.



Obrázok 16: Sunitinib 22 a jeho navrhnuté bioizostérne štruktúry 23, 24 s predikovanou inhibičnou aktivitou na VEGFR2 receptor.

Röntgenová štruktúrna analýza sunitinibu s VEGFR-2 tyrozínkinázou nebola známa, ale bol známy jeho komplex s tyrozínkinázou c-Kit (PDB: 3G0E). Superimpozíciou dvoch komplexov VEGFR2 PDB: 2OH4 a c-Kit PDB: 3G0E sa ukázalo, že sutent sa bude v oboch enzýmoch viazať podobným spôsobom, keďže sa viaže na rovnaké aminokyselinové zvyšky (Obrázok 17). Vidíme, že väzobne významný je dusík a kyslík v indolín-2-óne a karbonylový kyslík. Dietylamínový zvyšok na opačnej strane molekuly plní funkciu farmakokineticky výhodnej skupiny. Rozhodli sme sa upraviť tieto časti molekuly tak, aby syntéza výsledného inhibítora bola uskutočniteľná z 2 nezávislých ligandov, ich jednoduchým spojením metódou „Click chemistry“. Pyrol obsahujúci stred molekuly tak bude nahradený 1,2,3-triazolom (Obrázok 6).



Obrázok 17: Vľavo: superimpozícia VEGFR-2 komplexu 2OH4 a c-Kit komplexu 3G0E s viazaným sunitibom. Vpravo: analýza a porovnanie väzobných interakcií sunitibu v c-Kit a jeho odhadnuté interakcie vo VEGFR2 kináze z 2OH4.

3. „Click-chemistry“

3.1. Huisgenova 1,3-dipolárna cykloadícia

Pojem „Click-chemistry“ zavedený B.K. Sharplessom pôvodne označoval skupinu reakcií, ktoré mali spĺňať nasledujúce podmienky:⁵

- mali byť platné pre široký súbor reaktantov daného typu
- mali dávať vysoké až takmer kvantitatívne výťažky
- mali prebiehať dobre v rôznych systémoch rozpúšťadiel (vo vode, v zmesiach vody a alkoholov, v DMSO, THF, acetóne, DMF, acetonitrile)
- nemali by potrebovať chránenie ostatných funkčných skupín
- mali prebiehať v širokom intervale pH a teplôt
- mali by umožňovať ľahkú separáciu produktov (napr. filtráciou či extrakciou), najlepšie bez použitia chromatografických metód.

Momentálne sa pod pojmom “click”-chémia rozumie hlavne reakcia, pri ktorej azidová funkčná skupina reaguje s terminálnym alkínom a poskytuje 1,2,3-triazol. Podľa podmienok a katalyzátora môže reakcia dávať 1,4-, 1,5-⁶ alebo obidva regioizoméne disubstituované triazoly (Schéma 1).

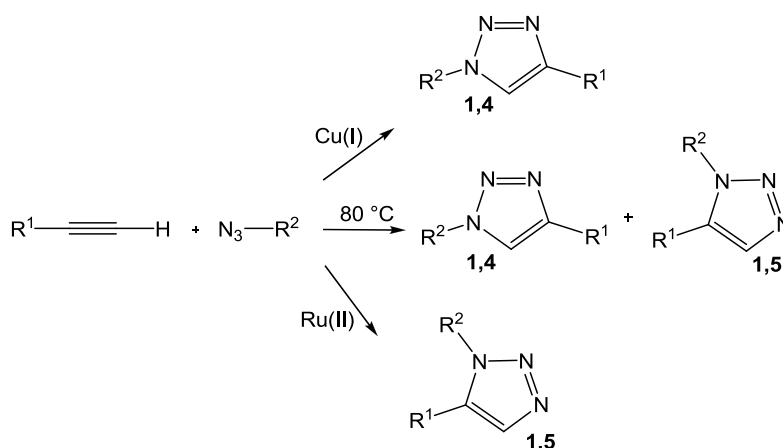


Schéma 1: Schéma rôznych podmienok cykloadície azidov s alkínmi.

⁵ Kolb, H.C.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 2004-2021.

⁶ Yap, A.H.; Weinreb, S.M. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 3035-3038.

Termická reakcia azidov a terminálnych alkínov,⁷ tj. reakcia bez katalyzátora, poskytuje obidva triazoly v pomere 1 : 1 alebo s miernym nadbytkom 1,4-disubstituovaného regioizoméru.⁸ Reakcia prebieha pomaly kvôli vysokej aktivačnej bariére reakcie. Keďže vznik oboch regioizomérov je vysoko exotermický, reakcie poskytujú pri dlhých reakčných časoch vysoké výťažky.

Cu(I)-katalyzované reakcie poskytujú výlučne 1,4-regioizomér. Najčastejšie využívané katalytické systémy sú:

- a) stabilná soľ meďného kationu (priamy zdroj meďných iónov) , napr. CuI.
- b) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,25 – 2,00 mol%), askorbát sodný, alebo kyselina askorbová (5 – 10 mol %) ⁹, ktoré fungujú ako redukčné činidlo a zabraňujú oxidatívnej tvorbe couplingových produktov, ktorých vznik sa pozoruje pri použití priameho zdroja - Cu(I).
- c) medený drôt (Cu a CuO na povrchu), tu Cu(I) vzniká vzájomnou redoxnou reakciou kovovej medi a meďnatého kationu. Používa sa pri paralelných syntézach, alebo keď substrát neznáša prítomnosť askorbátu či jeho oxidačných produktov.¹⁰

Energetická bariéra katalyzovanej reakcie je približne o 40% nižšia než pri nekatalyzovanej reakcii. Toto umožňuje zrýchlenie reakcie $10^7 - 10^8$ násobne.

Príkladom Cu(I)-katalyzovanej reakcie je aj trojzložková syntéza triazolov, kde spolu reaguje halogénderivát, napr. **25**, azid sodný a terminálny alkín,¹¹ napr. **26** (Schéma 2). L-Proлін v reakcii je potrebný ako organokatalyzátor, ktorý aktivuje aromatický kruh pyridínu, aby mohlo dôjsť k substitúcii jódu za azidovú skupinu.

⁷ Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V.V.; Noodleman, L.; Sharpless, K.B.; Fokin, V.V. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 210-216.

⁸ Rostovtsev, V.V.; Green, L.G.; Fokin, V.V.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.

⁹ T.R. Chan; R. Hilgraf; K.B. Sharpless; V.V. Fokin, *Org. Lett.*, **2004**, *6*, 2853-2855.

¹⁰ H.A. Orgueira; D. Fokas; Y. Isome; P. C.-M. Chan; C.M. Baldino; *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2911-2914.

¹¹ A.K. Feldman; B. Colasson; V.V. Fokin, *Org. Lett.*, **2004**, *6*, 3897-3899.

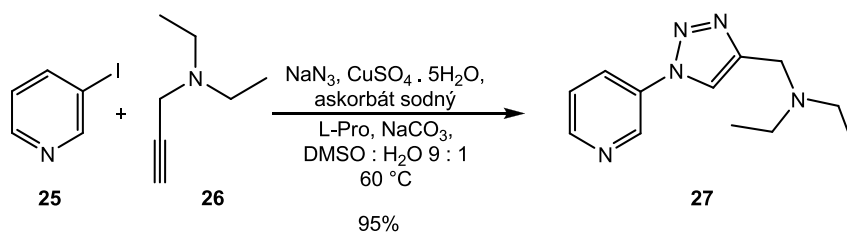


Schéma 2: Príklad pre trojzložkovú Cu(I)-katalyzovanú prípravu triazolov.

Nedávno Sharpless so spolupracovníkmi¹² objavili katalytický efekt Ru(II)-komplexov (napr. $\text{Cp} \cdot \text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2$, $(\text{Cp} \cdot \text{RuCl})_4$ ¹³), pomocou ktorých je možné pripraviť aj 1,5- (tj. syn) regioizomér 1,2,3-triazolov ako napríklad triazol **30** (Schéma 3).

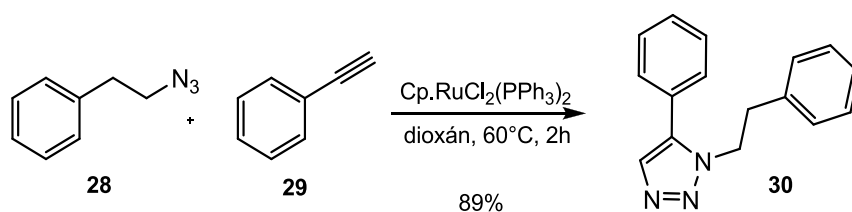


Schéma 3: Príklad syntézy 1,5-disubstituovaných 1,2,3-triazolov.

Ďalšie urýchlenie reakcie je možné dosiahnuť pomocou využitia mikrovlnného žiarenia pri termických¹⁴ aj katalyzovaných reakciách.¹⁵

3.2. „Click-chemistry“ ako nástroj pre syntézu nových potenciálnych liečiv

Vďaka objavu Cu(I) a tiež Ru(II)-katalýzy umožňujúcej až 10^6 - 10^8 násobné urýchlenie pôvodnej Huisgenovej 1,3-dipolárnej cykloadície je možné jednoducho generovať veľké knižnice a súbory nových zlúčenín.¹⁶ Triazoly môžu mať v polohe 1,4 alebo 1,5 rôzne

¹² Zhang, L.; Chen, X.; Xue, P.; Sun, H.H.Y.; Williams, I.D.; Sharpless, K.B.; Fokin, V.V.; Jia, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15998-15999.

¹³ Whiting, M.; Tripp, J.C.; Lin, Y.-C.; Lindstrom, W.; Olson, A.J.; Elder, J.H.; Sharpless, K.B.; Fokin, V.V. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 7697-7710.

¹⁴ A.R. Katritzky; S.K. Singh, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 9077-9079.

¹⁵ P. Appukkuttan; W. Dehaen; V.V. Fokin; E. Van der Eycken, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4223-4225.

¹⁶ Ijsselsstijn, M.; Cintrat, J.-C. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 3837-3842.

substituenty, t.j. farmakofóry, ktoré v takomto spojení môžu vykazovať lepšiu aktivitu. Keďže ľudský organizmus nie je schopný vzniknutý triazol enzymaticky či iným spôsobom rozložiť, liečivo pôsobí dlhšie. Preto sú 1,2,3-triazoly vhodné pre syntézu nových liečiv, vakcín¹⁷ a nových štruktúr vytvorených z látok biologického pôvodu.

Značná pozornosť sa venovala syntéze hybridných bielkovín¹⁸ v ktorých sú reťazce tvorené prírodnými i umelými aminokyselinami¹⁹ pospájané pomocou linkera obsahujúceho triazol. Pri príprave takýchto syntetických bielkovín je možné použiť aj syntézu na pevnej fáze.^{20,21} Urobená bola aj aplikácia „Click-chemistry“ pri spájaní nukleotidov v DNA²². „Click-chemistry“ sa používa aj pri syntéze glykokonjugátov^{23,24} vrátane hybridných polysacharidov²⁵ (Schéma 4). „Click-chemistry“ má tú výhodu, že sa dá pomerne jednoducho využiť na prípravu mimetík (napr. vitamínu D).²⁶

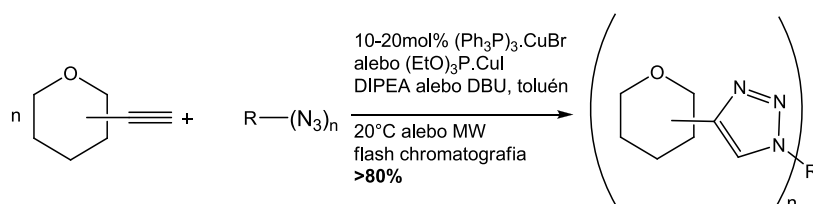


Schéma 4: Príprava glykokonjugátov, kde R môže predstavovať aromatický systém s viacerými azidmi alebo cyklodextrín alebo dendrimér.

¹⁷ Weterings, J.J.; Khan, S.; van der Heden, J.; Drijfhout, J.W.; Melief, C.J.M.; Overkleeft, H.S.; van der Burg, S.H.; Ossendorp, F.; van der Marel, G.A.; Filippov, D.V., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006** 16, 3258-3261.

¹⁸ Guerin, D.J.; Miller, S.J.; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 2134-2136.

¹⁹ Deiters, A.; Cropp, T.A.; Mukherji, M.; Chin, J.W.; Anderson, J.C.; Schultz, P.G. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 11782-11783.

²⁰ Tornøe, C.W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 3057-3064.

²¹ Löber, S.; Gmeiner, P., *Tetrahedron* **2004**, 60, 8699-8702.

²² Poulin-Kerstien, A.T.; Dervan, P.B. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 15811-15821.

²³ Fazio, F.; Bryan, M.C.; Blixt, O.; Paulson, J.C.; Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 14397-14402.

²⁴ Chittaboina, S.; Xie, F.; Wang, Q. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 2331-2336.

²⁵ Hasegawa T.; Umeda M.; Numata M.; Li, C.; Bae, A.-H.; Fujisawa, T.; Haraguchi, S.; Sakurai, K.; Shinkai, S. *Carbohydrate Research* **2006**, 341, 35-40.

²⁶ Suarez, P.L.; Gándara, Z.; Gómez, G.; Fall, Y. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 4619-4621.

Príkladom pre syntézu nových účinných liečiv prostredníctvom „Click-chemistry“ sú inhibítory fukozyltransferáz²⁷ (Schéma 5). Tento enzým sprostredkúva syntézu sialylových tetrasacharidov ktoré sú dôležité pre procesy vzájomného rozpoznávania buniek, oplodňovanie vajíčka, embryogenézu, prenos lymfocytov imunitných odpovedí na rakovinové metastázy.

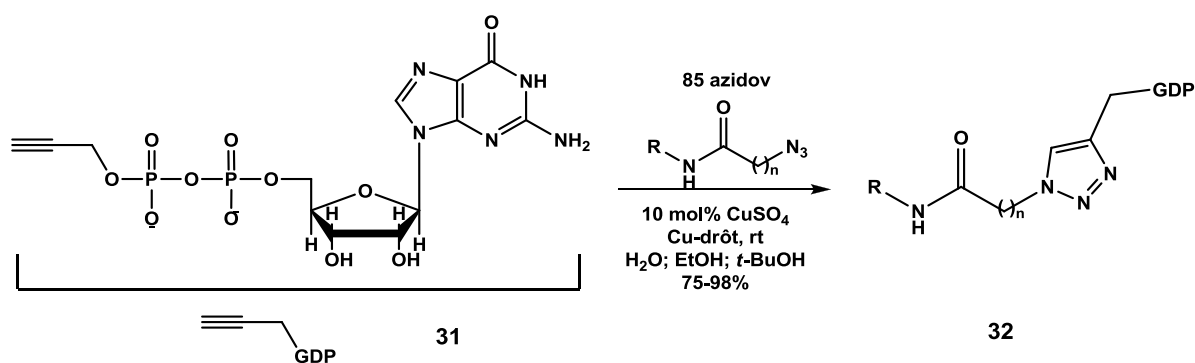
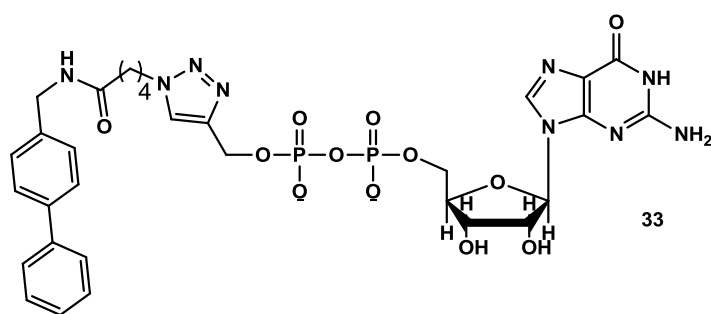


Schéma 5: Reakcia propargylguanozindifosfátu (31) a rôznych azidov, pričom vzniklo 85 nových potenciálnych inhibítorov. Kde R boli rôzne alkyly alebo aryly, pričom dĺžka linkera (*n*) sa pohybovala od 1 po 5 uhlíkov.

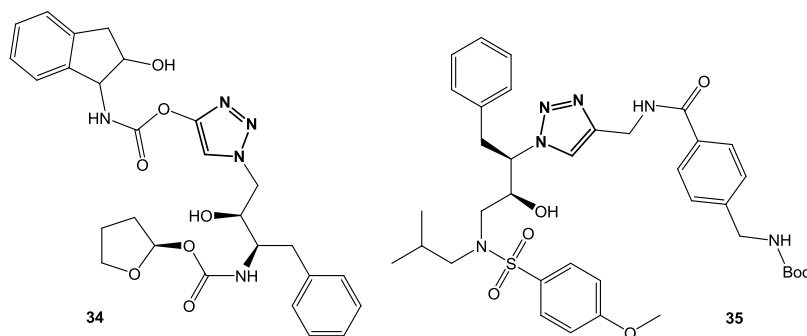
Zo súboru 85 potenciálnych inhibítorov fukozyltransferáz bol ako jediný dostatočne účinný identifikovaný triazol-GDP **33** (Obrázok 18), inhiboval ľudskú α -1,3-fukozyltransferázu VI v nanomolárnom rozsahu ($K_i = 62$ nM). Súčasne je táto látka doposiaľ najúčinnnejší známy inhibítor tohto enzýmu.



Obrázok 18: Najúčinnnejší autormi pripravený inhibítor fukozyltransferáz.

²⁷ Lee, L.V.; Mitchell, M.L.; Huang, S.-J.; Fokin, V.V.; Sharpless, K.B.; Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9588 – 9589.

Ďalším príkladom sú inhibítory HIV-proteáz,²⁸ ktoré sú významné enzýmy vo finálnom štádiu vývoja vírusu HIV. Pomocou „Click-chemistry“ bola pripravená knižnica potenciálnych inhibítorov vytvorená z dvoch rôznych azidov a 50 rôznych terminálnych alkinov. Zistilo sa, že z týchto látok sú dva triazoly (Obrázok 19) účinné voči HIV-1 proteáze a aj voči niektorým mutovaným formám vírusu (V82F, G48V, V82A) s inhibičnou rovnovážnou konštantou v rozsahu 1,7 – 30,0 nM.



Obrázok 19: Nové potenciálne inhibítory HIV-proteáz.

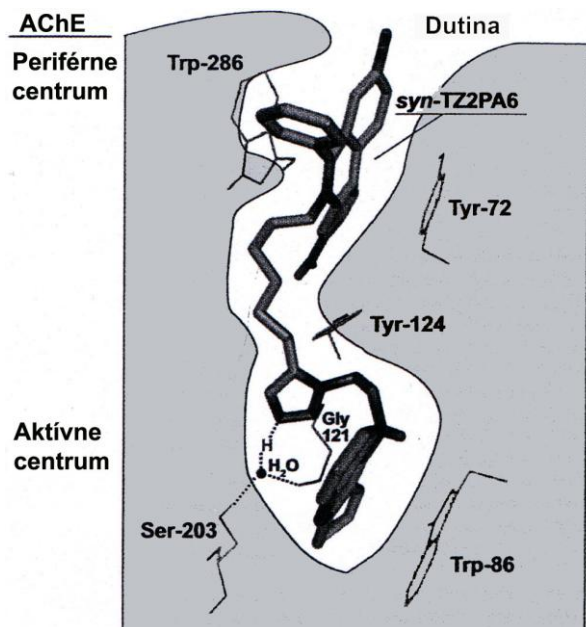
Špeciálnu úlohu v rámci „Click-chemistry“ a syntézy nových liečiv zohráva *in situ* „Click-chemistry“, predstavujúca syntézu silných inhibítorov vo vnútri väzobného miesta (biologického cieľa (tzv. cieľom riadená syntéza)).²⁹ Sharpless a kol.³⁰ skúmali túto metódu na enzýme acetylcholinesteráza (AChE), ktorý je katalyzátorom pre hydrolýzu neurálneho prenášača acetylcholínu v centrálnom a periférnom nervovom systéme. AChE má väzobné miesto v tvare 20 Å hlbkej úzkej dutiny. Vzdialenosť inhibítora takrínu (viažuceho sa na dno dutiny) od fenylfenantridínu (viažuceho sa na okraj dutiny) bola modifikovaná linkermi s rôznou dĺžkou, zakončenými buď azidovou alebo terminálnou alkinovou skupinou. Všetky takto modifikované takríny a fenylfenantridíny boli naraz ponúknuté enzýmu, aby si z nich vybral tú dvojicu, ktorá by v aktívnom mieste čo najlepšie vyhovovala. Zistilo sa, že zo 104 možných potenciálnych inhibítorov, bol najúčinnnejší inhibítor s označením **syn-TZ2PA6**

²⁸ Kolb, H.C.; Sharpless, K.B. *Drug Discovery Today* **2003**, 8, 1128 – 1137.

²⁹ Lewis, W.G.; Green, L.G.; Grynszpan, F.; Radić, Z.; Carlier, P.R.; Taylor, P.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 1053-1057.

³⁰ Manetsch, R.; Krasiński, A.; Radić, Z.; Raushel, J.; Taylor, P.; Sharpless, K.B.; Kolb, H.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 12809-12818.

s inhibičnými rovnovážnymi konštantami 99 fM (AChE el. úhora) a 410 fM (AChE myši)³¹ (Schéma 6). Ukázalo sa, že oba farmakofórne fragmenty v prípade tohto inhibítora dokonale zapadli dovnútra väzobnej kavity AChE a že ale aj samotný nový 1,2,3-triazol má určité interakcie s väzobným miestom (Obrázok 20).



Obrázok 20: Interakčná mapa komplexu *syn*-TZ2PA6 s väzobnou oblasťou AChE

V reakčnej zmesi vznikali ďalšie zlúčeniny, z ktorých tri *syn*-TA2PZ6, *syn*-TZ2PA5, *syn*-TA2PZ5 sa ukázali ako účinné inhibítory (Schéma 6), avšak s nižšou aktivitou ako *syn*-TZ2PA6, pričom *anti*-regioizoméry pripravené klasickou Cu(I)-katalyzovanou Huisgenovou cykloadíciou sa vyznačovali oveľa nižšou aktivitou (Tabuľka 2).³²

Tabuľka 2: Inhibičné rovnovážne konštanty *syn*- a *anti*-regioizomérov inhibítorov acetylcholinesterázy.

	Ki (fM) myš	Ki (fM) el. úhor		Ki (fM) myš	Ki (fM) el. úhor
<i>syn</i> -TZ2PA6	410	99	<i>syn</i> -TZ2PA5	2 300	100
<i>anti</i> -TZ2PA6	8 900	14 000	<i>anti</i> -TZ2PA5	33 000	42 000
<i>syn</i> -TA2PZ6	610	830	<i>syn</i> -TA2PZ5	3 000	540
<i>anti</i> -TA2PZ6	42 000	100 000	<i>anti</i> -TA2PZ5	44 000	140 000

³¹ Bourne, Y.; Radić, Z.; Kolb, H.C.; Sharpless, H.B; Taylor, P.; Marchot, P. *Chem. Biol. Inter.* **2005**, 157-158, 159-165.

³² Radić, Z.; Manetsch, R.; Krasinski, A.; Raushel, J.; Yamauchi, J.; Garcia, C.; Kolb, H.C.; Sharpless, K.B.; Taylor, P. *Chem. Biol. Inter.* **2005**, 157-158, 133-141.

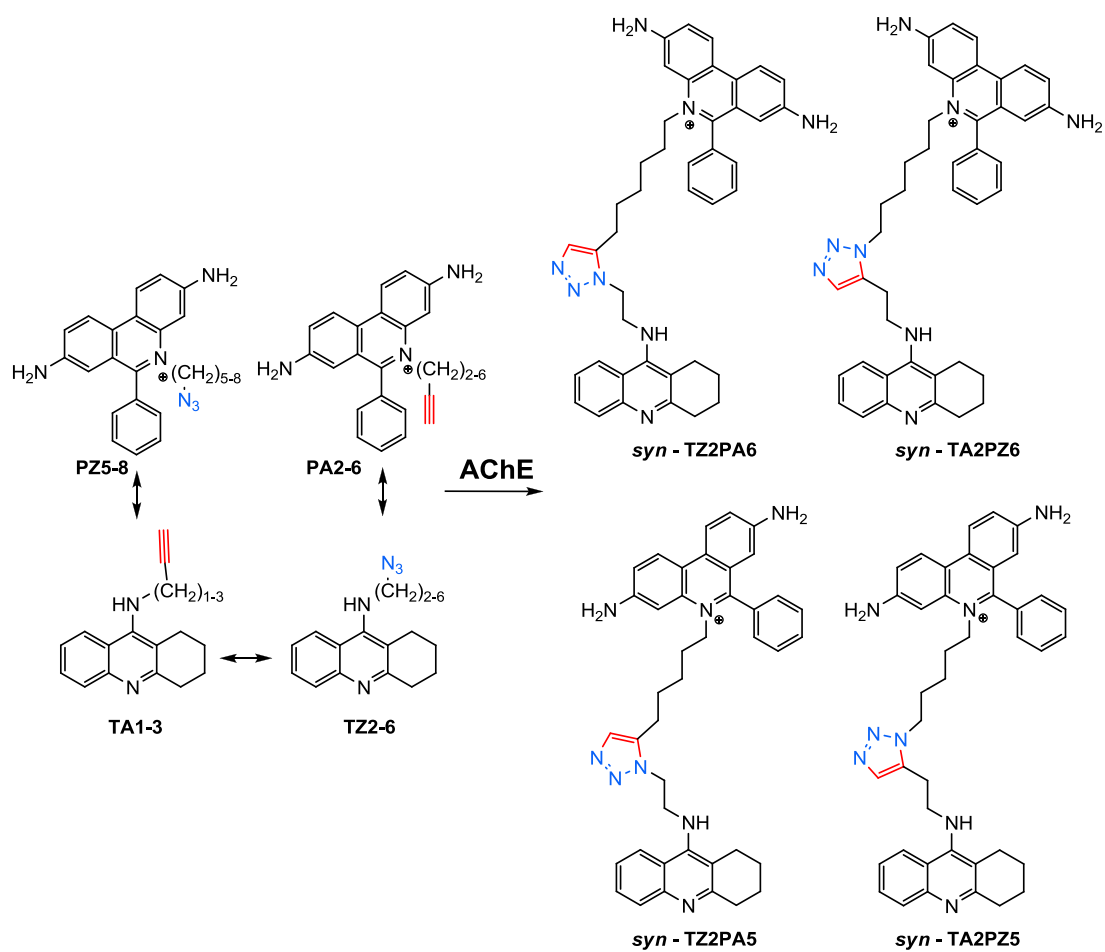


Schéma 6: Knižnica reaktantov – takrínových (TA a TZ) a fenyľfenantridíniových (PZ a PA) azidov a terminálnych alkínov.

4. Metódy prípravy 2-aminooxazolov

4.1. Príprava 2-aminooxazolov pomocou α -azidoacetofenónov a arylizotiokyanátov

Jednou z možných metód prípravy 2-amino-5-substituovaných oxazolov je adično-eliminačná reakcia izotiokyanátov **36** (resp. izokyanátov) s α -azidokarbonylmi **37** za prítomnosti trifenyľfosfínu alebo trifenyľfosfínu viazanom na polymérnom nosiči (pPPh₃) v dichlórmétáne pri teplote miestnosti po dobu 4 až 48 hodín pod inertnou atmosférou². Reakcia sa vyznačuje nízkymi výťažkami (1 – 58 %), v dôsledku rozpadu východiskových látok a následného vzniku iných konkurenčných produktov. Ak sa reakcia robí v dioxáne s krátkodobým (15 min až 1 h) zahrievaním na 90 °C,^{33,34} reakcia môže dosahovať vyššie výťažky (22 – 95 %) a tieto závisia od substituentov na aromatických jadrách (Tabuľka 3).

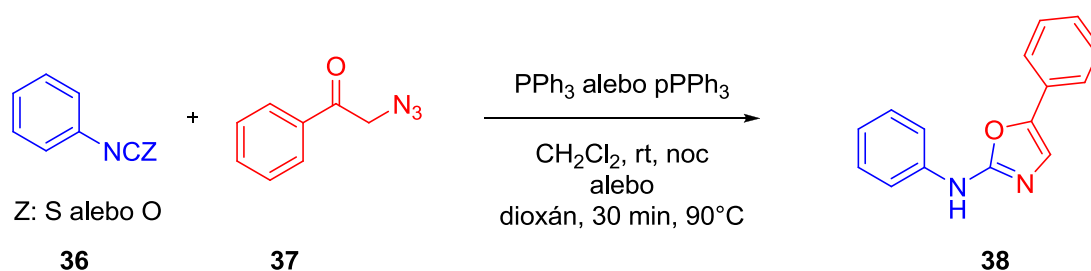


Schéma 7: Všeobecná schéma prípravy 2-aminooxazolov pomocou α -azidoacetofenónov a arylizotiokyanátov.

Vzťah medzi štruktúrou východiskových látok **36**, **37** a výťažkov oxazolov **38** nie je celkom jasný (Tabuľka 3), ale určité tendencie sa dajú vypožorovať z dostupných informácií.^{2,35,36} Riadky 1-10 v Tabuľke 3 hovoria o vplyve rôznych funkčných skupín na

³³ Perner, R.J.; Koenig, J.R.; Didomenico, S.; Gomtszan, A.; Schmidt, R.G.; Lee, C.-H.; Hsu, M.C.; Heath, A.; Joshi, S.; Turner, T.M.; Reillz, R.M.; Kzm, P.R.; Kort, M.E. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 13, 4821-4829.

³⁴ Bursavich, M.G.; Prker, D.P.; Willardsen, J.A.; Gao, Z.-H.; Davis, T.; Ostanin, K.; Robinson, R.; Peterson, A.; Cimbora, D.M.; Zhu, J.F.; Richards, B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 1677-1679.

³⁵ Dhar, T.G.M.; Shen, Z.; Guo, J.; Liu, C.; Watterson, S.H.; Gu, H.H.; Pitts, W.J.; Fleener, C.A.; Rouleau, K.A.; Sherbina, N.Z.; McIntyre, K.W. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 11, 2127-2130.

výtťažok reakcie. Zásadne sú najmä elektrónové efekty funkčnej skupiny ale aj jej poloha na aromatickom kruhu azidu **39**. Najlepšie výtťažky boli získané u elektrón donorných skupín (R^1 : MeO) v *meta* a *para* polohe (Tabuľka 3, riadok 6-7), pričom *para* poloha sa ukazuje ako vhodnejšia (až 58%). Na druhej strane najhoršie výtťažky boli získané s kyano skupinou (R^1 : CN), pričom opäť bola *meta* poloha menej výhodná (iba 1%). Azidy s halogeno substituentom tiež vykazujú tendenciu, že *meta* substitúcia je menej výhodná ako *para*, pričom výtťažky sa pohybujú v stredných hodnotách v porovnaní s MeO a CN substitúciou (Tabuľka 3, riadok 2-3).²

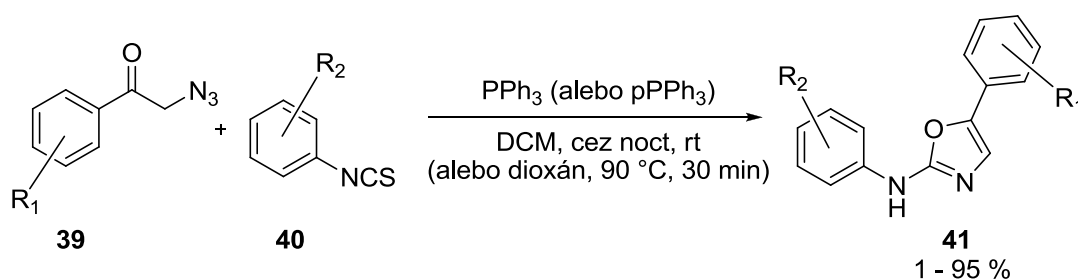


Schéma 8: Príprava série 2-aminooxazolov s rôznymi substituentami R^1 a R^2 zobrazenými v Tabuľke 3.

Účinok substituentov na izotiokyanáte resp. izokyanáte **40** je menej jasný, najmä kvôli veľmi obmedzeným informáciám z literatúry (Tabuľka 3, riadky 11 - 16).^{35,36} Ale je zrejmé, že elektrón donorné skupiny majú pozitívny vplyv, aj keď sa nachádzajú na aromatickom systéme izotiokyanátu resp. izokyanátu **40**. V riadkoch 11 - 16 (Tabuľka 3) sú použité iné reakčné podmienky a tiež sa tu vyskytujú aj *orto* substituenty, ktoré môžu mať iný špecifický vplyv, preto nie je možné ich porovnávať s riadkami 1 - 10.

³⁶ Dhar, T.G.M.; Quo, J.; Shen, Y.; Pitts, W.J.; Gu, H.H.; Chen, B.-C.; Zhao, R.; Bednarz, M.S.; Iwanowicz, E.J. *Organic Letters* **2002**, 4, 12, 2091-2094.

Tabuľka 3: Porovnanie vplyvu elektrón akceptorných a donorných skupín na výťažok 2-aminooxazolov. Reakčné podmienky A: DCM, rt, cez noc, B: dioxán, 90 °C, 30 min.

	R ¹	R ²	r. podm.	výťažok %
1	2-Cl	5-SO ₂ Et, 2-OMe	PPh ₃ , A	25
2	3-Cl	5-SO ₂ Et, 2-OMe	PPh ₃ , A	3
3	4-Cl	5-SO ₂ Et, 2-OMe	PPh ₃ , A	10
4	3-F	5-SO ₂ Et, 2-OMe	PPh ₃ , A	27
5	4-F	5-SO ₂ Et, 2-OMe	PPh ₃ , A	19
6	3-MeO	5-SO ₂ Et, 2-OMe	PPh ₃ , A	49
7	4-MeO	5-SO ₂ Et, 2-OMe	PPh ₃ , A	58
8	3-Br	5-SO ₂ Et, 2-OMe	PPh ₃ , A	36
9	3-CN	5-SO ₂ Et, 2-OMe	PPh ₃ , A	1
10	4-CN	5-SO ₂ Et, 2-OMe	PPh ₃ , A	6
11	2-N(Me)COCH₂OAc	3-MeO, 4-(oxazol-4-yl)	pPPh ₃ , B	95
12	2-NO ₂	3-MeO, 4-(oxazol-4-yl)	pPPh ₃ , B	70
13	2-COOEt	3-MeO, 4-(oxazol-4-yl)	pPPh ₃ , B	50
14	H	3-MeO , 4-CN	pPPh ₃ , B	67
15	H	3-MeO , 4-COOEt	pPPh ₃ , B	69
16	H	3-CF ₃ , 4-CN	pPPh ₃ , B	50

Predpokladáme, že hlavným vplyvom substitúcií na aromatickom jadre, je vplyv na schopnosť systému vytvoriť keto-carbodiimid³⁷ a podporovať enol tautomériu v dostatočnej miere, aby mohol vzniknúť nový heterocyklus (Schéma 9). Pokiaľ pomer enolu nie je dostatočný, môžu prevládnúť iné reakčné procesy, čomu by nasvedčovali nízke výťažky reakcií. Elektróndonorné substituenty pomáhajú vzniku enolu, predovšetkým ak sa nachádzajú v *para* polohe.

³⁷ Takeuchi, H.; Yanagida, S.; Ozaki, T.; Hagiwara, S.; Eguchi, S. *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 431-434.

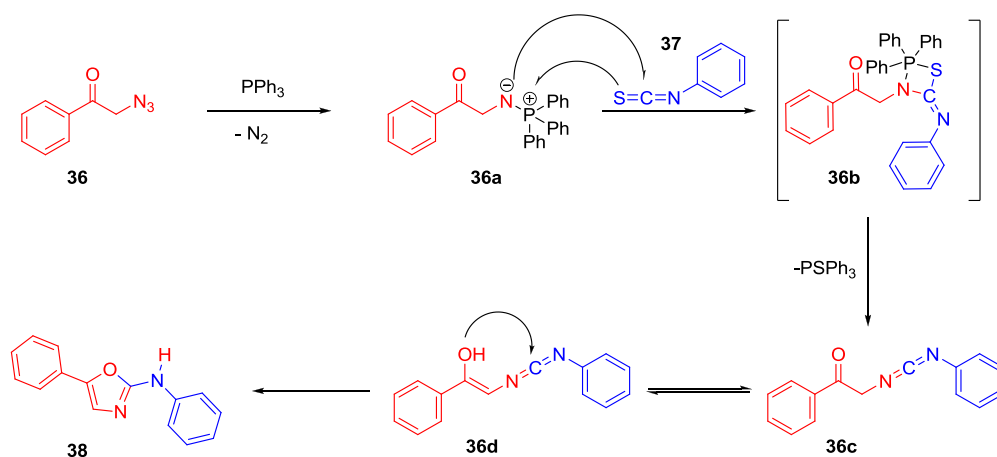


Schéma 9: Mechanizmus vzniku 2-aminooxazolu reakciou 2-azidoketónu a izotiokyanátu.

4.2. Príprava 2-aminooxazolov pomocou α -halogénacetofenónov a *N*-arylmočovínových derivátov

Ďalšou metódou je reakcia močoviny^{38,39}, resp. močovínových derivátov s α -halogénkarbonylmi⁴⁰ (Schéma 10). Podľa substitúcie halogénkarbonylu je možné pripraviť 4- alebo 5-substituovaný regioizomér⁴¹, a substitúcia je možná aj na močovine⁴². Tieto reakcie prebiehajú v polárnych rozpúšťadlách (vode⁴³, alkoholoch⁴⁴, DMF, CH₃CN, kyseline octovej atď.) za refluxu alebo aj pri mikrovlnnom ožarovaní⁴⁵. Výťažky tejto metódy sa pohybujú v širokom intervale (9-85%).

³⁸ Qui, X.-L.; Li, G.; Wu, G.; Zhu, J.; Zhou, L.; Chen, P.-L.; Lee, W.-H.; Chamberlin, A. R. *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 1757 - 1767.

³⁹ Koch, P.; Laufer, S. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 4798-4802.

⁴⁰ Pathak, V.N.; Goyal, M.K.; Jain, M.; Joshi, K.C. *J. Indian. Chem. Soc.* **1993**, 70, 539-542.

⁴¹ Kelly, T.R.; Lang, F. *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 4623-4633.

⁴² Butlin, R. J.; Davies, R.; McCoull, W. PCT Int. Appl. 141 502, 2007, *Chem. Abstr.* **2007**, 148, 055033.

⁴³ Lange, U. E. W.; Backfisch, G.; Delzer, J.; Geneste, H.; Graef, C.; Hornberger, W.; Kling, A.; Lauterbach, A.; Subkowski, T.; Zechel, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12, 1379 - 1382.

⁴⁴ Vieira, E.; Huwyôer, J.; Jolidon, S.; Knoflach, F.; Mutel, V.; Wichmann, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 6, 1666-1669.

⁴⁵ Collins, J. L.; Blanchard, S. G.; Boswell, G. E.; Charifson, P. S.; Cobb, J. E.; Henke, B. R.; Hull-Ryde, E. A.; Kazmierski, W. M.; Lake, D. H.; Leesnitzer, L. M.; Lehmann, J.; Lenhard, J. M.; Orband-Miller, L. A.; Gray-Nunez, Y.; Parks, D. J.; Plunkett, K. D.; Tong, W.-Q. *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 5037 - 5054.

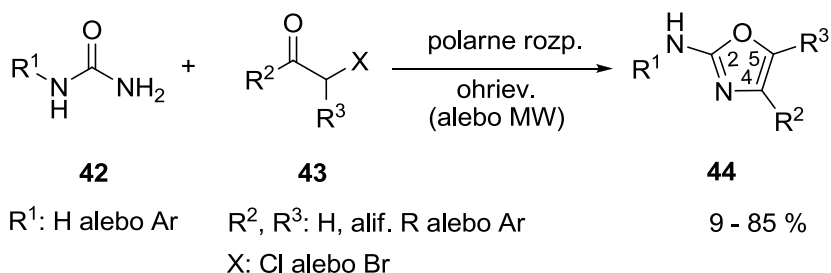


Schéma 10: Príprava oboch regioizomérov 2-aminooxazolov pomocou reakcie močoviny s α -halogénkarbonylmi ($X = \text{Cl}$ alebo Br).

Ide o relatívne univerzálnu metódu, keďže typ substitúcie definuje, aký derivát oxazol-2-amínu sa získa (Schéma 10). Táto metóda sa v literatúre najčastejšie používa na prípravu derivátov s primárnou NH_2 skupinou v polohe 2 na oxazole, t.j. reakcia samotnej močoviny⁴². Ale v niekoľko málo prípadoch sa použila na syntézu *N*,4- a *N*,5-disubstituovaných oxazol-2-amínov⁴³. Najčastejšie sa v literatúre objavuje príprava 2-aminooxazol-5-karboxylátov (Schéma 11).

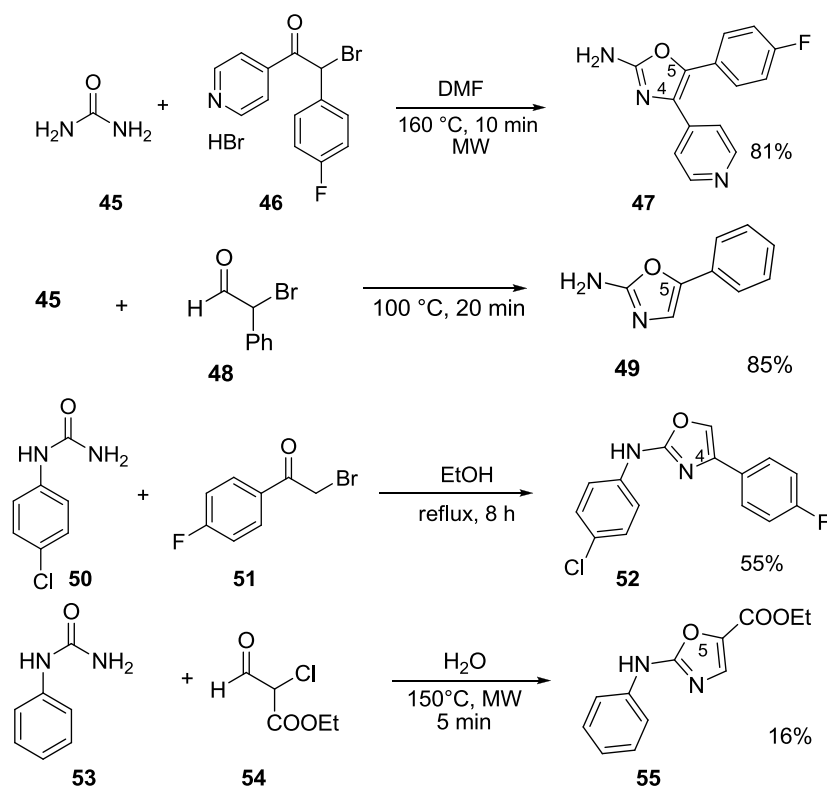


Schéma 11. Príklady použitia reakcie močoviny, resp. jej derivátu na prípravu oxazol-2-amínov.

Táto reakcia prebieha pravdepodobne mechanizmom, ktorého návrh je v Schéme 12. Reakcia začína nukleofilným atakom amidického dusíka na karbonylový uhlík a pokračuje nukleofilnou substitúciou brómu, pričom dôjde k uzavretiu kruhu. Požadovaný derivát oxazolu vznikne po eliminácii vody.

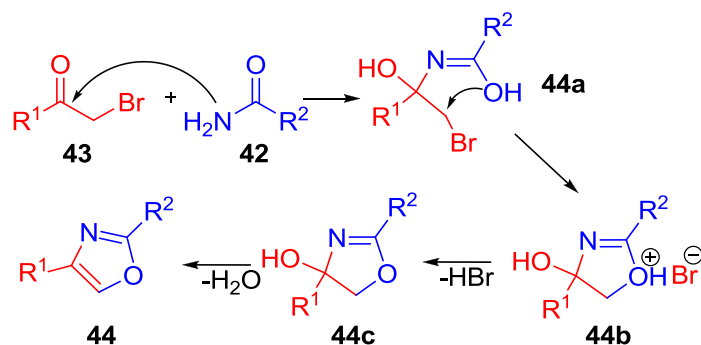


Schéma 12: Predpokladaný mechanizmus reakcie prípravy 2-aminooxazolov vychádzajúcej z α -halogénkarbonylov.

Zaujímavou obmenou tejto metódy je použitie 2,3-dichlóréteru napr. 2,3-dichlórtetrahydrofuránu (56)⁴⁶ alebo bis-(2,3-dichlóretyl)éteru (58)⁴⁷ (Schéma 13) namiesto α -halogénkarbonylu. V reakcii s močovinou dochádza k rozpojeniu éteru a vytvorenie nového heterocyklu oxazolu.

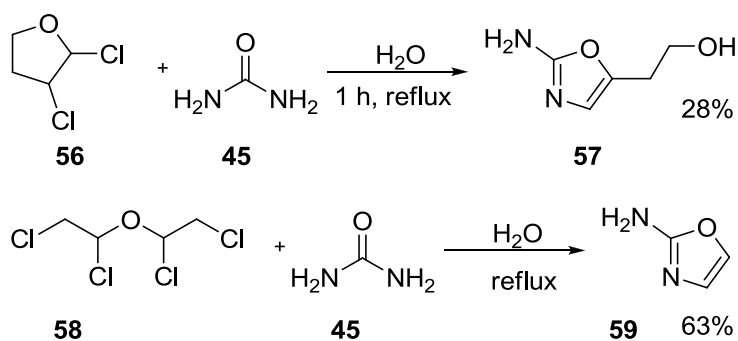


Schéma 13: Príprava 2-amino-5-(2-hydroxyetyl)oxazolu 57 a aminooxazolu 59..

⁴⁶ Reppe *Just. Lieb. Ann. Chem.* **1955**, 596, 117.

⁴⁷ Anderson, G. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1942**, 64, 2902.

4.3. Príprava oxazol-2-amínov pomocou 2-hydroxypyrimidínu (61)

Alifanov a Babaev⁴⁸ objavili nový netradičný spôsob prípravy oxazol-2-amínov v 3 stupňoch s dobrými výťažkami, pričom ako činidlo využili pyrimidín-2-ón (Schéma 14). Prvým stupňom syntézy je reakcia 2-brómacetofenónu s pyrimidín-2-ónom za prítomnosti bázy (napr. MeONa alebo K₂CO₃) v acetóne. V tomto stupni sa substituuje bróm NH skupinou pyrimidín-2-ónu. Druhým stupňom je vznik soli reakciou intermediátu **62** so silným dehydratačným činidlom ako je óleum, resp. zmes P₂O₅ a kys. trifluórsulfónovej. Kvôli lepšej izolácii sa do reakcie na záver pridá kyselina chloristá, pričom sa izoluje chloristanová soľ **63**. Posledným stupňom je otvorenie prikondenzovaného kruhu pomocou hydrazín hydrátu za vzniku amínooxazolového derivátu **64** (Schéma 14).

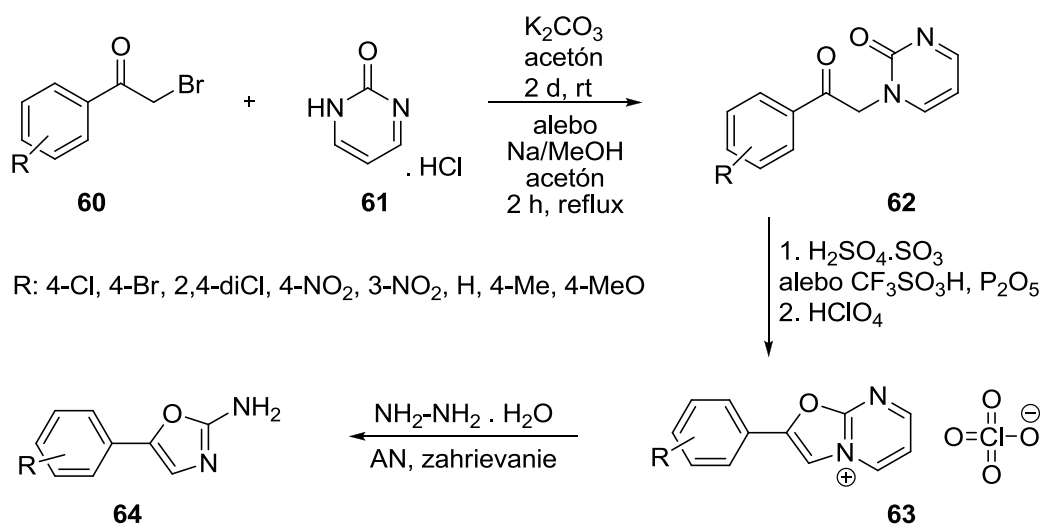


Schéma 14: Príprava oxazol-2-amínov **64** pomocou pyrimidín-2-ónu **61**.

Pre substitučnú reakciu brómu autori vyskúšali dvojrozmerných podmienok. Metóda A používala ako bázu uhličitan draselný a reakcia prebiehala pri rt 2 dni v suchom acetóne. Táto metóda síce vyžadovala dlhý čas ale výťažky sa pohybovali v rozsahu 70-95%. %. Druhá metóda využívala MeONa, pričom reakčný čas bol len 2 h za refluxu, no výťažky boli nižšie: 60 – 65 %. Metóda B bola použitá, ak substituenty acetofenónu boli elektrónakceptory, t.j. NO₂ alebo dva chlóry. Pre vznik oxazolového kruhu autori museli použiť silné kyseliny, tzv. „super kyseliny“ ako je napr. oleum alebo zmes P₂O₅ / CF₃SO₃H. Zistili, že ak kyselina

⁴⁸ Alifanov, V.L.; Babaev, E.V. *Synthesis* **2007**, 2, 263-270.

nie je dostatočne silná, izolujú z reakcie len soli východiskovej látky. Autori predpokladajú, že tento krok vyžaduje dvojnásobnú protonizáciu východiskovej látky a až potom vzniká nový cyklus, pričom sa na vznik aromatického systému eliminuje voda (Schéma 15).

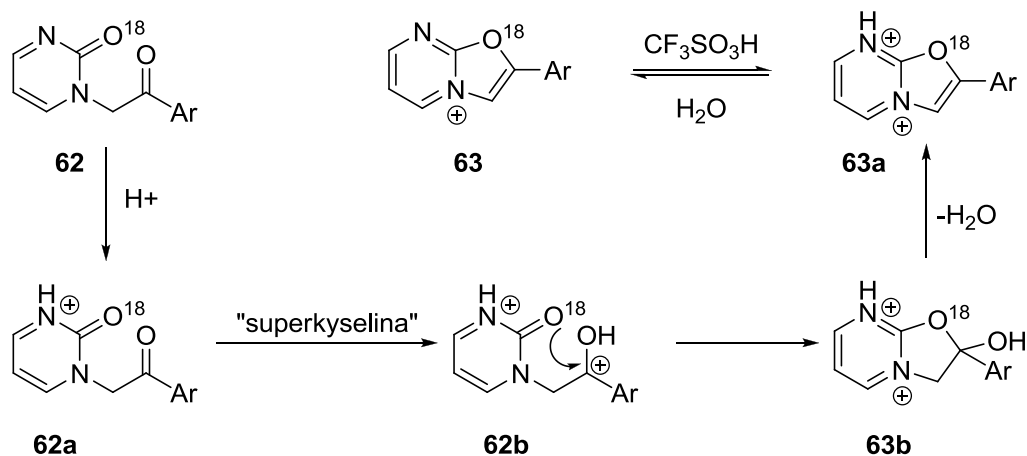


Schéma 15: Mechanizmus vzniku soli **63** pôsobením „superkyseliny“.

Tabuľka 4: Dehydratácia za vzniku oxazolo[3,2-a]pyrimidin-4-ia **63**.

	R	kyselina	čas	teplota	výtťažky
1	4-Cl	oleum	5 h	0°C	90%
2	4-Br	oleum	5 h	0°C	85%
3	2,4-diCl	oleum	24 h	0°C	83%
4	4-NO ₂	oleum	72 h	0°C	80%
5	3-NO ₂	oleum	72 h	0°C	87%
6	H	oleum	72 h	0°C	55%
7	H	CF ₃ SO ₃ H/P ₂ O ₅	3 h	90°C	79%
8	4-Me	CF ₃ SO ₃ H/P ₂ O ₅	3 h	90°C	75%

Posledným krokom tejto metódy je tzv. hydrazínolýza oxazolopyrimidíniových solí **63** za vzniku oxazol-2-amínov **64**. Reakcia prebiehala v suchom acetonitrile so zahrievaním na reflux počas 20 minút až do odfarbenia reakčnej zmesi. Výtťažky tejto reakcie sa pohybovali v intervale 82-96%. Štruktúra produktov bola dokázaná 1H NMR spektroskopiou a Röntgenovou štruktúrnou analýzou. Mechanizmus tejto reakcie má stupňovitý dvojitý adično-eliminačný priebeh (Schéma 16).

(Schéma 18). Vo väčšine prípadov sa v reakcii využíva báza ako napr. NaOH alebo EtONa na odtrhnutie vodíka z OH skupiny hydroxyketónu **65a**. Ako rozpúšťadlá sa používajú voda, alkoholy, THF alebo DMF, t.j. polárne rozpúšťadlá. Výťažky sa pohybujú skôr z nižších číslach a len málokedy sa produkt izoluje vo vyššom výťažku ako 50%. (Tabuľka 5)

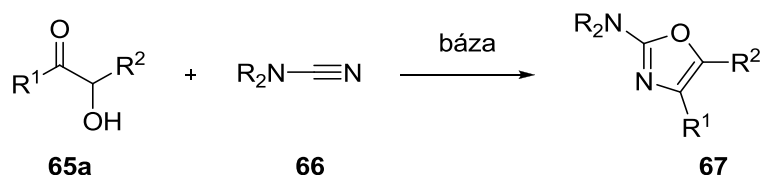


Schéma 18: Reakčná schéma prípravy 2-aminoxazolov **67** z kyánamidu **66** a 2-hydroxyketónu **65a**.

Tabuľka 5: Vybrané príklady pre reakciu zo Schémy 18.

	R	R ¹	R ²	podmienky	výťažok
1	H, H	H	H	NaOH, THF, H ₂ O, rt 24h	66% ⁵²
2	H, H	Et	Et	EtONa, EtOH, rt, 3,5 h	30% ⁵³
3	H, H	furán-2-yl	furán-2-yl	EtONa, EtOH, rt, 2 h	31% ⁵³
4	H, H	<i>t</i> -Bu	H	NaOH, AcONa, THF, H ₂ O, rt, 48h	41% ⁵⁴
5	H, H	3-brómfenyl	H	DMF, 10 min, 200°C, MW	24% ⁵⁵
6	H, H	H	CH ₂ OH	H ₂ O, NaOH, 2h, 60°C	66% ⁵⁶
7	H, <i>n</i> -Bu	Me	H	NaOH, dioxán, rt 2 h	73% ⁵⁷
8	H, <i>n</i> -Bu	Ph	H	NaOH, THF, rt, 2h	47% ⁵⁷
9	NH ₂ (C=NH)	<i>n</i> -propyl	<i>n</i> -propyl	HCl, EtOH, 2h, 45-50°C	97% ⁵⁸

⁵² Lapierre, J.-M.; Namdev, N. D.; Ashwell, M. A.; France, D. S.; Wu, H.; Hutchins, P. M.; Tandon, M.; Liu, Y.; Link, J. S. Ali, S. M.; Brassard, C. J.; Nicewonger, R. B.; Filikov, A.; Carazza, R. J. Int. Patent 123892, A2, 2007.

⁵³ Muto, S.; Itai, A. Eur. Patent 1512396, A1, 2005.

⁵⁴ Dumas, J.; Khire, U.; Lowinger, T. B.; Paulsen, H.; Riedl, B.; Scott, W. J.; Smith, R. A.; Wood, J. E.; Hatoum-Mokdad, H.; Johnson, J.; Lee, W.; Redman, A.; Sibley, R.; Renick, J. Eur. Patent 1047418, B1, 2005.

⁵⁵ Borman, R. A.; Coleman, R. A.; Clark, K. L.; Oxford, A. W.; Hynd, G.; Archer, J. A.; Aley, A.; Harris, N. V. Int. Patent 12263, A1, 2005.

⁵⁶ Powner, M.W.; Szostak, J.W.; Sutherland, J.D. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 46, 16677-16688.

⁵⁷ Neville, M. C.; Verge, J. P. US Patent 4122183, A1, 1978.

⁵⁸ Ulbricht, H.; Kramarczyk, K.; Tonew, M.; Hoffmann, H.; Wilke, I. *Pharmazie* **1992**, 47, 301-302.

Uvedená reakcia bola aplikovaná na rôznych substrátoch. Použitie 2-hydroxyketónov **65a** evokuje štruktúru cukrov (Schéma 19), ktoré prirodzene obsahujú keto aj hydroxyskupiny. Anastasi a col.⁵⁹ použili niekoľko rôznych fosforylovaných aj nefosforylovaných aldóz na prípravu zaujímavých 2-aminooxazolov napr. **69**. Výťažky sa pohybovali v intervale 40 – 70 %.

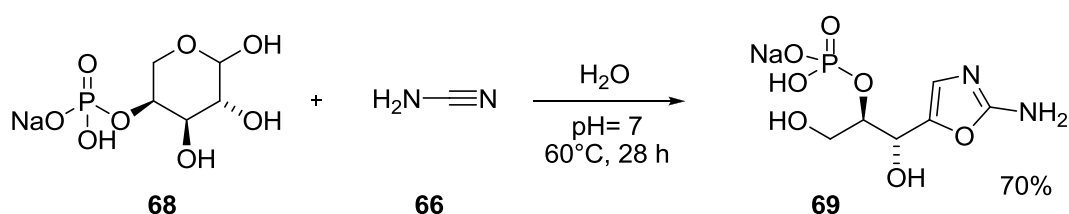


Schéma 19. Použitie cukru **68** ako 2-hydroxyketónu pri príprave 2-aminooxazolov **69**.

Katsura a kol.⁶⁰ použili túto metódu na prípravu série 2-aminooxazolov obsahujúcich guanidínovú jednotku, pričom do reakcie použili acetylom chránené hydroxyketóny napr. **70**. Acetyl bol počas reakcie odstránený v prítomnosti HCl (Schéma 20). Reakcie boli robené v dioxáne pri rt po dobu 24 h. Pripravili niekoľko 2-aminooxazolov napr. **71** s výťažkami v intervale 26 – 39 %.

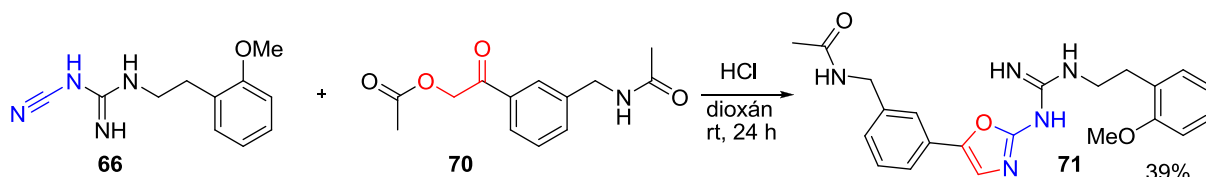


Schéma 20. Príklad využitia acetylom chráneného 2-hydroxyketónu **70** na prípravu 2-aminooxazolu **71**.

⁵⁹ Anastasi, C.; Buchet, F.F.; Crowe, M.A.; Helliwell, M.; Raftery, J.; Sutherland, J.D. *Chemistry - A. Eur. J.* **2008**, *14*, 2375-2388.

⁶⁰ Katsura, Y.; Nishimo, S.; Inoue, Y.; Sakane, K.; Matsumoto, Y.; Morinaga, C.; Ishikawa, H.; Takasugi, H. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1, 143-150.

4.4.2. Príprava oxazol-2-amínov z kyánamidu a 2-diazoketónu

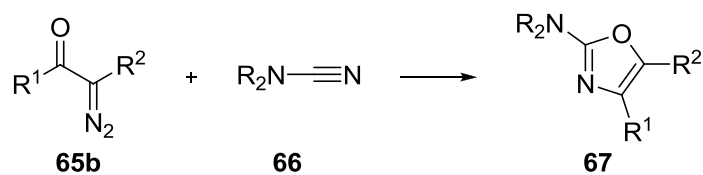


Schéma 21: Všeobecná schéma prípravy 2-aminooxazolov **67** z kyánamidu **66** a 2-diazoketónu **65b**.

Tabuľka 6: Vybrané príklady pre metódu zo Schémy 21.

	R	R ¹	R ²	podmienky	výtťažok
1	2x <i>i</i> -propyl	O- <i>t</i> -Bu	H	Rh ₂ Ac ₄ , benzén, 1 h, 80°C	41% ⁶¹
2	2x <i>i</i> -propyl	O-[2,6-di(<i>t</i> -Bu)-4-Me]Ph	H	Rh ₂ Ac ₄ , benzén, 0.5 h, 60°C	25% ⁶²
3	2x <i>i</i> -propyl	O-adamantyl	H	Rh ₂ Ac ₄ , benzén, 1 h, 80°C	33% ⁶²
4	2x <i>i</i> -propyl	O- <i>i</i> -propyl	H	Rh ₂ Ac ₄ , benzén, 1 h, 80°C	45% ⁶²
5	2x <i>i</i> -propyl	O-Et	H	Rh ₂ Ac ₄ , benzén, 1 h, 80°C	100% ⁶¹
6	2x <i>i</i> -propyl	4-metoxifenyl	H	Rh ₂ Ac ₄ , 1 h, 60°C	70% ⁶¹
7	2x <i>i</i> -propyl	4-nitrofenyl	H	Rh ₂ Ac ₄ , 1 h, 60°C	95% ⁶¹
8	2x <i>i</i> -propyl	Ph	H	Rh ₂ Ac ₄ , 1 h, 60°C	76% ⁶¹
9	2x <i>i</i> -propyl	4-metylfenyl	H	Rh ₂ Ac ₄ , 1 h, 60°C	83% ⁶¹
10	2x <i>i</i> -propyl	4-kyanofenyl	H	Rh ₂ Ac ₄ , 1 h, 60°C	79% ⁶¹
11	2x <i>i</i> -propyl	4-chlórofenyl	H	Rh ₂ Ac ₄ , 1 h, 60°C	75% ⁶¹
12	Me, Ph	4-nitrofenyl	H	Rh ₂ Ac ₄ , 1 h, 60°C	84% ⁶¹
13	2x Me	4-nitrofenyl	H	Rh ₂ Ac ₄ , 1 h, 60°C	82% ⁶¹
14	2x Et	4-nitrofenyl	H	Rh ₂ Ac ₄ , 1 h, 60°C	98% ⁶¹
15	2x Me	O-Et	Et ₃ Si	Rh(Oct) ₂ , 5 h, zahrievanie	54% ⁶³
16	H, <i>t</i> -Bu	4-nitrofenyl	H	Rh ₂ Ac ₄ , DCM, 1h, zahrievanie	33% ⁶¹

Fukushima a Ibata^{61,62} našli účinnú metódu na prípravu 2-aminooxazolov s rôznorodými aromatickými alebo O-viazanými substituentami v polohe 5 oxazolu. Táto metóda je veľmi užitočná ak na dusíku amino skupiny majú byť 2 alifatické substituenty, napr. Me, Et, *i*-Propyl, *t*-Bu alebo ich kombinácia (Tabuľka 6, 6-14), kedy táto metóda dáva 75-100% výtťažky pre 5-aryl-2-aminooxazoly. Aj pre 5-O-substituované produkty (Tabuľka 6, 1-5) reakcia je schopná dať produkty ale s nižšími výtťažkami (25-45%) až na výnimku 5-etoxy-

⁶¹ Fukushima, K.; Ibata, T. *Heterocycles* **1995**, 40, 1, 149-154.

⁶² Fukushima, K.; Lu, Y.-Q.; Ibata, T. *Bull. Chem. Soc. Jap.* **1996**, 69, 11, 3289-3296.

⁶³ Ducept, P.C.; Marsden, S.P. *Synlett* **2000**, 5, 692-694.

oxazol, ktorý sa vymykal a dával až kvantitatívny výťažok. Táto metóda je oveľa menej vhodná, kde sa do reakcie použije iba monosubstituovaný kyánamid (Tabuľka 6, 16), keď produkt bol izolovaný len s 33%-ným výťažkom.

Ducent a Marsden⁶³ použili Fukushima-Ibatovu metódu, pričom do polohy R² zaviedli Et₃Si chrániacu skupinu a ako katalyzátor použili oktanoát ródnatý. Výsledný 2-amino-oxazol získali s 54%-ným výťažkom, čo nepredstavovalo výrazné zlepšenie metódy

4.5. Príprava oxazol-2-amínov pomocou dichlórmetylén-dialkylimínium chloridu (73)

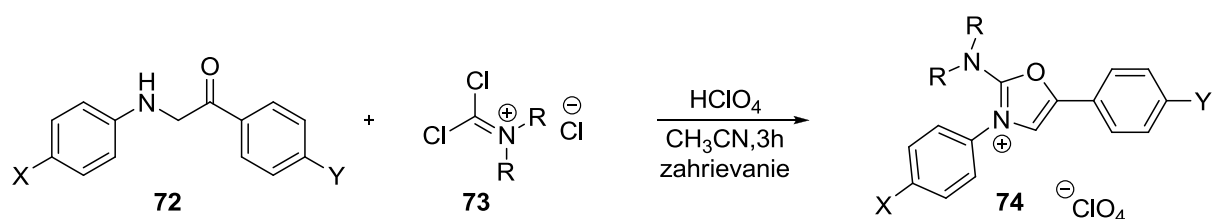


Schéma 21: Príprava oxazol-2-amínov **74** pomocou dichlórmetylén-dialkylimínium chloridu **73** a 2-aminoketónu **72**.

Tabuľka 7: Prehľad výťažkov reakcií opísanej Schémou 21.

	X	Y	R	výťažok
1	H	H	2x Me	88%
2	H	Me	2x Me	84%
3	Me	H	2x Me	72%
4	Me	Me	2x Me	77%
5	Me	Cl	2x Me	77%
6	MeO	Cl	2x Me	74%
7	Cl	H	2x Me	91%
8	Cl	Cl	2x Me	80%
9	Me	H	2x Et	73%
10	Cl	Cl	2x Et	72%

Moschny a Hartmann⁶⁴ využili dichlórmetylén-dimetylímínium chlorid a dichlórmetylén-dietylímínium chlorid v reakcii s 2-amino-1,*N*-diaryletyl-1-ónom, pričom vznikol príslušný *N,N*-dimetyl resp. *N,N*-dietyloxazol-2-amínový **74** (Schéma 21). Pozorovali vplyv

⁶⁴ Morschny, T.; Hartmann, H. *Helv. Chim. Acta* **1999**, 82, 11, 1981-1993.

substituentov v *para* polohách oboch aromatických kruhov. Výťažky sa pohybovali nad 70 %. Najlepšie výťažky sa dosiahli, keď substituent X bol chlór. V podstate, čím silnejší elektrón donor sa nachádzal pri X, tým slabšie výťažky sa získali. Vplyv elektrónových efektov pre polohu Y nie je úplne jasný. Výmena činidla za dichlórmetylén-dietylimínium chlorid mala len malý negatívny vplyv na výťažok.

4.6. Príprava oxazol-2-amínov prešmykom z izooxazolkarbodiimidov (76)

Pascual⁶⁵ prišiel na spôsob prípravy 2-amino-4-kyanooxazolov **77** s variabilnými substituentami R² v polohe 5 oxazolu a na dusíku NH₂ skupiny (R¹). Z izooxazol-4-tiomočovínového derivátu **75** pripravil príslušné karbodiimidy **76** a tie poskytovali prešmyk na 2-aminooxazol (Schéma 22). Pripravil sériu látok líšiacich sa substituentami R¹ a R² (Tabuľka 8), pričom výťažky sa až na jeden prípad č. 10 pohybovali v rozmedzí 82 – 97 %, pričom jedinou zmenou v reakčných podmienkach bol čas. Táto metóda má nevýhodu, že na oxazolovom skelete ostáva 4-kyano skupina, čím sa použitie tejto metódy limituje.

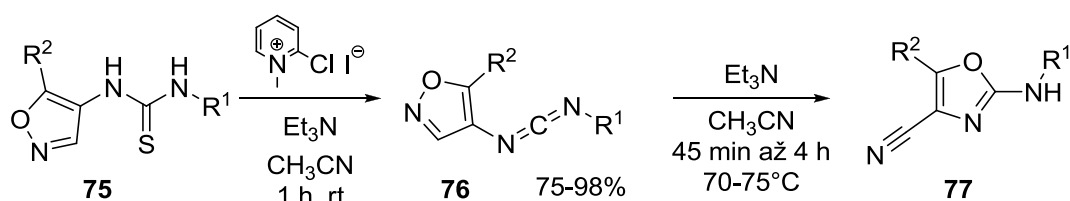


Schéma 22: Príprava 2-amino-4-kyanooxazolov **77** Pascualovou metódou.

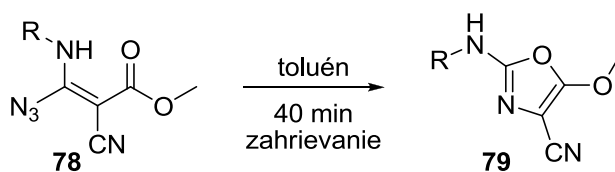
⁶⁵ Pascual, A. *Helv. Chim. Acta* **1989**, 72, 556-569.

Tabuľka 8: Prehľad výsledkov experimentov uskutočnených podľa Schémy 22 s rôzne substituovanými substrátmi.

	R1	R2	čas	výtťažok
1	<i>i</i> -propyl	H	45 min	97%
2	<i>i</i> -propyl	<i>i</i> -propyl	2.5 h	95%
3	<i>i</i> -propyl	Me	4 h	92%
4	<i>i</i> -propyl	<i>t</i> -Bu	3 h	92%
5	<i>t</i> -Bu	Me	4 h	92%
6	<i>t</i> -Bu	H	45 min	91%
7	<i>n</i> -propyl	Me	2 h 20 min	91%
8	2,6-diMePh	Me	1 h	87%
9	Me	Me	1.5 h	82%
10	Ph	Me	25 min	40%

4.7. Príprava 4-kyano-5-metoxoxazol-2-amínov (79) prešmykom

Saalfank a kol.^{66,67,68} prišli na účinný spôsob prípravy 4-kyano-5-metoxoxazol-2-amínov **79** z metylesterov kyselín 3-(*R*-amino)-3-azido-2-kyanopropán-2-énových **78**. Pri tejto reakcii dochádza kprešmyku spolu s rozkladom N₃ (odštiepením N₂) a následnému ataku uhlíka karboxylu. Autori takto pripravili niekoľko oxazol-2-amínov s rôznym substituentom *R* (Schéma 23) za zahrievania v toluéne, pričom výtťažky sa pohybovali v rozsahu 43 – 97 %. Komplikovanosť východiskových látok ako aj nutná prítomnosť -CN a -OMe skupín v produkte limituje využitie tejto metódy.



⁶⁶ Saalfank, R.W.; Fischer, M.; Wirth, U.; Zimmermann, H. *Angew. Chem.* **1987**, 99, 11, 1218-1219.

⁶⁷ Saalfank, R.W.; Ackermann, E.; Fisher, M.; Wirth, U.; Zimmermann, H. *Chem. Ber.* **1990**, 123, 1, 115-120.

⁶⁸ Saalfank, R.W.; Lurz, C.-J.; Hassa, J.; Danion, D.; Toupet, L. *Chem. Ber.* **1991**, 124, 3, 595-608.

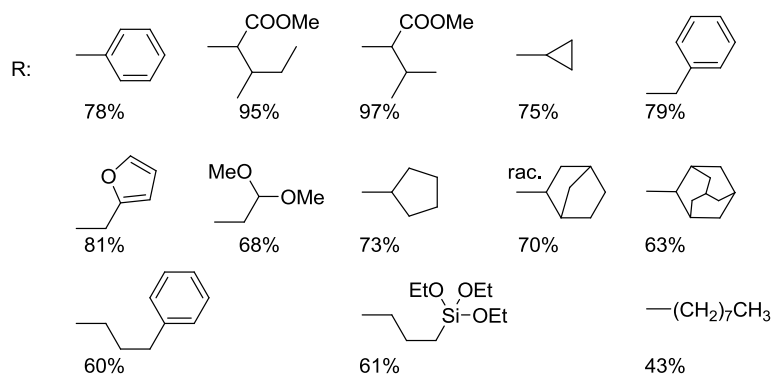


Schéma 23: Intramolekulová cyklizácia metylesterov kyselín 3-(R-amino)-3-azido-2-kyanopropán-2-énových **78** za vzniku aminoxazolov **79**..

4.8. Aminooxazoly **83** z O-propargylpseudomočovínových derivátov **81**

Overman a Roos⁶⁹ pripravili z propargylalkoholov **80** a kyanamidov **66** pseudomočovíné deriváty **81**, ktoré za prítomnosti diizopropyletylamínu zahrievaním na 140, alebo 205 °C v xylénoch pod inertným plynom poskytli pyridinóny **82** (13 – 69 %) a oxazol-2-amíny **83** (0 – 73 %). Oxazol-2-amíny **83** tu vznikajú skôr ako vedľajšie produkty. Len v dvoch prípadoch (Tabuľka 9, riadky 3 a 8) bol majoritným produktom oxazol **83**, pričom v jednom prípade vznikol selektívne (Tabuľka 9, riadok 8).

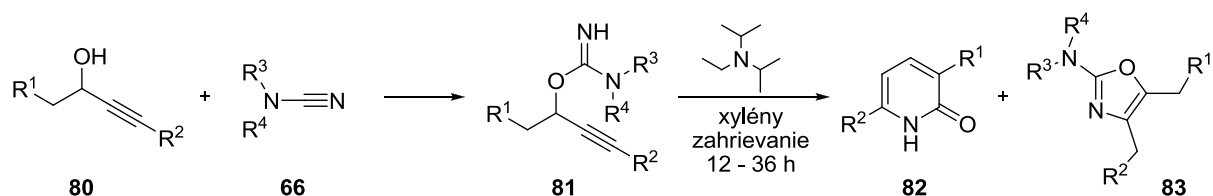


Schéma 24: Overman-Rosova príprava pyridinónov **82** a 2-aminooxazolov **83**.

⁶⁹ Overman, L.E.; Roos, J.P. *J. Org. Chem.* **1981**, 46, 4, 811-813.

Tabuľka 9: Výťažky získaných pyridinónov **82** a oxazolov **83** z pseudomočovín **81**.

	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	teplota (h)	čas (°C)	výťažok (%)	
							pyridinón	oxazol
1	Et	Ph	(CH ₂) ₄		140	20	54	38
2	Et	Ph	Me	Ph	140	28	69	11
3	Et	H	(CH ₂) ₄		140	24	13	31
4	Et	H	Me	Ph	140	20	41	27
5	Et	H	(C ₆ H ₄) ₂		205	36	28	0
6	Et	2,5-diMeOPh	(CH ₂) ₄		140	24	14	16
7	Et	2,5-diMeOPh	Me	Ph	140	24	46	39
8	Et	2,5-diMeOPh	(C ₆ H ₄) ₂		205	12	0	73

5. Metódy prípravy oxazolov s vodíkom v polohe 2

Ďalším spôsobom prípravy oxazol-2-amínov je substitúcia chlóru v polohe 2 za amín príslušného anilínového derivátu (Schéma 24). 2-Chlóroxazol sa dá pripraviť z oxazolu substitúciou s hexachlóretánom⁷⁰, POCl₃⁷¹ alebo NCS⁷² a silnou lítnou bázou napr. n-BuLi⁷³ alebo LiHMDS³³ ktoré sú schopné vodík v polohe 2 odtrhnúť. Z tohto dôvodu je pre nás zaujímavé nájsť metódy aj na prípravu oxazolov s vodíkom v polohe 2.

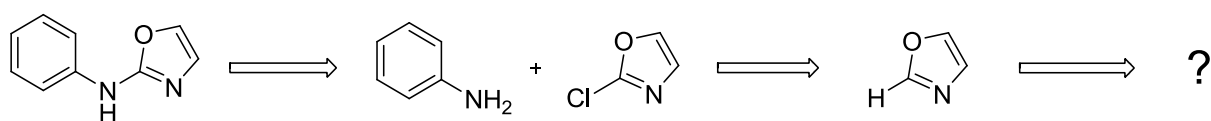


Schéma 24: Retrosyntéza N-aryl-oxazol-2-amínu z oxazolu s vodíkom v polohe 2.

5.1. Príprava oxazolov 86 z izokyannátov 84

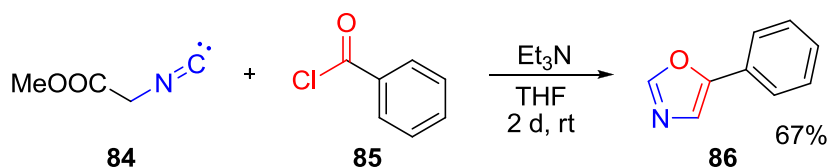


Schéma 25: Reakcia acylchloridov napr. **85** s esterom kyseliny 2-izokyanooctovej **84**

Značne rozšírenou metódou je reakcia acylchloridov napr. **85** s esterom kyseliny 2-izokyanooctovej napr. **84**⁷⁴ a príbuznými izokyanozlúčeninami so susediacim uhlíkom, z ktorého je možné odtrhnúť vodík pomocou báz ako napr. trietylamin⁷⁵, NaH, BuLi a K₂CO₃. Po odtrhnutí vodíka z metylénu **84** nasleduje nukleofilná substitúcia chlóru na karboxylovom

⁷⁰ Atkins, J. M.; Vedejs, E. *Org. Lett.* **2005**, 7, 15, 3351 – 3354.

⁷¹ Kameda, M.; Kobayashi, K.; Ito, H.; Miyazoe, H.; Tsujino, T.; Nakama, C.; Kawamoto, H.; Ando, M.; Sato, N.; Ito, S.; Suzuki, T.; Kanno, T.; Tokita, S.; Tanaka, T.; Tahara, Y.; Tani, T.; Tanaka, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 15, 4325 – 4329.

⁷² Sherry, B. D.; Chen, Y.-C. J.; Mangion, I. K.; Yin, J. *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 7, 730 - 732

⁷³ Egan, B. A.; Marquez, R.; Paradowski, M.; Thomas, L. H. *Tetrahedron* **2011**, 67, 50, 9700 – 9707.

⁷⁴ Hamada, Y.; Makino, K. Int. Patent 75651, A1, 2006,.

⁷⁵ Suzuki, M.; Iwasaki, T.; Miyoshi, M.; Okumura, K.; Matsumoto, K. *J. Org. Chem.* **1973**, 36, 3571-3575.

uhlíku **85** a na záver dochádza k uzatvoreniu kruhu reakciou kyslíku karbonylu s koncovým uhlíkom izokyano skupiny. V reakcii sa namiesto chloridov kyselín môžu použiť aj anhydridy⁷⁶, estery⁷⁷, selenoestery v prítomnosti Cu₂O^{78,79} ale aj aldehydy⁸⁰ a imíny⁸¹. Výťažky týchto reakcií sa väčšinou pohybujú nad 65%.

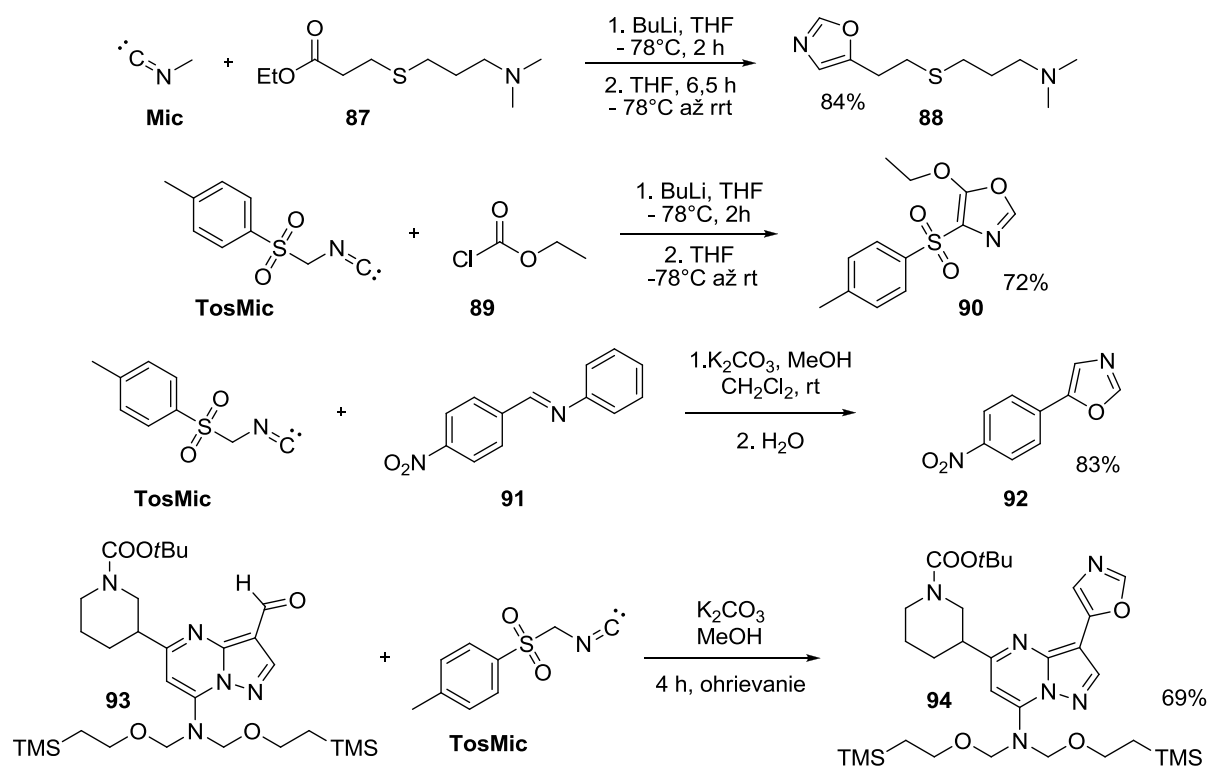


Schéma 26: Niekoľko príkladov na prípravu oxazolov s 2-izokyanometylénovými derivátmi

Okrem esterov kyseliny 2-izokyanooctovej sa dá použiť aj napr. metylizokyanid⁷⁷, toluénsulfonylmetylizokyanid (TOSMIC)⁸², dietylizokyanometylfosfonát⁸³ (Schéma 26). Najčastejšie používaným činidlom je TOSMIC, pričom jeho vodíky na metyléne sú dostatočne kyslé, aby sa dal použiť ako báza aj uhličitan draselný v metanole. Ak sa použije

⁷⁶ Chen, G.; Cushing, T. D.; Fisher, B.; He, X.; Li, K.; Li, Z.; McGee, L. R.; Pattaropong, V.; Faulder, P.; Segansh, J. L.; Shin, Y.; Wang, Z.; Liu, W. Int. Patent 158011, A1, 2009.

⁷⁷ Rusch, M.; Hedberg, C.; Zahov, S.; Lehr, M.; Vetter, I. R. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 1100-1112.

⁷⁸ Kozikowski, A.P.; Ames, A. *Tetrahedron* **1985**, 41, 21, 4821-4834.

⁷⁹ Kozikowski, A.P.; Ames, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 2, 860-862.

⁸⁰ Chandhok, M.; Hudyma, R. US Patent 082900, A1, 2007.

⁸¹ Ogihara, A.; Sakai, H.; Matsui, N.; Miyazaki, H. Eur. Patent 1371649, A1, 2003.

⁸² Baxendale, I.R. Buckle, C.D., Ley, S.V. Tamborini, L. *Synthesis* **2009**, 9, 1485-1493.

⁸³ Baumann, M.; Baxendale, I.R.; Ley, S.V.; Smith, C.D.; Trammer, G.K. *Org. Lett.* **2006**, 8, 23, 5231-5234.

tento systém, dochádza k odštiepenie tozylu zo vzniknutého oxazolu. Ak sa ako báza použije n-Buli s chladením na -78°C, tosyl ostáva na heterocykle (Schéma 26, príklad 2).

5.2. Reakcia formamidu s 2-brómketónom 95

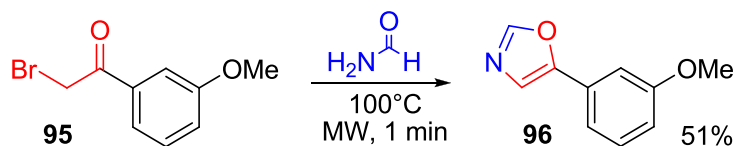


Schéma 27: Príklad prípravy oxazolov **96** z formamidu a 2-brómacetofenónového derivátu **95**.

Táto metóda je analógiou pre reakcie močoviny resp. jej derivátu s 2-brómkarbonylmi spomenutej v predchádzajúcej kapitole. Rozdielom je, že zatiaľ čo v močovinevej metóde na prípravu oxazol-2-amínov sa ako rozpúšťadlo používa etanol alebo voda, tu sa ako rozpúšťadlo používa priamo formamid. Reakcia sa väčšinou zahrieva na $130\text{--}180^\circ\text{C}$ ⁸⁴ po dobu 1 - 4⁸⁵ hodín alebo aj v mikrovlnnom reaktore⁸⁶. Výtazky reakcií sa pohybujú v rozsahu 50-65%⁸⁷. Zaujímavou je trojzložková reakcia, kedy sa k zmesi kyseliny mravčej a 2-brómketónu fúka amoniak počas zahrievania⁸⁸ (Schéma 27).

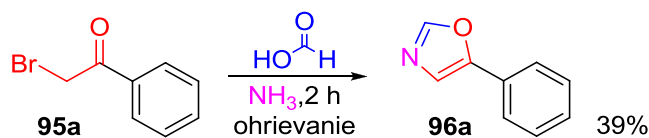


Schéma 28: Reakcia 2-brómacetofenónu **95a** s kyselinou mravčou a amoniakom

⁸⁴ Nakamura, T.; Sato, M.; Kahinuma, H.; Mizata, N.; Taniguchi, K.; Bando, K.; Koda, A.; Kameo, K. *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 25, 5416-5427.

⁸⁵ Howard, J.; Fordice, M. W.; Greenwald, R. B.; Hannah, J.; Jacobs, A.; Ruyle, W. V.; Walford, G.L.; Shen, T. Y. *J. Med. Chem.* **1978**, 21, 1100-1104.

⁸⁶ Myllymäki, M.; Castillo-Melendez, J.; Koskinen, A.; Minkkilä, A.; Saario, S.; Nevalainen, T.; Järvinen, T.; Poso, A.; Salo-Ahen, O.; Patent 129129, A1, 2008.

⁸⁷ Lafontaine, J.A.; Day, R.F.; Dibrino, J.; Hadcock, J.R.; Hargrove, D.M.; Linhares, M.; Martin, K.A.; Tristan S.; N.; Nancy A., T.; DaSilva-Jardine, P. *Bioorg. Med. Che. Lett.* **2007**, 17, 18, 5245-5250.

⁸⁸ Whitney, S. E.; Winters, M.; Rickborn, B. *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 3, 929-935.

PRAKTICKÁ ČASŤ

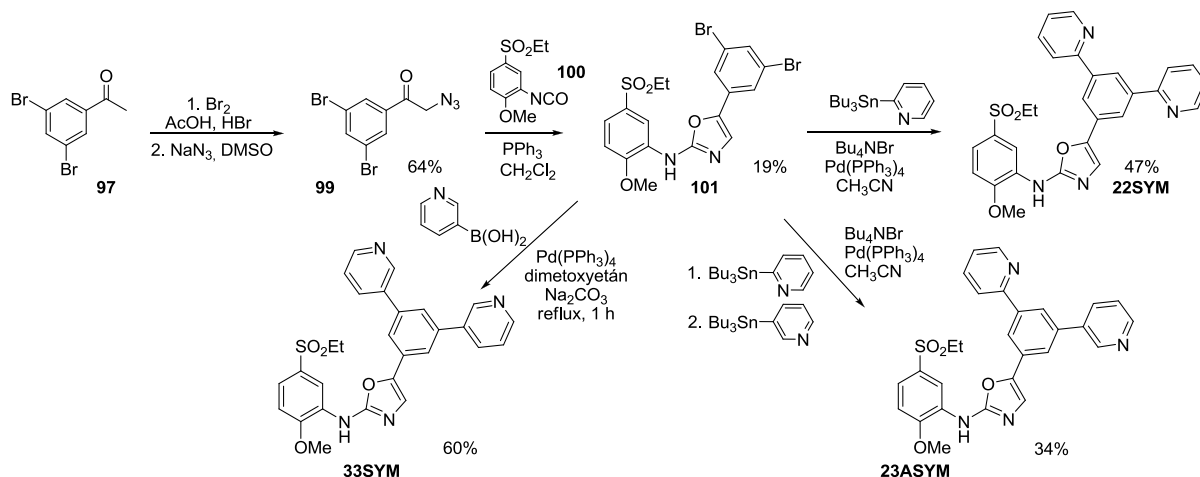
Metódy a materiál

Potrebné chemikálie a činidlá sa kupovali od firiem Sigma Aldrich, Merck, Fluka alebo Acros. Rozpúšťadlá sa sušili pomocou CaH_2 , alebo sodíkom a na skladovanie suchých rozpúšťadiel sa použili molekulové sitá $4\text{\AA}$. Reakcie vyžadujúce suché podmienky sa vykonali pod atmosférou argónu. Na TLC analýzu sa používali Merck F_{254} s vrstvou SiO_2 na hliníkovej platni. Na detekciu škvr sa použila UV lampa (254 nm) alebo jódové výpary. Na chromatografii sa stĺpci SiO_2 bol použitý Silica, Merck 60 (40 – 63 μm). Teploty topenia boli stanovované na Koflerovom aparáte alebo na Barnstead Electrothermal IA9200.

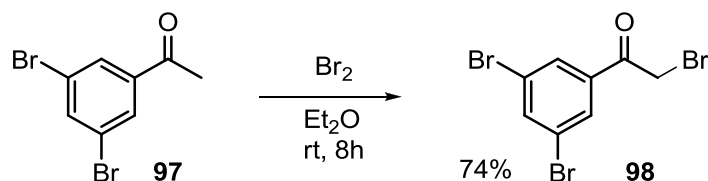
IČ spektrá boli merané na prístroji FT-IR-ART REACT IR 1000 (ASI Applied Systems) v oblasti $650 - 4\,002\text{ cm}^{-1}$ na diamantovom detektore bez rozpúšťadiel oproti vzduchu. Elementarne analýzy (C, H, N) sa získali pomocou Vario MICRO Cube. ^1H NMR a ^{13}C NMR spektrá sa merali na Varian Gemini spektrometri (300 MHz pre ^1H alebo 75 MHz pre ^{13}C) v CDCl_3 alebo $\text{DMSO}-d^6$. Chemické posuny sa udávali v ppm vzhľadom na tetrametylsilán a interakčné konštanty (J) sú uvedené v Hz.

1. Príprava bispyridylových derivátov ligandu z komplexu PDB: 1Y6A

1.1. Príprava bispyridylových derivátov s couplingom v poslednom stupni



1.1.1. Syntéza 2-bróm-1-(3,5-dibrómfenyl)etanónu (**98**)



Do roztoku 1.00 g 3',5'-dibromacetofenónu (**97**) (3.60 mmol, 1.00 mol ekv) v 15 ml dietyléteru sa počas 15 min prikvapkávalo 575 mg brómu (3.60 mmol, 1.00 mol ekv) pri rt. Reakčná zmes sa miešala 8 h bez prítomnosti vzdušnej vlhkosti (chlórkalciový uzáver), počas ktorých sa zmes odfarbila. Na odstránenie zvyškov brómu sa použila extrakcia s vodným roztokom Na₂S₂O₃. Po oddelení vodnej vrstvy sa táto extrahovala 2 x 15 ml Et₂O. Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad bezvodým Na₂SO₄, sušidlo sa odfiltrovalo a rozpúšťadlo sa odparilo. Získalo sa 1.03 g oranžovo-hnedého tuhého materiálu, ktorý mohol obsahovať aj malé množstvo bisbrómovaného produktu. Ten sa odstránil kryštalizáciou zo zmesi Et₂O / hexán. Výťažok produktu **98** bol 950 mg (2.66 mmol, 74 %).⁸⁹

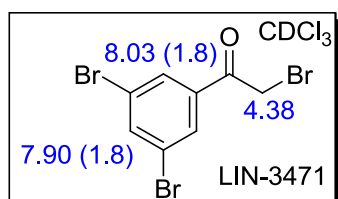
⁸⁹ Dauben, W.G.; Evans, W.L.; Meltzer, R.I. *J.Am.Chem.Soc.* **1941**, 63, 1883-1885. (analogicky na inom substráte)

TLC (SiO₂, Hex, 6x vyvolané) R_f = 0.31

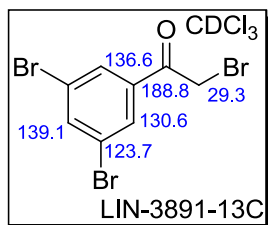
T.t. 65 - 68 °C [Et₂O]

Elem. An. počítané na C₈H₅Br₃O (356.84): C, 26.93; H, 1.41; Br, 67.18. merané: C, 26.63; H, 1.38; Br, 67.06%.

IČ v(tuhé): 3080 (m, arom. C-H), 2997 (m, alif. C-H), 1700 (s, C=O), 1552 (s), 1408 (s), 1382 (m), 1188 (s), 1158 (m), 736 (s) cm⁻¹.

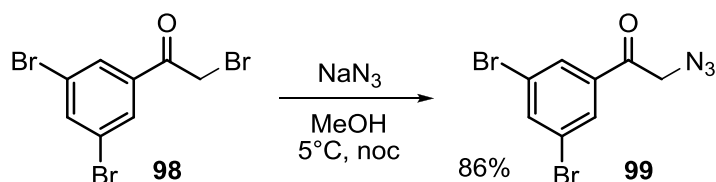


¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.03 (d, 2H, *J* = 1.8, C₂-H), 7.90 (t, 1H, *J* = 1.8, C₄-H), 4.38 (s, 2H, CH₂).



¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 188.8 (C=O), 139.1 (C₄), 136.6 (C₁), 130.6 (C₂), 123.7 (C₃), 29.3 (CH₂).

1.1.2. Príprava 2-azido-1-(3,5-dibrómfenyl)etanónu (99)



K roztoku 950 mg tribrómoacetofenónu **98** (2.66 mmol, 1.00 mol ekv) v 33 ml MeOH ochladeného na 0 °C sa prisypalo 194 mg NaN₃ (2.98 mmol, 1.12 mol ekv) a pri 0 °C sa zmes miešala 1 h. Následne sa banka premiestnila do chladničky (5 °C) a reakčná zmes sa nechala stáť cez noc. Na druhý deň sa MeOH odparil a získaná červená tuhá hmota sa extrahovala medzi 75 ml Et₂O a 75 ml vody. Vodná vrstva bola extrahovaná ešte 2 x rovnakým množstvom Et₂O. Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad bezvodým Na₂SO₄, sušidlo sa odfiltrovalo a rozpúšťadlo sa odparilo na RVO. Takto sa získal červený tuhnúci materiál, ktorý sa dal čistiť pomocou kryštalizácie zo zmesi Et₂O / hexán. Výťažok produktu **99** bol 729 mg (2.29 mmol, 86%).²

Poznámky:

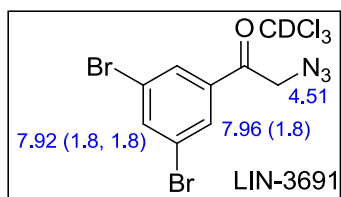
- produkt má tendenciu sa rozkladať za ohrievania, v polárnych rozpúšťadlách ako napr. DMSO a etanol
- pri reakcii v metanole bola pozorovaná ďalšia neznáma látka, ktorá bola v NMR spektre podobná produktu (predpoklad, že ide o 2-metoxyderivát, bol vyvrátený neprítomnosťou MeO signálu v NMR spektrách)
- kontakt so silikagélom tiež vedie k rozkladu produktu

T.t. 73-74 °C s rozkladom

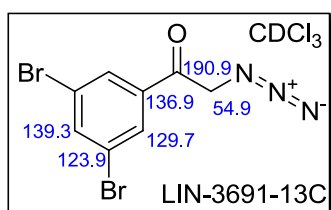
TLC (SiO₂, Hex, 6 x vyvolané) R_f = 0.14

Elem. An. počítané. na C₈H₅Br₂N₃O (318.95): C, 30.13; H, 1.58; Br, 50.10; N, 13.17. merané: C, 30.05; H, 1.48; Br, 50.23; N, 13.01.

IČ v (tuhé): 3074 (m, arom. C-H), 2917 (m, alif. C-H), 2104 (m, N₃), 1693 (s, C=O), 1614 (m, C=C), 1544 (m, C-C), 1410 (m, =CH), 1363 (m, =CH), 1249 (m, C-N), 1208 (s), 740 (w) cm⁻¹.

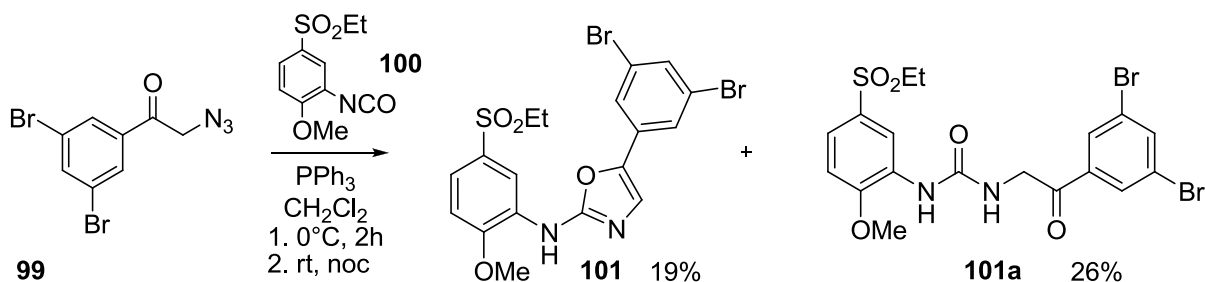


¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.96 (d, 2H, *J*(2,4) = 1.8, C₂-H), 7.92 (t, 1H, *J*(2,4) = 1.8, C₄-H), 4.51 (s, 2H, CH₂)



¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 190.9 (C=O), 139.3 (C₄), 136.9 (C₁), 129.7 (C₂), 123.9 (C₃), 54.9 (CH₂).

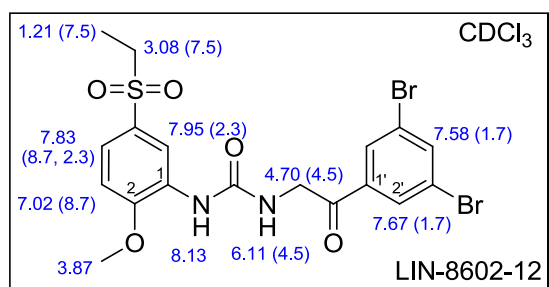
1.1.3. Príprava 5-(3,5-dibrómfenyl)-*N*-(5-etylsulfonyl-2-metoxyfenyl)oxazol-2-amínu (101)



Tt = 149 – 153 °C [EA/Hex]

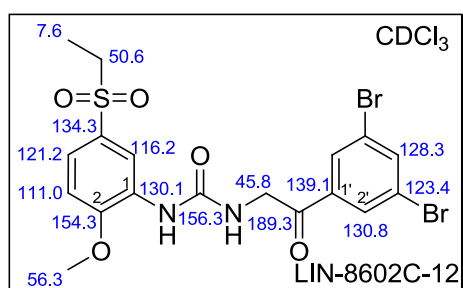
Elem. An. počítané. na $C_{18}H_{18}Br_2N_2O_5S$ (534.22): C, 40.47; H, 3.40; Br, 29.91; N, 5.24; S, 6.00. merané: C, 40.27; H, 3.19; Br, 29.89; N, 5.41; S, 6.10.

IČ v (tuhé): 3325 (m, NH), 3072 (w), 2940 (w), 1744 (s, C=O), 1654 (s, C=O), 1594 (s), 1524 (s), 1411 (s), 1370 (m), 1305 (s), 1260 (s), 1228 (s), 1130 (s), 1084 (m), 1019 (w), 836 (w), 815 (w), 774 (w), 738 (m).



¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 8.13 (s, 1H, Ar-NH-CO), 7.95 (d, 1H, $J(4,6)$ = 2.3 Hz, C₆-H), 7.83 (dd, 1H, $J(3,4)$ = 8.7, $J(4,6)$ = 2.3 Hz, C₄-H), 7.67 (d, 2H, $J(2',4')$ = 1.7 Hz, C_{2'}-H), 7.58 (t, 1H, $J(2',4')$ = 1.6 Hz, C_{4'}-H), 7.02 (d, 1H, $J(3,4)$ = 8.7 Hz, C₃-H), 6.11 (t, 1H, $J(NH,CH_2)$

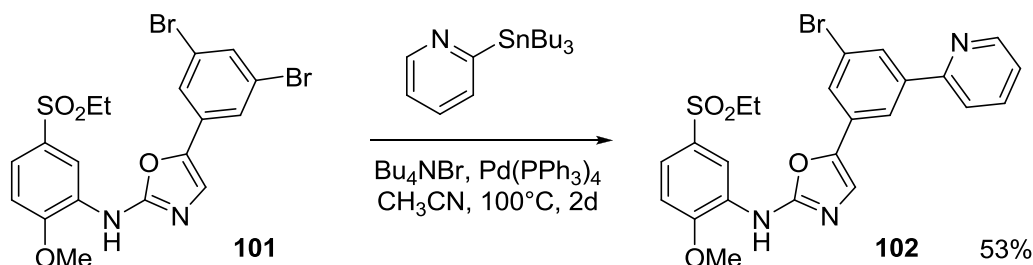
= 4.5 Hz, CO-NH-CH₂), 4.70 (d, 2H, $J(NH,CH_2)$ = 4.5 Hz, CO-NH-CH₂), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.08 (q, 2H, J = 7.5 Hz, -CH₂-), 1.21 (t, 3H, J = 7.5 Hz, -CH₃).



¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 189.3 (CH₂CO), 156.3 (NH-CO-NH), 154.3 (C₂), 139.1 (C_{1'}), 134.3 (C₅), 130.8 (C_{2'}), 130.1 (C₁), 128.3 (C_{4'}), 123.4 (C_{3'}), 121.2 (C₄), 116.2 (C₆), 111.0 (C₃), 56.3 (OMe), 50.6 (SO₂CH₂CH₃), 45.8 (CH₂CO), 7.6 (SO₂CH₂CH₃).

1.1.4. Príprava

5-[3-bróm-5-(pyrid-2-yl)-fenyl]-*N*-(5-etylsulfonyl-2-metoxifenyl)oxazol-2-amínu (102)



Do suchej ampulky sa navážilo postupne 50 mg východiskovej látky **101** (0.10 mmol, 1.00 mol ekv), 32 mg tetratylamónium bromidu (0.10 mmol, 1.00 mol ekv), 7.0 mg tetrakistrifenyfosfín paládia (6 μ mol, 0.06 mol ekv) a prikvapkal sa 36 mg tri(n-butyl)pyrid-

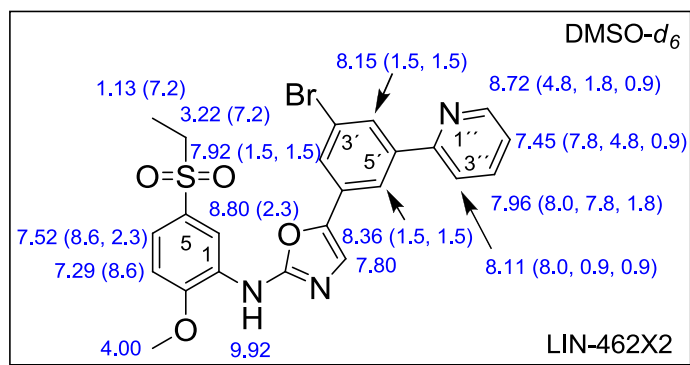
2-ylcí (0.10 mmol, 1.00 mol ekv) nu. Na záver sa pridal 1 ml AN. Ampula bola zatavená a reakčná zmes sa po dobu 2 dní zahrievala na 100 °C bez miešania. Následne sa ampula otvorila a jej obsah sa preliat do zmesi 10 ml 1M vodného KF a 20 ml EA a nechal sa miešať 3 h. Po oddelení organickej vrstvy sa vodná vrstva ešte raz extrahovala EA. Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad bezvodým Na₂SO₄, prefiltrovali sa a rozpúšťadlo sa odparilo. Produkt sa čistil chromatografiou na SiO₂ s elučným systémom EA/H (2 / 1). Získal sa biely prášok 27 mg (0.05 mmol, 53%). Chromatografiou sa dalo získať aj malé množstvo bispyridylovaného produktu ~5% a východiskovej látky ~10%.²

T.t. 183 – 186 °C (EA)

TLC (SiO₂, EA/H, 1 / 1) R_f = 0.54

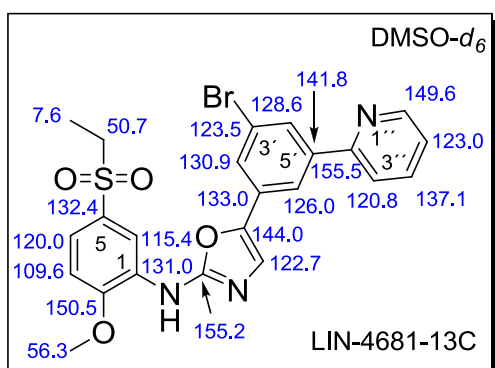
Elem. An. počítané. na C₂₃H₂₀BrN₃O₄S (514.39): C, 53.70; H, 3.92; Br, 15.53; N, 8.17; S, 6.23. merané: C, 53.52; H, 3.86; Br, 15.57; N, 8.00; S, 6.02

IČ v (tuhé): 3342 (w, NH), 3102 (m, arom. C-H), 2923 (m, alif. C-H), 1602 (m), 1575 (s), 1425 (m), 1306 (m), 1263 (m), 1122 (s), 1083 (m), 1020 (w), 734 (m, C-Br), 717 (m) cm⁻¹.



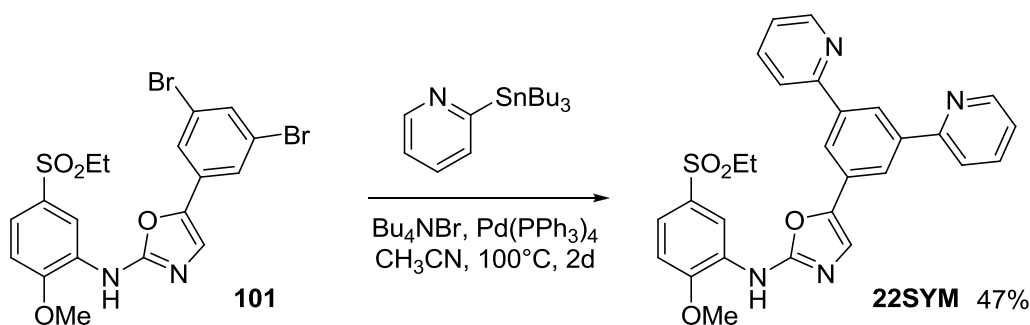
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.92 (s, 1H, NH), 8.80 (d, 1H, *J* (4,6) = 2.3 Hz, C₆-H), 8.72 (ddd, 1H, *J*(5'',6'') = 4.8 Hz, *J*(4'',6'') = 1.8 Hz, *J*(3'',6'') = 0.9 Hz, C_{3''}-H), 8.36 (dd, *J*(2',4') = 1.5 Hz, *J*(2',6') = 1.5 Hz, C_{2'}-H), 8.15 (dd, 1H *J*(2',4') = 1.5

Hz, *J*(4',6') = 1.5 Hz, C_{4'}-H), 8.11 (ddd, 1H, *J*(3'',4'') = 8.0 Hz, *J*(3'',5'') = 0.9 Hz, *J*(3'',6'') = 0.9 Hz, C_{6'''}-H), 7.96 (ddd, 1H, *J*(3'',4'') = 8.0 Hz, *J*(4'',5'') = 7.8 Hz, *J*(4'',6'') = 1.8 Hz, C_{5'''}-H), 7.92 (dd, 1H, *J*(2',6') = 1.5 Hz, *J*(4',6') = 1.5 Hz, C_{6'}-H), 7.80 (s, 1H, C_{4''}-H), 7.52 (dd, 1H, *J*(3,4) = 8.6 Hz, *J*(4,6) = 2.3 Hz, C₄-H), 7.45 (ddd, 1H, *J*(4'',5'') = 7.8 Hz, *J*(5'',6'') = 4.8 Hz, *J*(3'',5'') = 0.9 Hz, C_{4'''}-H), 7.29 (d, 1H, *J* = 8.6 Hz, C₃-H), 4.00 (s, 3H, OCH₃), 3.22 (q, 2H, *J* = 7.2 Hz, CH₂), 1.13 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz, CH₃).



^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 155.5 ($\text{C}_{2''}$), 155.2 (C_{2^*}), 150.5 (C_2), 149.8 ($\text{C}_{6''}$), 144.0 (C_{5^*}), 141.8 ($\text{C}_{3'}$), 137.1 ($\text{C}_{4''}$), 132.4 (C_5), 131.0 (C_1), 130.9 (C_2'), 130.2 ($\text{C}_{1'}$), 128.6 (C_4), 126.0 (C_6), 123.5 ($\text{C}_{3'}$), 123.0 ($\text{C}_{5''}$), 122.7 (C_{4^*}), 120.8 ($\text{C}_{3''}$), 120.0 (C_4), 115.4 (C_6), 109.6 (C_3), 56.3 (OCH_3), 50.7 (CH_2), 7.6 (CH_3).

1.1.5. Príprava 5-[3,5-bis(pyrid-2-yl)-fenyl]-*N*-(5-ethylsulfonyl-2-metoxy-fenyl)oxazol-2-amínu (22SYM)



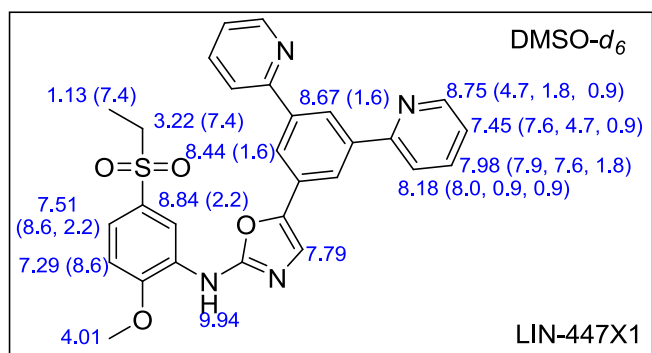
Do suchej ampulky sa postupne navážilo 50 mg východiskovej látky **101** (0.10 mmol, 1.00 mol ekv), 48 mg tetratylamónium bromidu (0.15 mmol, 1.50 mol ekv), 7.0 mg tetrakis(trifenyl)fosfín paládia (6 μmol , 0.06 mol ekv) a prikvapkalo sa 90 mg tri(n-butyl)pyrid-2-ylcínu (0.25 mmol, 2.50 mol ekv). Na záver sa pridal 1 ml AN. Ampula sa zatavila a reakčná zmes sa po dobu 2 d zahrievala na 100 °C. Následne sa ampula otvorila a jej obsah sa preliat do zmesi 10 ml 1M vodného KF a 20 ml EA a nechala sa miešať 3 h. Po oddelení organickej vrstvy sa vodná vrstva ešte raz extrahovala EA. Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad bezvodým Na_2SO_4 , prefiltrovali sa a rozpúšťadlo sa odparilo. Produkt sa čistil chromatografiou na SiO_2 s eluentom EA / H (2 / 1). Získalo sa 24 mg (0.05 mmol, 47%) bieleho prášku.²

TLC (SiO_2 , EA / H, 1 / 1) R_f = 0.13

Tt = 255 - 257 °C [EtOH]

Elem. An. počítané. na $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$ (512.58): C, 65.61; H, 4.72; N, 10.93; S, 6.26. merané: C, 65.88; H, 4.58; N, 10.78; S, 6.07.

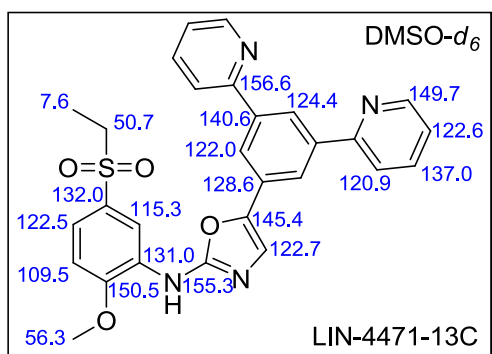
ĪČ v (tuhé): 3416 (m, NH), 3186 (m, arom. C-H), 2937 (m, alif. C-H), 1610 (s), 1578 (s), 1521 (m), 1429 (m), 1300 (s), 1261 (s), 1121 (s), 1020 (s), 716 (m) cm⁻¹.



¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.94 (s, 1H, NH), 8.84 (d, 1H, *J* (4,6)= 2.2 Hz, C₆-H), 8.75 (ddd, 1H, *J*(5'',6'') = 4.7 Hz, *J*(4'',6'') = 1.8 Hz, *J*(3'',6'') = 0.9 Hz, C_{6''}-H), 8.67 (t, 1H *J*(2',4') = 1.6 Hz, C_{4'}-H), 8.44 (d, 2H, *J*(2',4') = 1.6 Hz, C_{2'}-H), 8.18 (ddd, 1H, *J*(3'',4'') = 7.9

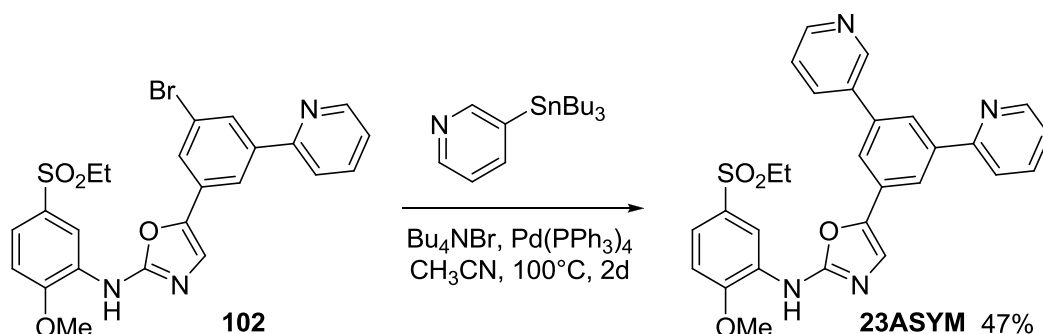
Hz, *J*(3'',5'') = 0.9 Hz, *J*(3'',6'')= 0.9 Hz, C_{3''}-H), 7.98 (ddd, 1H, *J*(3'',4'')= 7.9 Hz, *J*(4'',5'') = 7.6 Hz, *J*(4'',6'') = 1.8 Hz, C_{4''}-H), 7.79 (s, 1H, C_{4*}-H), 7.51 (dd, 1H, *J* (3,4) = 8.6 Hz, *J*(4,6) = 2.2 Hz, C₄-H), 7.45 (ddd, 1H, *J*(4'',5'') = 7.6 Hz, *J*(5'',6'') = 4.7 Hz, *J*(3'',5'') = 0.9 Hz, C_{5''}-H), 7.29 (d, 1H, *J*(3,4) = 8.6 Hz, C₃-H), 4.01 (s, 3H, OCH₃), 3.22 (q, 2H, *J* = 7.4 Hz, CH₂), 1.13

(t, 3H, *J* = 7.4 Hz, CH₃)



¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 156.6 (C_{2''}), 155.3 (C_{2*}), 150.5 (C₂), 149.7 (C_{6''}), 145.4 (C_{5*}), 140.6 (C_{3'}), 137.0 (C_{4''}), 132.0 (C₅), 131.0 (C₁), 128.6 (C_{1'}), 124.4 (C_{4'}), 122.7 (C_{4*}), 122.6 (C_{5''}), 122.5 (C₄), 122.0 (C_{2'}), 120.9 (C_{3''}), 115.3 (C₆), 109.5 (C₃), 56.3 (OCH₃), 50.7 (CH₂), 7.6 (CH₃).

1.1.6. Příprava 5-[3-(pyrid-2-yl)-5-(pyrid-3-yl)-feny]-*N*-(5-etylsulfonyl-2-metoxy-feny)oxazol-2-amínu (23ASYM)



Do suchej ampulky sa postupne navážilo 50 mg východiskovej látky **102** (0.10 mmol, 1.00 mol ekv), 32 mg tetratylamónium bromidu (0.10 mmol, 1.00 mol ekv), 7.0 mg

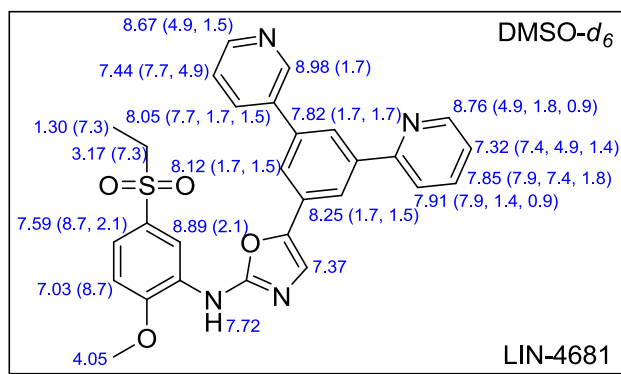
tetrakis(trifenylfosfín) paládia (6 μ mol, 0.06 mol ekv) a prikvapkalo sa 36 mg tri(n-butyl)pyrid-3-ylcínu (0.10 mmol, 1.00 mol ekv). Na záver sa pridalo 1 ml AN. Ampula sa zatavila a reakčná zmes sa po dobu 2 d zahrievala na 100 °C. Následne sa ampula otvorila a jej obsah sa preliat do zmesi 10 ml 1M vodného KF a 20 ml EA a nechal sa miešať 3 h. Po oddelení organickej vrstvy sa vodná vrstva ešte raz extrahovala EA. Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad bezvodým Na₂SO₄, prefiltrovali a rozpúšťadlo sa odparilo. Produkt sa čistil chromatografiou na SiO₂ s eluentom EA / H (2 / 1). Získal sa biely prášok 33 mg (0.07 mmol, 65 %).²

T.t. 183 – 186 °C (Et₂O/H)

TLC (SiO₂, EA / H, 2 / 1) R_f = 0.11

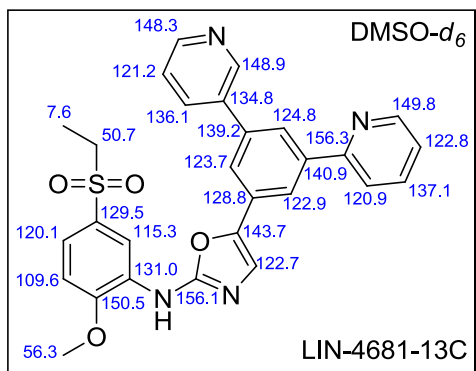
Elem. An. počítané. na C₂₈H₂₄N₄O₄S (512.58): C, 65.61; H, 4.72; N, 10.93; S, 6.26. merané: C, 65.29; H, 4.61; N, 10.88; S, 6.13.

IČ (tuhé skup.): 3398 (w, NH), 2939 (w, C-H), 1610 (s), 1575 (s), 1526 (m), 1488 (w), 1429 (m), 1301 (m), 1265 (s, C-O-C), 1142 (s), 1123 (s), 1083 (m), 1020 (w) cm⁻¹.



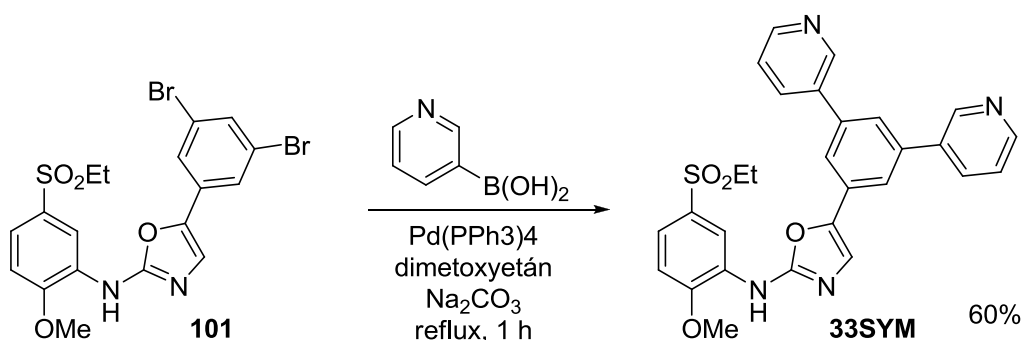
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, δ): 8.98 (d, 1H, $J(2''',4''')$ = 1.7 Hz, C_{2'''}-H), 8.89 (d, 1H, $J(4,6)$ = 2.1 Hz, C₆-H), 8.76 (ddd, 1H, $J(5'',6'')$ = 4.9 Hz, $J(4'',6'')$ = 1.8 Hz, $J(3'',6'')$ = 0.9 Hz, C_{6'''}-H), 8.67 (dd, 1H, $J(5''',6''')$ = 4.9 Hz, $J(4''',6''')$ = 1.5 Hz, C_{6'''}-H), 8.25 (dd, 1H, $J(2',4')$ = 1.7 Hz,

$J(2',6')$ = 1.5 Hz, C_{2'}-H), 8.12 (dd, 1H, $J(4',6')$ = 1.7 Hz, $J(2',6')$ = 1.5 Hz, C_{6'}-H), 8.05 (ddd, 1H, $J(4''',5''')$ = 7.7 Hz, $J(2''',4''')$ = 1.7 Hz, $J(4''',6''')$ = 1.5 Hz, C_{4'''}-H), 7.91 (ddd, 1H, $J(3'',4'')$ = 7.9 Hz, $J(3'',5'')$ = 1.4 Hz, $J(3'',6'')$ = 0.9 Hz, C_{3'''}-H), 7.85 (ddd, 1H, $J(3'',4'')$ = 7.9 Hz, $J(4'',5'')$ = 7.4 Hz, $J(4'',6'')$ = 1.8 Hz, C_{4'''}-H), 7.82 (dd, 1H, $J(2',4')$ = 1.7 Hz, $J(4',6')$ = 1.7 Hz, C_{4'}-H), 7.72 (bs, 1H, NH), 7.59 (dd, 1H, $J(3,4)$ = 8.7 Hz, $J(4,6)$ = 2.1 Hz, C₄-H), 7.44 (dd, 1H, $J(4''',5''')$ = 7.7 Hz, $J(5''',6''')$ = 4.9 Hz, C_{5'''}-H), 7.37 (s, 1H, C_{4*}-H), 7.32 (ddd, 1H, $J(4'',5'')$ = 7.4 Hz, $J(5'',6'')$ = 4.9 Hz, $J(3'',5'')$ = 1.4 Hz, C_{5'''}-H), 7.03 (d, 1H, $J(3,4)$ = 8.7 Hz, C₃-H), 4.05 (s, 3H, OCH₃), 3.17 (q, 2H, J = 7.3 Hz, CH₂), 1.30 (t, 2H, J = 7.3 Hz, CH₃).



¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, δ): 156.3 (C_{2''}), 156.1 (C_{2*}), 150.5 (C₂), 149.8 (C_{6''}), 148.9 (C_{2'''}), 148.3 (C_{6'''}), 143.7 (C_{5*}), 140.9 (C_{3'}), 139.2 (C_{5'}), 137.1 (C_{4''}), 136.1 (C_{4'''}), 134.8 (C_{3'''}), 131.0 (C₁), 129.5 (C₅), 128.8 (C_{1'}), 124.8 (C_{4'}), 123.7 (C_{6'}), 122.9 (C_{2'}), 122.8 (C_{5''}), 122.7 (C_{4*}), 121.2 (C_{5'''}), 120.9 (C_{3''}), 120.1 (C₄), 115.3 (C₆), 109.6 (C₃), 56.3 (OCH₃), 50.7 (CH₂), 7.6 (CH₃).

1.1.6. Príprava 5-[3,5-bis(pyrid-3-yl)-fenyl]-*N*-(5-etylsulfonyl-2-metoxyfenyl)-oxazol-2-amínu (33SYM)



Do zmesi 110 mg 5-(3,5-Dibrómfenyl)-*N*-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl]oxazol-2-amínu **101** (0.21 mmol, 1 mol ekv), 6 mg Pd(PPh₃)₄ (0.05 mmol, 0.24 mol ekv) a 5 ml 1,2-dimetoxyetánu miešanej pri rt sa pridalo 60 mg kyseliny pyridín-3-borónovej (0.50 mmol, 2.4 mol ekv) a 2 ml 1M roztoku Na₂CO₃ a následne sa zmes ohrievala za refluxu počas 1 h. Zmes sa ochladila na rt a pridalo sa k nej 30 ml vody. Po oddelení vodnej vrstvy sa vodná vrstva extrahovala 3 x 5 ml CHCl₃. Spojené organické vrstvy sa premyli 5 ml 1M roztoku Na₂CO₃. Organická vrstva sa sušila státím nad Na₂SO₄, sušidlo sa odfiltrovalo a rozpúšťadlo sa odparilo. Surový produkt sa čistil pomocou FLC na SiO₂ (MeOH / EA, 1 / 3). Produkt **33SYM** sa získal v podobe bieleho prášku 63 mg (0.13 mmol, 60 %).⁹⁰

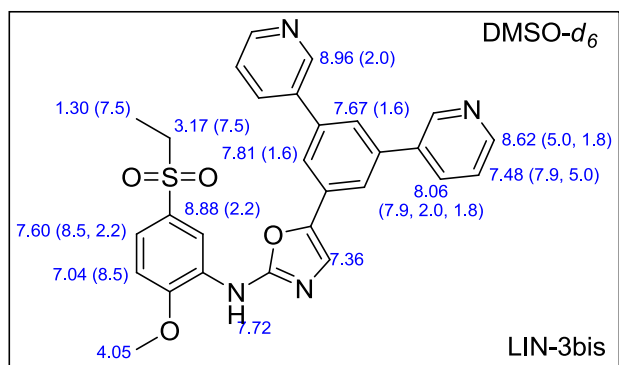
T.t. 206 - 207 °C [MeOH/EA]

TLC (SiO₂, EA / H, 2 / 1) R_f = 0.12

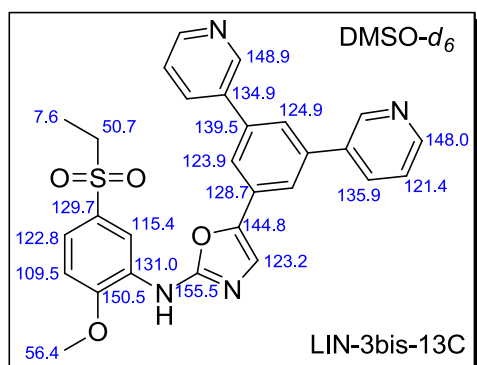
⁹⁰ You, Y.; An, C.G.; Lee, D.S.; Kim, J.J.; Park, Y.Y. *J. Mat. Chem.* **2006**, *16*, 48, 4706 – 4713. (analogicky na inom substráte)

Elem. An. vypočítaná pre $C_{28}H_{24}N_4O_4S$ (512.58): C, 65.61; H, 4.72; N, 10.93; S, 6.26.
 merané: C, 65.27; H, 4.58; N, 10.79; S, 6.16

IČ v (tuhé): 3426 (m, NH), 2924 (m, arom.C-H), 2852 (m, alif. C-H), 1613 (s), 1553 (s), 1524 (m), 1430 (m), 1301 (s), 1264 (s), 1122 (s), 1022 (s), 706 (m) cm^{-1}

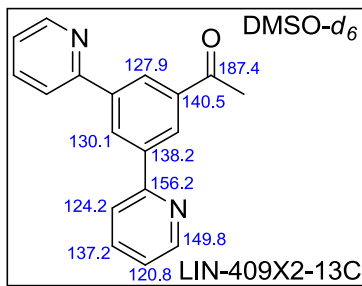
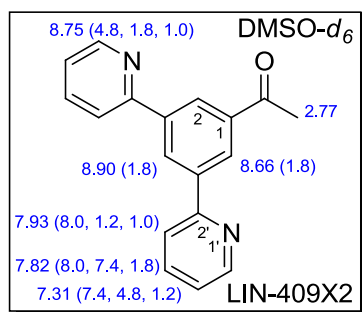


13C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 155.5 (C_{2^*}), 150.5 (C_2), 148.9 ($C_{2''}$), 148.0 ($C_{6''}$), 144.8 (C_{5^*}), 139.5 (C_3), 135.9 ($C_{4''}$), 134.9 ($C_{3''}$), 131.0 (C_1), 129.7 (C_5), 128.7 ($C_{1'}$), 124.9 ($C_{4'}$), 123.9 ($C_{2'}$), 123.2 (C_{4^*}), 122.8 (C_4), 121.4 ($C_{5''}$), 115.4 (C_6), 109.5 (C_3), 56.4 (OCH_3), 50.7 (CH_2), 7.6 (CH_3).



$J = 7.5$ Hz, CH_3).

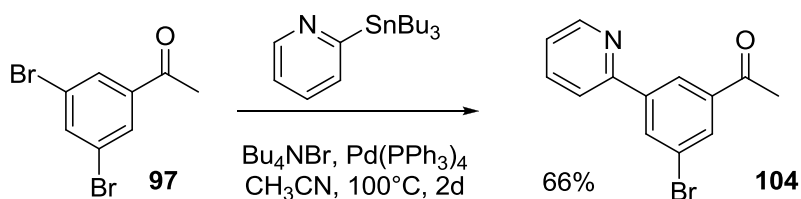
13C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 155.5 (C_{2^*}), 150.5 (C_2), 148.9 ($C_{2''}$), 148.0 ($C_{6''}$), 144.8 (C_{5^*}), 139.5 (C_3), 135.9 ($C_{4''}$), 134.9 ($C_{3''}$), 131.0 (C_1), 129.7 (C_5), 128.7 ($C_{1'}$), 124.9 ($C_{4'}$), 123.9 ($C_{2'}$), 123.2 (C_{4^*}), 122.8 (C_4), 121.4 ($C_{5''}$), 115.4 (C_6), 109.5 (C_3), 56.4 (OCH_3), 50.7 (CH_2), 7.6 (CH_3).



¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, δ): 8.90 (t, 1H, *J*(2,4) = 1.8 Hz, C₄-H), 8.75 (ddd, 2H, *J*(5',6') = 4.8 Hz, *J*(4',6') = 1.8 Hz, *J*(3',6') = 1.0 Hz, C₆'-H), 8.66 (d, 2H, *J*(2,4) = 1.8 Hz, C₂-H), 7.93 (ddd, 2H, *J*(3',4') = 8.0 Hz, *J*(3',5') = 1.2 Hz, *J*(3',6') = 1.0 Hz, C₃'-H), 7.82 (ddd, 2H, *J*(3',4') = 8.0 Hz, *J*(4',5') = 7.4 Hz, *J*(4',6') = 1.8 Hz, C₄'-H), 7.31 (ddd, 2H, *J*(4',5') = 7.4 Hz, *J*(5',6') = 4.9 Hz, *J*(3',5') = 1.2 Hz, C₅'-H), 2.77 (s, 3H, Me).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, δ): 187.4 (CO), 156.2 (C-2'), 149.8 (C-6'), 140.5 (C-1), 138.2 (C-3), 137.2 (C-4'), 130.1 (C-4), 127.9 (C-2), 124.2 (C-3'), 120.8 (C-5'), 29.3 (Me).

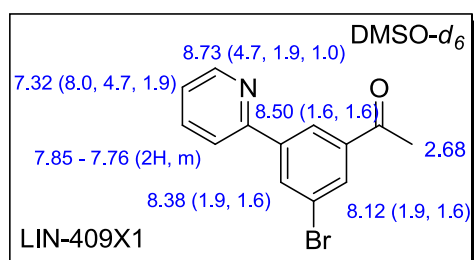
1.2.2. Príprava 3'-bróm-5'-(pyrid-2-yl)acetofenónu (104)



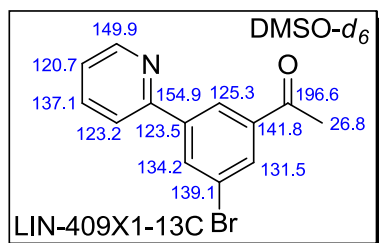
Do suchej ampulky sa postupne navážilo 50 mg východiskovej látky **97** (0.18 mmol, 1.00 mol ekv), 58 mg tetratylamónium bromidu (0.18 mmol, 1.00 mol ekv), 13.0 mg tetrakis(trifenyl)fosfín paládia (11 μmol, 0.06 mol ekv) a prikvapkalo sa 66 mg tri(n-butyl)pyrid-2-ylcínu (0.18 mmol, 1.00 mol ekv). Na záver sa pridalo 1 ml AN. Ampula sa zatavila a reakčná zmes sa po dobu 2 d zahrievala na 100 °C. Následne sa ampula otvorila a jej obsah sa preliat do zmesi 10 ml 1 M vodného KF a 20 ml EA a nechal sa miešať 3 h. Po oddelení organickej vrstvy sa vodná vrstva ešte raz extrahovala EA. Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad bezvodým Na₂SO₄, prefiltrovali a rozpúšťadlo sa odparilo. Produkt sa čistil chromatografiou na SiO₂ s elučným systémom EA / H, 2 / 1. Získalo sa 33 mg (0.12 mmol, 66%) bieleho prášku.²

Poznámka: Časť látky bola izolovaná aj ako bispyridylový produkt (do 20%).

Elem. An. počítané. na $C_{13}H_{10}BrNO$ (276.13): C, 56.55; H, 3.65; Br, 28.94; N, 5.07, merané C, 56.61; H, 3.72; Br, 28.79; N, 5.12.

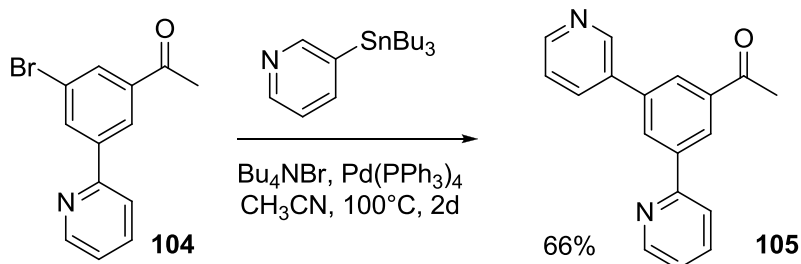


¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, δ): 8.73 (ddd, 1H, $J(5',6') = 4.7$ Hz, $J(4',6') = 1.9$ Hz, $J(3',6') = 1.0$ Hz, C₆-H), 8.50 (dd, 1H, $J(2,6) = 1.6$ Hz, $J(4,6) = 1.6$ Hz, C₆-H), 8.38 (dd, 1H, $J(2,4) = 1.9$ Hz, $J(4,6) = 1.6$ Hz, C₄-H), 8.12 (dd, 1H, $J(2,4) = 1.9$ Hz, $J(2,6) = 1.6$ Hz, H), 7.32 (ddd, 1H, $J(4',5') = 8.0$ Hz, $J(5',6') = 4.7$ Hz, $J(3',5') = 1.9$ Hz, C₅-H), 2.68 (s, 3H, CH₃).



¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, δ): 196.6 (CO), 154.9 (C-2'), 149.9 (C-6'), 141.8 (C-1), 139.1 (C-3), 137.1 (C-4'), 134.2 (C-4), 131.5 (C-6), 125.3 (C-2), 123.5 (C-5), 123.2 (C-3'), 120.7 (C-5'), 26.8 (CH₃).

1.2.3. Příprava 3'-(pyrid-2-yl)-5'-(pyrid-3-yl)acetofenónu (105)



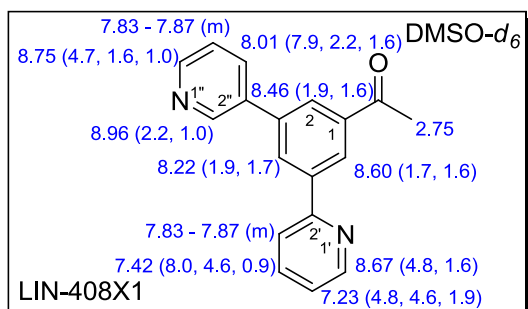
Do suchej ampulky sa navážilo postupne 50 mg východiskovej látky **104** (0.18 mmol, 1.00 mol ekv), 58 mg tetratylamónium bromidu (0.18 mmol, 1.00 mol ekv), 13.0 mg tetratylamónium bromidu tetratylamónium bromidu (11 μ mol, 0.06 mol ekv) a prikvapkalo sa 66 mg tri(n-butyl)pyrid-2-ylcínu (0.18 mmol, 1.00 mol ekv). Na záver sa pridalo 1 ml AN. Ampula sa zatavila a reakčná zmes sa po dobu 2 d zahrievala na 100 °C. Následne sa ampula otvorila a jej obsah sa preliat do zmesi 10 ml 1 M vodného KF a 20 ml EA a nechal sa miešať 3 h. Po oddelení organickej vrstvy sa vodná vrstva ešte raz extrahovala EA. Spojené

organické vrstvy sa sušili státím nad bezvodým Na₂SO₄, prefiltrovali a rozpúšťadlo sa odparilo. Produkt sa čistil chromatografiou na SiO₂ s eluentsom EA / H₂O 2 / 1. Získalo sa 45 mg (0.17 mmol, 92%) bieleho prášku.²

Tt = 196 - 201°C (EA/Hex)

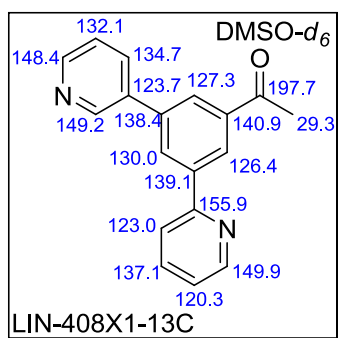
TLC (SiO₂, EA/H, 2 / 1) R_f = 0.15

Elem. An. počítané. na C₁₈H₁₄N₂O (274.32): C, 78.81; H, 5.14; N, 10.21, merané: C, 78.69; H, 5.08; N, 10.09.



¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, δ): 8.96 (dd, 1H, *J*(2'',4'') = 2.2 Hz, *J*(2'',6'') = 1.0 Hz, C_{2''}-H), 8.75 (ddd, 1H, *J*(5'',6'') = 4.7 Hz, *J*(4'',6'') = 1.6 Hz, *J*(2'',6'') = 1.0 Hz, C_{6''}-H), 8.67 (dd, 1H, *J*(5',6') = 4.8 Hz, *J*(4',6') = 1.6 Hz, C_{6'}-H), 8.60 (dd, 1H, *J*(2,4) = 1.7 Hz, *J*(2,6) = 1.6 Hz, C₂-H),

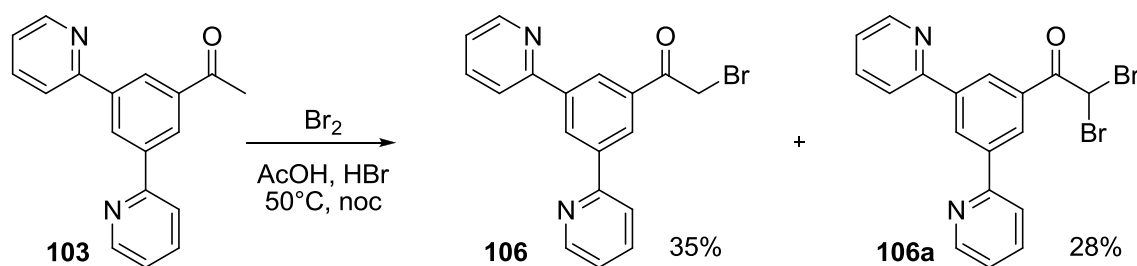
8.46 (dd, 1H, *J*(4,6) = 1.9 Hz, *J*(2,6) = 1.6 Hz, C₆-H), 8.22 (dd, 1H, *J*(4,6) = 1.9 Hz, *J*(2,4) = 1.7 Hz, C₄-H), 8.01 (ddd, 1H, *J*(4'',5'') = 7.9 Hz, *J*(2'',4'') = 2.2 Hz, *J*(4'',6'') = 1.6 Hz, C_{4''}-H), 7.80-8.90 (m, 2H, C_{3'}-H a C_{5''}-H), 7.42 (ddd, 1H, *J*(3',4') = 8.0 Hz, *J*(4',5') = 4.6 Hz, *J*(4',6') =



1.8 Hz, C_{4'}-H), 7.23 (ddd, 1H, *J*(5',6') = 4.8 Hz, *J*(4',5') = 4.6 Hz, *J*(3',5') = 1.8 Hz, C_{5'}-H), 2.75 (s, 3H, Me).

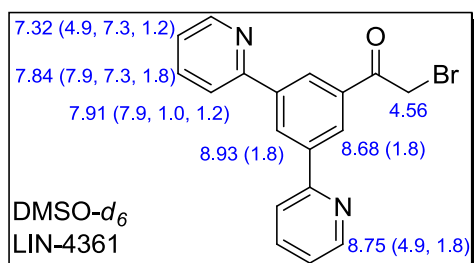
¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, δ): 197.7 (CO), 155.9 (C_{2'}), 149.9 (C_{6'}), 149.2 (C_{2''}), 148.4 (C_{6''}), 140.9 (C₁), 139.1 (C₃), 138.4 (C₅), 137.1 (C_{4'}), 134.7 (C_{4''}), 132.1 (C_{5'}), 130.0 (C₄), 127.3 (C₆), 126.4 (C₂), 123.7 (C_{3'}), 123.0 (C_{3''}), 120.8 (C_{5'}), 29.3 (Me).

1.2.4. Príprava 2-bróm-3',5'-bis(pyrid-2-yl)acetofenónu (106)

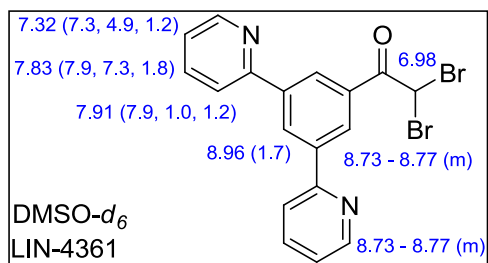


Do zmesi 50 mg východiskovej látky **103** (0.18 mmol, 1.00 mol ekv) v 5.0 ml AcOH a 5.0 ml koncentrovanej HBr sa prikvapkalo 32 mg brómu (0.20 mmol, 1.10 mol ekv) a reakcia sa nechala miešať pri 50°C 2 d. Reakčná zmes sa neutralizovala pomocou nasýteného roztoku NaHCO_3 a zmes sa extrahovala pomocou CH_2Cl_2 (3 x 15 ml). Výsledná zmes východiskovej látky a oboch produktov (NMR: 45 % monoBr, 30 % bisBr, 25 % VL) sa rozdelila pomocou FLC na silikagéli (hexán : etylacetát, 1 : 1), pričom monobromovaný produkt **106** bol získaný vo výťažku 22 mg (0.06 mmol, 35 %) a bisbromovaný produkt **106a** s výťažkom 21 mg (0.05 mmol, 28 %).⁹¹

TLC (SiO_2 , EA/H, 2 / 1) R_f = 0.58 (mono) a 0.60 (bisbrom)



^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ): 8.93 (t, 1H, $J = 1.8$ Hz, $\text{C}_4\text{-H}$), 8.75 (dd, 2H, $J = 4.9, 1.8$ Hz, $\text{C}_6\text{-H}$), 8.68 (d, 2H, $J = 1.8$ Hz, $\text{C}_2\text{-H}$), 7.91 (ddd, 2H, $J = 7.9, 1.2, 1.0$ Hz, $\text{C}_3\text{-H}$), 7.84 (ddd, 2H, $J = 7.9, 7.3, 1.8$ Hz, $\text{C}_4\text{-H}$), 7.32 (ddd, 2H, $J = 7.3, 4.9, 1.2$ Hz, $\text{C}_5\text{-H}$), 4.56 (s, 2H, CH_2).



^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ): 8.96 (t, 1H, $J = 1.8$ Hz, $\text{C}_4\text{-H}$), 8.73-8.77 (m, 4H, $\text{C}_6\text{-H}$ a $\text{C}_2\text{-H}$), 7.91 (ddd, 2H, $J = 7.9, 1.2, 1.0$ Hz, $\text{C}_3\text{-H}$), 7.83 (ddd, 2H, $J = 7.9, 7.3, 1.8$ Hz, $\text{C}_4\text{-H}$), 7.32 (ddd, 2H, $J = 7.3, 4.9, 1.2$ Hz, $\text{C}_5\text{-H}$), 6.98 (s, 2H, COCH).

⁹¹ Chintakunta, V. K.; Akella, V.; Vedula, M. S.; Mamnoor, P. K.; Mishra, P.; Casturi, S. R.; Vangoori, A.; Rajagopalan, R. *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, 37, 4, 339 – 348. (analogicky na inom substráte)

Poznámky:

- uvedený postup je výsledkom optimalizácie s podmienkami uvedenými v tabuľke:

čínidlo	rozpúšťadlo	teplota	čas	103 : 106 : 106a
Br ₂	CH ₂ Cl ₂	rt ⁹²	48 h	1 : 0 : 0
Br ₂	CHCl ₃	reflux ⁹³	15 h	0 : 1 : 1
Br ₂	AcOH	rt ⁹⁴	15 h	8 : 2 : 1
Br ₂	AcOH	70°C	15 h	1 : 1 : 1
PPB	THF	rt ⁹⁵	15 h	7 : 1 : 0
PPB	THF	rt	48 h	5 : 3 : 1
PPB	THF	rt	72 h	1 : 2 : 2
Br ₂	AcOH, HBr	50°C ⁹¹	15 h	0 : 2 : 1

- snažili sme sa o čo najlepšiu konverziu a súčasne najlepšiu selektivitu voči monobromovanému produktu **106**

⁹²Hangeland, J. J.; Quan, M. L.; Smallheer, J. M.; Bisacchi, G. S.; Corte, J. R.; Friends, T. J.; Sun, Z.; Rossi, K. A.; Cavallaro, C. L.; Int. Patent 123050, A2, 2005. (analogicky na inom substráte)

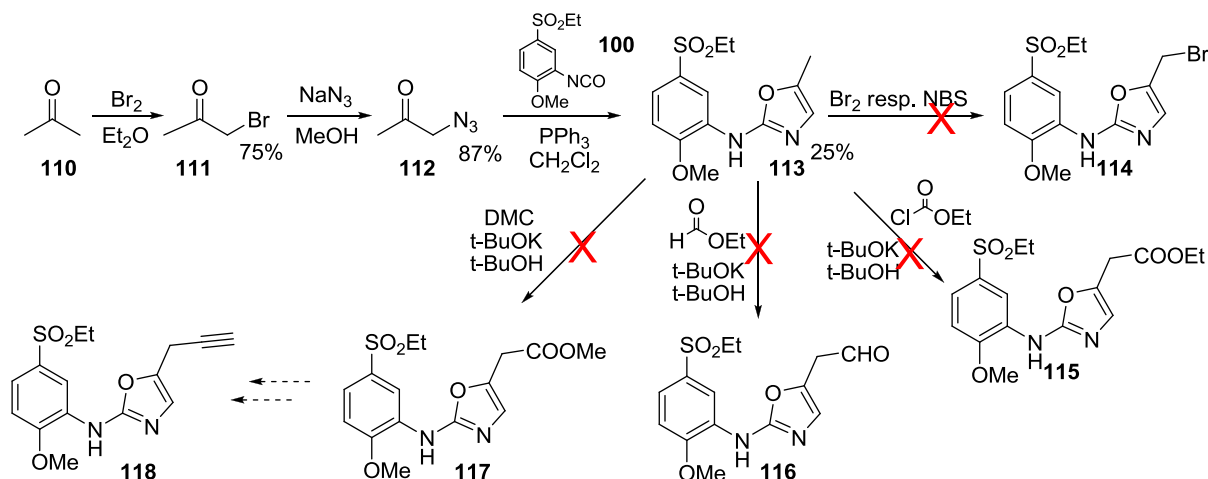
⁹³ Peddibhotla, S.; Khan, P.; Smith, L. H.; Mangravita-Novo, A.; Vicchiarelli, M.; Roth, G. P.; Shi, R.; Su, Y.; Reed, J.C.; Okolotowicz, K.J.; Cashman, J. R. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 12, 4793 – 4797. (analogicky na inom substráte)

⁹⁴Laufer, S. A.; Hauser, D. R. J.; Liedtke, A.J. *Synthesis* **2008**, 2, 253 – 266. (analogicky na inom substráte)

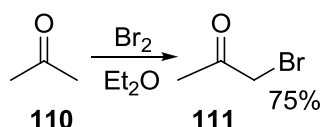
⁹⁵Briner, K.; Deva Bartolome, M.; Cases-Thomas, M. J.; Galka, C., Stanley; Marcos Llorente, A.; Martinez-Grau, M., Angeles; Mazanetz, M. P.; O'Toole, J. C.; Rathmell, R. E.; Reinhard, M. R.; Sapmaz, S.; Williams, A. C. Int. Patent 028083, A1 a A2, 2007. (analogicky na inom substráte)

2. Príprava "Click-chemistry" oxazol-2-amínových ligandov

2.1. Pokus o prípravu N-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl]-5-propargyloxazol-2-amínu (118)



2.1.1. Príprava 1-brómacetónu (111)

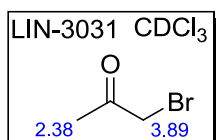


Do roztoku 5 g (8.6 mmol, 5 mol ekv) acetónu v 30 ml dietyléteru sa prikvapkalo 272 mg (1.7 mmol, 1.00 mol ekv) brómu, na banka sa dal chlórkalciový uzáver. Reakčná zmes sa priviedla k varu a nechala sa miešať, pričom sa pozorovalo rýchle zblednutie zmesi a vývoj plynného HBr. Následne sa do zmesi pridal nasýtený roztok Na₂S₂O₃ (pridávalo sa, až kým zostala zmes úplne bezfarebná). Éterová vrstva sa oddelila a vodná sa extrahovala 3 x 25 ml éteru. Spojené organické vrstvy sa sušili nad bezvodým Na₂SO₄, sušidlo sa odfiltrovalo a rozpúšťadlo sa odparilo. Získala sa číra kvapalina s výťažkom 175 mg (1.28 mmol, 75 %).⁹⁶

⁹⁶ Lintnerová, L. Syntéza derivátov oxazolu využiteľných pre VEGFR-2 „Click-chemistry“ knižnicu, diplomová práca, PriF UK, Bratislava, 2008.

Poznámky:

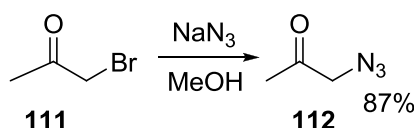
- Reakciu je dobré robiť v o niečo väčšej banke ako je nutné, lebo bromovodík má tendenciu rýchle unikáť z banky a kvapalina môže vykypieť
- Produkt je silný lachrymátor
- Reakcia bola robená aj CH₂Cl₂, ale výtťažky neboli lepšie (pod 60 %)



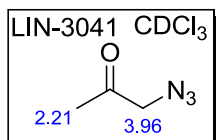
T.v. = 48 - 51 °C (28 Torr)⁹⁷

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 3.89 (s, 2H, CH₂), 2.38 (s, 3H, CH₃).

2.1.2. Príprava 1-azidoacetónu (112)



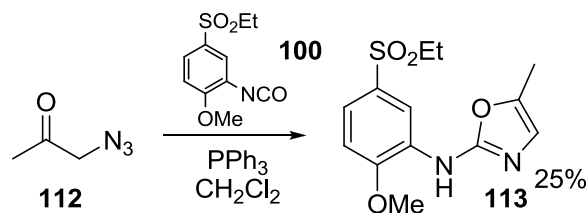
Do roztoku 1.00 g brómacetónu **111** (7.3 mmol, 1.00 mol ekv) v 15 ml metanolu sa naraz pridalo 715 mg NaN₃ (11.0 mmol, 1.50 mol ekv). Reakčná zmes sa miešala cez noc. Následne sa odparil metanol a tuhý materiál sa extrahoval medzi 15 ml CH₂Cl₂ a 15 ml vody. Vodná vrstva sa následne extrahovala 4 x 15 ml CH₂Cl₂. Spojené organické vrstvy sa sušili nad bezvodým Na₂SO₄, sušidlo sa odfiltrovalo a rozpúšťadlo sa odparilo. Ako produkt sa získala hnedožltá číra kvapalina (olej) s výtťažkom 629 mg, 87%.⁹⁶



¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 3.96 (s, 2H, CH₂), 2.21 (s, 3H, CH₃).

⁹⁷ Vegh, D.; Kovac, J.; Dandarova, M.; Bris, V.; Seman, M. *Coll. Czech. Chem. Comm.* **1983**, 48, 7, 1891 – 1897. Tv = 138 – 140°C (760 Torr)

2.1.3. Príprava *N*-(5-etylsulfonyl-2-metoxyphenyl)-5-metyloxazol-2-amínu (113)



Do roztoku 109 mg trifenyfosfínu (0.41 mmol, 1.00 mol ekv) v 1.0 ml bezvodého dichlórmetánu sa počas 2 h za chladenia na 0 °C prikvapkal roztok 41 mg azidu (0.41 mmol, 1.00 mol ekv) **112** a 100.0 mg arylizokyanátu **100** (0.41 mmol, 1.00 mol ekv) v 1 ml bezvodého dichlórmetánu. Následne sa reakčná zmes nechala miešať cez noc pri rt. Dichlórmetán sa odparil a produkt sa získal chromatografiou na silikagéli s eluentom hexán : etylacetát, 2: 1 v podobe žltého tuhnúceho oleja, ktorý sa kryštalizoval zo zmesi hexán / etylacetát. Na oddelenie trifenyfosfínoxidu, ktorý sa dostal do frakcií s produktom sa použila kryštalizácia z etanolu. Takto sa získali žlté ihličkové kryštály s výťažkom 30 mg, 25%.⁹⁶

Tt = 149 – 150 °C [EtOH]

TLC (SiO₂, Et₂O) R_f = 0.45

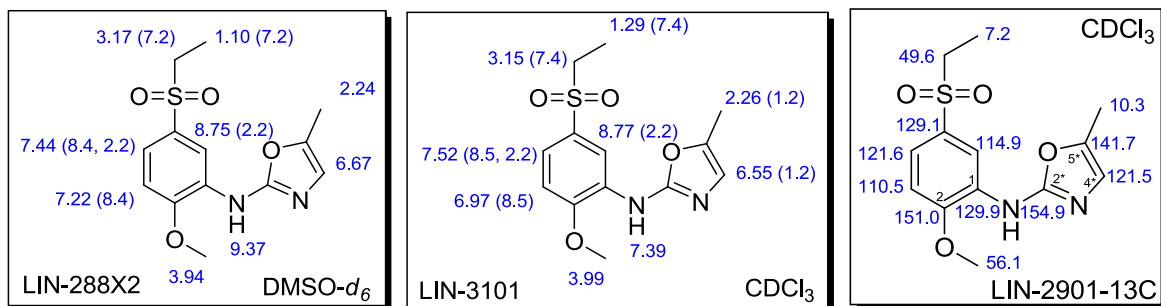
Elem. An. vypočítané pre C₂₈H₂₄N₄O₄S (296.34): C, 52.69; H, 5.44; N, 9.45; S, 10.82. merané: C, 51.88; H, 5.32; N, 8.92; S, 10.26

IČ v (tuhé): 3422 (m), 3089 (m), 2942 (m), 1639 (m), 1621 (s), 1593 (m), 1579 (s), 1534 (m), 1461 (m), 1419 (s), 1346 (w), 1297 (s), 1261 (m), 1132 (s), 1014 (m), 838 (m), 743 (w), 717 (m) cm⁻¹

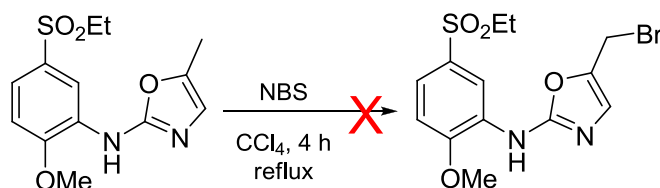
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.77 (d, 1H, *J* = 2.2 Hz, C₆-H), 7.52 (dd, 1H, *J* = 8.5, 2.2 Hz, C₄-H), 7.39 (s, 1H, NH), 6.97 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, C₃-H), 6.55 (q, 1H, *J* = 1.2 Hz, C₄*-H), 3.99 (s, 3H, OMe), 3.15 (q, 2H, *J* = 7.4 Hz, CH₂), 2.26 (d, 3H, *J* = 1.2 Hz, C₅*-CH₃), 1.29 (t, 3H, *J* = 7.4 Hz, SO₂CH₂CH₃).

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, δ): 9.37 (s, 1H, NH), 8.75 (d, 1H, *J* = 2.2 Hz, C₆-H), 7.44 (dd, 1H, *J* = 8.4, 2.2 Hz, C₄-H), 7.22 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, C₃-H), 6.67 (s, 1H, C₄*-H), 3.94 (s, 3H, OMe), 3.17 (q, 2H, *J* = 7.2 Hz, CH₂), 2.24 (s, 3H, C₅*-CH₃), 1.10 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz, SO₂CH₂CH₃).

¹³C NMR (90 MHz, CDCl₃) δ: 154.9 (C₂*), 151.0 (C₂), 141.7 (C₅*), 129.9 (C₁), 129.1 (C₅), 121.6 (C₄), 121.5 (C₄*), 114.9 (C₆), 110.5 (C₃), 56.1 (OMe), 49.6 (CH₂), 10.3 (C₅*-CH₃), 7.2 (SO₂CH₂CH₃).



2.1.4. Príprava *N*-(5-etylsulfonyl-2-metoxyphenyl)-5-(brómmetyl)oxazol-2-amínu (114)



Do suchej banky sa navážilo 20.0 mg východiskového 5-metyloxazol-2-amínu **113** (0.07 mmol, 1.00 mol ekv) a 12.0 mg NBS (0.07, 1.00 mol ekv) a pridalo sa 1.0 ml bezvodého CCl₄. Reakčná zmes sa zahrievala za refluxu 4 h pod inertnou atmosférou. Po ochladení sa odfiltrovali zvyšky NBS a sukcinimidu a rozpúšťadlo sa odparilo.⁹⁸

Poznámky:

- pri reakcii dochádzalo k výraznému stmavnutiu reakčnej zmesi a po odparení rozpúšťadla ostal tmavý mazľavý materiál. Po zmeraní NMR spektra sme zistili, že dochádzalo k rozpadu oxazolu.

- reakciu sme vyskúšali aj za iných podmienok:

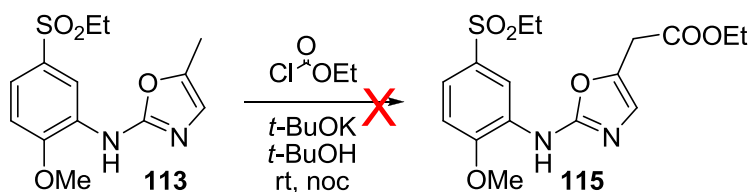
- s brómom (1.00 mol ekv) v CH₂Cl₂ pri rt⁹⁶: nestala žiadna zmena, reakcia vôbec neprebiehala

⁹⁸ Kuang, R.; Shue, H.-J.; Blythin, D. J.; Shih, N.-Y.; Gu, D.; Chen, X.; Schwerdt, J.; Lin, L.; Ting, P. C.; Zhu, X.; Aslanian, R.; Piwinski, J. J.; Xiao, L.; Prelusky, D.; Wu, P.; Zhang, J.; Zhang X.; Celly, C. S.; Minnicozzi, M.; Billah, M.; Wang, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 18, 5150 – 5154. (analogicky na inom substráte)

- s NBS (1.00 mol ekv), AIBN (0.20 mol ekv) v CCl₄ s refluxom počas 1 h⁹⁹: reakcia neprebíhala

- s NBS (1.00 mol ekv), AIBN (0.20 mol ekv) v CH₂Cl₂ pri rt cez noc⁹⁹: rozklad oxazolu

2.1.5. Príprava etyl 2-{2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-yl}acetátu (115)



Do roztoku 20 mg východiskového 5-metyloxazol-2-amínu **113** (0.07 mmol, 1.00 mol ekv) v 4 ml *t*-BuOH sa prisypalo 20 mg *t*-BuOK (0.18 mmol, 2.5 mol ekv). Zmes sa nechala miešať 20 min a následne sa do nej pridalo 15 mg (0.14 mmol, 2.0 mol ekv) etylchlórformiátu. Zmes sa nechala miešať pri rt cez noc.⁹⁶

Poznámky:

- TLC ukázalo, že nenastala žiadna zmena

- ani zahrievanie na 50 °C, zvýšenie množstva činidiel a predĺženie reakčného času neviedlo k zmene

reakciu sme vzskúšali aj za iných podmienok:

- s *n*-BuLi v Hex (2.20 mol ekv) s THF (1. -78°C, 1 h; 2. rt, noc)¹⁰⁰: nevznikol požadovaný produkt, ale iba *N*-substituovaný derivát, ktorý sa rýchlo degradoval na východiskovú látku

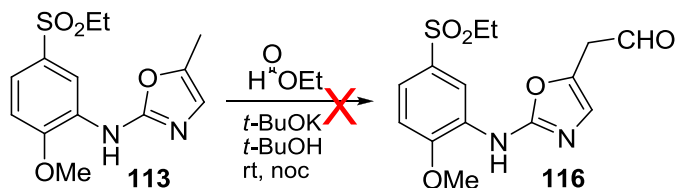
- s diisopropylamínom (2.00 mol ekv) a *n*-BuLi v Hex (2.20 mol ekv) s THF (1. -78°C, 1 h; 2. rt, noc)¹⁰¹: rovnaký výsledok

⁹⁹ Ray, N. C.; Bull, R. J.; Finch, H.; Van den Heuvel, M.; Bravo, J. A. Int. Patent 17669, A1, 2007. (analogicky na inom substráte)

¹⁰⁰ Cornwall, P.; Dell, C. P.; Knight, D. W. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1991**, 10, 2417-28. (na tiazolovom deriváte)

¹⁰¹ Gould, N. P.; Lee, T.-J. *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 22, 4528 – 4530.

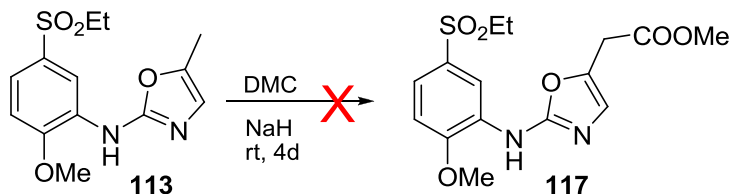
2.1.6. Príprava 2-{2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-yl}acetaldehydu (116)



Do roztoku 20 mg východiskového 5-metyloxazol-2-amínu **113** (0.07 mmol, 1.00 mol ekv) v 4 ml *t*-BuOH sa prispalo 20 mg *t*-BuOK (0.18 mmol, 2.50 mol ekv). Zmes sa nechala miešať 20 min a následne sa do nej pridalo 10 mg (0.14 mmol, 2.0 mol ekv) etyl-formiátu. Zmes sa miešala pri rt cez noc. Keďže ráno na TLC platničke nebola pozorovaná žiadna zmena, pridalo sa ďalších 20 mg *t*-BuOK (0.18 mmol, 2.5 ekv), pričom bola zmes ohrievaná na 50 °C a po 1 h sa pridalo 10 mg etyl-formiátu (0.14 mmol, 2.00 mol ekv).⁹⁶

Poznámky: Na TLC platničke boli 3 škvrny, pričom dominantná patrila VL. Zvyšné dve neboli produktom, keďže NMR ukázalo, že nemajú oxazolový signál.

2.1.7. Príprava metyl 2-{2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-yl}acetátu (117)



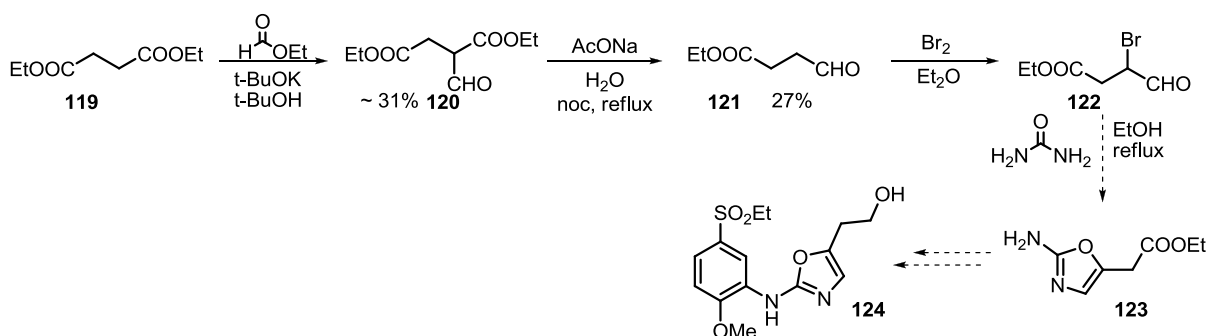
K tuhému 2.5 mg NaH (0.11 mmol, 1.5 mol ekv) sa pridal 0.6 ml DMC (7 mmol, 100 mol ekv) a 20 mg východiskového 5-metyloxazol-2-amínu **113** (0.07 mmol, 1.00 mol ekv). Suspenzia sa nechala miešať cez noc pri rt. Na druhý deň bola prítomná ešte VL a tak sa k zmesi pridalo ešte ďalších 1.5 mol ekv NaH. Zmes sa miešala cez víkend. Po spracovaní na TLC (prídavok H₂O a CH₂Cl₂) bola RZ identická ako východisková látka. Reakcia neprebíha.¹⁰²

¹⁰² Ebel, K.; Eiermann, M.; Papkalla, T. Eur. Patent 0725055, A1, 1996. (analogicky na inom substráte)

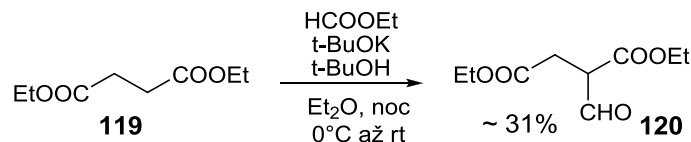
Poznámky:

- túto reakciu sme skúšali aj s *t*-BuOK (1.50 mol ekv) v *t*-BuOH pri rt aj so zahrievaním⁹⁶, ale produkt nevznikal

2.2. Pokus o prípravu 2-{2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-yl}etanolu (124) z dietylsukcinátu (119)



2.2.1. Príprava dietyl 2-formylsukcinátu (120)

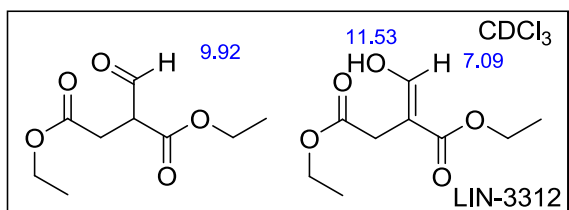


K roztoku 3.87 g *t*-BuOK (34.4 mmol, 1.2 mol ekv) v 18 ml *t*-BuOH abs a 19 ml dietyléteru sa za chladenia pri 0 °C prikvapkal roztok 5.00 g dietylsukcinátu **119** (28.7 mmol, 1.00 mol ekv) a 2.55 ml etyl-formiátu (31.6 mmol, 1.1 mol ekv) v 19 ml éteru. Reakčná zmes postupne tuhla vznikom draselných solí. Reakčná zmes sa miešala pri rt cez noc. Ráno sa vzniknutá soľ odfiltrovala a premyla dietyléterom. Následne sa rozpustila vo vode a zmes sa okyslila pomocou 10 M HCl až do zakalenia roztoku (pH = 4). Vodná vrstva sa extrahovala s dietyléterom (5 x 35 ml). Spojené organické vrstvy sa sušili nad bezvodým Na₂SO₄, prefiltrovali a odparili. Produkt sa získal pomocou rektifikácie za zníženého tlaku.⁹⁶

Poznámky:

- hrubý produkt po odparení mal výťažok 4.41 g (21.8 mmol, 76%), ale bol znečistený východiskovou látkou a inou nečistotou

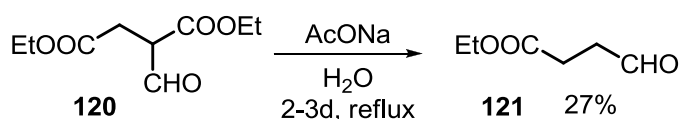
- z hrubého produktu vypadávala biela zrazenina (kys. jantárová)
- destilácia za zníženého tlaku (16 torr): I. frakcia okolo 130 °C: 1.28 g, 32 % P a 68 % dekarboxylovaného produktu + nečistota; II. frakcia 140 – 150 °C: 0.52 g, 38 % P a 62 % dekarb. produktu + nečistota; dest. zvyšok zpolymerizoval
- túto reakciu sme vyskúšali aj so Na (1.50 mol ekv) a etanolom (5.00 mol ekv) v éteri pri rt počas 2 dní⁹⁶, ale produkt vynikal len v stopách
- spektrum obsahuje veľa signálov v nižšej oblasti a jediný pozorovateľný signál pre produkt, je signál aldehydu



¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 9.92 (s, 1H, CHO)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 11.53 (s, 1H, OH), 7.09 (s, 1H, CH)

2.2.2. Príprava etyl 4-oxobutyrátu (121)



Do roztoku 34 mg (0.25 mmol, 1.00 mol ekv) AcONa . 3H₂O v 0.6 ml vody sa pridalo 50 mg (0.25 mmol, 1.00 mol ekv) východiskovej látky **120**. Reakcia sa ohrievala za refluxu cez noc. Následne sa neutralizovala pomocou 1 M HCl a extrahovala éterom (4 x 5 ml). Získalo sa 18 mg oleja.¹⁰³

Poznámky:

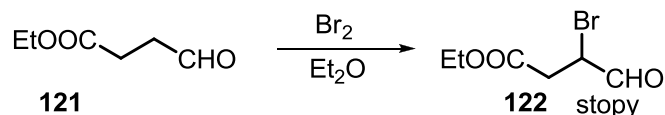
- olej ktorý sa získal mal tendenciu tuhnúť
- podľa NMR obsahuje východiskovú látku aj produkt a veľké množstvo nečistôt

¹⁰³ Vitali, T.; Impicciatore, M.; Plazzi, P. V.; Bordi, F.; Morini, G. *Farmaco*, **1986**, *41*, 6, 483 – 498.
(analogicky na inom substráte)

- pri opakovaní reakcie vo väčšom množstve, keď sme použili dlhší reakčný čas (2-3 dni) už nebola pozorovaná východisková látka ale popri produkte veľké množstvo nečistôt
- pokúsili sme sa produkt vyčistiť destiláciou za zníženého tlaku, pričom časť kvôli zahrievaniu na vysoké teploty zpolymerizovala, výťažok sa pohyboval okolo **27 %** ale produkt stále obsahoval stopy kyseliny octovej
- spektrum obsahuje veľa signálov v nižšej oblasti delta a jediný jasne pozorovateľný signál pre produkt, je signál aldehydu (LIN-3461)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 9.82 (t, 1H, *J* = 0.7 Hz, CHO).

2.2.3. Príprava etyl 3-bróm-4-oxobutyrátu (**122**)



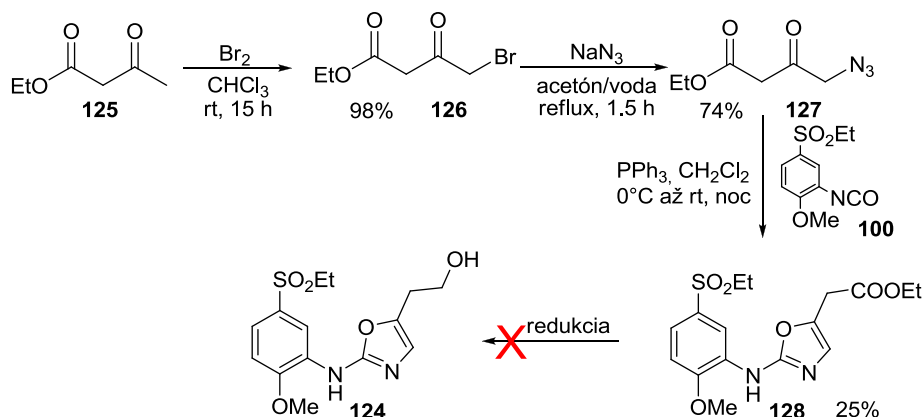
101 mg východiskového aldehydu **121** (0.78 mmol, 1.00 mol ekv) sa rozpustilo v 1.2 ml éteru a k tomuto roztoku sa prikvapkalo 40 µl brómu (0.78 mmol, 1.00 mol ekv) za chladenia na 0 °C. Následne sa nechala reakčná zmes miešať až do odfarbenia brómu, pričom teplota samovoľne vystúpila na rt. Do reakčnej zmesi sa pridalo 0.5 ml ľadovej vody a organická vrstva sa oddelila. Vodná vrstva sa extrahovala éterom (3 x 1.5 ml). Spojené organické vrstvy sa sušili nad bezvodým Na₂SO₄, sušidlo sa odfiltrovalo a prchavé podiely odparili. Hrubý produkt sa získal v podobe 92 mg tuhnúceho oleja.⁹⁶

Poznámky:

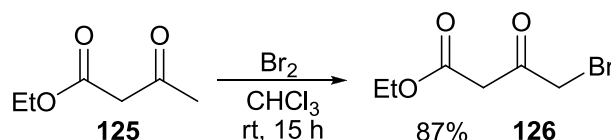
- spektrum obsahuje veľa signálov v nižšej oblasti a jediný pozorovateľný signál pre produkt, je signál aldehydu (LIN-3481)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 9.54 (d, 1H, *J* = 0.9 Hz, CHO).

2.3. Pokus o príprava 2-{2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-yl}etanolu (124) z etyl acetoacetátu (125)



2.3.1. Príprava etyl 4-bróm-3-oxobutyrátu (126)



K roztoku 0.86 ml etyl-acetoacetátu (7.75 mmol, 1.00 mol ekv) v 7 ml chloroformu sa prikvapkalo 0.4 ml brómu (7.75 mmol, 1.00 mol ekv) počas 2 h a následne sa reakčná zmes miešala 15 h. Banka sa prefúkala dusíkom na odstránenie plynného HBr a pridalo sa 3 ml vody. Po extrakcii sa organická vrstva oddelila, sušila nad bezvodým Na_2SO_4 , prefiltrovala a odparila. Produkt sa získal takmer čistý s výťažkom 1.31 g (6.74 mmol, 87 %).¹⁰⁴

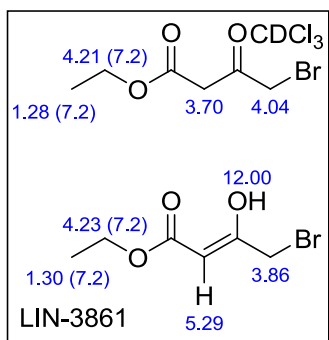
Poznámka:

- Pri opakovaní reakcie vo väčšom sa dosiahli výťažky až 98%.
- túto reakciu sme skúsili aj s brómom (1.02 mol ekv), v kyseline octovej pri rt počas 3 hodín¹⁰⁵, pričom sme dosiahli výťažky do 84%

T_v = 114 – 117 °C (14 torr)

¹⁰⁴ Yasohara, Y.; Kizaki, N.; Hasegawa, J.; Wada, M.; Kataoka, M.; Shimizu, S. *Tetrahedron Asym.* **2001**, 12, 1713-1718.

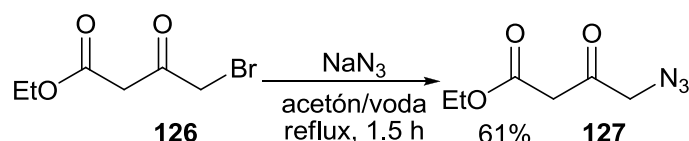
¹⁰⁵ Choi, H. Y.; Chi, D. Y. *Org. Lett.* **2003**, 5, 4, 411-414.



^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 4.21 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz, CH_2O), 4.04 (s, 2H, CH_2Br), 3.70 (s, 2H, CH_2CO), 1.28 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz, CH_3).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 12.00 (s, 1H, OH), 5.29 (s, 1H, CH), 4.23 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz, CH_2O), 3.86 (s, 2H, CH_2Br), 1.30 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz, CH_3).

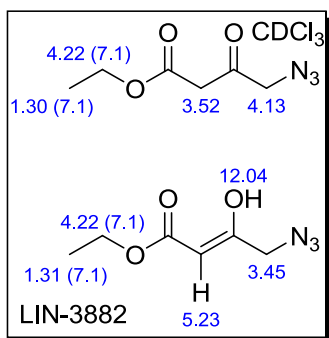
2.3.2. Príprava etyl 4-azido-3-oxobutyrátu (127)



V banke sa zmiešalo 1.31 g brómderivátu (6.79 mmol, 1.00 mol ekv) **126**, 0.52 g NaN_3 (7.94 mmol, 1.17 mol ekv), 8 ml acetónu a 2.7 ml vody. Zmes sa zahrievala na reflux 1.5 h, až kým na TLC platničke nie je vidieť východisková látka. Acetón sa následne odparil a vodný zvyšok sa extrahoval EA (3 x 3 ml). Spojené organické vrstvy sa sušili nad bezvodým Na_2SO_4 , prefiltrovali a odparili. Získalo sa 1.17 g surového červeného produktu. Čistý produkt sa získal pomocou filtrácie cez krátky stĺpec silikagélu (elučný systém, hexán : éter, 20 : 1). Výťažok po filtrácii bol 0.71 g (4.14 mmol, 61 %).¹⁰⁴

Poznámky:

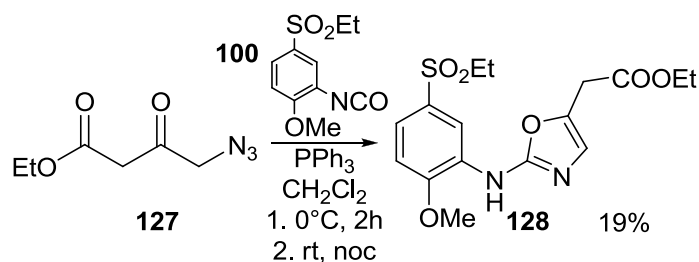
- reakčná zmes silne sčervenie počas reakcie a surový produkt je preto tmavočervený olej
- filtráciou cez stĺpec SiO_2 je možné odstrániť väčšinu farebných látok a získa sa takto oranžová kvapalina surového produktu **127**



^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 4.22 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz, CH_2O), 4.13 (s, 2H, CH_2N_3), 3.52 (s, 2H, CH_2CO), 1.30 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz, CH_3).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 12.04 (s, 1H, OH), 5.23 (s, 1H, CH), 4.22 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz, CH_2O), 3.45 (s, 2H, CH_2N_3), 1.31 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz, CH_3).

2.3.3. Príprava etylesteru kys. 2-[2-(aminoaryl)oxazo-5-yl]octovej (128)



Do roztoku 1.40 g (5.43 mmol, 1.00 mol ekv) trifenyfosfínu v 14 ml bezvodého dichlórmétánu sa počas 2 h za chladnia na 0 °C prikvapkal roztok 1.12 g (6.52 g, 1.20 mol ekv) azidu **127** a 1.31 g (5.43 mmol, 1.00 mol ekv) arylizokyanátu **100** v 14 ml bezvodého dichlórmétánu. Následne sa reakčná zmes miešala cez noc pri rt. Dichlórmétán sa odparil a produkt sa získal chromatografiou na silikagéli s eluentom hexán : etylacetát, 1 : 2 v podobe 0.54 g žltého tuhnúceho oleja, ktorý sa ďalej kryštalizoval zo zmesi hexánu / etylacetátu s výťažkom 383 mg (1.03 mmol, 19 %) bielych kryštálov.²

Poznámky:

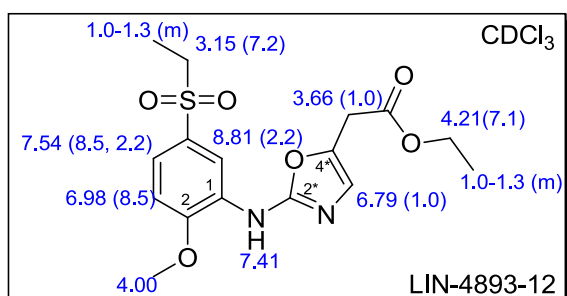
- Na oddelenie trifenyfosfínoxidu, ktorý sa dostal do frakcií s produktom sa použila kryštalizácia z etanolu.
- vedľajšími produktmi reakcie bol otvorený močovinový derivát a rozkladné produkty

T.t. = 235 - 237 °C [EA/Hex]

TLC (SiO₂, EA / H, 2 / 1) R_f = 0.35

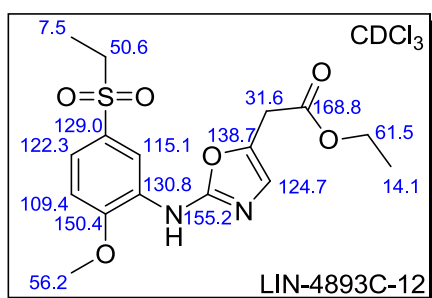
Elem. An. vypoč. C₁₆H₂₀N₂O₆S (368.40): C, 52.16; H, 5.47; N, 7.60; S, 8.70 merané: C, 52.41; H, 5.49; N, 7.44; S, 8.59.

IČ v(tuhé): 3334 (m, NH), 3089 (w, arom. C-H), 2976 (w, alif. C-H), 1736 (s, C=O), 1614 (m), 1599 (s), 1578 (s), 1541 (m), 1487 (m), 1432 (m), 1296(s), 1121(s), 1084(m), 1022(m), 734 (w), 719 (m).



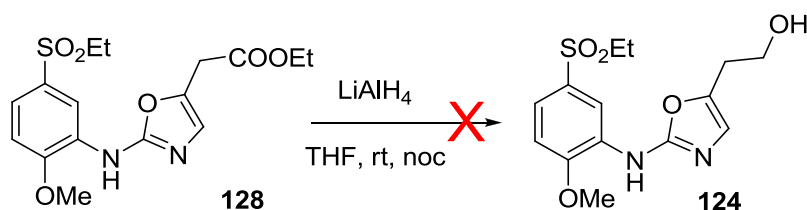
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.81 (d, 1H, *J* = 2.2 Hz, H-6), 7.54 (dd, 1H, *J* = 8.5, 2.2 Hz, H-4), 7.41 (s, 1H, NH), 6.98 (d, 1H, *J* = 8.5, H-3), 6.79 (t, 1H, *J* = 1.0 Hz, H-ox), 4.21 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz, OCH₂), 4.00 (s, 3H, OCH₃), 3.15

(q, 2H, *J* = 7.2 Hz, SO₂CH₂), 1.00-1.30 (m, 6H, 2x CH₃).



^{13}C NMR (90 MHz, CDCl_3) δ : 168.8 (CO), 155.2 (C_{2*}), 150.4 (C_2), 138.7 (C_{4*}), 130.8 (C_1), 129.0 (C_5), 124.7 (C_{5*}), 122.3 (C_4), 115.1 (C_6), 109.4 (C_3), 61.5 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 56.2 (OCH_3), 50.6 ($\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 31.6 (COCH_2), 14.1 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 7.5 ($\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

2.3.4. Príprava 2-{2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-yl}etanolu (124)



Do banky sa navážilo 50 mg (0.14 mmol, 1.00 mol ekv) esteru **128** a pridal sa 1 ml suchého THF a prisypalo sa 15 mg (0.42 mmol, 3.00 mol ekv) LiAlH_4 . Zmes sa nechala miešať pod inertnou atmosférou cez noc. Na druhý deň ráno sa do zmesi pridal 3 ml vody a zmes sa trikrát extrahovala 5 ml etylacetátu. Spojené organické vrstvy sa sušili nad bezvodým Na_2SO_4 , prefiltrovali a odparili. Získalo sa 16 mg materiálu.¹⁰⁶

Poznámky:

- získaný materiál bol meraný pomocou NMR: obsahuje východiskovú látku a novú látku v malom zastúpení, ktorá ale nemá oxazolový signál
 - pri dlhších reakčných časoch bol pozorovaný anilínový derivát vzniknutý rozbitím alebo odtrhnutím oxazolu
 - keď bola reakčná zmes chladená pri zarábaní na 0°C neboli žiadne výrazné zmeny oproti nechladenej reakcii
- zvýšenie množstva red. činidla len zhoršovalo rozklad oxazolu

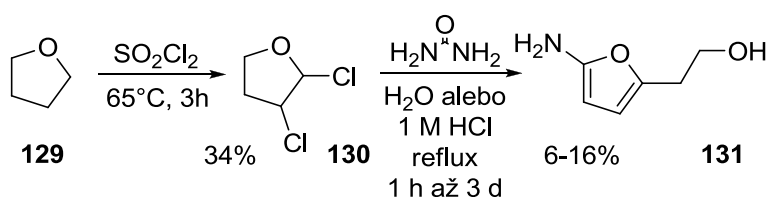
¹⁰⁶ Thomas, A. A.; Huerou, Y. L.; Meese, J. D.; Gunawardana, I.; Kaplan, T.; Romoff, T. T.; Gonzales, S. S.; Condroski, K.; Boyd, S. A.; Ballard, J.; Bernat, B.; DeWolf, W.; Han, M.; Lee, P.; Lemieux, C.; Pedersen, R.; Pheneger, J.; Poch, G.; Smith, D.; Sullivan, F.; Weiler, S.; Wright, S. K.; Lin, J.; Brandhubera, B.; Vigers, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 6, 2206 – 2210. (analogicky na inom substráte)

- túto reakciu sme skúšali aj s použitím iných činidiel:

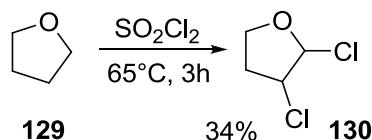
- s NaBH_4 (2.00 mol ekv) v THF pri rt cez noc¹⁰⁶: opäť dochádzalo k čiastočnému rozkladu a dominantnou zložkou bola východisková látka, produkt nevznikal

- s $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$ (10.00 mol ekv) v THF pri rt cez noc¹⁰⁷: vznikali len neznáme látky bez oxazolového signálu v NMR spektrách

2.4. Príprava 2-(2-aminooxazo-5-yl)etanolu (131) z THF (129)



2.4.1. Príprava 2,3-dichlórtetrahydrofuránu (130)



Do 11.2 ml bezvodého THF (139 mmol, 4.00 mol ekv) sa prikvapkalo 5.6 ml (SO_2Cl_2 (70 mmol, 2.00 mol ekv), pričom sa pozoroval vývoj plynov. Následne sa zmes nechala zahrievať na 65°C počas 3 h. Zvyšné THF sa následne odparilo a produkt sa získal rektifikáciou za zníženého tlaku (Bp $60\text{--}64^\circ\text{C}$ pri 20 torr). Výtazok po destilácii bol 1.69 g (11.2 mmol, 34%) čirej kvapaliny.¹⁰⁸

Poznámky:

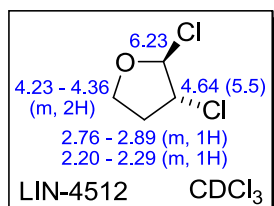
- reakcia je dvojstupňová: I) rýchla substitúcia na orto uhlíku, ktorá prebehne takmer okamžite (silbý vývoj plynu pred samotným zahrievaním); II) pomalšia substitúcia na meta uhlíku, prebiehajúca počas zahrievania, je selektívna a prebieha len na monochlórovanom THF

¹⁰⁷ Lee, D. A.; Smith, K. M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 8, 1215 – 1228. (analogicky na inom substráte)

¹⁰⁸ Crombie, L.; Wyvill, R.D. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1985**, 1971-1982.

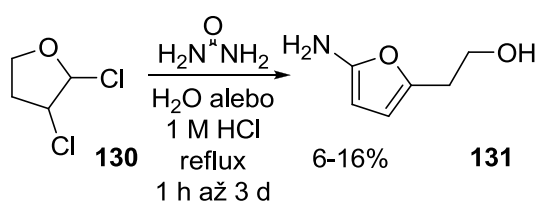
- počas destilácie ostáva veľké množstvo látky v destilačnej banke ako čierna hmota – polymerizácia
- produkt je dráždivý a je to lachrymátor
- po destilácii dichlórTHF už nemá tendenciu polymerizovať a ostáva číry a bezfarebný a spektrálne čistý aj po dlhšiu dobu

T_v = 60-64°C (20 torr)



¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 6.23 (s, 1H, H-2), 4.64 (d, 1H, *J*(3,4) = 5.5 Hz, H-3), 4.23-4.36 (m, 2H, H_a-5 a H_{a'}-5), 2.76-2.89 (m, 1H, H_a-4), 2.20-2.29 (m, 1H, H_b-4).

2.4.2. Príprava 2-(2-aminoxazo-5-yl)etanolu (131)



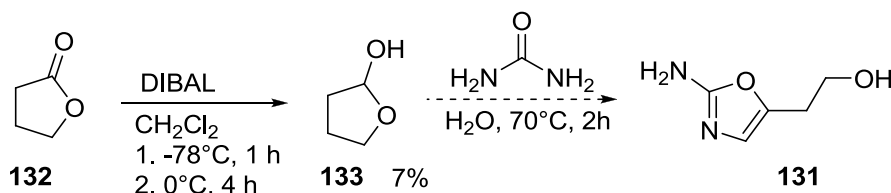
K suspenzii 36 mg močoviny (0.59 mmol, 1.00 mol ekv) v 0.25 ml vody sa prikvapkal roztok 100 mg 2,3-dichlór-tetrahydrofuránu (0.71 mmol, 1.2 mol ekv) v 0.25 ml vody. Zmes sa refluxovala počas 1 h. Voda sa následne odparila, čím vypadol hydrochlorid produktu. Následne sa pridalo 0.10 ml vody a 20 µl 50% NaOH a pár zrníek tuhého NaCl. Produkt sa získal extrakciou do etylacetátu (3x 0.5 ml).⁴⁶

Poznámky:

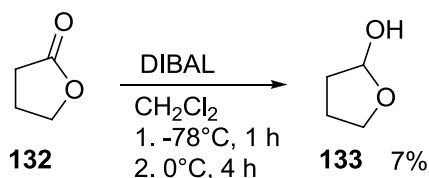
- hrubý produkt obsahuje stopy P a dominantné sú 2 nové látky, ktoré by mohli byť produktami substitúcie jedného z chlórov za močovinu a THF kruh ostal zachovaný
- dlhší reakčný čas (4 h, noc, víkend) nedokázal otvoriť THF kruh (P stále len okolo 7%)
- zahrievanie samotných intermediátov nevedlo k zmene
- MW žiarenie po dobu 3x10 min nedáva dokonca ani močovínové intermediáty

- reakcia bola opakovaná aj v etanole, ale nedochádzalo k vzniku produktu ani močovínových derivátov
- reakcia bola opakovaná aj v 1M HCl, pričom dochádzalo k trochu väčšiemu otváraniu THF kruhu (produkt v zmesi až 16%) ale bolo nutné reakčný čas predĺžiť na 3 dni

2.5. Príprava 2-(2-aminooxazo-5-yl)etanolu (131) z γ -butyrolaktónu (132)



2.5.1. Príprava 2-hydroxytetrahydrofuránu (133) redukciou

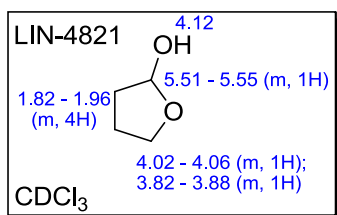


Roztok 0.5 ml (0.65 mmol, 1.00 mol ekv) γ -butyrolaktónu v 50 ml CH_2Cl_2 sa ochladil na -78°C a prikvapkalo sa 3.7 ml 25% roztoku (0.65 mmol, 1.00 mol ekv) DIBALu v hexáne počas 1 h. Následne sa kúpeľ vymenil na ľadový a reakčná zmes sa nechala miešať pri 0°C po dobu 4 h. Po ukončení reakčného času sa pridal 50 ml 1% NaOH. Vodná vrstva sa oddelila a vodná sa extrahovala s 50 ml CH_2Cl_2 . Spojené organické vrstvy sa sušili nad bezvodým Na_2SO_4 , prefiltrovali a odparili. Produkt sa čistil destiláciou za zníženého tlaku.¹⁰⁹

Poznámky:

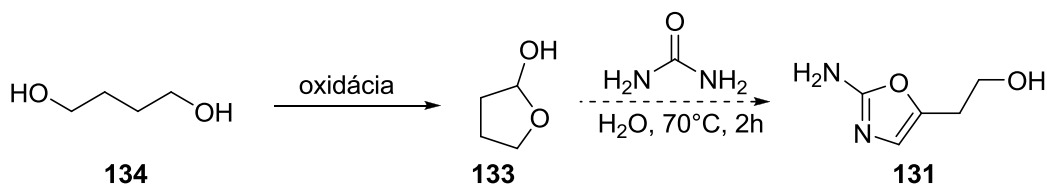
- po reakcii sa odparilo izolovať destiláciou len 40 mg produktu, 7% výtťažok, ktorý je zmes otvoreného aldehydu okolo 4% a poloacetálovej formy 96%, destilačný zvyšok predstavoval východiskovú látku
- predĺženie reakčného času viedlo len k o málo lepším výtťažok (~10%)

¹⁰⁹ Green, D. L.C.; Kiddle, J. J.; Thompson C. M. *Tetrahedron* **1995**, 51, 10, 2865-2874.

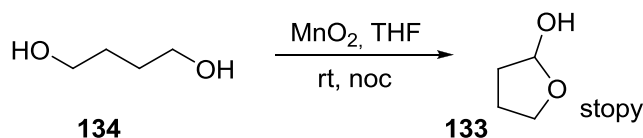


^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 5.51 - 5.55 (m, 1H, H-2), 4.12 (bs, 1H, OH), 4.02 - 4.06 (m, 1H, H-5_A), 3.82 - 3.88 (m, 1H, H-5_B), 1.82 - 1.96 (m, 4H, H-3_A, H-3_B, H-4_A a H-4_B).

2.6. Príprava 2-(2-aminooxazo-5-yl)etanolu (131) z bután-1,4-diolu (134)



2.6.1. Príprava 2-hydroxytetrahydrofuránu (133) oxidáciou



Do suchej banky sa k roztoku 1.00 g bután-1,4-diolu (11 mmol, 1.00 mol ekv) v 10 ml suchého éteru prisypalo 0.96 g burelu (11 mmol, 1.00 mol ekv) a reakčná zmes sa miešala pri rt cez noc. Po prebehnutí reakčného času sa zmes prefiltrovala a filtrát sa odparil.¹¹⁰

Poznámky:

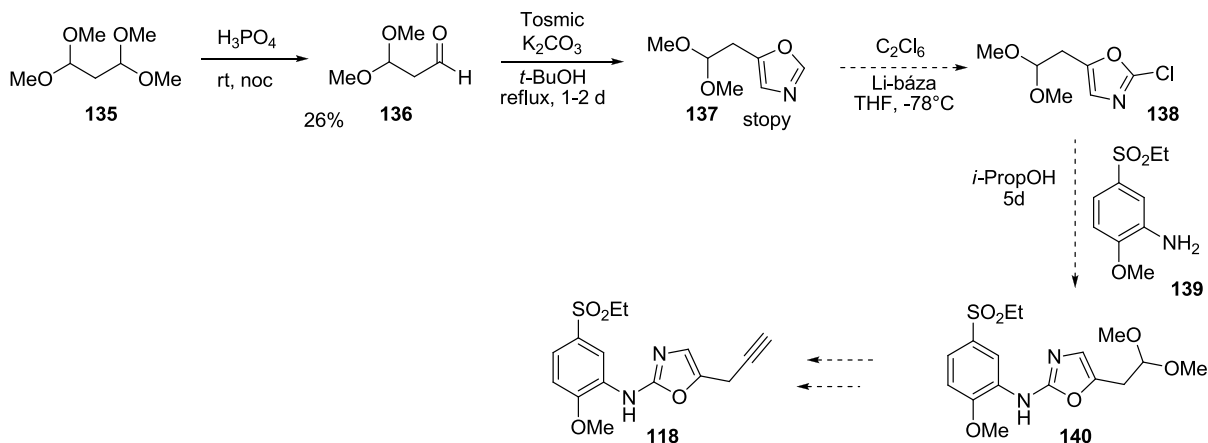
- reakcia má na základe NMR len 1% konverziu
- predĺženie reakčného času a zvýšenie teploty až na 60°C prinieslo len malý účinok
- najvyššia dosiahnutá konverzia na základe NMR bola 12%
- túto reakciu sme skúšali aj s inými činidlami:
 - Dess-Martinovo činidlo (2.14 mol ekv) v CH_2Cl_2 , pri rt počas 2 dní:¹¹¹ z reakcie sa nepodarilo izolovať žiadna identifikovateľná látka

¹¹⁰ Maier, G.; Sayrac, T. *Chem. Ber.* **1968**, *10*, 1354-1370.

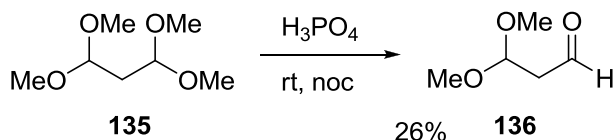
¹¹¹ Fyfe, M. C. T.; Bertram, L. S.; Thomas, G. H.; Williams, G. M. Int. Patent. 67531, A1, 2006. (analogicky na inom substráte)

- s PDC alebo PCC (2 mol ekv) v CH₂Cl₂, pri rt počas 2 dní¹¹²: reakcia mala tiež nízku konverziu a najmä došlo k zvýšenému znečisteniu zmesi neznámymi látkami

2.7. Príprava *N*-(5-etylsulfonyl-2-metoxy-fenyl)-5-propargyloxazol-2-amínu (118) z tetrametoxypropánu (135)



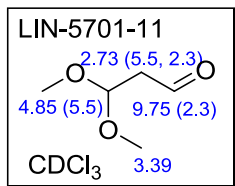
2.7.1. Príprava 3,3-dimetoxypropanalu (136)



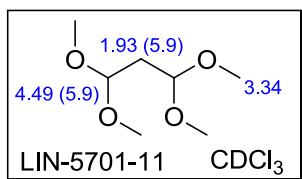
K zmesi 1.00 g 1,1,3,3-tetrametoxypropánu (6.1 mmol, 1.00 mol ekv) a 320 µl vody (17.0 mmol, 2.90 mol ekv) sa pri rt prikvapkalo 176 µl konc. H₃PO₄ (2.6 mmol, 0.45 mol ekv). Priebeh reakcie sa sledoval pomocou ¹H NMR. Po dvoch dňoch sa pomer východiskovej látky a produktu ustálil na 1 : 2. Do reakčnej zmesi sa pridalo 1 ml H₂O (52.6 mmol, 3.00 mol ekv), čím sa rovnováha reakcie pohla smerom k produktu a pomer východiskovej látky a produktu sa ustálil na 1 : 4 po ďalších 24 h. Následne sa k zmesi pridalo 5 ml dietyléru a 5 ml vody, vodná fáza sa neutralizovala pomocou Na₂CO₃. Organická fáza sa oddelila a vodná sa extrahovala 2x 5 ml dietyléru. Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad Na₂SO₄, prefiltrovali a odparili. Získal sa olej s pomerom východiskovej látky a produktu 1 : 4. Zmes

¹¹² Constantino, M. G.; De Souza, A. X., Da Silva, G. V. J. *Molecules* **2002**, 7, 6, 475-486.

sa nepodarilo oddeliť a tak bola použitá do ďalšieho kroku syntézy. Získalo sa 240 mg (~1.59 mmol, ~26%) zmesi.¹¹³

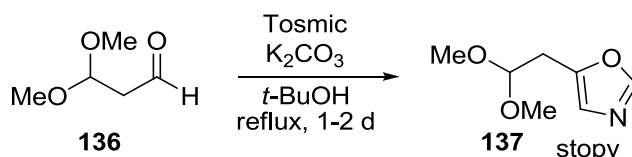


¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 9.75 (d, 1H, *J*(1,2) = 2.3 Hz, CHO), 4.85 (d, 1H, *J*(2,3) = 5.5 Hz, CH), 3.39 (s, 6H, 2xCH₃O), 2.73 (dd, 2H, *J*(2,3) = 5.5 Hz, *J*(1,2) = 2.3 Hz, CH₂).



¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 4.49 (d, 2H, *J* = 5.9 Hz, 2x CH), 3.34 (s, 12H, 4xCH₃O), 1.93 (d, 2H, *J* = 5.9 Hz, CH₂).

2.7.2. Príprava 5-(2,2-dimetoxyetyl)oxazolu (137)



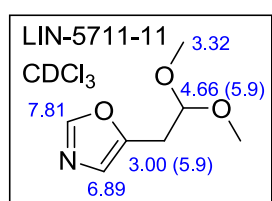
K roztoku 100 mg východiskového aldehydu (0.85 mmol, 1.00 mol ekv) (zmes s 1,1,3,3-tetrametoxypropánom s pomerom 4 : 1 z predchádzajúcej reakcie) v 8.5 ml *t*-BuOH pri rt za miešania pridalo 166 mg Tosmic, t.j. toluénsulfonylmetyl isokyanid (0.85 mmol, 1.00 mol ekv) a následne sa prisypalo 176 mg K₂CO₃ (1.28 mmol, 1.50 mol ekv). Zmes sa nechala refluxovať cez noc alebo aj dva dni, následne sa do zmesi ochladenej na rt pridalo 10 ml CH₂Cl₂ a organická fáza sa premyla roztokom NaHSO₄, roztokom NaHCO₃ a následne sa organická fáza dala sušiť státím nad Na₂SO₄, prefiltrovala a odparila.¹¹⁴ Získaný olej obsahoval len stopy produktu (~8%).

Poznámky:

¹¹³ Bi, L.; Zhang, Y.; Zhao, M.; Wang, C.; Chan, P.; Tok, J. B.-H.; Peng, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 19, 5640 - 5646.

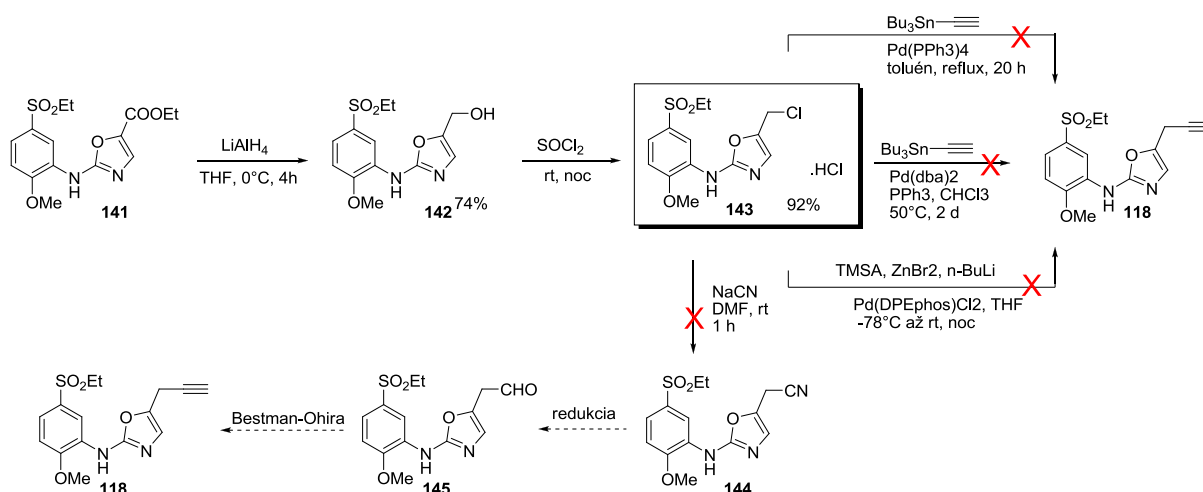
¹¹⁴ Mutel, V.; Windenaum, J. US Patent 19424, A1, 2002. (analogicky na inom substráte)

- Počas reakcie pravdepodobne dochádzalo k rozkladu východiskovej látky na metanol a dialdehyd, ktorý sa pravdepodobne polymerizoval. Hlavným produktom reakcie bol 1,1,3,3-tetrametoxypropán, ktorý vznikal pravdepodobne reakciou metanolu a východiskovej látky.
- Pokusy o zoptimalizovanie (napr. najprv príprava soli tosmicu s K_2CO_3 a následné pridanie východiskovej látky alebo zmena rozpúšťadla a teploty) reakcie zlyhali.

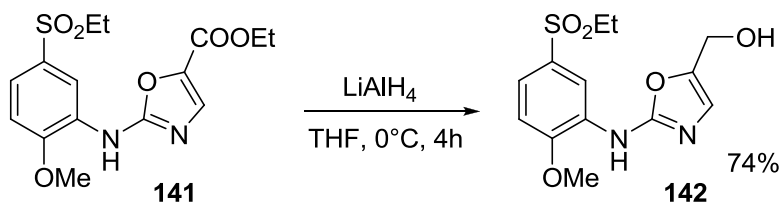


¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.81 (s, 1H, C_{ox}-2), 6.89 (s, 1H, C_{ox}-4), 4.66 (d, 1H, J = 5.9 Hz, CH), 3.32 (s, 6H, 2xCH₃O), 3.00 (d, 2H, J = 5.9 Hz, CH₂).

2.8. Príprava *N*-(5-etylsulfonyl-2-metoxy-fenyl)-5-propargyloxazol-2-amínu (118) metódou couplingu

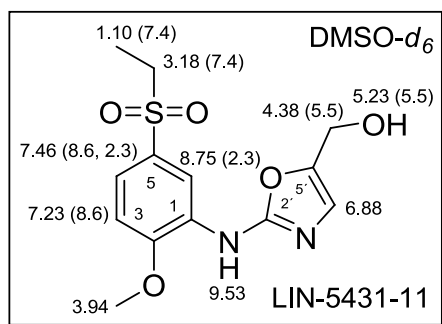


2.8.1. Príprava {2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-yl}metanolu (142)

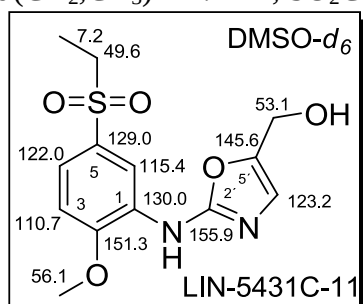


K roztoku 1.00 mg východiskového esteru (2.82 mmol, 1.00 mol ekv) v 15 ml suchého THF sa počas chladenia na 0°C šesťkrát každých 30 min pridalo 54 mg LiAlH₄ (6x 1.41 mmol, 6x 0.50 mol ekv), celkovo po dobu 3 hodín. Následne sa zmes nechala miešať pri 0°C ešte

hodinu a potom bol ľadový kúpeľ odstránený. Reakčná zmes sa nechala miešať pri rt cez noc. Na druhý deň sa k zmesi pridalo 70 ml nasýteného roztoku NH_4Cl a produkt bol získaný extrakciou do EA (4x 50 ml). Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad Na_2SO_4 , prefiltrované a odparené. Produkt sa získal ako 0.65 g (74%) bledohnedého prášku.¹¹⁵

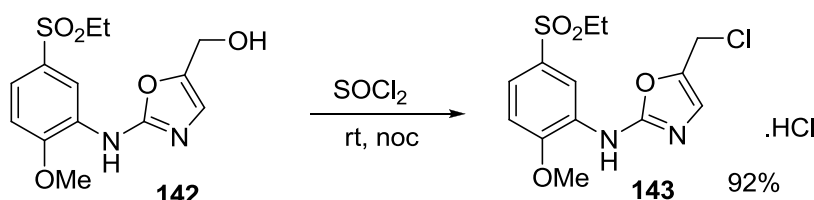


^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.53 (br s, 1H, NH), 8.75 (d, 1H, $J(4,6) = 2.3$ Hz, $\text{C}_6\text{-H}$), 7.46 (dd, 1H, $J(3,4) = 8.6$ Hz, $J(4,6) = 2.3$ Hz, $\text{C}_4\text{-H}$), 7.23 (d, 1H, $J(3,4) = 8.6$ Hz, $\text{C}_3\text{-H}$), 6.88 (s, 1H, $\text{C}_2\text{-H}$), 5.23 (t, 1H, $J(\text{CH}_2, \text{OH}) = 5.5$ Hz, OH), 4.38 (d, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{OH}) = 5.5$ Hz, CH_2OH), 3.94 (s, 3H, OCH_3), 3.18 (q, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.4$ Hz, SO_2CH_2), 1.10 (t, 3H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.4$ Hz, $\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).



^{13}C -NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 155.9 ($\text{C}2^*$), 151.3 ($\text{C}2$), 145.6 ($\text{C}5^*$), 130.0 ($\text{C}1$), 129.0 ($\text{C}5$), 123.2 ($\text{C}4^*$), 122.0 ($\text{C}4$), 115.4 ($\text{C}6$), 110.7 ($\text{C}3$), 56.1 (OCH_3), 53.1 (CH_2OH), 49.6 (SO_2CH_2), 7.2 ($\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

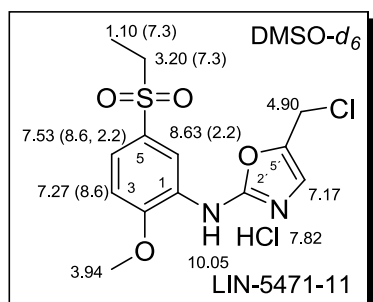
2.8.2. Príprava 5-(chlórmetyl)-*N*-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl]oxazol-2-amínu (143)



K 50 mg východiskového alkoholu (0.16 mmol, 1.00 mol ekv) sa prikvapkalo 381 mg SOCl_2 (3.20 mmol, 20.00 mol ekv) a reakčná zmes sa nechala miešať pri rt cez noc. Nadbytočný SOCl_2 bol odparený a produkt za zníženého tlaku stuhol, čím sa získalo 54 mg (92%) šedého

¹¹⁵ Dubowchik, G.M.; Michne, J. A.; Zuev, D.; Schwartz, W.; Scola, P. M.; James, C. A.; Ruediger, E. H.; Pin, S. S.; Burris, K. D.; Balandia, L. A.; Gao, Q.; Wu, D.; Fung, L.; Fiedler, T.; Browman, K. E.; Taber, M. T.; Zhang, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 22, 3997 – 4000. (analogicky na inom substráte)

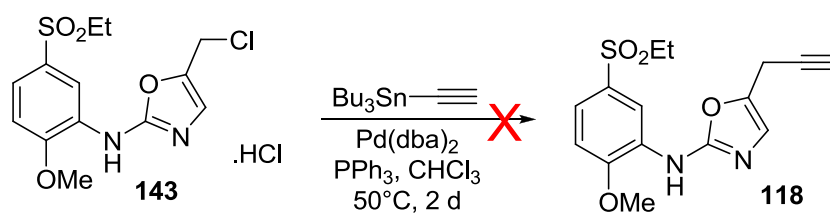
prášku čistého produktu. Produkt je citlivý na vodu (a iné nukleofily), preto sme ho použili do nasledujúcich reakcií bez ďalšieho čistenia.¹¹⁶



¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.05 (br s, 1H, NH), 8.63 (d, 1H, $J(4,6) = 2.2$ Hz, C₆-H), 7.53 (dd, 1H, $J(3,4) = 8.6$ Hz, $J(4,6) = 2.2$ Hz, C₄-H), 7.27 (d, 1H, $J(3,4) = 8.6$ Hz, C₃-H), 7.17 (s, 1H, C₂*-H), 4.90 (s, 2H, CH₂Cl), 3.94 (s, 3H, OCH₃), 3.20 (q, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.3$ Hz, SO₂CH₂), 1.10 (t, 3H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.3$ Hz, SO₂CH₂CH₃).

2.8.3. Príprava *N*-(5-ethylsulfonyl-2-metoxi-fenyl)-5-propargyloxazol-2-amínu (118) pomocou Stilleho couplingu

2.8.3.1. Postup A



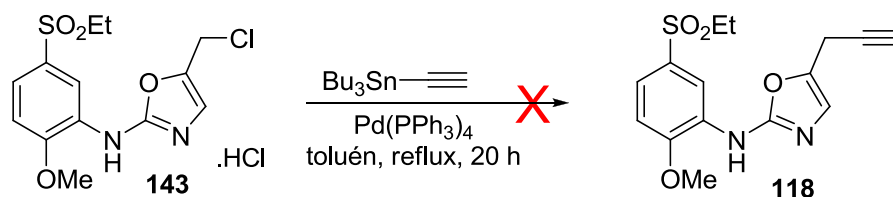
K roztoku 50 mg východiskového chlorderivátu **143** (0.136 mmol, 1 mol ekv) v 1 ml suchého CHCl₃ sa pridalo 2 mg PPh₃ (8 μ mol, 6 mol%) a 2 mg Pd(dba)₂ (4 μ mol, 3 mol%) a prikvapkal sa 172 mg 1,1,1-tributylcínacetylénu (0.545 mmol, 4 mol ekv). Reakčná zmes sa zahrievala za inertných podmienok 2 dni na 50°C. Následne sa do zmesi pridalo 5 ml nasýteného roztoku KF a reakcia sa nechá miešať 2 hodiny. Zrazenina sa odfiltrovala a premyla chloroformom. Organická fáza sa oddelila a sušila sa státím nad Na₂SO₄, prefiltrovala a rozpúšťadlo sa odparilo.¹¹⁷

Produkt pri reakcii nevznikal.

¹¹⁶ Shimada, S.; Tojo, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1983**, 31, 12, 4247 – 4258. (analogicky na inom substráte)

¹¹⁷ Kok, G. B.; von Itzstein, M. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1* **1998**, 5, 905-907. (analogicky na inom substráte)

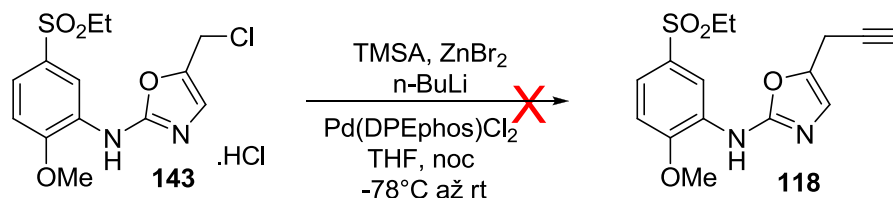
2.8.3.2. Postup B



K roztoku 49 mg východiskového chlorderivátu (0.134 mmol, 1.00 mol ekv) v 1 ml suchého CHCl_3 sa pridalo 9 mg $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (8 μmol , 6.0 mol%) a prikvapkalo sa 169 mg 1,1,1-tributylcínacetylénu (0.536 mmol, 4.00 mol ekv). Reakčná zmes sa zahrievala za inertných podmienok 2 dni na 50°C . Následne sa do zmesi prilialo 5 ml nasýteného roztoku KF a reakcia sa nechala miešať 2 hodiny. Zrazenina sa odfiltrovala a premyla chloroformom. Organická fáza sa oddelila a sušila státím nad Na_2SO_4 , prefiltrovala a rozpúšťadlo sa odparilo.¹¹⁷

Produkt pri reakcii nevznikal.

2.8.4. Príprava *N*-(5-ethylsulfonyl-2-metoxy-fenyl)-5-propargyloxazol-2-amínu (**118**) alternatívnym couplingom

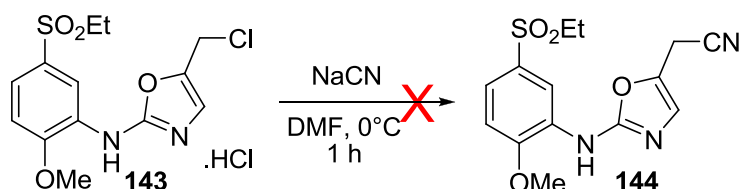


K roztoku 32 mg trimetylsilylacetylénu (0.33 mmol, 2.40 mol ekv) v 0.4 ml suchého THF chladeného na -78°C sa prikvapkalo 150 μl 2.2 M roztoku $n\text{-BuLi}$ (0.33 mmol, 2.40 mol ekv) a zmes sa nechala miešať pri -78°C 30 minút. Následne sa do zmesi pridalo 74 mg ZnBr_2 (0.33 mmol, 2.40 mol ekv) pri -78°C a zmes sa miešala pri -78°C 5 minút a následne sa teplota zmesi nechala vystúpiť na rt. Vzniknutá zmes sa následne prikvapkala k zmesi 50 mg východiskového chlórderivátu **143** (0.14 mmol, 1.00 mol ekv), 1 mg Pd(DPEphos)Cl_2 (14 μmol , 1 mol%) a 0.2 ml suchého THF. Celá zmes sa nechala miešať pri rt cez noc. Následne sa do zmesi pridalo 5 ml nasýteného roztoku KF a reakcia sa nechala miešať 2

hodiny. Zrazenina sa odfiltrovala a premyla chloroformom. Organická fáza sa oddelila a sušila státím nad Na₂SO₄, prefiltrovala a rozpúšťadlo sa odparilo.¹¹⁸

Produkt pri reakcii nevznikal.

2.8.5. Príprava 2-{2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-yl}acetonitrilu (144)



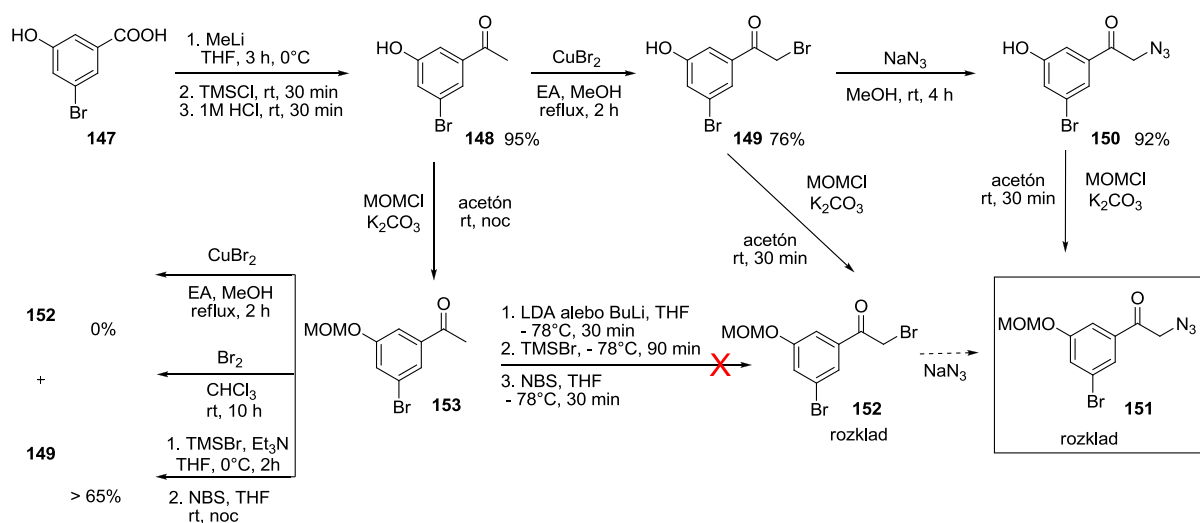
Do roztoku 10 mg východiskového chlórderivátu (0.027 mmol, 1.00 mol ekv) v 0.5 ml DMF sa za chladenia na 0°C pridali 3 mg NaCN (0.057 mmol, 2.10 mol ekv) a reakcia sa miešala pri 0°C 1 hodinu. Následne sa k zmesi pridali 2 ml vody a zmes sa extrahovala EA (3x2 ml), spojené organické vrstvy sa sušili státím nad Na₂SO₄, prefiltrovali a odparili.¹¹⁹

Došlo k rozkladu a žiaden produkt sa neizoloval.

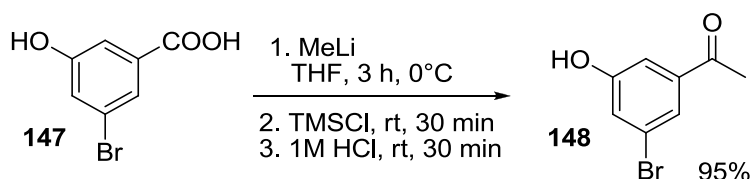
¹¹⁸ Qian, M.; Negishi, E. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 16, 2927 – 2930. (analogicky na inom substráte)

¹¹⁹ Bull, J. A.; Balskus, E. P.; Horan, R. A. J.; Langner, M.; Ley, S. V. *Chem.--A Eur. J.* **2007**, 13, 19, 5515 - 5538. (analogicky na inom substráte)

3. Príprava m-O-Substituovaných derivátov odvodených od 1Y6A z kyseliny 3-bróm-5-hydroxybenzoovej (**147**)



3.1. Príprava 3-bróm-5-hydroxyacetofenónu (**148**)

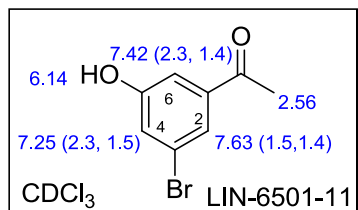


Do roztoku 200 mg kyseliny **147** (0.93 mmol, 1.00 mol ekv) v 9 ml suchého THF sa pri 0°C za miešania čo najrýchlejšie pridalo 8 ml 1.6 M roztoku MeLi v THF (12.9 mmol, 14.00 mol ekv), pričom sa pozorovala zmena farby reakčnej zmesi na fialovú. Reakčná zmes sa nechala miešať pri 0°C 3 hodiny. Následne sa do chladenej reakčnej zmesi pridalo 3.2 ml TMSCl a teplota reakčnej zmesi sa nechala vystúpiť na rt. Na záver sa do reakčnej zmesi pridalo 6.8 ml 1M HCl a zmes sa nechala miešať pri rt 30 min. Organická vrstva sa oddelila a vodná sa extrahovala dietyléterom (2x 30 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli nasýteným roztokom NaCl a nechali sa sušiť stáťim nad Na₂SO₄. Po odfiltrovaní sušidla sa rozpúšťadlá odparili, pričom sa získalo 210 mg surového produktu ako oranžovej až červenej tuhej hmoty. Produkt sa čistil pomocou FLC na SiO₂ (EA : Hex = 1 : 2), pričom sa získalo 188 mg (0.88 mmol, 95%)bieleho prášku.¹²⁰

¹²⁰ Moyroud, J.; Guesnet, J.-L.; Bennetau, B.; Mortier, J. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 6, 881 – 884. (analogicky na inom substráte)

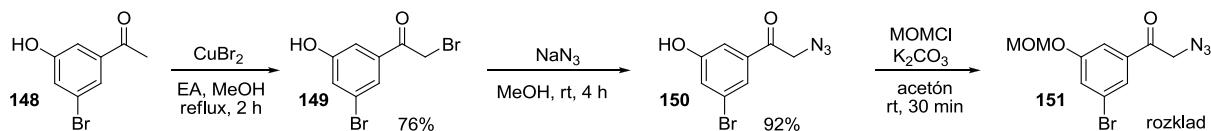
TLC (SiO₂, EA : Hex = 1 : 2) R_f = 0.51

T_t = 78.0 - 79.5°C

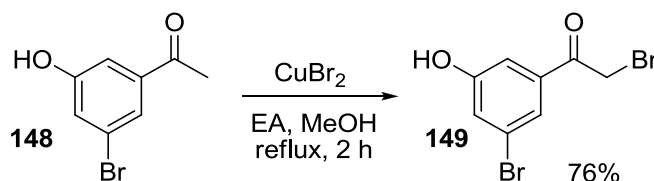


¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.63 (dd, 1H, *J*(2,4) = 1.5 Hz, *J*(2,6) = 1.4 Hz, C₂-H), 7.42 (dd, 1H, *J*(4,6) = 2.3 Hz, *J*(2,6) = 1.4 Hz, C₆-H), 7.25 (dd, 1H, *J*(4,6) = 2.3 Hz, *J*(2,4) = 1.5 Hz, C₄-H), 6.14 (bs, 1H, OH), 2.56 (s, 3H, CH₃).

3.2. Príprava α-Azido-3-bróm-5-(metoxymetyloxy)-acetofenónu (151) - 1. metóda



3.2.1. Príprava α,3-dibróm-5-hydroxyacetofenónu (149)



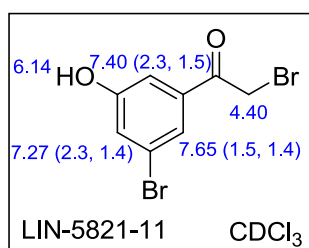
Do suspenzie 220 mg acetofenónu **148** (1.02 mmol, 1.00 mol ekv) v zmesi ml EA a ml MeOH (4 : 1) sa pri rt prisypalo mg CuBr₂ (2.15 mmol, 2.10 mol ekv). Následne sa celá zmes zahrievala za refluxu 2 hodiny, pričom sa pozorovalo slabé zosvetlenie zmesi a vyzrážavanie bielej zrazeniny CuBr. Po ukončení reakcie sa pridalo ml nasýteného roztoku NaHCO₃, pričom zmes zmenila farbu na oranžovú. Organická vrstva sa oddelila a vodná sa preextrahovala etylacetátom (2x ml). Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad Na₂SO₄, sušidlo sa odfiltrovalo a rozpúšťadlá odparili pomocou RVO. Produkt **149** sa získal ako 229 mg (0.77 mmol, 76%) tuhnúceho oleja.¹²¹

¹²¹ Rosenmund, K.W.; Pfroepffer, K. *Chem. Ber.* **1957**, 90, 1922-1926. (analogicky na inom substráte)

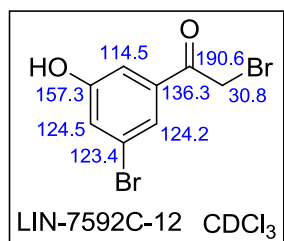
TLC (SiO₂, EA/H = 1 : 4) R_f = 0.26

Elem. An. počítané pre C₈H₆Br₂O₂ (293.94): C, 32.69 ; H, 2.06; Br, 54.37. merané: C, 32.54; H, 1.99; Br, 54.43.

IČ v(tuhé): 3443 (s, OH), 3100 (w), 2987 (w, C-H), 2939 (m), 1697 (s, C=O), 1578 (s), 1429 (s), 1383 (m), 1333 (m), 1277 (s), 1207 (m), 1166 (m), 1056 (w), 993 (w), 912 (w), 873 (w), 824 (m) cm⁻¹.

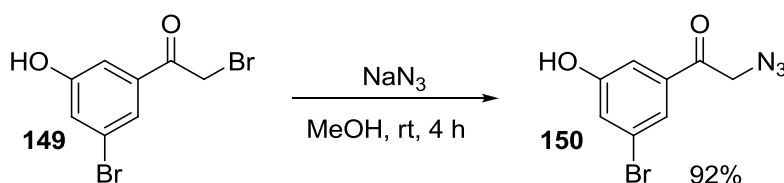


¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.65 (dd, 1H, $J(2,4)$ = 1.5 Hz, $J(2,6)$ = 1.4 Hz, C₂-H), 7.40 (dd, 1H, $J(4,6)$ = 2.3 Hz, $J(2,6)$ = 1.5 Hz, C₆-H), 7.27 (dd, 1H, $J(4,6)$ = 2.3 Hz, $J(2,4)$ = 1.4 Hz, C₄-H), 6.14 (bs, 1H, OH), 4.40 (s, 2H, CH₂).



¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 190.6 (C=O), 157.3 (C₅), 136.3 (C₁), 124.5 a 124.2 (C₂ a C₄), 123.4 (C₃), 114.5 (C₆), 30.8 (CH₂).

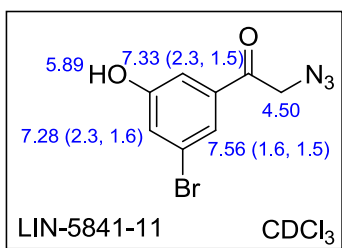
3.2.2. Príprava α -azido-3-bróm-5-hydroxyacetofenónu (150)



Do roztoku 220 mg α -brómacetofenónu **149** (0.75 mmol, 1.00 mol ekv) v 8 ml suchého metanolu sa pri rt pridalo 54 mg NaN₃ (0.82 mmol, 1.10 mol ekv). Reakčná zmes sa nechala miešať pri rt 4 hodiny. Následne sa metanol odparil a tuhý materiál sa rozdelil medzi 20 ml EA a 20 ml H₂O. Po oddelení vrstiev sa vodná vrstva extrahovala s EA (2x 20 ml). Spojené organické vrstvy sušili státím nad Na₂SO₄, sušidlo sa odparilo a následne sa EA odparil pomocou RVO. Produkt **150** sa získal ako 176 mg červeného oleja s výťažkom 92 %.²

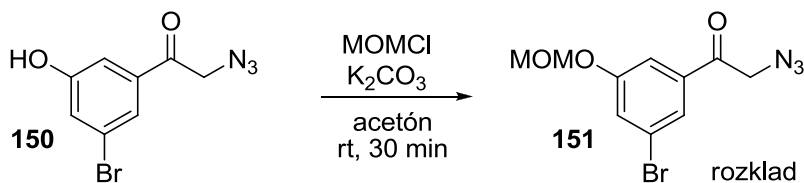
Poznámky: Produkt nebolo možné vyčistiť pre rozklad.

TLC (SiO₂, EA/H = 1 : 2) R_f = 0.59



¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.56 (dd, 1H, $J(2,4) = 1.6$ Hz, $J(2,6) = 1.5$ Hz, C₂-H), 7.33 (dd, 1H, $J(4,6) = 2.3$ Hz, $J(2,6) = 1.5$ Hz, C₆-H), 7.28 (dd, 1H, $J(4,6) = 2.3$ Hz, $J(2,4) = 1.6$ Hz, C₄-H), 5.89 (bs, 1H, OH), 4.50 (s, 2H, CH₂).

3.2.3. Príprava α-Azido-3-bróm-5-metoxymetyloxy-acetofenónu (151)

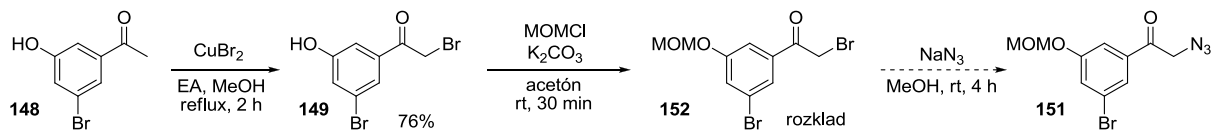


Do roztoku 50 mg východiskového hydroxyacetofenónu (0,195 mmol, 1.00 mol ekv) v 1.2 ml acetónu sa postupne pridalo 35 mg K₂CO₃ (0.254 mmol, 1.30 mol ekv) a 20 mg MOMCl (0.254 mmol, 1.30 mol ekv) pri rt. Následne sa zmes nechala miešať pri rt 30 min. Väčšina acetónu sa následne odparila a ostatok sa rozdelil medzi 5 ml EA a 5 ml vody. Vodná vrstva ešte extrahovala s EA (2x 5 ml). Spojené organické vrstvy sušili státim nad Na₂SO₄, sušidlo sa odparilo a následne sa EA odparil pomocou RVO. Získalo sa 56 mg červeného oleja, čo bola zmes niekoľkých látok. Zo zmesného ¹H NMR (LIN-5911-11) nebolo možné určiť všetky signály produktu.¹²²

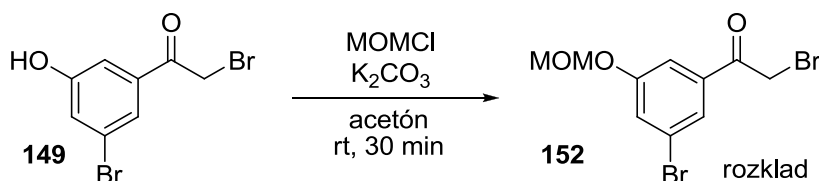
Poznámky: Produkt sa naďalej rozkladal a nebolo možné ho vyčistiť

¹²² Wang, Q.; Huang, Q.; Chen, B.; Lu, J.; Wang, H.; She, X.; Pan, X. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 22, 3651 – 3653. (analogicky na inom substráte)

3.3. Príprava α -azido-3-bróm-5-(metoxymetyloxy)-acetofenónu (151) - 2. metóda



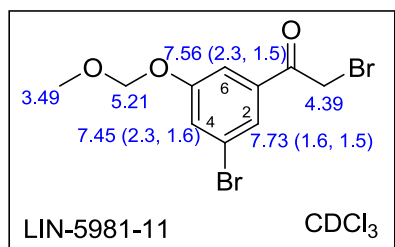
3.3.1. Príprava α ,3-Dibróm-5-metoxymetyloxy-acetofenónu (152)



Do roztoku 100 mg východiskového hydroxyacetofenónu (0.34 mmol, 1.00 mol ekv) v 2.5 ml acetónu sa postupne pridalo 61 mg K_2CO_3 (0.44 mmol, 1.30 mol ekv) a 36 mg MOMCl (0.44 mmol, 1.30 mol ekv) pri rt. Následne sa zmes nechala miešať pri rt 30 min. Väčšina acetónu sa následne odparila a zvyšok sa rozdelil medzi 10 ml EA a 10 ml vody. Vodná vrstva ešte extrahovala s EA (2x 10 ml). Spojené organické vrstvy sušili státím nad Na_2SO_4 , sušidlo sa odparilo a následne sa EA odparil pomocou RVO. Získalo sa 86 mg červeného oleja, čo bol znečistený produkt.¹²²

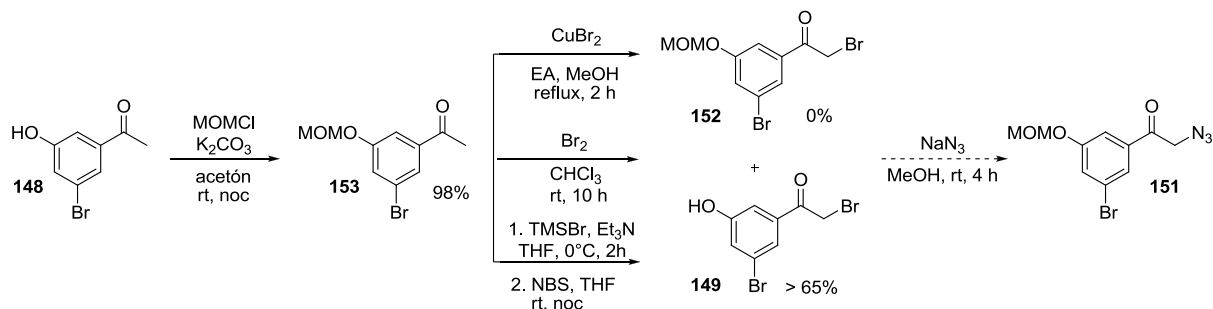
Poznámky: Produkt sa naďalej rozkladal a nebolo možné ho vyčistiť

TLC (SiO_2 , EA/H = 1 : 2) R_f = 0.79

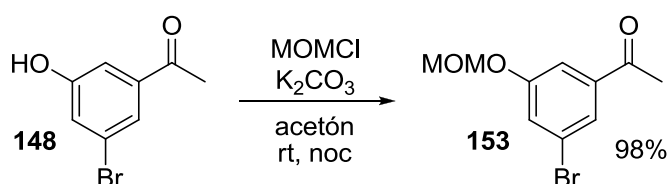


1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.73 (dd, 1H, $J(2,4) = 1.6$ Hz, $J(2,6) = 1.5$ Hz, C_2 -H), 7.56 (dd, 1H, $J(4,6) = 2.3$ Hz, $J(2,6) = 1.5$ Hz, C_6 -H), 7.45 (dd, 1H, $J(4,6) = 2.3$ Hz, $J(2,4) = 1.6$ Hz, C_4 -H), 5.21 (s, 2H, OCH_2O), 4.39 (s, 2H, $COCH_2$), 3.49 (s, 3H, OCH_3).

3.4. Príprava α -Azido-3-bróm-5-metoxymetyloxy-acetofenónu (151) - 3. metóda



3.4.1. Príprava 3-Bróm-5-metoxymetyloxy-acetofenónu (153)

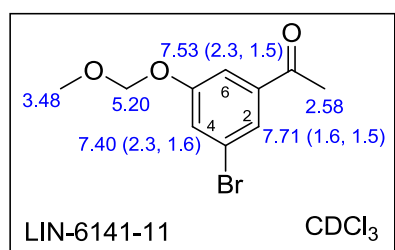


Do roztoku 200 mg východiskového hydroxyacetofenónu (0.93 mmol, 1.00 mol ekv) v 4 ml acetónu sa postupne pridalo 257 mg K_2CO_3 (1.86 mmol, 2.00 mol ekv) a 140 μ l MOMCl (1.86 mmol, 2.00 mol ekv) pri rt. Následne sa zmes nechala miešať pri rt počas noci. Väčšina acetónu sa následne odparila a ostatok sa rozdelil medzi 20 ml EA a 20 ml vody. Vodná vrstva ešte extrahovala s EA (2x 20 ml). Spojené organické vrstvy sušili státím nad Na_2SO_4 , sušidlo sa odparilo a následne sa EA odparil pomocou RVO. Produkt sa získal ako 290 mg (0.91 mmol, 98%)bledého oleja.¹²²

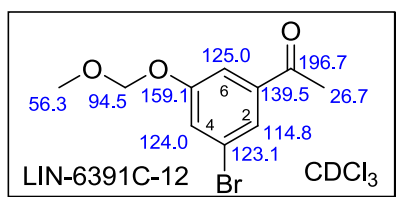
TLC (SiO_2 , EA/H, 1 / 4) R_f = 0.51

Elem. An. vypočítané pre $C_{10}H_{11}BrO_3$ (259.10): C, 46.36; H, 4.28; Br, 30.84. merané: C, 46.41; H, 4.31; Br, 30.80.

Ľ v (tuhé): 3073 (w), 3024 (m), 2959 (m), 1686 (s, C=O), 1593 (s), 1494 (s), 1440 (m), 1250 (s), 1198 (s), 1141 (s), 1080 (s), 1041 (s), 965 (s), 766 (w), 680 (w) cm^{-1} .

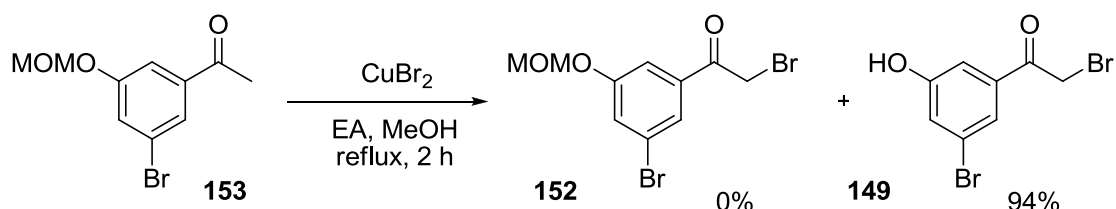


1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.71 (dd, 1H, $J(2,4) = 1.6$ Hz, $J(2,6) = 1.5$ Hz, C_2 -H), 7.53 (dd, 1H, $J(4,6) = 2.3$ Hz, $J(2,6) = 1.5$ Hz, C_6 -H), 7.40 (dd, 1H, $J(4,6) = 2.3$ Hz, $J(2,4) = 1.6$ Hz, C_4 -H), 5.20 (s, 2H, OCH_2O), 3.48 (s, 3H, OCH_3), 2.58 (s, 3H, $COCH_3$).



¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 196.7 (C=O), 159.1 (C₅), 139.5 (C₁), 125.0 (C₆), 124.0 (C₄), 123.1 (C₃), 114.8 (C₂), 94.5 (OCH₂O), 56.3 (OCH₃), 26.7 (COCH₃)

3.4.2. Príprava α,3-Dibróm-5-metoxymetyloxy-acetofenónu (152)



Do suspenzie 15 mg 3-bróm-5-metoxymetyloxyacetofenónu (0.058 mmol, 1.00 mol ekv) v zmesi 1 ml EA a 0.25 ml MeOH (4 : 1) sa pri rt prisypalo 28 mg CuBr₂ (0.122 mmol, 2.10 mol ekv). Následne sa celá zmes zahrievala za refluxu 2 hodiny, pričom sa pozorovalo slabé zosvetlenie zmesi a vyzrážavanie bielej zrazeniny CuBr. Po ukončení reakcie sa pridalo 2 ml nasýteného roztoku NaHCO₃, pričom zmes zmenila farbu na oranžovú. Organická vrstva sa oddelila a vodná sa preextrahovala etylacetátom (2x 3 ml). Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad Na₂SO₄, sušidlo sa odfiltrovalo a rozpúšťadlá odparili pomocou RVO. Získalo sa 16 mg (0.054 mmol, 94%) tuhnúceho oleja brómderivátu **149**.¹²¹

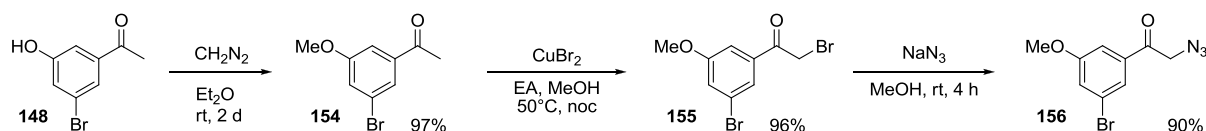
Poznámky:

- pri reakcii došlo k odstráneniu chrániacej MOM-skupiny z kyslíka
- reakciu sme skúšali aj s inými činidlami:
 - s brómom (1.00 mol ekv) v suchom CH₂Cl₂ pri rt počas 10 h¹²³: opäť došlo k odstráneniu MOM skupiny a čiastočnej bromácii za vzniku derivátu **149** (65%)
 - s 1.TMSBr (1.50 mol ekv), Et₃N (3.00 mol ekv) v THF pri 0°C počas 2 h; 2. NBS pri rt počas noci¹²⁴: opäť došlo k odbúraniu MOM skupiny a k bromácii za vzniku brómderivátu **149** (~84%)

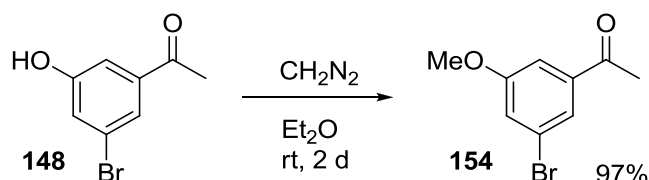
¹²³ Campos, F.; Bosch, M. P.; Guerrero, A. *Tetrahedron: Asym.* **2000**, *11*, 13, 2705 – 2718. (analogicky na inom substráte)

- s 1. diisopropylamínom (7.00 mol ekv), *n*-BuLi (7.00 mol ekv) pri -78°C v THF počas 30 min; 2. TMSBr (1.50 mol ekv) pri -78°C, 90 min; 3. NBS (1.00 mol ekv) v THF pri -78°C počas 30 min¹²⁵: získala sa veľmi komplikovaná zmes spôsobená rozkladom, požadovaný produkt nebol identifikovaný

3.5. Príprava α -Azido-3-bróm-5-metoxy-acetofenónu (156)



3.5.1. Príprava 3-Bróm-5-metoxyacetofenónu (154)



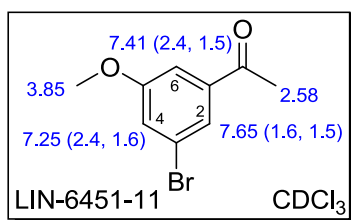
K 200 mg 3-bróm-5-hydroxyacetofenónu (0.93 mmol, 1.00 mol ekv) sa priliato 13.8 ml roztoku CH_2N_2 v dietyléri (ca. 17 mg/ml, 5.58 mmol, 6.00 mol ekv) pri rt a zmes sa nechala miešať cez noc. Na druhý deň sa opäť pridalo 5 ml roztoku CH_2N_2 v dietyléri (ca. 17 mg/ml, 2 mmol, 2.20 mol ekv) a zmes sa zas nechala miešať cez noc pri rt, keď TLC (EA : Hex = 1 : 4) už nevykazovala prítomnosť východiskovej látky v zmesi. Následne sa éter so zvyšným diazometánom odparil, čím sa získalo 200 mg (0.90 mmol, 97%) bledého oleja, ktorý tuhol v chlade.¹²⁶

TLC (SiO_2 , EA : Hex = 1 : 4) R_f = 0.51

¹²⁴ Suzuki, S.; Kotake, M.; Miyamoto, M.; Kawahara, T.; Kajiwar, A.; Hishinuma, I.; Okano, K.; Miyazawa, S.; Clark, R.; Ozaki, F.; Sato, N.; Shinoda, M.; Kamada, A.; Tsukada, I.; Matsuura, F.; Naoe, Y.; Terauchi, T.; Oohashi, Y.; Ito, O.; Tanaka, H. Eur. Patent 1391451, 2004. (analogicky na inom substráte)

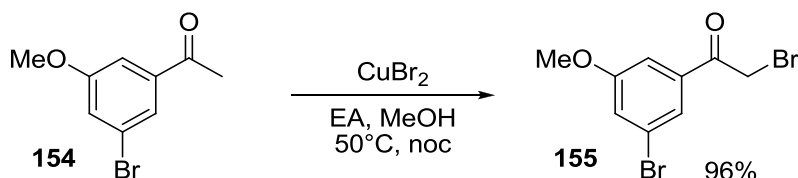
¹²⁵ Spitzer, W. A.; Victor, F.; Pollock, G. D.; Hayes, J. S. *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 1590-1595. (analogicky na inom substráte)

¹²⁶ Singh, S. B.; Pettit, G. R. *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 17, 4105 – 4114. (analogicky na inom substráte)



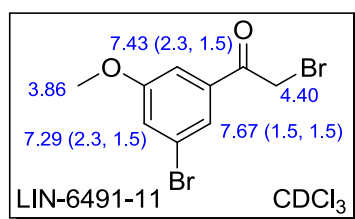
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.65 (dd, 1H, $J(2,4) = 1.6$ Hz, $J(2,6) = 1.5$ Hz, $\text{C}_2\text{-H}$), 7.41 (dd, 1H, $J(4,6) = 2.4$ Hz, $J(2,6) = 1.5$ Hz, $\text{C}_6\text{-H}$), 7.25 (dd, 1H, $J(4,6) = 2.4$ Hz, $J(2,4) = 1.6$ Hz, $\text{C}_4\text{-H}$), 3.85 (s, 3H, OCH_3), 2.58 (s, 3H, COCH_3).

3.5.2. Príprava $\alpha,3$ -Dibróm-5-metoxyacetofenónu (155)



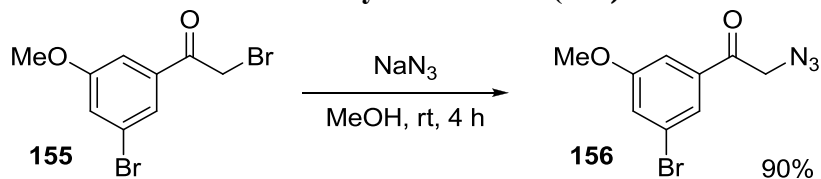
Do suspenzie 200 mg 3-bróm-5-metoxyacetofenónu (0.87 mmol, 1.00 mol ekv) v zmesi 16 ml EA a 4 ml MeOH (4 : 1) sa pri rt prisypalo 194 mg CuBr_2 (0.87 mmol, 1.00 mol ekv). Následne sa celá zmes zahrievala pri 50°C cez noc alebo do kompletnej konverzie zistenej na základe TLC (EA : Hex = 1 : 4). Po ukončení reakcie sa pridalo 20 ml nasýteného roztoku NaHCO_3 . Organická vrstva sa oddelila a vodná sa preextrahovala etylacetátom (2x 20 ml). Spojené organické vrstvy sa sušili stáťím nad Na_2SO_4 , sušidlo sa odfiltrovalo a rozpúšťadlá odparili pomocou RVO. Získalo sa 256 mg (0.83 mmol, 96 %) hrubého produktu ako tuhnúceho oleja. Produkt bol dostatočne čistý a preto použitý priamo do ďalšej reakcie.¹²¹

TLC (SiO_2 , EA : Hex = 1 : 4) $R_f = 0.61$



^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.67 (dd, 1H, $J(2,6) = 1.5$ Hz, $J(2,4) = 1.5$ Hz, $\text{C}_2\text{-H}$), 7.43 (dd, 1H, $J(4,6) = 2.3$ Hz, $J(2,6) = 1.5$ Hz, $\text{C}_6\text{-H}$), 7.29 (dd, 1H, $J(4,6) = 2.3$ Hz, $J(2,4) = 1.5$ Hz, $\text{C}_4\text{-H}$), 4.40 (s, 2H, CH_2), 3.86 (s, 3H, OCH_3).

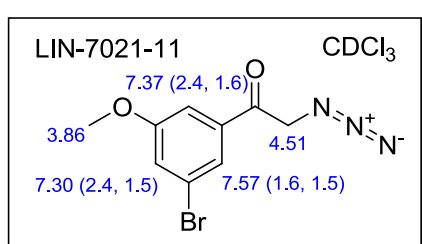
3.5.3. Príprava α -Azido-3-bróm-5-metoxyacetofenónu (156)



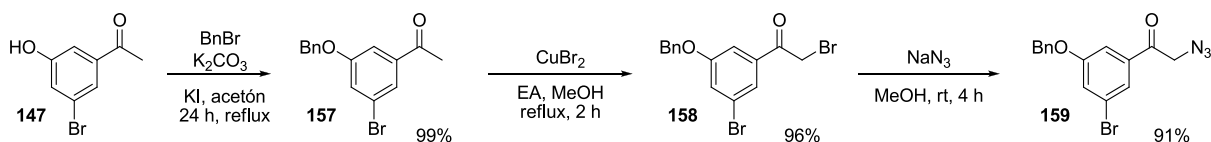
Do roztoku 65 mg východiskového brómderivátu (0.21 mmol, 1 mol ekv) v 2 ml suchého metanolu sa pri rt prisypalo 15 mg NaN_3 (0.23 mmol, 1.1 mol ekv) a reakčná zmes sa nechala miešať 2 hodiny. Následne sa metanol odparil, pridalo sa 2 ml vody a zmes sa extrahovala trikrát 2 ml dietyléteru. Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad Na_2SO_4 , ktorý bol následne odfiltrovaný a rozpúšťadlá odparené. Získalo 49 mg (0.19, 90%) surového produktu, ktorý sa použil priamo do ďalšej reakcie.²

TLC (SiO_2 , EA : Hex = 1 : 4) R_f = 0.55

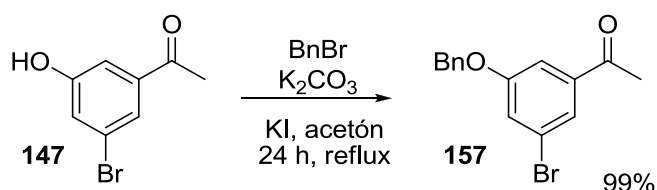
Poznámky: Produkt sa rozkladal a nebolo možné ho vyčistiť



3.6. Príprava α -Azido-3-bróm-5-benzyloxy-acetofenónu (159)



3.6.1. Príprava 3-Bróm-5-benzyloxyacetofenónu (157)

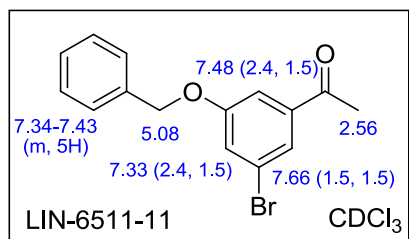


Do roztoku 200 mg 3-bróm-5-hydroxyacetofenónu (0.93 mmol, 1.00 mol ekv) v 5 ml acetónu sa pri rt pridalo 31 mg KI (0.19 mmol, 0.20 mol ekv) a 257 mg K_2CO_3 (1.86 mmol, 2.00 mol ekv). Zmes sa nechala miešať 15 min pri rt. Následne sa k zmesi pridalo 110 μl benzylbromidu (0.93 mmol, 1.00 mol ekv). Reakcia sa nechala miešať pri rt 24 h. Následne sa do zmesi priliat nasýtený roztok NaCl vo vode (10 ml) a produkt sa získal extrakciou do dietyléru (3x 15 ml) ako 280 mg (0.92, 99%) žltého oleja.¹²⁷

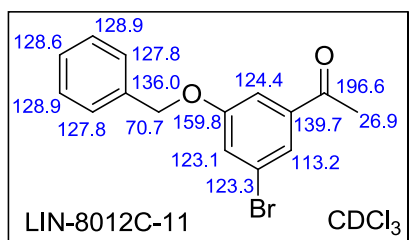
TLC (SiO_2 , EA : Hex = 1 : 2) R_f = 0,73

Elem. An. počítané pre $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{BrO}_2$ (305.17): C, 59.04; H, 4.29; Br, 26.18; O, 10.49. merané: C, 59.08; H, 4.21; Br, 26.3.

IR v(tuhé): 3083 (w, arom. C-H), 2903 (w, alif. C-H), 1686 (s, C=O), 1589 (m, C=C), 1565 (s), 1430 (s), 1355 (m, CH_3), 1250 (s), 1203(m), 1023 (m), 846 (w), 736 (w), 694 (m) cm^{-1}



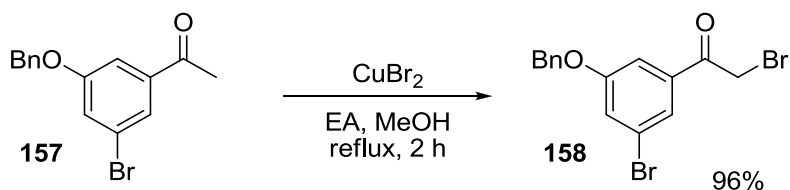
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.66 (dd, 1H, $J(2,4) = 1.5$ Hz, $J(2,6) = 1.5$ Hz, $\text{C}_2\text{-H}$), 7.48 (dd, 1H, $J(4,6) = 2.4$ Hz, $J(2,6) = 1.5$ Hz, $\text{C}_6\text{-H}$), 7.34-7.43 (m, 5H, Ph), 7.33 (dd, 1H, $J(4,6) = 2.4$ Hz, $J(2,4) = 1.5$ Hz, $\text{C}_4\text{-H}$), 5.08 (s, 2H, CH_2Ph), 2.56 (s, 2H, COCH_3).



^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 196.6 (C=O), 159.8 (C_5), 139.7 (C_1), 136.0 (C_1^*), 128.9 (C_3^* , C_5^*), 128.6 (C_4^*), 127.8 (C_2^* , C_6^*), 124.4 (C_6), 123.3 (C_3), 123.1 (C_4), 113.2 (C_2), 70.7 (CH_2), 26.9 (CH_3).

¹²⁷ Hua, D. H.; Huang, X.; Chen, Y.; Battina, S. K.; Tamura, M.; Noh, S. K.; Koo, S. I.; Namatame, I.; Tomoda, H.; Perchellet, E. M.; Perchellet, J.-P. *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 18, 6065 – 6078. (analogicky na inom substráte)

3.6.2. Príprava $\alpha,3$ -Dibróm-5-benzyloxyacetofenónu (158)

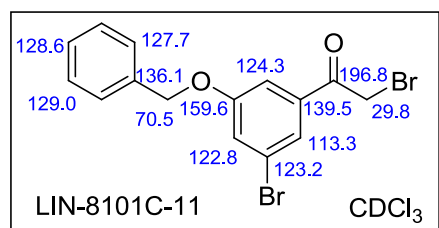
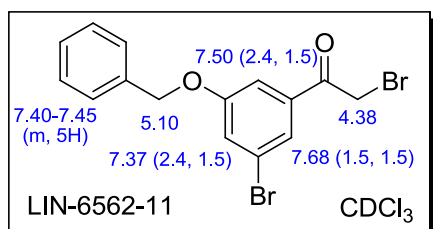


Do suspenzie 280 mg 3-bróm-5-benzyloxyacetofenónu (0.92 mmol, 1 mol ekv) v zmesi 16 ml EA a 4 ml MeOH (4 : 1) sa pri rt prisypalo 246 mg CuBr_2 (1.10 mmol, 1.2 mol ekv). Následne sa celá zmes zahrievala pri 50°C cez noc alebo do kompletnej konverzie zistenej na základe TLC. Po ukončení reakcie sa pridalo 20 ml nasýteného roztoku NaHCO_3 . Organická vrstva sa oddelila a vodná sa preextrahovala etylacetátom (2x 20 ml). Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad Na_2SO_4 , sušidlo sa odfiltrovalo a rozpúšťadlá odparili pomocou RVO. Získalo sa 340 mg produktu ako tuhnúceho oleja s výťažkom 96 %.¹²¹

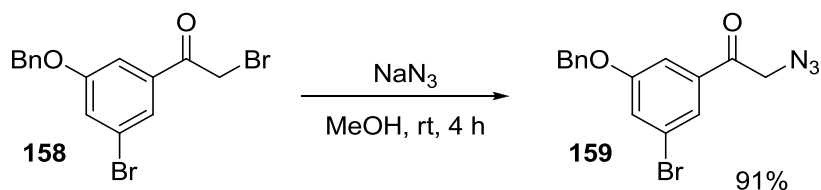
TLC (SiO_2 , EA : Hex = 1 : 4) R_f = 0.59

Elem. An. počítané pre $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{Br}_2\text{O}_2$ (384.06): C, 46.91; H, 3.15; Br, 41.61; O, 8.33. merané: C, 46.78; H, 3.13; Br, 41.72.

IČ (tuhé): 3068 (w), 3031 (m), 2974 (m), 2934 (m), 2879 (m), 1687 (s, C=O), 1590 (s), 1567 (s), 1496 (w), 1431 (s), 1379 (m), 1314 (m), 1280 (s), 1225 (m), 1164 (m), 1107 (m), 1048 (s), 1025 (s), 900 (w), 845 (w), 788 (w), 736 (m), 695 (s), 671 (w) cm^{-1} .



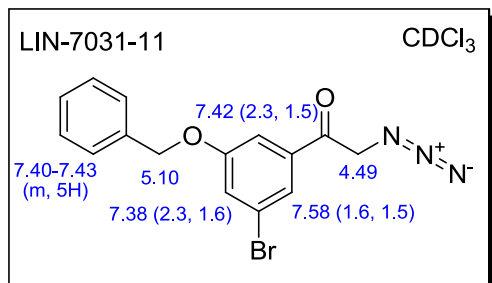
3.6.3. Príprava α -Azido-3-brom-5-benzyloxyacetofenónu (159)



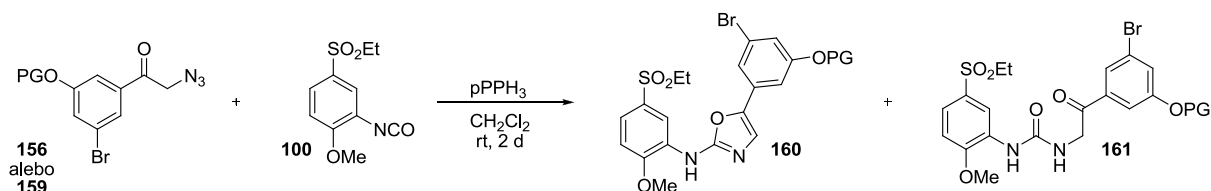
Do roztoku 80 mg východiskového brómderivátu (0.21 mmol, 1 mol ekv) v 2 ml suchého metanolu sa pri rt prisypalo 15 mg NaN_3 (0.23 mmol, 1.1 mol ekv) a reakčná zmes sa nechala miešať 3 hodiny. Následne sa metanol odparil, pridalo sa 5 ml vody a zmes sa extrahovala trikrát 5 ml CH_2Cl_2 . Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad Na_2SO_4 , ktorý bol následne odfiltrovaný a rozpúšťadlá odparené. Získalo 66 mg (výťažok 91%) surového produktu, ktorý sa použil priamo do ďalšej reakcie.²

Poznámky: Produkt sa rozkladal a nebolo možné ho vyčistiť

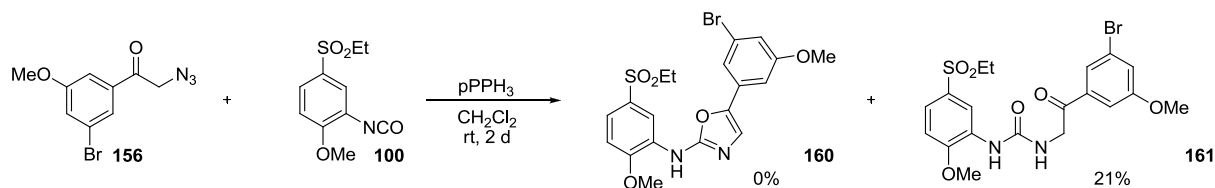
TLC (SiO_2 , EA : Hex = 1 : 4) R_f = 0.57



3.7. Príprava *m*-metoxy a *m*-benzyloxy derivátov oxazol-2-amínov (161)



3.7.1. Príprava 5-(3-bróm-5-metoxyfenyl)-N-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl]oxazol-2-amínu (160a, 161a)

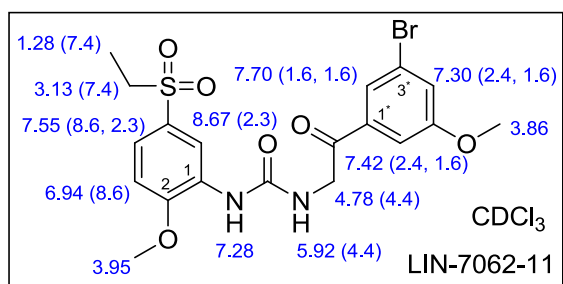


Do suspenzie 119 mg polymérneho PPh_3 (1.6 mmol/g, 0.19 mmol, 1.00 mol ekv) v 1 ml suchého CH_2Cl_2 sa pomaly v priebehu 30 min prikvapkal roztok 46 mg 5-(etylsulfonyl)-2-metoxybenzénizokyanátu (0.19 mmol, 1.00 mol ekv) a 49 mg α -azido-3-bróm-5-metoxyacetofenónu (0.19 mmol, 1.00 mol ekv) v 1 ml suchého CH_2Cl_2 za chladenia na 0°C . Následne sa zmes nechala miešať pri rt 1-2 dni. Z reakčnej zmesi sa odfiltrovali polymérne zložky, CH_2Cl_2 sa odparil a produkty sa získali pomocou FLC na stĺpci SiO_2 (EA : Hex = 2 : 1). Oxazol-2-amín nebol izolovaný vôbec. Podarilo sa izolovať 19 mg (0.04 mmol, 21%) otvoreného močovínového derivátu.²

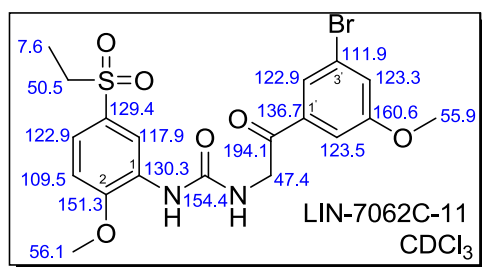
TLC (SiO_2 , EA : Hex = 2 : 1) R_f = 0.19

Elem. An. vypočítané pre $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{BrN}_2\text{O}_6\text{S}$ (485.35): C, 47.02; H, 4.36; Br, 16.46; N, 5.77; S, 6.61. merané: C, 46.86; H, 4.23; Br, 16.57; N, 5.71; S, 6.84.

IČ v (tuhé): 3364 (m, NH), 2942 (w, C-H), 1683 (w, C=O), 1659 (m), 1588 (m), 1540 (m), 1495 (m), 1415 (m), 1295 (s, S=O), 1261 (s), 1204 (m), 1121 (s, S=O), 1084 (m), 1046 (m), 1011 (m), 920 (w), 817 (m), 718 (m), 681 (m) cm^{-1} .



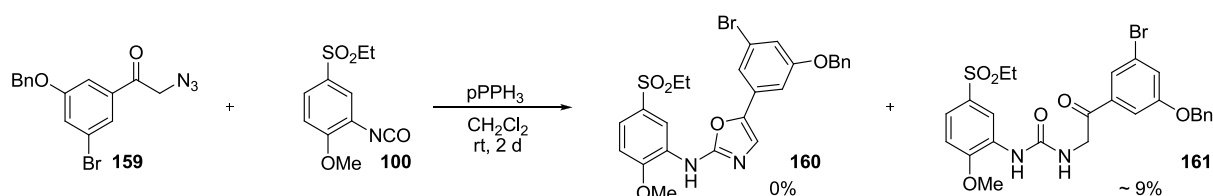
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.67 (d, 1H, $J(4,6) = 2.3$ Hz, $\text{C}_6\text{-H}$), 7.70 (dd, 1H, $J(2',4') = 1.6$ Hz, $J(2',6') = 1.6$ Hz, $\text{C}_2\text{-H}$), 7.55 (dd, 1H, $J(3,4) = 8.6$ Hz, $J(4,6) = 2.3$ Hz, $\text{C}_4\text{-H}$), 7.42 (dd, 1H, $J(4',6') = 2.4$ Hz, $J(2',6') = 1.6$ Hz, $\text{C}_6\text{-H}$), 7.30 (dd, 1H, $J(4',6') = 2.4$ Hz, $J(2',4') = 1.6$ Hz, $\text{C}_4\text{-H}$), 7.28 (s, 1H, Ar-NH-CO), 6.94 (d, 1H, $J(3,4) = 8.6$ Hz, $\text{C}_3\text{-H}$), 5.92 (t, 1H, $J(\text{NH}, \text{CH}_2) = 4.4$ Hz, CONHCH₂), 4.78 (d, 2H, $J(\text{NH}, \text{CH}_2) = 4.4$ Hz, CONHCH₂), 3.95 (s, 3H, $\text{C}_2\text{-OMe}$), 3.86 (s, 3H, $\text{C}_5\text{-OMe}$), 3.13 (q, 2H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7.4$ Hz, $\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.28 (t, 3H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7.4$ Hz, $\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).



^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 194.1 (COCH_2), 160.6 ($\text{C}_{5'}$), 154.4 (NHCONH), 151.3 (C_2), 136.7 ($\text{C}_{1'}$), 130.3 (C_1), 129.4 (C_5), 123.5 and 123.3 (C_4' and C_6'), 122.94 and 122.88 (C_4 and C_2'), 117.9 (C_6), 111.9 (C_3'), 109.5 (C_3), 56.1 (OCH_3), 55.9 (OCH_3),

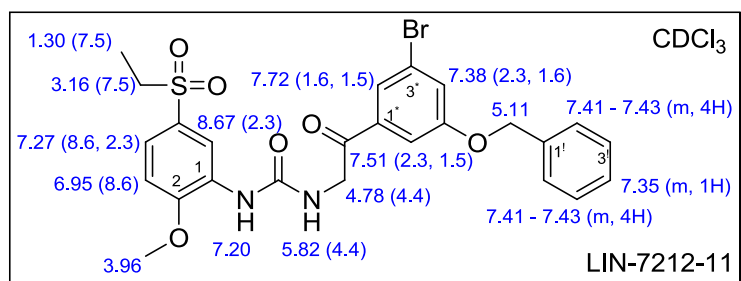
50.5 ($\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 47.4 (COCH_2), 7.6 ($\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

3.7.2. Príprava 5-(3-bróm-5-benzyloxyfenyl)-N-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl]oxazol-2-amínu (160b, 161b)



Do suspenzie 125 mg polymérneho PPh_3 (1.6 mmol/g, 0.20 mmol, 1.00 mol ekv) v 1.5 ml suchého CH_2Cl_2 sa pomaly v priebehu 30 min prikvapkal roztok 59 mg 5-(etylsulfonyl)-2-metoxybenzénizokyanátu (0.24 mmol, 1.20 mol ekv) a 70 mg α -azido-3-bróm-5-benzyloxyacetofenónu (0.20 mmol, 1.00 mol ekv) v 1.5 ml suchého CH_2Cl_2 za chladenia na 0°C . Následne sa zmes nechala miešať pri rt 1-2 dni. Z reakčnej zmesi sa odfiltrovali polymérne zložky, CH_2Cl_2 sa odparil a produkty sa získali pomocou FLC na stĺpci SiO_2 (EA : Hex = 2 : 1). Oxazol-2-amín nebol izolovaný vôbec. Podarilo sa izolovať 31 mg zmesi dvoch látok (ca. 1 : 1) - otvoreného močovínového derivátu (výťažok ~ 9%) a neznámej látky.²

TLC (SiO_2 , EA : Hex = 2 : 1) R_f = 0.18



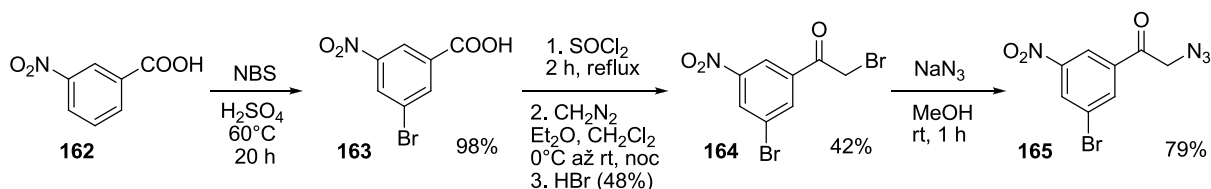
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.67 (d, 1H, $J(4,6)$ = 2.3 Hz, $\text{C}_6\text{-H}$), 7.72 (dd, 1H, $J(2^*,4^*)$ = 1.6 Hz, $J(2^*,6^*)$ = 1.5 Hz, $\text{C}_{2^*}\text{-H}$), 7.51 (dd, 1H, $J(4^*,6^*)$ = 2.3 Hz, $J(2^*,6^*)$ = 1.5 Hz, $\text{C}_{6^*}\text{-H}$), 7.41 -

7.43 (m, 4H, $\text{C}_{2'}\text{-H}$, $\text{C}_{3'}\text{-H}$, $\text{C}_{5'}\text{-H}$, $\text{C}_{6'}\text{-H}$), 7.38 (dd, 1H, $J(4^*,6^*)$ = 2.3 Hz, $J(2^*,4^*)$ = 1.6 Hz, $\text{C}_{4^*}\text{-H}$), 7.35 (m, 1H, $\text{C}_{4'}\text{-H}$), 7.27 (dd, 1H, $J(3,4)$ = 8.6 Hz, $J(4,6)$ = 2.3 Hz, $\text{C}_4\text{-H}$), 7.20 (s, 1H, Ar-NH-CO), 6.95 (d, 1H, $J(3,4)$ = 8.6 Hz, $\text{C}_3\text{-H}$), 5.82 (t, 1H, $J(\text{NH},\text{CH}_2)$ = 4.4 Hz,

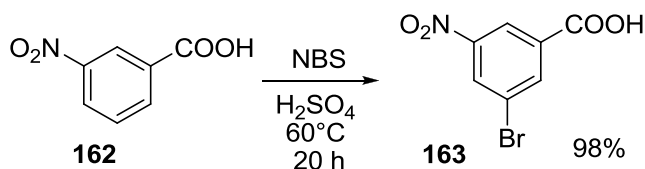
CONHCH₂), 5.11 (s, 2H, CH₂Ph), 4.78 (d, 2H, $J(\text{NH}, \text{CH}_2) = 4.4$ Hz, CONHCH₂), 3.96 (s, 3H, OMe), 3.16 (q, 2H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7.5$ Hz, SO₂CH₂CH₃), 1.30 (t, 3H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7.5$ Hz, SO₂CH₂CH₃).

Poznámky: otvorený močovínový derivát sme ďalej nepurifikovali, čo je dôvod, prečo nie sú zmerané ostatné spektrá

4. Príprava *m*-O-substituované deriváty odvodené od 1Y6A z kyseliny 3-nitrobenzoovej (162)



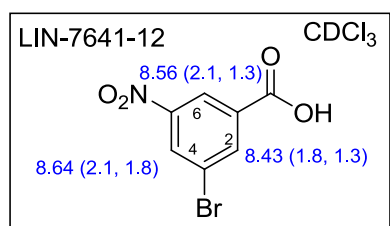
4.1. Príprava kyseliny 3-bróm-5-nitrobenzoovej (163)



K 500 mg kyseliny 3-nitrobenzoovej (2.99 mmol, 1.00 mol ekv) rozpustených v 10 ml koncentrovanej kyseliny sírovej sa pri 60°C po dávkach pridalo 800 mg NBS (4.49 mmol, 1.50 mol ekv). Reakčná zmes sa nechala miešať pri 60°C počas 20 hodín. Následne sa reakčná zmes nechala ochladiť na rt a ďalej na 0°C, zriedila sa 50 ml H₂O a extrahovala do EA (3x 50 ml). Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad Na₂SO₄. sušidlo sa následne odfiltrovalo a rozpúšťadlo sa odparilo. Produkt sa získal vo forme 720 mg (2.93 mmol, 98%) bieleho prášku.¹²⁸

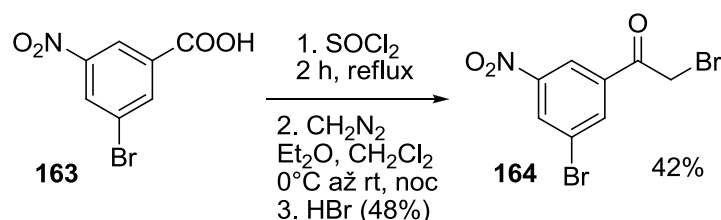
¹²⁸ Rajesh, K.; Somasundaram, M.; Saiganesh, R.; Balasubramanian, K. K. *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 15, 5867 – 5869.

TLC (SiO₂, EA) R_f = 0.56



¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 8.64 (dd, 1H, $J(4,6) = 2.1$ Hz, $J(2,4) = 1.8$ Hz, C₄-H), 8.56 (dd, 1H, $J(4,6) = 2.1$ Hz, $J(2,6) = 1.3$ Hz, C₆-H), 8.43 (dd, 1H, $J(2,4) = 1.8$ Hz, $J(2,6) = 1.3$ Hz, C₂-H).

4.2. Príprava α ,3-dibróm-5-nitroacetofenónu (164)



Do suchej banky s 200 mg východiskovej kyseliny (0.81 mmol, 1.00 mol ekv) sa pomaly pridá 1.2 ml tionylchloridu a zmes sa nechá zahrievať za refluxu počas 2 hodín, resp. do úplnej konverzie kyseliny na chlorid (TLC analýza). Následne sa zvyšný tionylchlorid odparí do sucha. K látke sa pridá 7 ml suchého CH₂Cl₂ a pri 0°C sa k roztoku pridá 8.6 ml roztoku diazometánu v suchom éteri (ca. 17 mg/ml, 3.46 mmol, 4.30 mol ekv). Reakčná zmes sa nechá miešať cez noc pričom sa teplota nechá samovoľne vystúpiť na rt. Následne sa do reakčnej zmesi pridá 7 ml HBr (48%) a zmes sa nechá miešať pri rt 1 hodinu. Reakčná zmes sa extrahuje do etylacetátu, a po sušení s Na₂SO₄, prefiltrovaní a odparení, sa produkt získal pomocou FLC (Hex : EA= 9 : 1). Výtťažok bol 110 mg (0.34 mmol, 42 %).¹²⁹

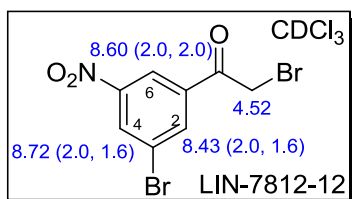
Poznámky: vedľajším produktom reakcie bol metylester východiskovej kyseliny.

TLC (SiO₂, EA : Hex = 1 : 8) R_f = 0.39

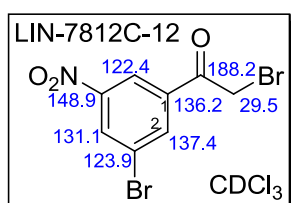
Elem. An. vypočítaná pre C₈H₅Br₂NO₃ (322.94): C, 29.75; H, 1.56; Br, 49.49; N, 4.34; O, 14.86, merané: C, 29.68; H, 1.61; Br, 49.62; N, 4.29.

¹²⁹ Buckman, B.; Nicholas, J. B.; Serebryany, V.; Seiwert, S. D. US Patent 0152246, A1, 2011. (analogicky na inom substráte)

IČ v(tuhé): 3084 (m, Ar C-H), 2990 (w, alif. C-H), 1694 (C=O), 1543 (s, NO₂), 1345 (s, NO₂), 1268 (m, C-C), 1200 (m), 1032 (w,=CH), 887 (w), 733 (m), 659 (w, C-Br) cm⁻¹.

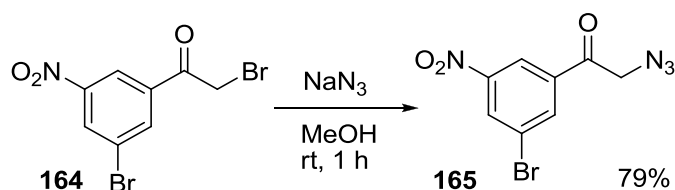


¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.72 (dd, 1H, *J*(4,6) = 2.0 Hz, *J*(2,4) = 1.6 Hz, C₄-H), 8.60 (dd, 1H, *J*(4,6) = 2.0 Hz, *J*(2,6) = 2.0 Hz, C₆-H), 8.43 (dd, 1H, *J*(2,6) = 2.0 Hz, *J*(2,4) = 1.6 Hz, C₂-H), 4.52 (s, 2H, CH₂).



¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 188.2 (CO), 148.9 (C₅), 137.4 (C₂), 136.2 (C₁), 131.1 (C₄), 123.9 (C₃), 122.4 (C₆), 29.5 (CH₂).

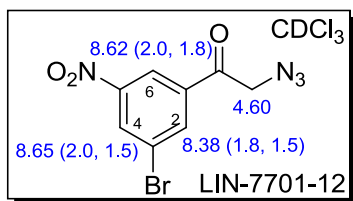
4.3. Príprava α-azido-3-bróm-5-nitroacetofenónu (165)



Do suchej banky s 100 mg brómderivátu (0.31 mmol, 1.00 mol ekv) bol pridaných 5 ml metanolu a následne postupne prisypaných 39 mg NaN₃ (0.59 mmol, 1.90 mol ekv) a reakčná zmes sa nechala miešať pri rt 1 hodinu, pričom sa pozorovala farebná zmena reakčnej zmesi s bezfarebnej na bledočervenú. Po úplnej premene látky na produkt (TLC) sa metanol odparil na RVO a získaný tuhý materiál sa rozdelil medzi EA (10 ml) a vodu (10 ml). Po oddelení vrstiev sa vodná dvakrát extrahovala s EA (10 ml). Spojené organické vrstvy boli sušené státím nad Na₂SO₄, prefiltrované a odparené. Výťažok reakcie bol 70 mg (0.24 mmol, 79 %). Produkt bol bez ďalšieho čistenia použitý do ďalšej reakcie.²

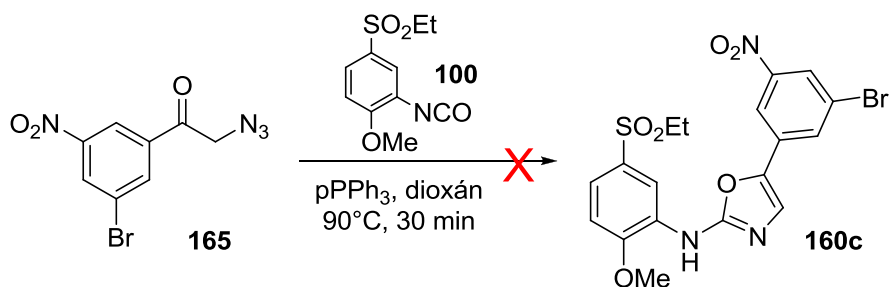
Poznámky: Produkt sa rozkladal a nebolo možné ho vyčistiť

TLC (SiO₂, EA : Hex = 1 : 9) R_f = 0.21



¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.65 (dd, 1H, *J*(4,6) = 2.0 Hz, *J*(2,4) = 1.5 Hz, C₄-H), 8.62 (dd, 1H, *J*(4,6) = 2.0 Hz, *J*(2,6) = 1.8 Hz, C₆-H), 8.38 (dd, 1H, *J*(2,6) = 1.8 Hz, *J*(2,4) = 1.5 Hz, C₂-H), 4.60 (s, 2H, CH₂).

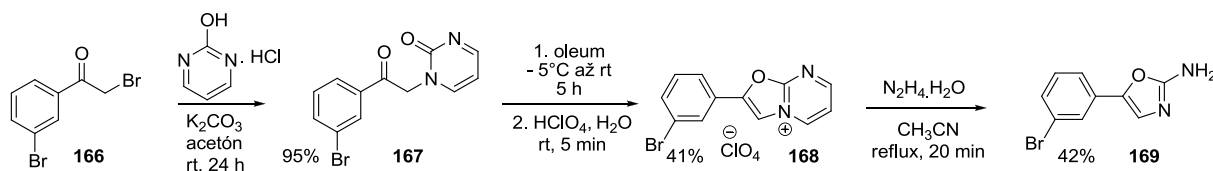
4.4. Príprava 5-(3-bróm-5-nitrofenyl)-*N*-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl]oxazol-2-amínu (160c, 161c)



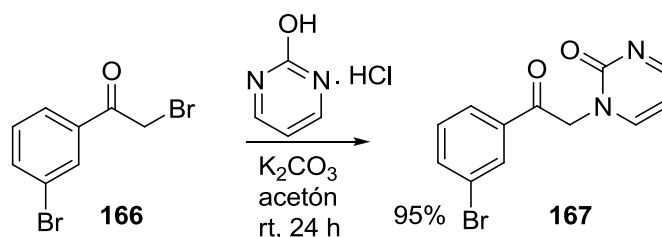
K 153 mg polymérneho pPPh₃ (1.6 mmol/g, 0.25 mmol, 1.00 mol ekv) sa prikvapkal roztok 59 mg izokyanátu **100** (0.25 mmol, 1.00 mol ekv) a 70 mg α-azidoacetofenónu **165** (0.25 mmol, 1.00 mol ekv) v 1.2 ml suchého dioxánu pri rt. Následne sa zmes nechala miešať 30 min pri 90°C. Z reakčnej zmesi sa odfiltrovali polymérne zložky, dioxán sa odparil za zníženého tlaku a zmes sa delila pomocou FLC na stĺpci SiO₂ (EA : Hex = 1 : 1). Prítomnosť oxazol-2-amínu a močovínového derivátu nebola zistená, pozorovali sa len fragmenty z rozkladných procesov.²

5. Použitie 2-hydroxypyrimidínovej metódy na prípravu vybraných oxazol-2-amínov

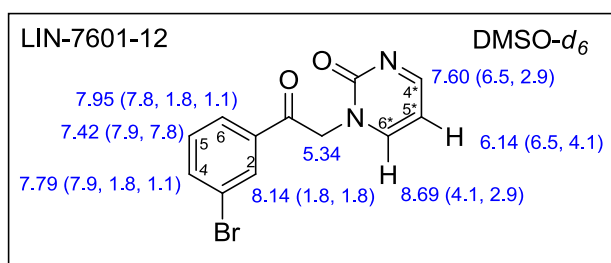
5.1. Overenie 2-hydroxypyrimidínovej metódy s m-Br-substituovaným substrátom



5.1.1. Príprava 1-[2-(3-brómfenyl)-2-oxoetyl]pyrimidin-2(1H)-ónu (**167**)

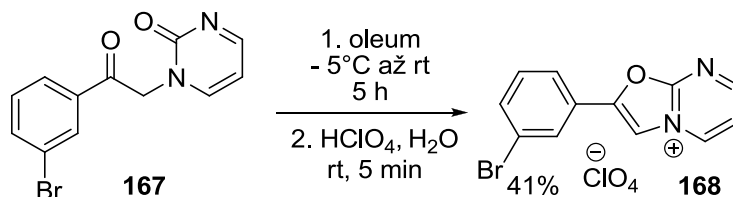


Do suspenzie 95 mg pyrimidín-2-ón hydrochloridu (0.72 mmol, 2.00 mol ekv) v 2 ml acetónu sa pri rt prisypalo 199 mg K_2CO_3 (1.44 mmol, 4.00 mol ekv) a následne sa prikvapkal roztok 100 mg $\alpha,3$ -dibrómacetofenónu (**166**) (0.36 mmol, 1.00 mol ekv) v 0.8 ml acetónu. Reakcia sa mieša pri rt 24 h. Následne sa acetón odparí a tuhá látka sa opláchnie vodou a éterom. Tuhý produkt sa suší za zníženého tlaku, pričom sa získa 99 mg (0.68 mmol, 95%) šedej alebo šedožltej tuhej látky.⁴⁸

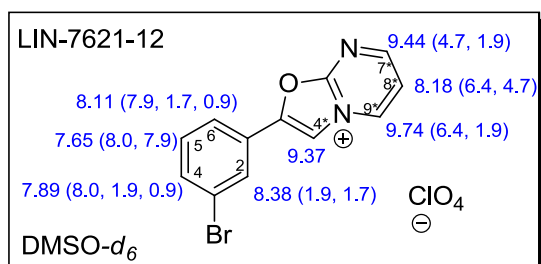


1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.69 (dd, 1H, $J(5^*,6^*) = 4.1$ Hz, $J(4^*,6^*) = 2.9$ Hz, C_{6^*} -H), 8.14 (dd, 1H, $J(2,4) = 1.8$ Hz, $J(2,6) = 1.8$ Hz, C_2 -H), 7.95 (ddd, 1H, $J(5,6) = 7.8$ Hz, $J(2,6) = 1.8$ Hz, $J(4,6) = 1.1$ Hz, C_6 -H), 7.79 (ddd, 1H, $J(4,5) = 7.9$ Hz, $J(2,4) = 1.8$ Hz, $J(4,6) = 1.1$ Hz, C_4 -H), 7.60 (dd, 1H, $J(4^*,5^*) = 6.5$ Hz, $J(4^*,6^*) = 2.9$ Hz, C_{4^*} -H), 7.42 (dd, 1H, $J(4,5) = 7.9$ Hz, $J(5,6) = 7.8$ Hz, C_5 -H), 6.14 (dd, 1H, $J(4^*,5^*) = 6.5$ Hz, $J(5^*,6^*) = 4.1$ Hz, C_{5^*} -H), 5.34 (s, 2H, CH_2).

5.1.2. Príprava 2-(3-brómfenyl)oxazolo[3,2-a]pyrimidín-4-ium perchlorátu (168)

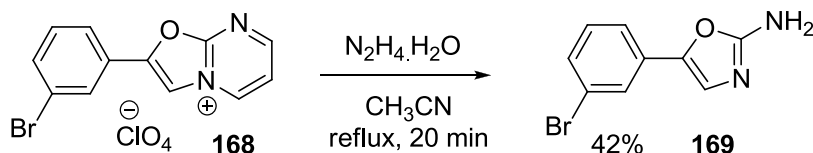


K 100 mg východiskového pyrimidín-2-ónu **167** (0.34 mmol, 1.00 mol ekv) sa za chladenia na 0°C prikvapkalo 700 µl 20% ólea (20% SO₃ v H₂SO₄). Zmes sa chladila, kým sa sa všetok východiskový materiál nerozpustil. Následne sa chladenie odstránilo a zmes sa nechala miešať pri rt 5 hodín. Reakcia sa zhasila 8,5 g ľadu a nakoniec sa prikvapkalo 250 µl HClO₄, čo spôsobilo vyzrážanie produktu vo forme perchlorátu. Produkt sa odfiltroval, premyl ľadovou vodou a sušil za zníženého tlaku. Produkt **168** sa získal ako 53 mg (0.14 mmol, 41%) bledohnedého prášku.⁴⁸



¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.74 (dd, 1H, *J*(8*,9*) = 6.4 Hz, *J*(7*,9*) = 1.9 Hz, C₉*-H), 9.44 (dd, 1H, *J*(7*,8*) = 4.7 Hz, *J*(7*,9*) = 1.9 Hz, C₇*-H), 9.37 (s, 1H, C₄*-H), 8.38 (dd, 1H, *J*(2,4) = 1.9 Hz, *J*(2,6) = 1.7 Hz, C₂-H), 8.18 (dd, 1H, *J*(8*,9*) = 6.4 Hz, *J*(7*,8*) = 4.7 Hz, C₈*-H), 8.11 (ddd, 1H, *J*(5,6) = 7.9 Hz, *J*(2,6) = 1.7 Hz, *J*(4,6) = 0.9 Hz, C₆-H), 7.89 (ddd, 1H, *J*(4,5) = 8.0 Hz, *J*(2,4) = 1.9 Hz, *J*(4,6) = 0.9 Hz, C₄-H), 7.65 (dd, 1H, *J*(4,5) = 8.0 Hz, *J*(5,6) = 7.9 Hz, C₅-H).

5.1.3. Príprava 5-(3-brómfenyl)oxazol-2-amínu (169)

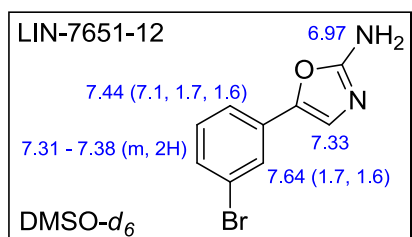


K roztoku 50 mg perchlorátu **168** (0.13 mmol, 1.00 mol ekv) v 1 ml AN sa za miešania prikvapkalo 80 µl hydrazín hydrátu (98%). Reakčná zmes sa zafarbí na červeno. Banka s reakčnou zmesou sa ponorí do kúpeľa predhriateho na 100°C a reakcia sa zahrieva 20 minút

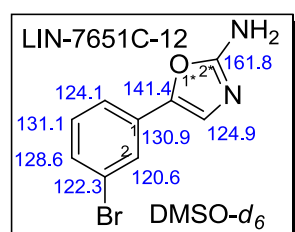
až do úplného odfarbenia reakčnej zmesi. Následne sa zmes prileje k 2 ml vody a vyzrážaný produkt sa odfiltruje. Produkt sa získal ako 13.5 mg (0.05 mmol, 42%) šedého prášku.⁴⁸

Tt = 189 - 201 °C

Elem. An. C₈H₅Br₂N₃O (318.95): C, 45.22; H, 2.95; Br, 33.42; N, 11.72; O, 6.69. merané: C, 45.31 ; H, 2.87 ; N, 11.61.

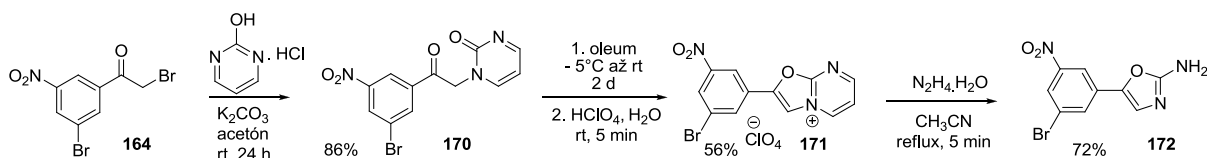


¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.64 (dd, 1H, *J* = 1.7 a 1.6 Hz, C₂-H), 7.44 (ddd, 1H, *J* = 7.1, 1.7 a 1.6 Hz, C₆-H), 7.33 (s, 1H, C_{ox}-H), 7.31-7.38 (m, 2H, C₄-H a C₅-H), 6.97 (bs, 2H, NH₂).

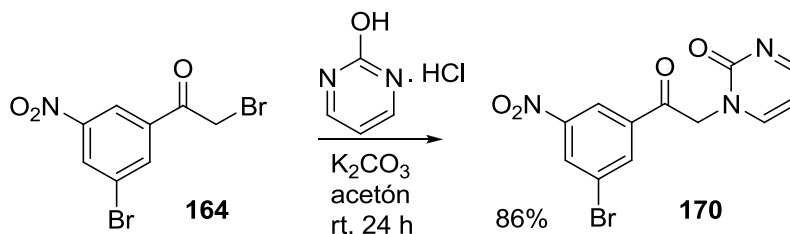


¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, δ): 161.8 (C₂*), 141.4 (C₅*), 131.1 (C₅), 130.9 (C₁), 128.6 (C₄), 124.9 (C₄*), 124.1 (C₆), 122.3 (C₃), 120.6 (C₂).

5.2. Príprava 5-(3-bróm-5-nitrofenyl)oxazol-2-amínu (172)



5.2.1. Príprava 1-[2-(3-bróm-5-nitro-fenyl)-2-oxoetyl]pyrimidin-2(1H)-ónu (170)



Do suspenzie 288 mg pyrimidín-2-ón hydrochloridu (2.17 mmol, 2.00 mol ekv) v 5 ml acetónu sa pri rt prisypalo 599 mg K₂CO₃ (4.34 mmol, 4.00 mol ekv) a následne sa prikvapkal roztok 350 mg acetofenónu **164** (1.08 mmol, 1.00 mol ekv) v 2 ml acetónu. Reakcia sa mieša pri rt 2 dni. Následne sa acetón odparí a tuhá látka sa opláchnie vodou a éterom. Tuhý produkt

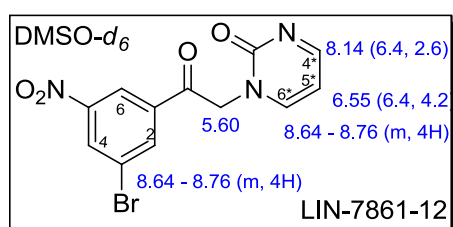
sa suší za zníženého tlaku, pričom sa získa 313 mg (1.87 mmol, 86%) hnedého tuhého produktu.⁴⁸

TLC (SiO₂, EA : Hex = 1 : 4) R_f = 0.05

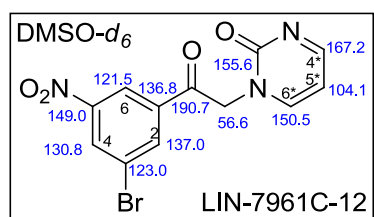
Tt = 202 - 204 °C

Elem. An. počítané pre C₁₂H₈BrN₃O₃ (338.11): C 42.63; H 2.38; Br 23.63; N 12.43; O 18.93. merané: C 42.45; H 2.31; Br 23.71 ; N 12.51.

IČ v(tuhé skup.): 3082 (w, arom C-H), 2918(w, alif. C-H), 1658 (s, C=O), 1613 (C=N), 1550 (s, NO₂), 1393 (m, C=C), 1347(s, NO₂), 1221 (m, C-N), 1084 (w, =CH), 887 (C-H), 735 (m, C-H), 665 (w, C-Br) cm⁻¹

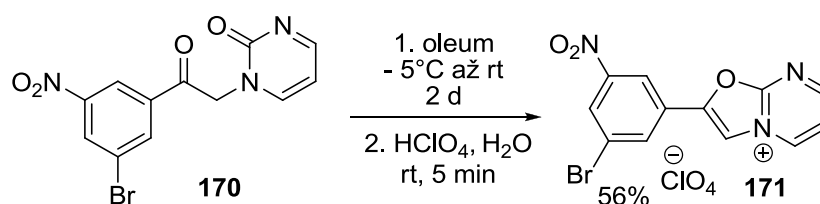


¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.64 - 8.76 (m, 4H, C₂-H, C₄-H, C₆-H a C_{6*}-H), 8.14 (dd, 1H, *J*(4*,5*) = 6.4 Hz, *J*(4*,6*) = 2.6 Hz, C_{4*}-H), 6.55 (dd, 1H, *J*(4*,5*) = 6.4 Hz, *J*(4*,6*) = 4.2 Hz, C_{5*}-H), 5.60 (s, 2H, CH₂).



¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, δ): 190.7 (CO), 167.2 (C₄*), 155.6 (C₂*), 150.5 (C₆*), 149.0 (C₅), 137.0 (C₂), 136.8 (C₁), 130.8 (C₄), 123.0 (C₃), 121.5 (C₆), 104.1 (C₅*), 56.6 (CH₂).

5.2.2. Príprava 2-(3-bróm-5-nitrofenyl)oxazolo[3,2-a]pyrimidín-4-ium perchlorátu (171)



K 150 mg pyrimidín-2-ónu **170** (0.44 mmol, 1.00 mol ekv) sa za chladenia na 0°C prikvapkalo 1 ml 20% ólea (20% SO₃ v H₂SO₄). Zmes sa chladila na 0°C, kým sa sa všetok východiskový materiál nerozpustil. Následne sa chladenie odstránilo a zmes sa nechala miešať pri rt 72 hodín. Reakcia sa zhasila 18 g ľadu a nakoniec sa prikvapkalo 370 µl HClO₄, čo spôsobilo vyzrážanie produktu vo forme perchlorátu **171**. Produkt sa odfiltroval, premyl

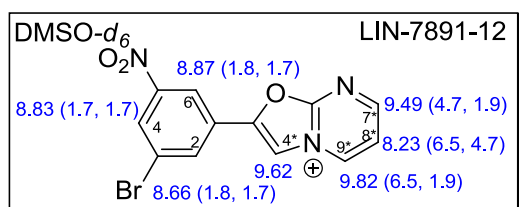
ľadovou vodou a sušil za zníženého tlaku. Produkt sa získal ako 105 mg (0.25 mmol, 56%) bledohnedého prášku.⁴⁸

TLC (SiO₂, EA) R_f = 0.00

Tt = 228 - 231 °C

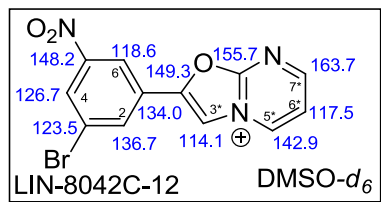
Elem. An. C₁₂H₇BrClN₃O₇ (420.56): C, 34.27; H, 1.68; Br, 19.00; Cl, 8.43; N, 9.99; O, 26.63. merané: C, 33.95; H, 1.56; Br, 18.89; Cl, 8.33; N, 9.72.

IČ v(tuhé): 3084 (m, arom. C-H), 2797 (N⁺, w), 1755 (m, N-C=N⁺), 1589 (m, C=N), 1521 (s, NO₂), 1499 (w), 1416 (w), 1346 (s, NO₂), 1223 (C-O-C, m), 1095 (C-N, m), 1034 (m), 885 (w), 768 (w), 735 (m, C-Br) cm⁻¹.



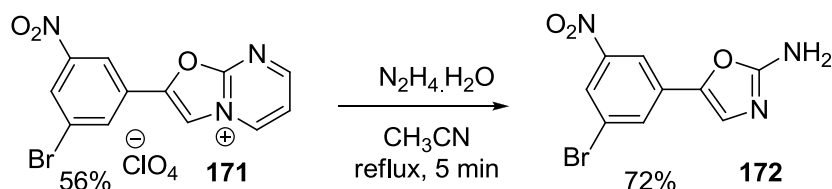
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.82 (dd, 1H, *J*(8*,9*) = 6.5 Hz, *J*(7*, 9*) = 1.9 Hz, C₉*-H), 9.62 (s, 1H, C₄*-H), 9.49 (dd, 1H, *J*(7*,8*) = 4.7 Hz, *J*(7*, 9*) = 1.9 Hz, C₇*-H), 8.87 (dd, 1H, *J*(2,6) = 1.8 Hz, *J*(4,6) = 1.7 Hz, C₆-H), 8.83 (dd, 1H,

J(2,4) = 1.7 Hz, *J*(4,6) = 1.7 Hz, C₄-H), 8.66 (dd, 1H, *J*(2,6) = 1.8 Hz, *J*(2,4) = 1.7 Hz, C₂-H), 8.23 (dd, 1H, *J*(8*,9*) = 6.5 Hz, *J*(7*,8*) = 4.7 Hz, C₈*-H).



¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 163.7 (C₇*), 155.7 (C₉*), 149.3 (C₂*), 148.2 (C₅), 142.9 (C₅*), 136.7 (C₂), 134.0 (C₁), 126.7 (C₄), 123.5 (C₃), 118.6 a 117.5 (C₆ a C₆*), 114.1 (C₃*).

5.2.3. Príprava 5-(3-bróm-5-nitrofenyl)oxazol-2-amínu (172)



K roztoku 80 mg perchlorátu **171** (0.19 mmol, 1.00 mol ekv) v 1 ml acetonitrilu sa za miešania prikvapkalo 120 µl hydrazín hydrátu (98%). Reakčná zmes sa zafarbí na červeno. Banka s reakčnou zmesou sa ponorí do kúpeľa predhriateho na 100°C a reakcia za zahrieva 5 minút až do úplného odfarbenia reakčnej zmesi. Následne sa zmes prileje k 2 ml vody a vyzrážaný produkt sa získa extrakciou do EA (3x 5 ml). Spojené organické fázy sa sušia

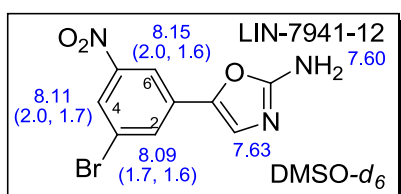
státím nad Na₂SO₄, prefiltrujú sa, odparia a sušia sa na HV. Produkt sa získal ako 39 mg (0.14 mmol, 72%) hnedej tuhej látky.⁴⁸

TLC (SiO₂, EA : Hex = 1 : 1) R_f = 0.19

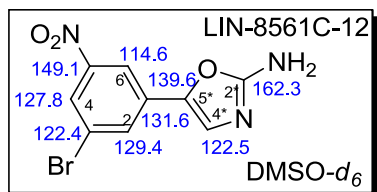
Tt = 221.0 - 222.0 °C

Elem. An. merané pre C₉H₆BrN₃O₃ (284.07): C 38.05; H 2.13; Br 28.13; N 14.79; O 16.90.
merané: C 38.10; H 2.06; Br 28.11; N 14.69.

IČ v(tuhé): 3322 (m), 3132 (m), 1711 (s), 1660 (s), 1612 (s), 1584 (s), 1527 (s), 1416 (s), 1378 (s), 1341 (s), 1297 (m), 1169 (m), 1095 (w), 1048 (w), 994 (w), 962 (w), 880 (w), 737 (w) cm⁻¹

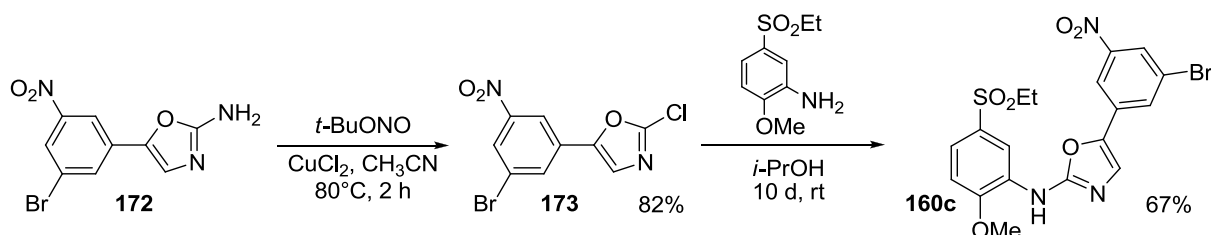


¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.15 (dd, 1H, *J*(4,6) = 2.0 Hz, *J*(2,6) = 1.6 Hz, C₆-H), 8.11(dd, 1H, *J*(4,6) = 2.0 Hz, *J*(2,4) = 1.7 Hz, C₄-H), 8.09 (dd, 1H, *J*(2,4) = 1.7 Hz, *J*(2,6) = 1.6 Hz, C₂-H), 7.63 (s, 1H, C_{ox}-H), 7.60 (bs, 2H, NH₂).

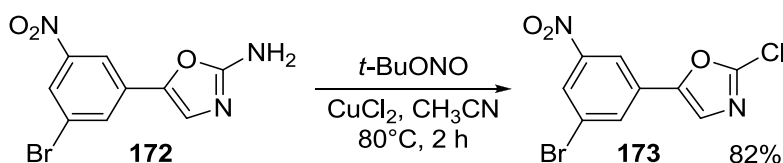


¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, δ): 162.5 (C₂*), 149.1 (C₅), 139.6 (C₅*), 131.6 (C₁), 129.4 (C₂), 127.8 (C₄), 122.5 (C₄*), 122.4 (C₃), 114.6 (C₆).

5.3. Príprava 5-(3-bróm-5-nitrofenyl)-*N*-{5-(etylsulfonyl)-2-metoxifenyl}oxazol-2-amínu (160c) 2-hydroxypyrimidínovou metódou



5.3.1. Príprava 5-(3-bróm-5-nitrofenyl)-2-chlóroxazolu (173)



K roztoku 35 mg CuCl_2 (0.26 mmol, 1.50 mol ekv) v 0.6 ml CH_3CN sa pri rt pridalo 31 μl *t*-BuONO. Zmes sa následne za miešania nechala ohriať na 60°C a k reakčnej zmesi sa prikvapkal roztok 50 mg východiskového oxazol-2-amínu **172** (0.18 mmol, 1.00 mol ekv) v 0.4 ml CH_3CN . Po ukončení pridávania sa reakčná zmes nechala miešať 2 hodiny pri 80°C . Po ochladení reakčnej zmesi na rt sa pridalo 5 ml EA, 3 ml vody a 0.5 ml konc. HCl. Po pár minútach miešania sa organická vrstva oddelila a vodná vrstva sa extrahovala s EA (3-krát 5 ml). Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad Na_2SO_4 , sušidlo sa odfiltrovalo a rozpúšťadlá sa odparili na RVO. Produkt sa sušil pomocou olejovej výevy. Získalo sa 45 mg (0.21 mmol, 82%) surového produktu, ktorý sa použil priamo do ďalšej reakcie.¹³⁰

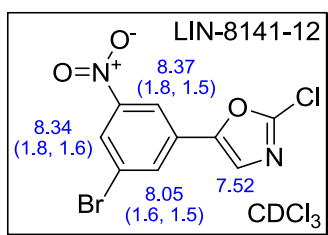
TLC (SiO_2 , EA : Hex = 1 : 1) R_f = 0.30

Tt 168 – 172 $^\circ\text{C}$ [EA]

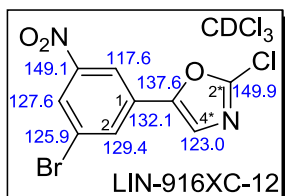
Elem. An. vypočítané pre $\text{C}_9\text{H}_6\text{BrClN}_2\text{O}_3$ (303.50): C, 35.62; H, 1.33; Br, 26.33; Cl, 11.68; N, 9.23. merané: C, 35.28; H, 1.31; Br, 26.14; Cl, 11.53; N, 9.40.

IČ ν (tuhé): 3302 (m), 3087 (m), 2960 (m), 2907 (w), 1713 (m), 1705 (m), 1597 (w), 1532 (s), 1434 (w), 1418 (w), 1345 (s), 1259 (m), 1136 (w), 1089 (w), 1045 (m), 881 (m) cm^{-1}

¹³⁰ Lucia Kováčiková. Návrh nosných štruktúr, syntéza organických angio a kancerostatík, stanovenie ich biologickej aktivity, dizertačná práca, PriF UK, Bratislava, 2010. (analogicky na inom substráte)

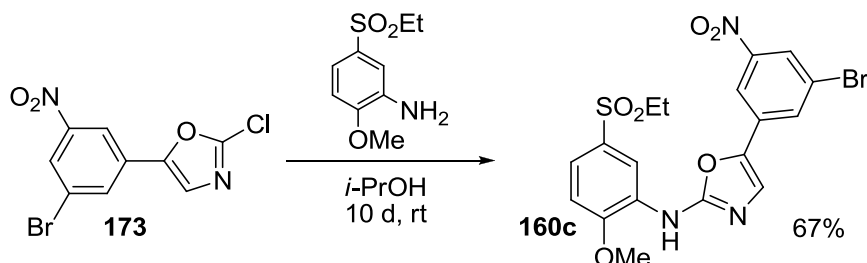


¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.37 (1H, dd, $J(4,6) = 1.8$ Hz, $J(2,6) = 1.5$ Hz, C₆-H), 8.34 (1H, dd, $J(4,6) = 1.8$ Hz, $J(2,4) = 1.6$ Hz, C₄-H), 8.05 (1H, dd, $J(2,4) = 1.6$ Hz, $J(2,6) = 1.5$ Hz, C₂-H), 7.52 (s, 1H, C_{ox}-H).



¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 149.9 and 149.1 (C₅ and C₂*), 137.6 (C₅*), 132.1 (C₁), 129.4 (C₂), 127.6 (C₄), 125.9 (C₃), 123.0 (C₄*), 117.5 (C₆).

5.3.2. Príprava 5-(3-bróm-5-nitrofenyl)-*N*-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl]oxazol-2-amínu (160c)

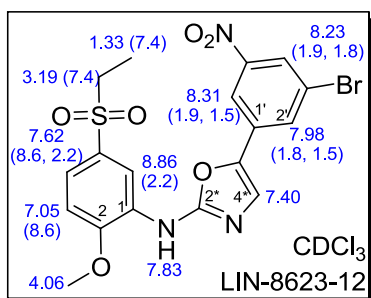


Do roztoku 142 mg 5-(etylsulfonyl)-2-metoxyanilínu (0.66 mmol, 1.00 mol ekv) v 12 ml suchého *i*-propanolu sa prisypalo 200 mg 2-chlóroxazolu **173** (0.66 mmol, 1.00 mol ekv) a celá zmes sa nechala miešať pri rt až do zreagovania všetkého 2-chlóroxazolu **173** (TLC: EA/Hex = 1 : 1). Následne sa rozpúšťadlo odparilo a produkt sa získal pomocou FLC na silikagéli, eluent EA/Hex = 1 : 1. Získalo sa 213 mg (0.44 mmol, 67%) bledožltého produktu.²

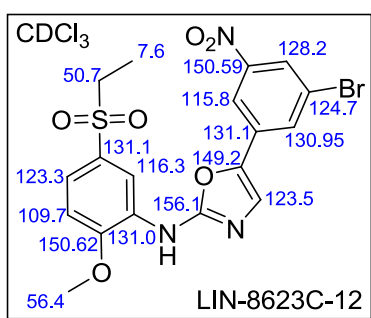
Tt 123-127°C [CH₂Cl₂/Hex]

Elem. Anal. vypočítané pre C₁₈H₁₆BrN₃O₆S (482.31) C, 44.82; H, 3.34; Br, 16.57; N, 8.71; O, 19.90; S, 6.65 merané: C, 44.98; H, 3.25; Br, 16.60; N, 8.63; S, 6.66.

IČ v(tuhé): 3357 (m), 3082 (m), 2893 (m), 1738 (w), 1645 (s), 1599 (s), 1580 (s), 1531 (s), 1505 (m), 1426 (w), 1346 (m), 1304 (m), 1276 (m), 1143 (s), 1122 (s), 1093 (m), 1046 (w), 1013 (m), 928 (w), 881 (w) cm⁻¹



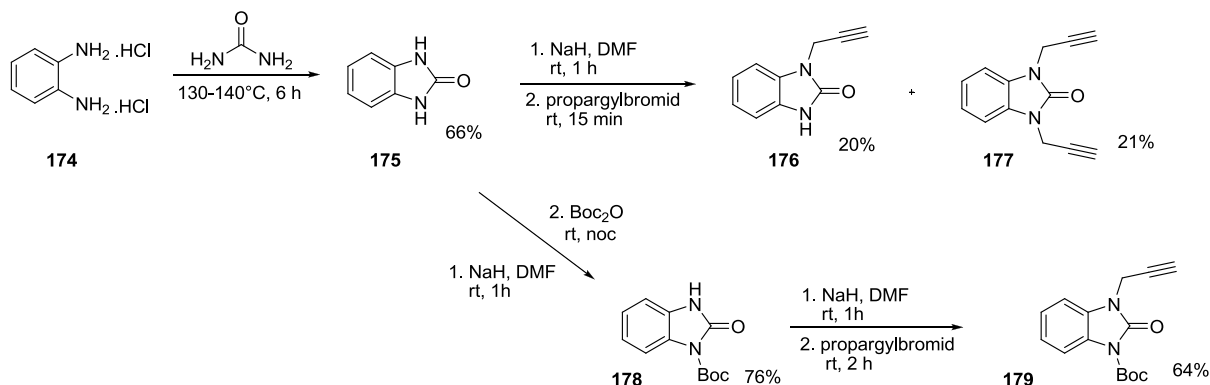
H), 4.06 (s, 3H, OCH₃), 3.19 (q, 2H, $J = 7.4$ Hz, SO₂CH₂CH₃), 1.33 (t, 3H, $J = 7.4$ Hz, SO₂CH₂CH₃).



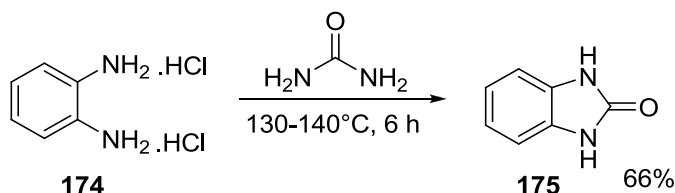
¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 156.1 (C₂*), 150.62 a 150.59 (C₂ a C_{5'}), 149.2 (C₄*), 131.07 a 131.05 a 131.97 (C₁ a C₅ a C_{1'}), 131.95 (C_{2'}), 128.2 (C_{4'}), 124.7 (C_{3'}), 123.5 a 123.3 (C₄* a C₄), 116.3 (C₆), 115.8 (C_{6'}), 109.7 (C₃), 56.4 (OCH₃), 50.7 (SO₂CH₂CH₃), 7.6 (SO₂CH₂CH₃).

6. Syntéza „Click-chemistry“ derivátov odvodených od sunitinibu

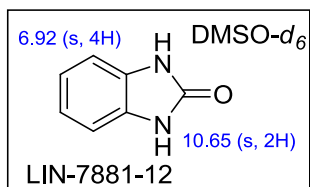
6.1. Príprava *N*-Propargylbenzoimidazolónu (177) a *N*-Boc-*N*-propargylbenzoimidazolónu (179)



6.1.1. Príprava benzoimidazolónu (175)



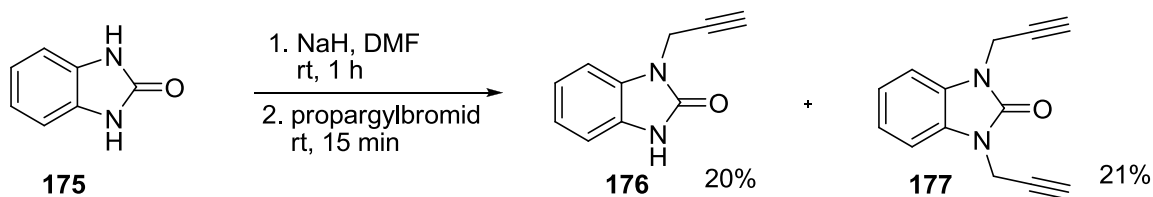
V banke sa zmiešalo 4.83 g benzén-1,2-diamín dihydrochloridu (**174**) (26.7 mmol, 1.00 mol ekv) a 1.60 g močoviny (26.7 mmol, 1.00 mol ekv). Látky sa za miešania ohrievali na 130 - 140°C, čo spôsobilo ich roztavenie. Látky po ca. 1.5 hodine opäť stuhli, čo je známkou vzniku produktu, ale tuhá látka sa ohrievala ďalej, až kým neprestali unikať amoniakové výpary (sleduje sa pomocou pH papiera). K tuhej látke sa pridalo aktívne uhlie a tmavá zmes sa varila v etanole. Aktívne uhlie sa za horúce odfiltrovalo a počas chladenia vypadával produkt. Ten sa odfiltroval, čím sa získali šedé kryštály. Látka sa následne prefiltrovala cez stĺpec silikagélu (eluent EA : EtOH = 8 : 1), čím sa získalo 2.36 g (17.6 mmol, 66%) bielych kryštálov produktu.¹³¹



¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, δ): 10.69 (s, 2H, 2x NH), 6.92 (s, 4H, Ar-H).

¹³¹ Crank, G.; Mursyidi, A. *Aust. J. Chem.* **1982**, 35, 4, 775 – 784.

6.1.2. Propargylácia benzoimidazolónu (176, 177)

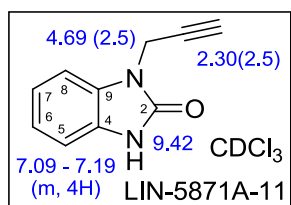


Do roztoku 100 mg benzoimidazolónu (0.75 mmol, 1.00 mol ekv) v 1 ml DMF sa po častiach pridalo 24 mg NaH (1.00 mmol, 1.33 mol ekv) a zmes sa nechala miešať 1 h pri rt. Následne sa do reakčnej zmesi pridalo 56 μ l propargylbromidu (0.75 mmol, 1.00 mol ekv) pri rt a po 15 min miešania sa reakcia ukončila prídavkom 4.5 ml H₂O. Reakcia sa extrahovala s CH₂Cl₂ (trikrát 4.5 ml). Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad Na₂SO₄, odparili a produkty reakcie sa oddelili od zvyšnej východiskovej látky pomocou FLC (EA/Hex = 2 : 1) na SiO₂. Výťažok *N*-propargylimidazolónu bol 26 mg (0.15 mmol, 20%).¹³²

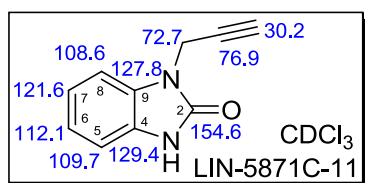
Tt = 177.0 – 178.5 °C

Elem. An. vypočítané pre C₁₀H₈N₂O (172.18): C, 69.76; H, 4.68; N, 16.27; namerané: C, 69.96; H, 4.59; N, 16.34.

IČ v(tuhé skup.): 3220 (m, N-H), 2980 (m), 1580 (s, C=O), 2200 (w, C $\equiv$ CH), 1476 (m), 1369 (s), 1012 (m), 836 (m) cm⁻¹



¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 9.42 (bs, 1H, NH), 7.19 – 7.09 (m, 4H, Ar), 4.69 (d, 2H, *J* = 2.5 Hz, CH₂), 2.30 (t, 1H, *J* = 2.5 Hz, CH).

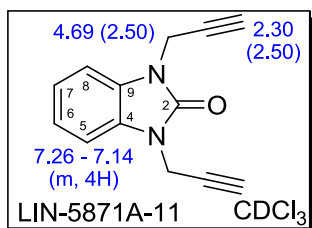


¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 154.6 (C₂), 129.4 (C₄), 127.8 (C₉), 121.6 (C₇), 112.1 (C₆), 109.7 (C₅), 108.6 (C₈), 76.9 (-C $\equiv$), 72.7 ($\equiv$ CH), 30.2 (CH₂).

Výťažok *N,N*-bispropargylimidazolónu (177) bol 33 mg (0.16 mmol, 21%).

Tt = 157.0 - 158.0 °C

¹³² Tapia, I.; Alonso-Cires, L.; López-Tudanca, P. L.; Mosquera, R.; Labeaga, L.; Innerarity, A.; Orjales, A. J. *Med. Chem.* **1999**, 42, 15, 2870 – 2880. (analogicky s iným činidlom)

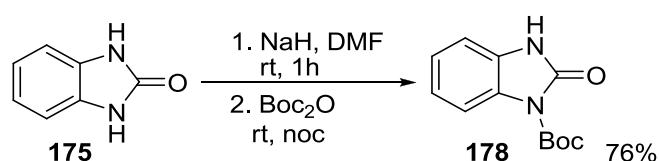


Elem. An. vypočítané pre $C_{13}H_{10}N_2O$ (210.23): C, 74.27; H, 4.79; N, 13.33; merané C, 74.19; H, 4.51; N, 13.27.

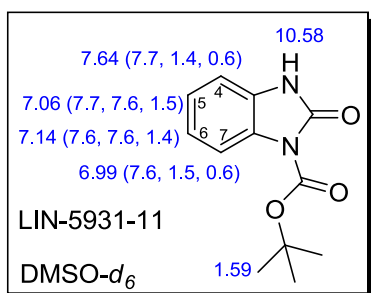
1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.26 – 7.14 (m, 4H, Ar), 4.69 (d, 2H, $J = 2.5$ Hz, CH_2), 2.30 (t, 1H, $J = 2.5$ Hz, CH).

Poznámka: pokiaľ sa reakcia nechala miešať dlhší čas, prednostne vznikal bispropargylovaný produkt

6.1.3. Príprava *N*-Boc-benzoimidazolónu (178)



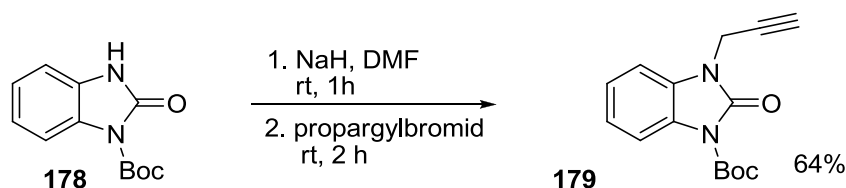
Do roztoku 100 mg benzoimidazolónu (0.75 mmol, 1.00 mol ekv) v 1 ml DMF sa po častiach pridalo 21 mg NaH (0.89 mmol, 1.20 mol ekv) a zmes sa nechala miešať 1 h pri rt. Následne sa do reakčnej zmesi pridalo 81 mg Boc_2O (0.83 mmol, 1.10 mol ekv) pri rt a miešala cez noc. Reakcia sa ukončila prídavkom 4.5 ml H_2O . Reakcia sa extrahovala s CH_2Cl_2 (trikrát 4.5 ml). Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad Na_2SO_4 , odparili a produkt reakcie sa čistil pomocou FLC (EA/Hex = 2 : 1) na SiO_2 . Výťažok *N*-Boc-imidzolónu bol 134 mg (0.57 mmol, 76%).¹³³



1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$, δ): 10.58 (bs, 1H, NH), 7.64 (ddd, 1H, $J(4,5) = 7.7$ Hz, $J(4,6) = 1.4$ Hz, $J(4,7) = 0.6$ Hz, C_4-H), 7.14 (ddd, 1H, $J(6,7) = 7.6$ Hz, $J(5,6) = 7.6$ Hz, $J(4,6) = 1.4$ Hz, C_6-H), 7.06 (ddd, 1H, $J(4,5) = 7.7$ Hz, $J(5,6) = 7.6$ Hz, $J(5,7) = 1.5$ Hz, C_5-H), 6.99 (ddd, 1H, $J(6,7) = 7.6$ Hz, $J(5,7) = 1.5$ Hz, $J(4,7) = 0.6$ Hz, C_7-H), 1.59 (s, 9H, *t*-Bu).

¹³³ Meanwell, N. A.; Sit, S. Y.; Gao, J.; Wong, H. S.; Gao, Q.; St. Laurent, D. R.; Balasubramanian, N. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 6, 1565–1582.

6.1.4. Propargylácia N-Boc-benzoimidazolónu (179)

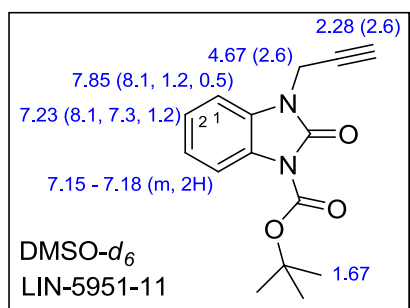


Do roztoku 129 mg benzoimidazolónu (0.55 mmol, 1.00 mol ekv) v 1 ml DMF sa po častiach pridalo 17 mg NaH (0.72 mmol, 1.30 mol ekv) a zmes sa nechala miešať 1 h pri rt. Následne sa do reakčnej zmesi pridalo 54 μ l propargylbromidu (0.72 mmol, 1.30 mol ekv) pri rt a po 2 h miešania sa reakcia ukončila prídavkom 4 ml H₂O. Reakcia sa extrahovala s CH₂Cl₂ (trikrát 4 ml). Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad Na₂SO₄, odparili a produkt reakcie sa oddelil od zvyšnej východiskovej látky pomocou FLC (EA/Hex = 2 : 1) na SiO₂. Výťažok N-Boc-N-propargylimidazolónu bol 96 mg (0.35 mmol, 64%).¹³⁴

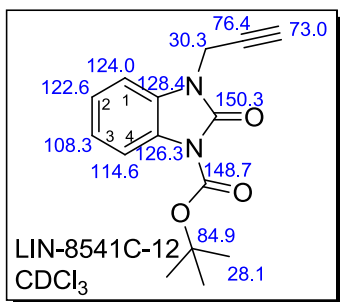
Tt = 158.0 - 159.5°C

Elem. An. vypočítané pre C₁₅H₁₆N₂O₃ (272.30): C 66.16; H 5.92; N 10.29; O 17.63. merané: C 65.98; H 5.99; N 10.40.

IČ v(tuhé): 3255 (m), 3237 (m), 2982 (w, C-H), 2951 (w, C-H), 2922 (w, C-H), 2108 (w, C=C), 1785 (m), 1732 (s, C=O), 1703 (s, C=O) 1614 (w, C-N), 1488 (s), 1432 (m), 1396 (w), 1367 (s, C-O), 1337 (s, C-N), 1321 (s, C-O), 1251 (m), 1149 (s, C-O), 1102 (m), 1050 (w), 1008 (w), 744 (s), 706 (w), 663 (m) cm⁻¹.

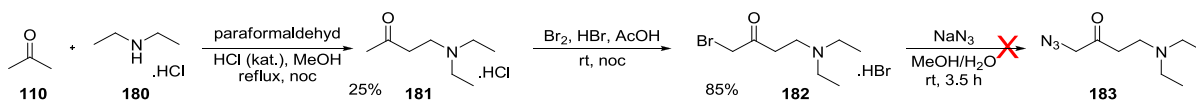


¹³⁴ Aso, K.; Kobayashi, K.; Takai, T.; Kojima, T.; Tokumaru, K.; Mochizuki, M.; Hoashi, Y. US Patent 186879, A1, 2009. (analogicky s iným činidlom)

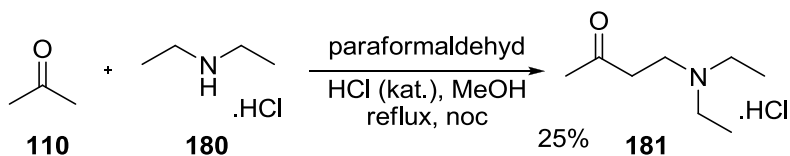


¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 150.3 (N-CO-N), 148.7 (O-CO-N), 128.4 (C₆), 126.3 (C₅), 124.0 (C₁), 122.6 (C₂), 114.6 (C₄), 108.3 (C₃), 84.9 (O-C(CH₃)₃), 76.4 (CH₂-C≡CH), 73.0 (CH₂-C≡CH), 30.3 (CH₂-C≡CH), 28.1 (O-C(CH₃)₃).

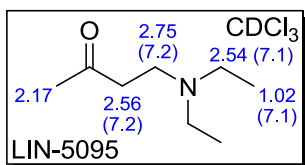
6.2. Príprava 1-azido-4-(dietylamin)-bután-4-ónu (183) - Metóda A



6.2.1. Príprava 4-(dietylamin)bután-2-ónu (181)



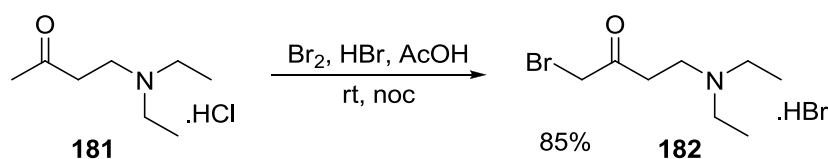
Do banky sa postupne pridalo 3.46 g paraformaldehydu (115 mmol, 1.40 mol ekv), 8.80 g *N,N*-dietylamin hydrochloridu (**180**) (81 mmol, 1.00 mol ekv), 15 ml acetónu (408 mmol, 5.00 mol ekv), 2 ml MeOH a 5 µl koncentrovanej HCl. Zmes sa refluxovala cez noc a následne sa ochladila na rt a ďalej na 0°C v ľadovom kúpeli. K zmesi sa pridal roztok NaOH (3.20 g NaOH v 15 ml H₂O). Zmes sa extrahovala s dietyléterom (trikrát 25 ml), spojené organické vrstvy sa premyli nasýteným roztokom NaCl (dvakrát 7.5 ml) a ďalej sušili státím nad Na₂SO₄, prefiltrovali a odparili. Takto sa získalo 10.41 g surového produktu vo forme žltej kvapaliny. Viacnásobnou destiláciou za zníženého tlaku (100°C/30 torr) sa získalo 2.89 g (28.8 mmol, 25%) čistého produktu.¹³⁵



¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 2.75 (t, 2H, *J*(3,4) = 7.2 Hz, C₄-H), 2.56 (t, 2H, *J*(3,4) = 7.2 Hz, C₃-H), 2.54 (q, 4H, *J* = 7.1 Hz, 2xN-CH₂), 2.17 (s, 3H, C₁-H), 1.02 (t, 6H, *J* = 7.1 Hz, 2xN-CH₂CH₃).

¹³⁵ Freeman, P. K.; Pugh, J. K. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 11, 3947 – 3953.

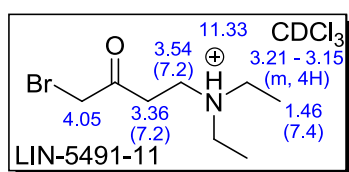
6.2.2. Príprava 1-bróm-4-(dietylamo)bután-2-ónu (182)



Postup: K roztoku 1.00 g 4-(dietylamo)bután-2-ónu (**181**) (6.98 mmol, 1.00 mol ekv) v 1.3 ml ľadovej AcOH sa za chladenia na 0°C pridalo 1.5 ml roztoku HBr (45 w/w%) v AcOH a ďalej sa prikvapkal roztok 1.12 g Br₂ (6.98 mmol, 1 mol ekv) v 1.8 ml AcOH. Reakčná zmes sa nechala miešať pri rt až do odfarbenia brómu. AcOH sa oddestilovala za zníženého tlaku, destilácii sa pomohlo prídavkom suchého EtOH. Výsledkom je 1.81 g (5.93 mmol, 85 %) tmavohnedého oleja surového produktu, ktorý bol podľa NMR takmer čistý.¹³⁶

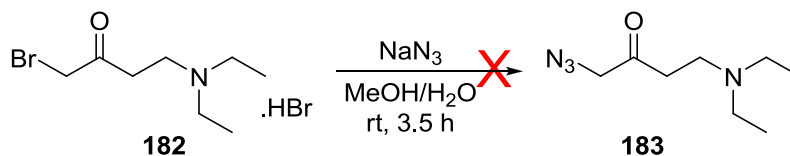
Poznámka: pokusy o kryštalizáciu produktu neboli úspešné – vypadával olej

Elem. An. vypočítané pre C₈H₁₇Br₂NO (303.03): C, 31.71; H, 5.65; Br, 52.74; N, 4.62; C, 31.36; H, 5.47; Br, 53.04; N, 4.56.



¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 11.33 (bs, 1H, NH), 4.05 (s, 2H, CH₂Br), 3.54 (t, 2H, *J*(3,4) = 7.2 Hz, C₄-H), 3.36 (t, 2H, *J*(3,4) = 7.2 Hz, C₃-H), 3.21 - 3.15 (m, 4H, 2x NCH₂), 1.46 (t, 6H, *J* = 7.4 Hz, 2x NCH₂CH₃).

6.2.3. Príprava 1-azido-4-(dietylamo)bután-2-ónu (183)



V banke sme rozpustili 105 mg 1-bróm-4-(dietylamo)bután-2-ónu (0.35 mmol, 1.00 mol ekv) v 2,5 ml MeOH a následne sme pridali roztok 255 mg NaN₃ (3.47 mmol, 10.00 mol ekv) v 1 ml H₂O. Reakčná zmes sa pri rt miešala 3.5 h a následne sa spracovala extrakciou do

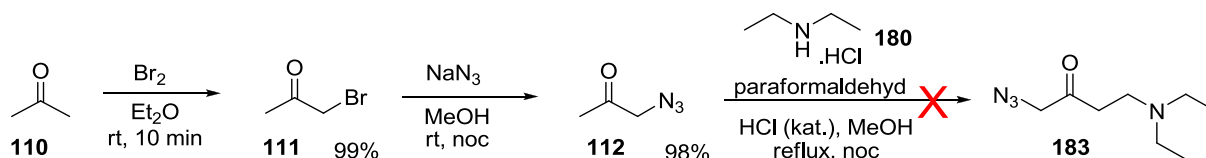
¹³⁶ Djerassi, C.; Mizzoni, R. H.; Scholz, C. R. *J. Org. Chem.* **1950**, *15*, 700 – 706. (analogicky na inom substráte)

CH₂Cl₂ (trikrát 5 ml). Spojené organické vrstvy sa sušili státím nad Na₂SO₄, prefiltrovali a odparili. Získalo sa 20 mg olejovitého materiálu, ktorý ale neobsahoval požadovaný produkt.¹³⁷

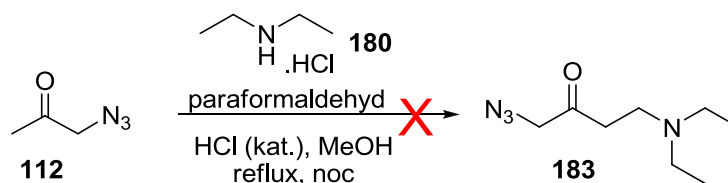
Poznámky:

- získaný produkt nemal dietylamo-skupinu, predpokladáme že došlo k eliminácii a následnej adícii, resp. substitúcii na N₃ resp. jeho rozkladného amínu
- ani po znížení teploty, použití iba MeOH ako rozpúšťadla v reakcii a použití jemnejších činidiel (TMSN₃ a TBAF v THF alebo prídavok Et₃N na neutralizáciu hydrobromidu) nezabránili tejto substitúcii

6.3. Príprava 1-azido-4-(dietylamo)-bután-4-ónu (183) - Metóda B



6.3.1. Príprava 1-azido-4-(dietylamo)butan-2-ónu (183) Mannichovou kondenzáciou

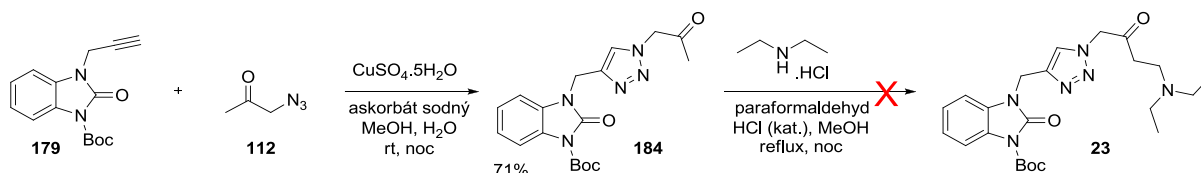


Do zmesi 24 mg paraformaldehydu (0.81 mmol, 1.20 mol ekv) a 73 mg *N,N*-dietylamin hydrochloridu (0.67 mmol, 1.00 mol ekv) v 100 μ l suchého MeOH sa pridal 100 mg 2-azidoacetónu (1.01 mmol, 1.50 mol ekv) pri 0°C. Zmes sa nechala miešať pri rt cez noc. MeOH sa následne odparí, zmes sa rozdelí medzi vodu (1 ml) a CH₂Cl₂ (1 ml), vrstvy sa oddelia a vodná vrstva sa extrahuje ešte dvakrát s CH₂Cl₂ (1 ml). Spojené organické vrstvy sa sušia státím nad Na₂SO₄, prefiltrujú a odparia. Získa sa 22 mg oranžového oleja, ktorý bol podľa NMR rozpadnutý produkt alebo polymér.¹³⁵

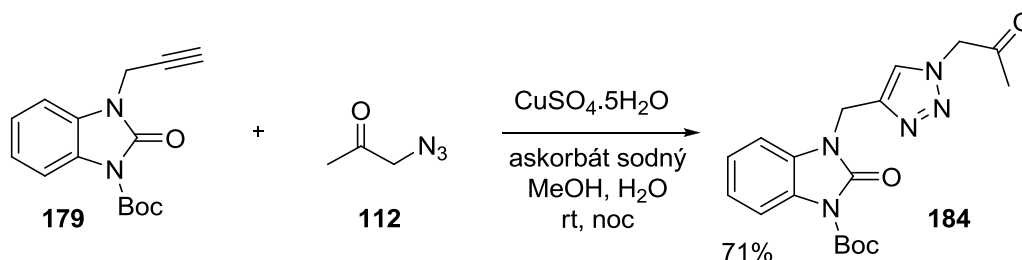
¹³⁷ Nair, M. G.; Otis, Eldridge B.; Kisliuk, Roy L.; Gaumont, Y. *J. Med. Chem.* **1983**, 26, 2, 135 – 140.
(analogicky na inom substráte)

Poznámka: nepodarilo sa izolovať produkt, len raz bol v zložitom NMR spektre zaznamenaný pík 3,93, ktorý mohol byť signálom pre CH₂ vedľa azidovej skupiny, ale látka sa pri pokuse o izoláciu rozpadla

6.4. Syntéza „Click-chemistry“ 4-dietylamino-buta-2-nónového derivátu (23) alternatívnou metódou



6.4.1. „Príprava 3-Boc-1-[[1-(2-oxopropyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl]metyl]-1H-benzo[d]imidazol-2(3H)-ónu (184)



Do zmesi 37 mg CuSO₄·5H₂O (0.15 mmol, 1.00 mol ekv) a 30 mg askorbátu sodného (0.15 mmol, 1.00 mol ekv) v 0.4 ml H₂O sa prisypalo 41 mg *N*-Boc-*N*-propargylbenzoimidazolónu **179** (0.15 mmol, 1 mol ekv) a pridala sa roztok 18 mg 2-azidoacetónu (0.18 mmol, 1.00 mol ekv) v 0.8 ml MeOH. Zmes sa nechala miešať počas noci pri rt. Reakcia sa sledovala pomocou TLC (EA/Hex = 2 : 1). Následne sa rozpúšťadlá odparili, organická hmota sa z tuhého materiálu získala pomocou tritúrácie s MeOH a následne sa získalo pomocou FLC na SiO₂ (EA/Hex = 2 : 1) 42 mg (0.11 mmol, 71 %) bieleho prášku čistého produktu.¹³⁸

Poznámky:

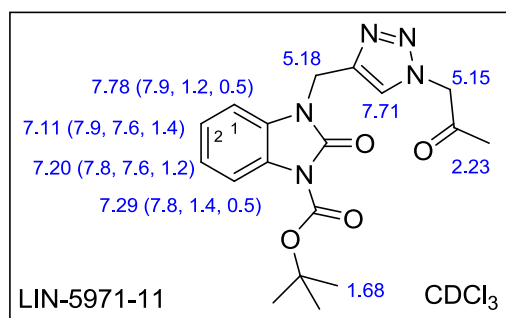
- reakcia prebieha obdobne aj bez Boc chrániacej skupiny
- produkt je pomerne dobre rozpustný vo vode, preto sa na izoláciu extrakcia nehodí

¹³⁸ Brak, K.; Barrett, K. T.; Fuchi, N.; Ellman, J. A.; Kerr, I. D.; Debnath, M.; Ang, K.; Engel, J. C.; McKerrow, J. H.; Doyle, P. S.; Brinen, L. S. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 4, 1763 – 1773. (analogicky na inom substráte)

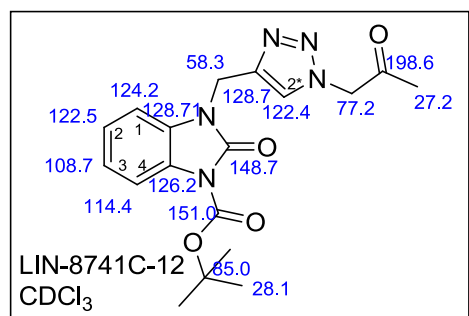
Tt = 121 - 128°C [EA]

Elem. An. vypočítané pre $C_{18}H_{21}N_5O_4$ (371.39): C, 58.21; H, 5.70; N, 18.86; O, 17.23; merané C, 58.31; H, 5.81; N, 18.65.

IČ (tuhé): 3166 (w), 2978 (m), 1778 (s, C=O), 1731 (s, C=O), 1614 (w), 1488 (m), 1423 (w), 1396 (w), 1346 (s), 1325 (s), 1289 (w), 1250 (s), 1230 (m), 1143 (s), 1101 (m), 1043 (m), 1005 (w), 841 (m) cm^{-1} .

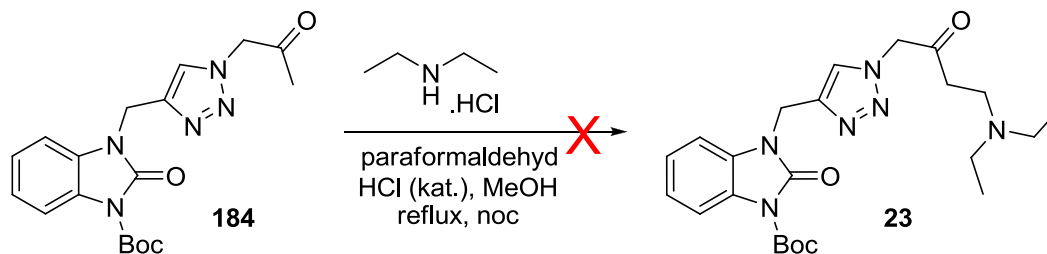


1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.78 (ddd, 1H, $J(1,2) = 7.9$ Hz, $J(1,3) = 1.2$ Hz, $J(1,4) = 0.5$ Hz, C_1 -H), 7.71 (s, 1H, C_{triaz} -H), 7.29 (ddd, 1H, $J(3,4) = 7.8$ Hz, $J(2,4) = 1.4$ Hz, $J(1,4) = 0.5$ Hz, C_4 -H), 7.20 (ddd, 1H, $J(3,4) = 7.8$ Hz, $J(2,3) = 7.6$ Hz, $J(1,3) = 1.2$ Hz, C_3 -H), 7.11 (ddd, 1H, $J(1,2) = 7.9$ Hz, $J(2,3) = 7.6$ Hz, $J(2,4) = 1.4$ Hz, C_2 -H), 5.18 (s, 2H, N- CH_2 -triazol), 5.15 (s, 2H, triazol- CH_2 -CO), 2.23 (s, 3H, $COCH_3$), 1.68 (s, 9H, $C(CH_3)_3$).



^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 198.6 (CH_2COCH_3), 151.0 (NCOO), 148.7 (NCON), 128.72 a 128.71 (C_{1^*} a C_6), 126.2 (C_5), 124.2 (C_1), 122.5 (C_2), 122.4 (C_{2^*}), 114.4 (C_4), 108.7 (C_3), 85.0 ($OC(CH_3)_3$), 77.2 (CH_2COCH_3), 58.3 (N CH_2), 28.1 ($OC(CH_3)_3$), 27.2 (CH_2COCH_3).

6.4.2. Príprava „Click chemistry“ mimetika Sutentu (23) Mannichovou kondenzáciou

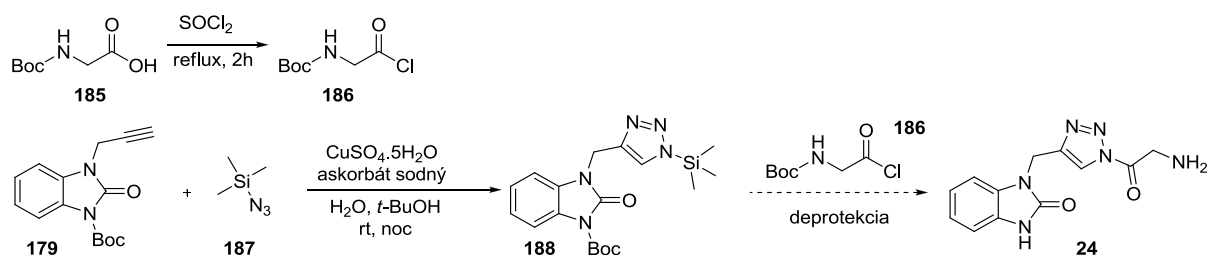


Do roztoku 35 mg východiskového "click" derivátu (0.09 mmol, 1.00 mol ekv) v 5 ml MeOH sa prisypalo 4 mg paraformaldehydu (0.13 mmol, 1.40 mol ekv) a 12 mg *N,N*-dietylamin

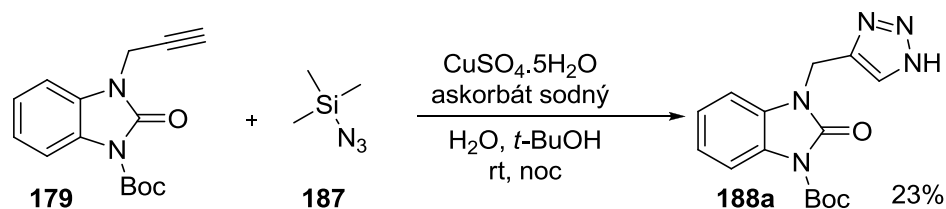
hydrochloridu (0.11 mmol, 1.20 mol ekv). Zmes sa miešala za refluxu niekoľko dní, pričom sa sledovala pomocou TLC. MeOH sa odparil a hrubý materiál sa použil na NMR.¹³⁵

Poznámka: pravdepodobne došlo k odbúraní Boc chrániacej skupiny a výraznému zníženiu rozpustnosti, tým pádom v NMR (DMSO-*d*₆) nebolo vidieť ani východiskovú látku a ani produkt

6.5. Príprava „Click-chemistry“ glycinového derivátu Sutentu (24)



6.5.1. Príprava 3-Boc-1-[(1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl]-1H-benzo[d]imidazol-2(3H)-ónu (188a)



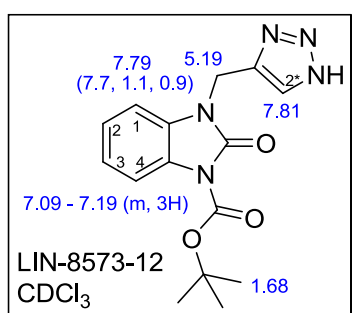
K roztoku 200 mg východiskového alkínu **179** (0.73 mmol, 1.00 mol ekv) v 3.6 ml *t*-BuOH a 0.9 ml vody sa pri rt prisypalo 183 mg CuSO₄·5H₂O (0.73 mmol, 1.00 mol ekv) a 146 mg askorbátu sodného (0.73 mmol, 1.00 mol ekv). Reakčná zmes sa miešala pri rt počas 3 dní, pričom sa sledoval úbytok východiskovej látky pomocou TLC (Hex : EA = 1 : 1). Následne sa do zmesi pridalo 5 ml vody a produkt sa extrahoval do EA (3x 8 ml), spojené organické frakcie sa sušili státím nad Na₂SO₄. Po odfiltrovaní sušidla, sa rozpúšťadlo odparilo a produkt sa získal chromatografiou na stĺpci silikagélu. Získalo sa 54 mg produktu (0.08 mmol, 23 %) bez TMS chrániacej skupiny na triazole ako bielej kryštalickej látky, 29 mg východiskovej

látky a zvyšný materiál predstavovali silne polárne látky bez Boc-chrániacej skupiny, ktoré sa nám nepodarilo rozdeliť.¹³⁹

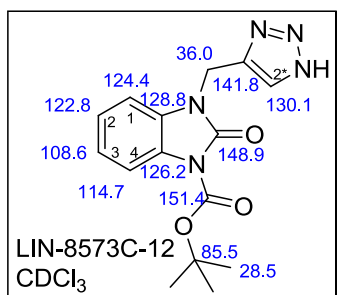
Tt = 178 - 181°C [Hex/EA]

Elem. An. vypočítaná pre C₁₅H₁₇N₅O₃ (315.33): C, 57.13; H, 5.43; N, 22.21; O, 15.22, merané: C, 57.09; H, 5.54; N, 22.17.

IČ (tuhé): 3229 (m, NH), 3128 (w), 2975 (m, C-H), 1763 (s, C=O), 1693 (m, C=O), 1614 (w), 1488 (m), 1400 (m), 1368 (m), 1317 (s), 1245 (m), 1141 (s), 1104 (m), 837 (w), 746 (m), 693 (w).



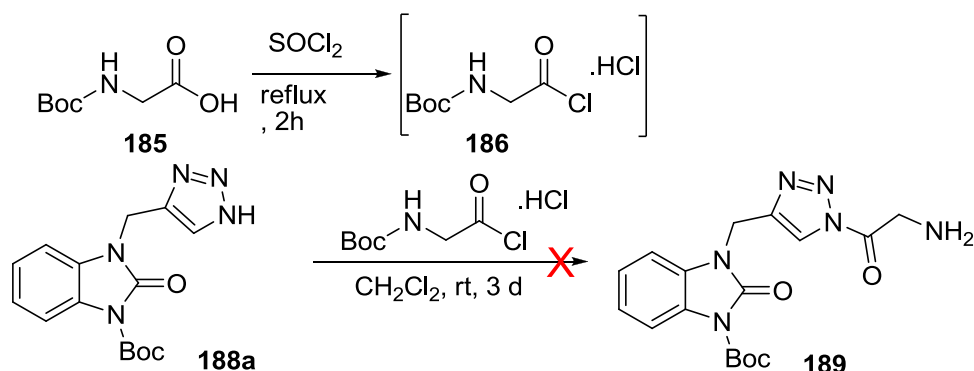
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.81 (s, 1H, C₂*-H), 7.79 (ddd, 1H, C₁-H, *J*(1,2) = 7.7 Hz, *J*(1,3) = 1.1 Hz, *J*(1,4) = 0.9 Hz), 7.09 - 7.19 (m, 3H, C₂-H, C₃-H a C₄-H), 1.68 (s, 9H, Boc).



¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 151.4 (N-CO-O), 148.9 (N-CO-N), 141.8 (C₁*), 130.1 (C₂*), 128.8 (C₆), 126.2 (C₅), 124.4 (C₁), 122.8 (C₂), 114.7 (C₄), 108.6 (C₃), 85.5 (O-C(CH₃)₃), 36.0 (CH₂), 28.5 (O-C(CH₃)₃).

¹³⁹ Melikian, A.; Wright, J. J.; Krasinski, A.; Hu, C.; Novack, A. Int. Patent 059108, A2, 2007. (analogicky na inom substráte)

6.5.2. Príprava 3-Boc-1-[[1-(2-aminoacetyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methyl]-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2(3*H*)-ónu (189)



Do suchej banky s 100 mg *N*-Boc-glycínu (1.33 mmol, 10.00 mol ekv) sme prikvpkali 1 ml čerstvo predestilovaného tionylchloridu (13.32 mmol, 100.00 mol ekv) pri rt. Následne sme sme nechali miešať so zahrievaním na reflux počas 2 hodín. Zvyšný tionylchlorid sme následne odparili do sucha. Následne sme do banky prisypali 42 mg (0.13 mmol, 1.00 mol ekv) východiskového triazolu a pridali 3 ml CH₂Cl₂. Zmes sme nechali miešať pri rt, pričom sme sledovali zmeny pomocou TLC analýzy. Ani po troch dňoch v reakcii nevznikla nová látka.^{140,141}

¹⁴⁰ Rasheed, A.; Ravichandran, V.; Kohli, D. V. *Pharmazie* **1999**, 54, 11, 857 – 858. (príprava 186)

¹⁴¹ Huettel, R.; Kratzer, J. *Chem. Ber.* **1959**, 92, 2014 – 2020. (analogicky na inom substráte)

VÝSLEDKY A DISKUSIA

1. Syntéza a biologická aktivita navrhnutých bispyridylových derivátov **AAZ** (**22SYM**, **23ASYM** a **33SYM**)

1.1. Syntéza bispyridylových derivátov **1Y6A** (**22SYM**, **23ASYM**, **33SYM**)

Paralelne sme vyvíjali dve metódy na prípravu **22SYM**, **23ASYM** a **33SYM**, ktoré sa líšili poradím jednotlivých syntetických stupňov. Prvá metóda má Stille-ho, resp. Suzuki-ho coupling ako posledný stupeň a druhá ich má už v prvej reakcii. Do úspešného konca sme dovedli prvú metódu, kde sa nám podarilo pripraviť oxazol-2-amín **101**, i keď len s pomerne nízkym 19 % výťažkom. Druhá metóda mala komplikácie už v druhom stupni pri bromácii alifatického reťazca a nebola preto ďalej rozvíjaná.

1.1.1. Príprava bispyridylových derivátov s couplingom ako posledným stupňom

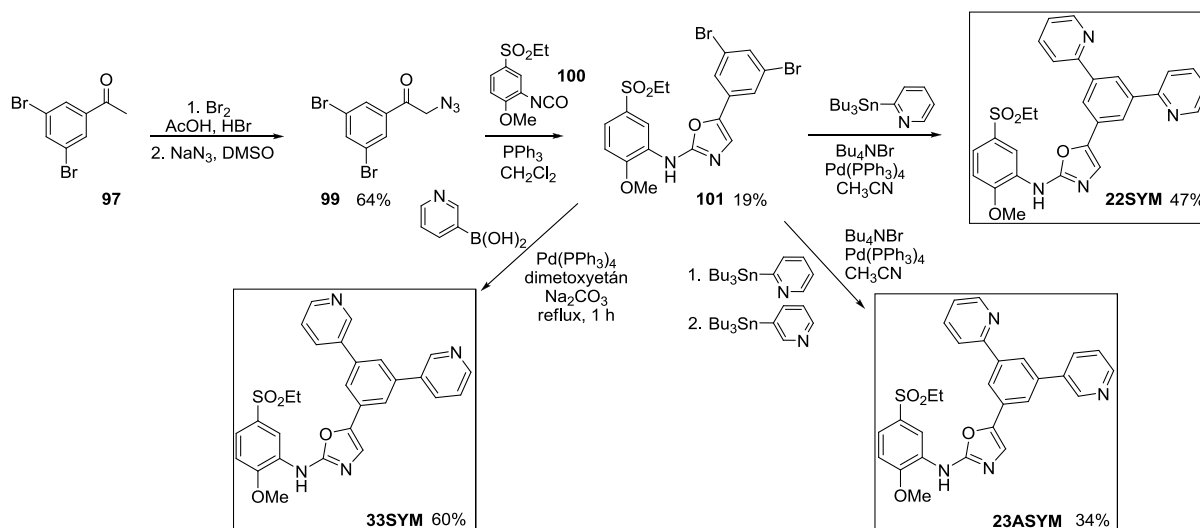


Schéma 29: Príprava bispyridylových derivátov – **22SYM**, **23ASYM** a **33SYM**

Syntéza navrhnutých bispyridylových derivátov vychádzala z 3,5-dibromacetofenónu **97** a prvým stupňom bola bromácia acetylovej skupiny s následnou substitúciou brómu za azidovú

skupinu. Bromácia išla selektívna do prvého stupňa, bisbromovaný vedľajší produkt bol zaznamenaný na TLC len v stopách a dal sa odstrániť trituráciou do zmesi Hex / Et₂O. Výťažok bromácie bol 70 %. Substitúcia brómu za azid prebiehala s dobrými výťažkami. Azid **99** bolo nutné spotrebovať čo najskôr, keďže sa po čase ďalej rozkladal. Ďalším stupňom bola reakcia azidu **99** s izokyanátom **100** za vzniku oxazol-2-amínu **101**. Pri reakcii sme použili trifenylfosfín, ktorý s azidom dával aza-ylidový intermediát. Reakcia prebiehala pri 0 °C až rt cez noc, pričom vznikla zmes látok, z ktorej sa pomocou FLC izoloval produkt **101** vo výťažku 19 %. Poslednou fázou syntézy požadovaných zlúčenín boli couplingové reakcie (Stille-ho, alebo Suzuki-ho). Stille-ho coupling sa použil na prípravu **22SYM** a **23ASYM** derivátov, pričom sme použili príslušné organocinické činidlo, ako katalyzátor slúžil Pd(PPh₃)₄, tetrabutylamónium bromid bol pomocným činidlom a reakcia prebiehala v suchom acetonitrile. Coupling sa uskutočnil pod Ar v zatavenej ampule ohrievanej na 100 °C v olejovom kúpeli počas 2 dní. **22SYM** sa získal s výťažkom 47 % a syntéza **23ASYM** prebehla dvomi po sebe idúcimi couplingovými reakciami. Najprv sa naviazala pyrid-2-yllová a potom pyrid-3-yllová skupina, s celkovým výťažkom 34 % po dvoch stupňoch. **33SYM** sme pripravili z dibromderivátu **101** pomocou Suzuki-ho couplingu s kyselinou pyrid-3-ylborónovou, ako katalyzátor sme použili Pd(PPh₃)₄, ako báza slúžil uhličitan sodný a ako rozpúšťadlo dimetoxyetán. Výťažok tejto reakcie bol 60 %.

1.1.2. Príprava bispyridylových derivátov so Stilleho couplingom ako prvým stupňom

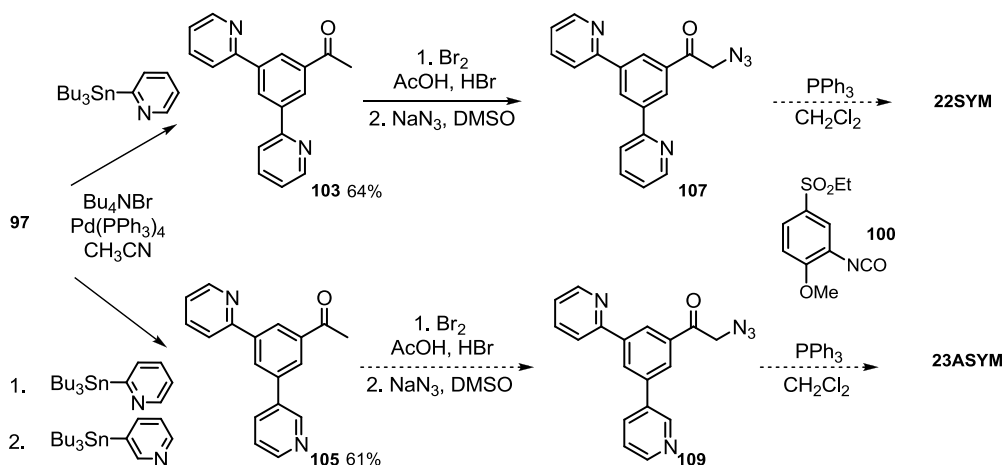


Schéma 30: Alternatívna metóda prípravy bispyridylových derivátov **22SYM** a **23ASYM**

Aj táto metóda vychádzala z 3,5-dibromacetofenónu (**97**). Pomocou Stille-ho couplingu sa podarilo pripraviť 1-(3-brom-5-(pyrid-2-yl)fenyl)etanón (**104**) s 66 % výťažkom, 3,5-

bis(pyrid-2-yl)acetofenón (**103**) s 64 % výtťažkom a po couplingovej reakcii z **104** do druhého stupňa 3-(pyrid-2-yl)-5-(pyrid-3-yl)acetofenón (**105**) s celkovým 61 % výtťažkom. Pri Stilleho couplingoch sme použili príslušné činidlo a rovnako ako v predchádzajúcej metodike rovnaké podmienky, pomocné činidlo aj katalyzátor.

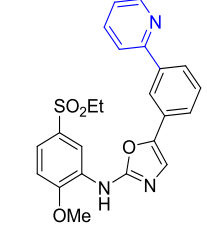
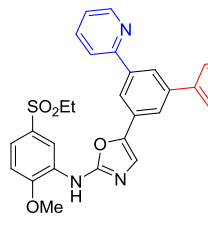
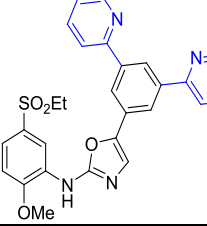
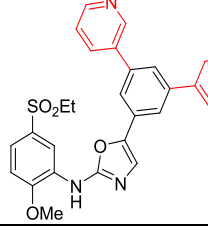
Ďalej sme sa túto metodiku rozhodli vyskúšať najprv na 3,5-bis(pyrid-2-yl)acetofenóne (**103**), ktorý sa dal pripraviť jednoduchšie ako zlúčenina **105**. Látku **103** sme brómovali pomocou brómu, alebo pyridínium perbromátu za rôznych podmienok (rt aj zahrievanie v CH₂Cl₂, CHCl₃, AcOH, AcOH a konc. HBr), ale výsledky z týchto reakcií neboli uspokojivé. Bromácia pri rt väčšinou neprebehla, alebo išla len veľmi slabo. So zahrievaním bromácia nešla selektívne do prvého stupňa, ale dostávali sme zmes mono-, di- a občas aj tribrom derivátov. Z uvedených príčin sme sa touto metódou ďalej nezaoberali.

1.2. Výsledky biologických testov bispyridylových derivátov

Navrhnuté štruktúry chimérnych inhibítorov sme dokovali do oboch variantov VEGFR-2 receptoru (PDB: 1Y6A aj 1Y6B). Finálny dokovací experiment bol uskutočnený vo VEGFR2 variante proteínu z PDB: 1Y6B, nakoľko tento vykazoval lepšiu kvalitu v kalibračnom dokovaní v porovnaní s proteínom z komplexu PDB: 1Y6A. Dokovali sme navrhnuté štruktúry **22SYM**, **23ASYM** a **33SYM** (Tabuľka 10). Získané relatívne hodnoty väzobných energií boli pre navrhnuté štruktúry **22SYM**, **23ASYM** a **33SYM** výrazne lepšie, ako hodnoty skóre získané pre ligand **AAZ** (-52.90). Preto sme očakávali, že nové zlúčeniny obsahujúce dve pyridylové skupiny budú aktívnejšie v porovnaní s pôvodnou zlúčeninou **AAZ**.

Zistili sme, že poradie získaného skóre bolo v súlade s nameranou inhibičnou enzymatickou VEGFR2 aktivitou. Najlepší inhibítor **22SYM** (IC₅₀: 15.3 nM) bol však len o 31 % aktívnejší, ako pôvodný inhibítor **AAZ** (IC₅₀: 22 nM).²

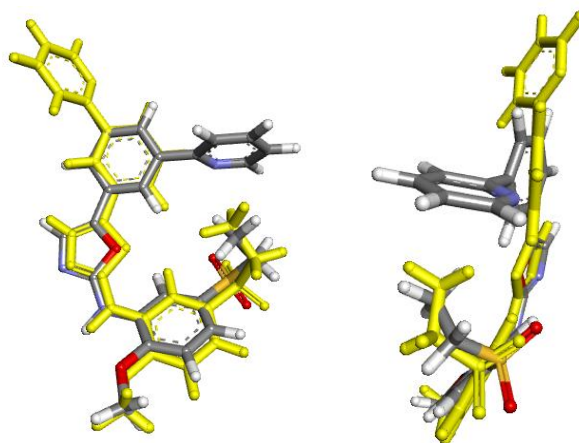
Tabuľka 10: Výsledok enzymatických testov – IC_{50} porovnané s vypočítanými väzobnými energiami.

inhibítor	štruktúra	IC_{50} [nM] E_i [kcal/mol]	inhibítor	štruktúra	IC_{50} [nM] E_i [kcal/mol]
AAZ (1Y6A)		22 - 52.9	23ASYM		50.5 -59.49
22SYM		15.3 -60.06	33SYM		167 -58.38

Za nesúlad očakávanej a získanej inhibičnej aktivity chimérnych zlúčenín **22SYM**, **23ASYM**, **33SYM** v porovnaní so známou aktivitou **AAZ** inhibítora môžu byť zodpovedné nasledujúce faktory:

a/ dokovací experiment bol uskutočnený na proteíne z komplexu 1Y6B. Komplex 1Y6A, ako aj 1Y6B sú podobné kinázové varianty, ktorých aktivačná slučka (A-slučka) v štruktúre nie je dostatočne rigidná a preto v ich Röntgeno-štruktúrnych analýzach komplexov nie je zobrazená. Dokovací experiment uskutočnený bez informácie o pozícii tejto slučky, ktorá sa v nepriaznivom prípade, ako ukážeme neskôr, môže dostať do blízkosti nového pyridylového substituenta a spôsobiť tak kolíziu s inhibítorom **22SYM**.

b/ **22SYM** je chimérnou zlúčeninou odvodenou z dvoch konformérov inhibítora **AAZ** (PDB: 1Y6A). Superimponované konforméry **AAZ** sa okrem výrazne inej polohy pyrid-2-ylového substituenta líšia aj pozíciou fenylového kruhu na ktorom je pyridylová skupina naviazaná. Fenylové kruhy dvoch konformérov sú vytočené z koplanarity o 24° (Obrázok 21). Vypočítaná pozícia **22SYM** je v zhode so štruktúrou konforméru **AAZ** ktorý je viac natočený do vnútra kinázy. Toto vychýlenie v konečnom dôsledku spôsobuje, že sa nový pyrid-2-yl dostáva bližšie k novej pozícii flexibilnej aktivačnej slučky VEGFR2 proteínu a kolízia jej časti s **22SYM** je preto viac pravdepodobná.



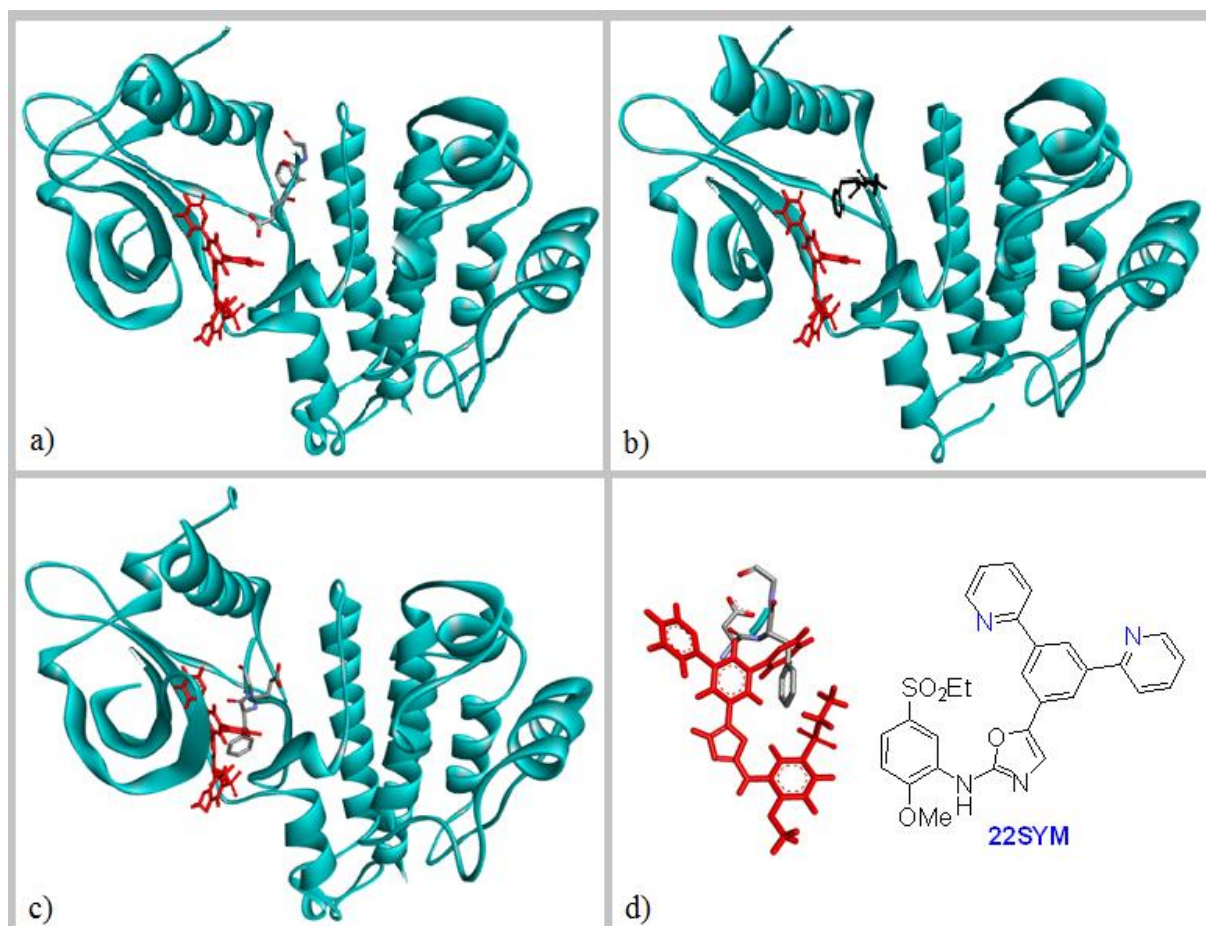
Obrázok 21. Superimpozícia dvoch aktívnych konformérov **AAZ** ligandu (PDB: 1Y6A) z dvoch rôznych uhlov. Žltým: "S-shaped" konformér, farbené podľa atómov: "U-shaped" konformér **AAZ**. Fenylové kruhy nesúce pyridylový substituent oboch konformérov sú vychýlené z koplanarity o 24° .

Existuje veľa prípadov, kedy A-slučka (aktivačná slučka) nie je v Röntgeno-štruktúrnych analýzach komplexov vidieť. Domnievali sme sa, že sa ako hlavný ukazovateľ jej približnej konformácie dá využiť priestorové usporiadanie DFG fragmentu (trojice aminokyselín Asp-Phe-Gly, ktorá tvorí začiatok A-slučky). V prípade malých ligandov, ktoré sa viažu v ATP väzobnom mieste, inhibítory VEGFR2 tyrozín kinázy (Typ I), sa DFG fragment môže vyskytovať v aktívnej (DFG-in) aj inaktívnej (DFG-out) forme. Študovali sme všetkých 34 komplexov VEGFR2 tyrozín kinázy s rôznymi ligandami so známou Röntgeno-štruktúrnou analýzou. Zistili sme, že tieto komplexy je možné rozdeliť do troch skupín podľa konformácie DFG fragmentu (Obrázok 22):

a) aktívne (DFG-in) VEGFR2 TK varianty s Ph z Phe DFG fragmentu smerujúcim von z aktívneho miesta: v tomto prípade je A-slučka otvorená a nemala by **22SYM** ligandu výrazne zavadzať, aj keď záporne nabitý Asp z DFG fragmentu orientovaný k ligandu má kontroverzný vplyv. Môže odpudzovať „U-like“ pyridylovú skupinu, ako ju aj stabilizovať v prípade, že táto je protonizovaná.

b) neaktívne (DFG-out) VEGFR2 varianty s jedinečnou konformáciou DFG fragmentu s Ph z Phe z DFG fragmentu smerujúcim na kraj aktívneho miesta TK: sem patria komplexy 1Y6A, 1Y6B a 3CJF. V tomto prípade je A-slučka v otvorenej konformácii a nedochádza ku kolízii s **22SYM** inhibítorom. Navyše Phe z DFG fragmentu interaguje s „S-like“ pyridylom a zvyšuje tak afinitu ligandu k tyrozínkináze.

c) neaktívne (DFG out) VEGFR2 varianty s Ph z Phe z DFG fragmentu zasahujúcim do aktívneho miesta tyrozínkinázy. V tomto prípade je A-slučka v zatvorenej konformácii, pričom dochádza k silnej kolízii DFG fragmentu s "U-shape" pyridylom **22SYM** inhibítora.

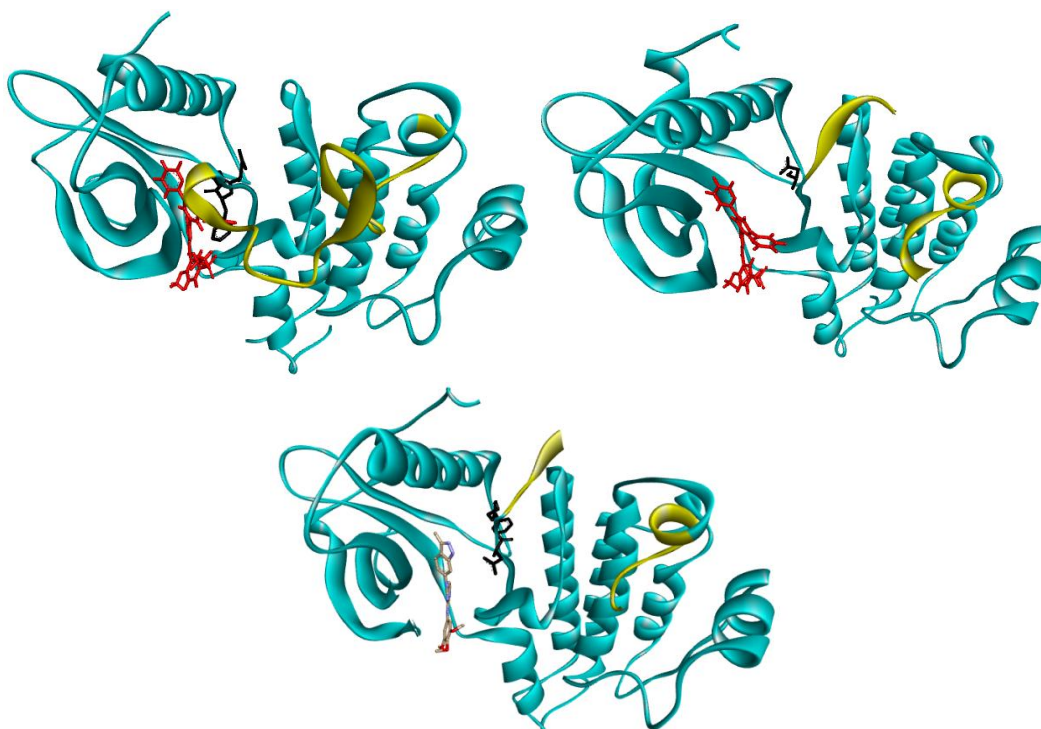


Obrázok 22. Jednotlivé typy komplexov VEGFR2 kinázy podľa polohy DFG fragmentu s predpovedanou pozíciou ligandu **22SYM**: a) aktívne kinázy (DFG in) s fenylom z Phe z DFG fragmentu smerujúcim k α helixu a Asp z DFG nachádzajúcim sa pri ligande **22SYM**; b) inaktívne kinázy (DFG out) s fenylom z Phe z DFG smerujúcim ku kraju aktívneho miesta pri otvorenej A-slučke; c) (DFG out) s fenylom z Phe z DFG smerujúcim do stredu aktívneho miesta pri zatvorenej A-slučke; d) zväčšené zobrazenie kolízie ligandu **22SYM** a DFG fragmentu z c) variantu spolu s 2D štruktúrou **22SYM** ligandu.

Predpokladali sme, že usporiadanie DFG fragmentu určuje polohu A-slučky. Zistili sme, že to nie je všeobecná pravda čo dokazuje porovnanie niektorých TK komplexov: napr. 4AGD (DFG out) a 3CJF (DFG out), kde pozícia aktivačných slučiek je opačná aj napriek inaktívnej forme oboch kináz podľa usporiadania DFG fragmentu (Obrázok 23). Zaujímavé je aj

porovnanie 3CJF (DFG out) s komplexom 3CJG (DFG in), kde je vidieť, že aktivačné slučky sú v takmer identických polohách, ale DFG fragment má odlišnú konformáciu (Obrázok 23). Uvedené sa teda vymyká predpokladu o vzťahu konformácie DFG fragmentu a polohe aktivačnej slučky.

Vo väčšine známych komplexov VEGFR2 tyrozín kinázy nie je aktivačná slučka v ich X-ray štruktúre vidieť. Skutočnosť, že aktivačné slučky nie sú v Röntgeno-štruktúrnych analýzach vidieť, hovorí o ich flexibilita a tým pádom aj o pravdepodobnosti pohybu aktivačnej slučky z otvorenej do uzavretej polohy a naopak.



Obrázok 23. Vľavo: PDB: 4AGD (DFG out) s aktivačnou slučkou (žltým) v zatvorenej polohe; vpravo: PDB: 3CJF (DFG out) s aktivačnou slučkou (žltým) v otvorenej polohe; dole: PDB: 3CJG (DFG in) s aktivačnou slučkou (žltým) v otvorenej polohe.

Vzhľadom na uvedené je možné zhrnúť, že aktivačná slučka komplexu s inhibítorom nie je dostatočne stabilizovaná a môže dynamicky meniť svoju konformáciu čo platí pre malé inhibítory viažuce sa vo väzobnom mieste ATP (Typ I). To znamená, že inhibítory Typu I navrhnuté v DFG-out VEGFR2 variantoch, môžu mať zníženú inhibičnú aktivitu vďaka ich nožnej kolízii s dynamicky sa pohybujúcou aktivačnou slučkou. V našom prípade zistená VEGFR2 TK aktivita inhibítorov napr. **22SYM** je nižšia, ako bola očakávaná, pravdepodobne kvôli kolízii "U-shape" pyridylu inhibítora **22SYM** (Obr. 10) s DFG fragmentom z flexibilnej

aktivačnej slučky. Toto sa potom prejaví v nižšej, priemernenej, v našom prípade len mierne lepšej inhibičnej aktivite inhibítora **22SYM** ($IC_{50} = 15.2 \text{ nM}$) v porovnaní s enzymatickou aktivitou ($IC_{50} = 22 \text{ nM}$) jemu príbuzného inhibítora **AAZ** (PDB: 1Y6A).

1.2.1. 22SYM inhibuje delenie endoteliálnych a tumorových buniek

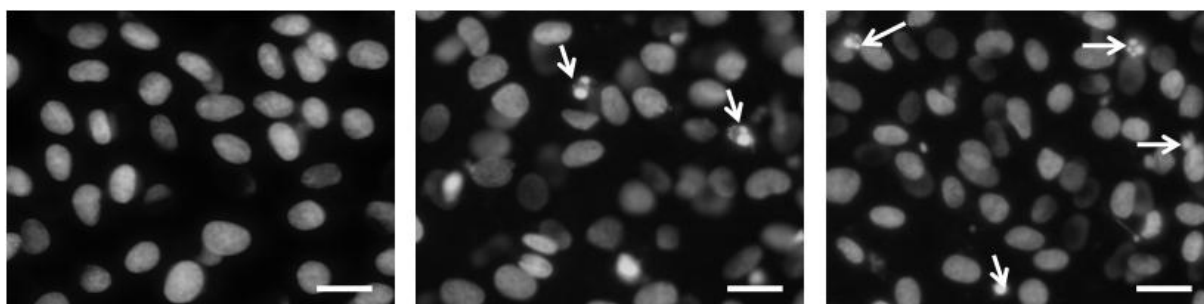
22SYM bol testovaný na jeho schopnosť inhibovať delenie buniek v sérii testov v rôznych koncentráciách v prítomnosti 3×10^3 BEAC (hovädzie aortálne endoteliálne bunky) alebo 2×10^3 tumorových buniek, pričom sa stanovovala množstvo prežitých buniek v každej jamke mikroplošnice po trojdňovej inkubácii. Výsledná koncentrácia pre 50 %-né prežitie buniek bola stanovená prepočtom lineárnej závislosti získaných hodnôt. Testované tumorové bunky boli: ľudský prsníkový rakovinový karcinóm (MDA-MB-231), ľudský črevný adenokarcinóm (HT29), ľudský fibrosarkóm (HT1080), ľudská promyelocytická leukémia (HL60) a ľudský osteokarcinóm (U2-OS). Výrazne (5 - 50 násobne) nižšia hodnota koncentrácie **22SYM** potrebná pre inhibíciu delenia endoteliálnych buniek v porovnaní s rakovinovými naznačuje, že látka **22SYM** má selektívne antiangiogénny účinok.

Tabuľka 11: Inhibícia hovädzích aortálnych endoteliálnych buniek (BAEC) a piatich druhov ľudských rakovinových buniek pomocou 22SYM.

Cell line	IC50 [μM]
BAEC	0.37 ± 0.15
MDA-MB-231	3.99 ± 2.04
HT29	15.17 ± 2.33
HT1080	2.43 ± 2.10
HL60	17.83 ± 3.69
U2-OS	2.03 ± 0.45

1.2.2. 22SYM vyvoláva apoptózu endoteliálnych buniek

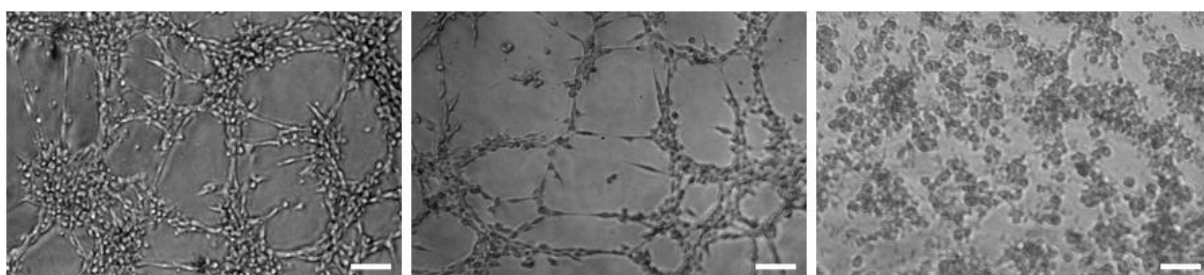
Schopnosť antiangiogénnych látok vyvolávať apoptózu (riadenú smrť bunky) je u endoteliálnych buniek pomerne známy fakt. BAEC boli inkubované s rôznymi koncentraciami **22SYM**, pričom sa sledovali morfológické zmeny bunkových jadier BAEC. Apoptóza sa objavovala už od koncentrácie $0.5 \mu\text{M}$ 22SYM (Obrázok 24).



Obrázok 24. Apoptóza endoteliálnych buniek vyvolaná prítomnosťou 22SYM. Vľavo: kontrolná vzorka, v strede: 0,5 μM 22SYM, vpravo: 1 μM 22SYM.

1.2.3. 22SYM inhibuje schopnosť endoteliálnych buniek tvoriť kapiláry

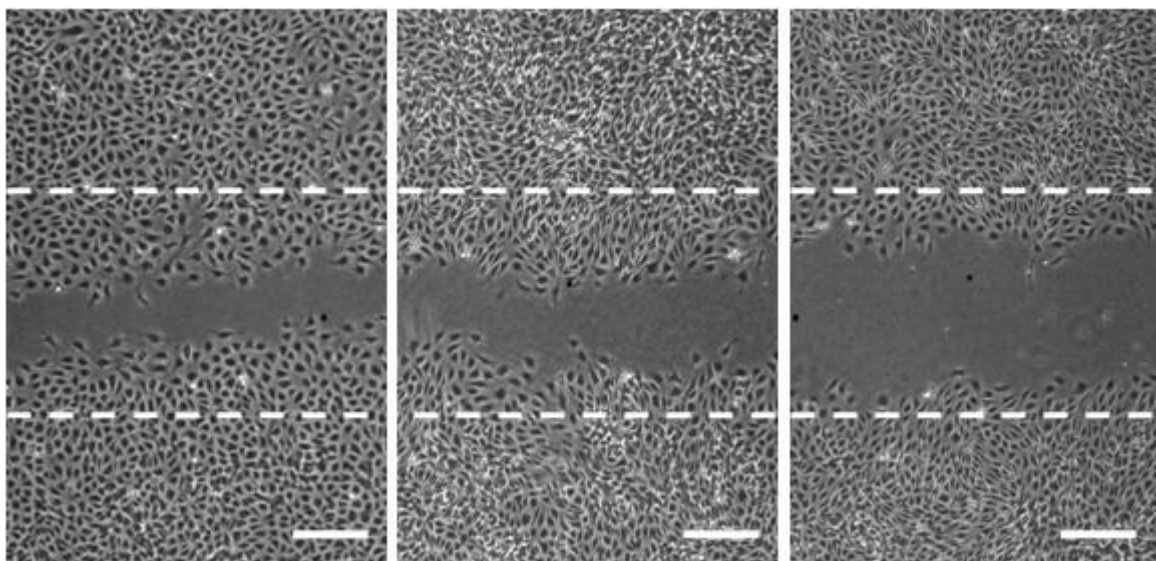
Významnou fázou angiogenézy je tvorba trojrozmerných štruktúr vedúcich k tvorbe cievnych kapilár. Endoteliálne bunky nanesené na matrigél tvoria už po pár hodinách sieť a reťazce viditeľné pod mikroskopom. Prítomnosť 22SYM bránila tomuto procesu. Pri koncentrácii 0.5 μM bola tvorba sietí významne spomalená (Obrázok 25) a pri koncentrácii 1 μM nedochádzalo k prakticky žiadnemu tvoreniu týchto štruktúr (7 h inkubácia).



Obrázok 25: Inhibícia tvorby ciev vyvolaná prítomnosťou 22SYM. Vľavo: kontrolná vzorka, v strede: 0,5 μM 22SYM, vpravo: 1 μM 22SYM.

1.2.4. 22SYM inhibuje migračnú schopnosť endoteliálnych buniek

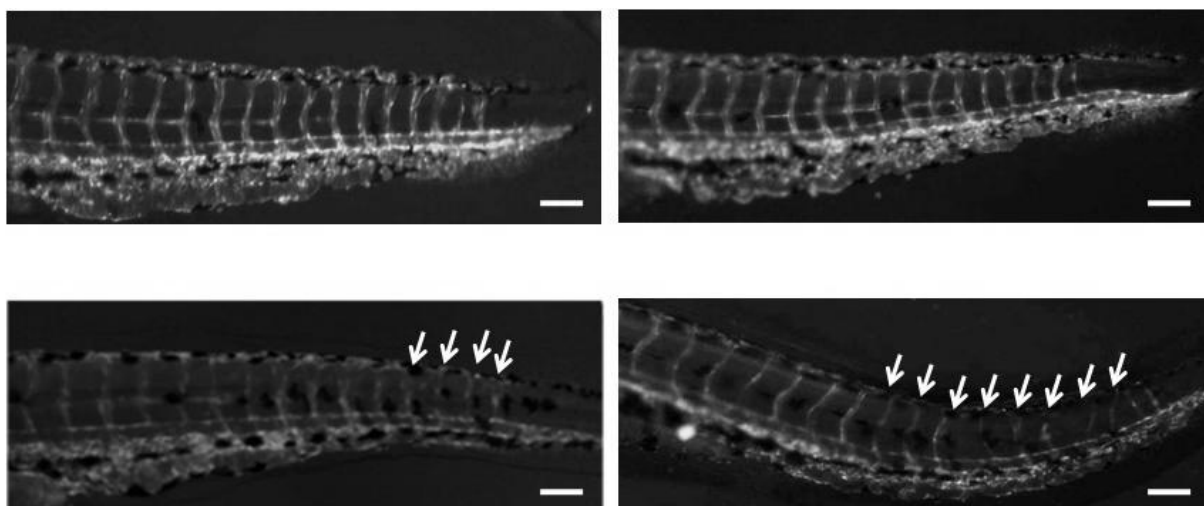
Schopnosť endoteliálnych buniek migrovať bola stanovená prostredníctvom testu hojenia rany. Do súvislej monovrstvy endoteliálnych buniek BAEC bolo v každom teste pomocou špičky pipety urobená rana o šírke 1 mm. Následne boli bunky inkubované s inhibítorom o rôznej koncentrácii, resp. bez inhibítora - kontrolný test. V prítomnosti 22SYM bolo liečenie rany spôsobené migráciou BAEC významne spomalené (Obrázok 26).



Obrázok 26: Inhibícia liečenia rany vyvolaná prítomnosťou **22SYM**. Vľavo: kontrolná vzorka ca 70 % zrastená rana, v strede: 0,5 μM **22SYM** ca 60 % zrastená, vpravo: 1 μM **22SYM** ca 30 % zrastená.

1.2.5. **22SYM** inhibuje *in vivo* angiogézu v teste zebrafish embryí

Zebrafish (zebrička, *Danio rerio*) embryonálny test je komplexný *in vivo* test, ktorý slúži na stanovenie schopnosti danej látky zastaviť vývoj cievnej sústavy v embryách transgénnych zebričiek (TG(fli1:EGFP)y1). Vývoj cievneho systému, t.j. angiogéza u zebričiek začína klíčením a rastom nových medzisegmentových ciev z aorty embrya. Následne sa tieto nové cievy spájajú za vzniku chrbtovej žily. Testy ukázali, že pri koncentrácii 10 μM dochádza k inhibícii rastu medzisegmentových ciev, i keď embryo prežíva 24 hodín testu a jeho morfológia sa podobná na embryá kontrolného testu. 10 μM takmer neovplyvnilo samotný vývoj embryí a ani nevykazovalo toxicitu na embryách. Pri koncentráciách 15 a 20 μM bol vplyv **22SYM** na tvorbu krvného systému, vývoj embrya a aj jeho morfológiu oveľa viditeľnejší a najmä sa prejavil u vyššieho počtu embryí (Obrázok 27, Tabuľka 12).



Obrázok 27: Test zebrafish embryí - tvorba cievneho systému in vivo u zebrafish embryí. Hore vľavo: kontrolná vzorka, hore vpravo: 5 μM 22SYM, dole vľavo: 10 μM 22SYM, dole vpravo: 20 μM 22SYM.

Tabuľka 12: Číselné vyhodnotenie testu na zebrafish embryách.

	22SYM (μM)	pozitívne/celkové	% inhibície
Zebrafish test	0	0/15	0
	5	1/15	7
	10	8/15	53
	20	13/15	87

2. Pokusy o prípravu "Click" ligandu *N*-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl]-5-propargyloxazol-2-amínu (**118**)

2.1. Príprava 5-propargyl-oxazol-2-amínu **118** z acetónu (**110**)

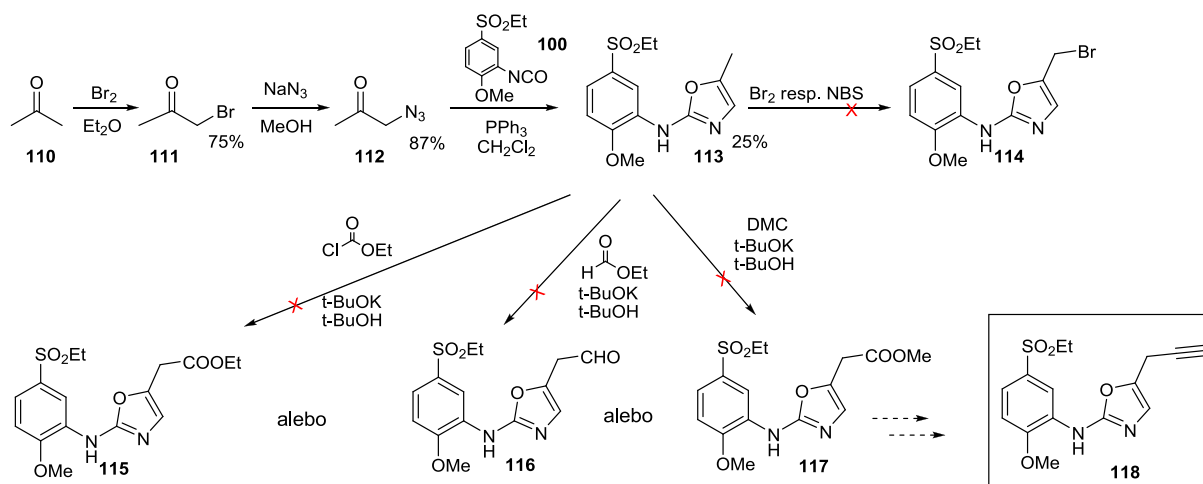


Schéma 31: Syntéza *N*-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl]-5-metyloxazol-2-amínu (**113**) a pokusy o jeho substitúciu na metyle.

Prvou navrhnutou syntetickou stratégiou bola príprava 5-metyloxazol-2-amínového derivátu **113** pomocou reakcie 1-azidoacetónu **112** s aryloxykyanátom **100**, a následná bromácia alebo kondenzačná reakcia s etylchlórformiátom, etylformiátom alebo dimetylkarbonátom (Schéma 31). 1-Azidoacetón (**112**) sme pripravili z acetónu v dvoch stupňoch: bromáciou s brómom v éteri pri rt a následnou substitúciou brómu za azid pomocou azidu sodného v metanole. Obe reakcie prebiehali selektívne a s dobrými výťažkami. Ďalším krokom bola reakcia za vzniku oxazolu **113** pomocou trifenyľfosfinu a izokyanátu **100** v suchom dichlórmetáne. Výťažok produktu po FLC a kryštalizácii bol 25 %.

Bromácia CH_3 skupiny však nevedla k požadovanému produktu **114**. Ako činidlá sme vyskúšali bróm, NBS aj NBS s AIBN. Skúšali sme rôzne podmienky od rt (CH_2Cl_2) až po zahrievanie v CCl_4 . Pri týchto reakciách produkt buď nevznikal, alebo dochádzalo k rýchlemu rozpadu oxazolového derivátu.

Kondenzačná reakcia metyloxazolu **113** s etylchlórformiátom tiež neposkytla požadovaný produkt **115**. Vyskúšali sme nasledovné podmienky: a) *t*-BuOH, *t*-BuOK, rt, noc; b) *n*-BuLi, THF, 1. -78°C , 1 h, 2. noc, rt; c) LDA, THF, 1. -78°C , 1 h, 2. noc, rt. V prípade a) nenastala v reakčnej zmesi žiadna zmena. *t*-BuOK nie je dostatočne silnou bázou na odtrhnutie H z CH_3 . V prípade b) a c) dochádzalo k odtrhnutiu H z NH skupiny medzi oxazolom a benzénom

a acylácii na dusíku. Kondenzačné reakcie s etylformiátom, kde sme ako bázu použili *t*-BuOK a dimetylkarbonátom, kde sme ako bázu použili *t*-BuOK a NaH, neviedli opäť k žiadaným požadovaným produktom **116**, alebo **117**.

2.2. Pokus o prípravu "Click" ligandu 5-propargyloxazol-2-amínu **118** z tetrametoxypropánu (**135**)

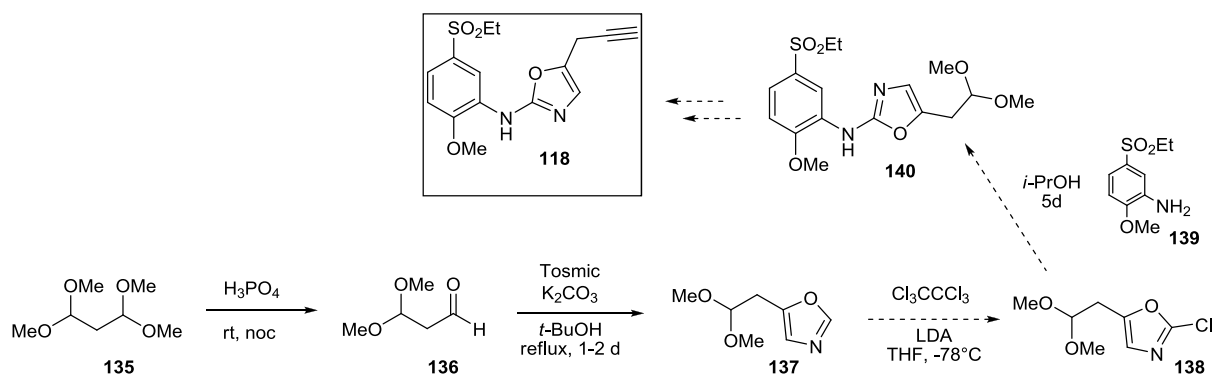


Schéma 32: Príprava propargyloxazolu **118**, v ktorej sme sa dostali po 2,2-dimetoxy-1-(oxazol-5-yl)etánu (**137**).

Zaujímavou metódou na prípravu oxazolov je reakcia aldehydu s toluénsulfonylmetyl izokyanidom (**Tosmic-om**). Oxazol sa by sa mal dať substituovať v polohe 2 chlóróm alebo brómom. 2-Halogénxazol by sa ďalej použil do reakcie s anilínovým derivátom, pričom by malo dochádzať k reakcii za vzniku *N*-aryloxazol-2-amínu **140**. Do východiskovej látky sme chceli vniesť metylénaldehydovú skupinu, ktorá by sa dala ďalej previesť na propargyl derivát **118** pomocou Ohira-Bestmann-ovej reakcie. Takýto aldehyd ale musel najprv byť chránený ako dimetylacetál. Z uvedených dôvodov sme ako východiskovú látku zvolili 1,1,3,3-tetrametoxypropán (**135**).

Prvou reakciou bol ochránenie jedného aldehydu pomocou miernej hydrolýzy s H_3PO_4 . Priebeh reakcie sa sledoval pomocou ^1H -NMR. Po dvoch dňoch sa pomer východiskovej látky **135** a produktu **136** ustálil na 1 : 2. Do reakčnej zmesi sa pridalo viac vody, čím sa rovnováha reakcie posunula smerom k produktu **136** a pomer východiskovej látky **135** a produktu **136** sa ustálil po 24 h na 1 : 4. Zmes sa nepodarilo rozdeliť a tak bola použitá do ďalšieho stupňa bez delenia.

Reakcia s **Tosmic-om** mala nízku konverziu len 8 % a počas reakcie pravdepodobne dochádzalo k rozkladu. Pokusy o zoptimalizovanie reakcie (napr. najprv príprava soli

Tosmic-u s K_2CO_3 a následné pridanie východiskovej látky alebo zmena rozpúšťadla a teploty) nevedli k úspešnej príprave oxazolu **137**.

2.3. Pokus o prípravu "Click" ligandu 5-propargyloxazol-2-amínu **118** couplingom

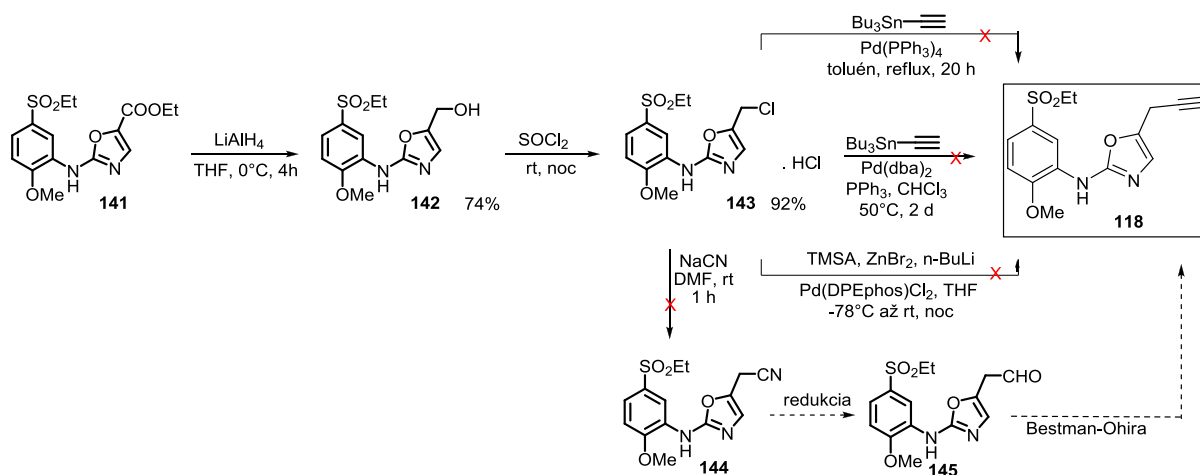


Schéma 33: Pokusy o použitie couplingových reakcií na prípravu alkinového ligandu **118** odvodeného z inhibítora **AAZ** z komplexu PDB: 1Y6A.

V tejto syntéze sme chceli využiť syntetickú dostupnosť etyl-2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxifynylamino]oxazol-5-karboxylátu **141** a pokúsiť sa predĺžiť substituent v polohe 5 oxazolu o trojitú väzbu na zlúčeninu **118**. Redukciou esterovej skupiny pomocou $LiAlH_4$ v THF sme pripravili príslušný alkohol **142** so 74 %-ným výťažkom po čistení s FLC. Hydroxyskupinu sme substituovali pomocou $SOCl_2$ za chlór s dobrým výťažkom 92 %. Málo stabilný chlórderivát **143** sme použili v sérii couplingových reakcií na zavedenie acetylénu. Coupling s $Bu_3SnC\equiv CH$ aj so $ZnBr_2$ a trimetylsilylacetylénom produkt **118** však neposkytli. Vyskúšali sme aj substitúciu chlóru za nitril na **144**, ale pri tejto reakcii už aj za miernych reakčných podmienok a po krátkom čase dochádzalo k rozkladu.

3. Pokusy o prípravu druhého "Click" ligandu 5-(but-3-ínyl)-*N*-(5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl)oxazol-2-amínu (**146**)

3.1. Pokus o prípravu but-3-ínyloxazol-2-amínu **146** z dietylsukcinátu (**119**)

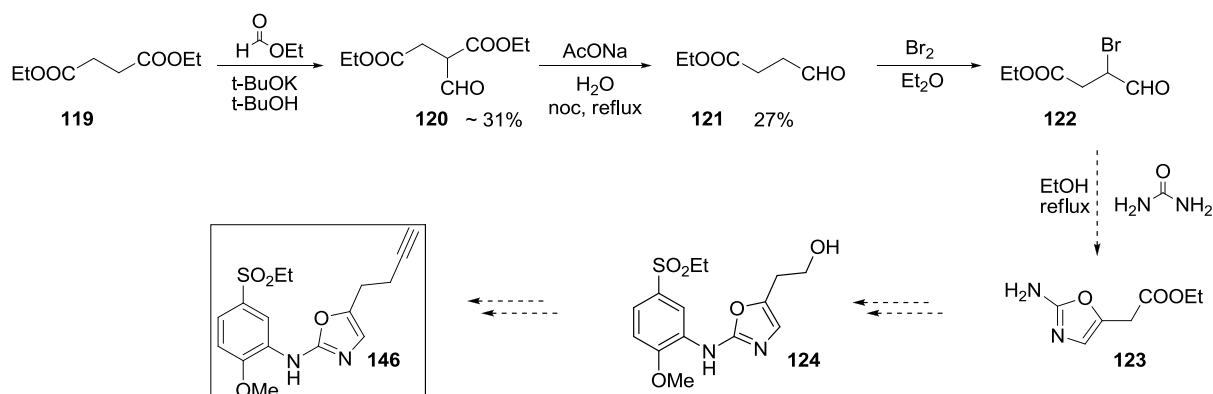


Schéma 34: Návrh prípravy etylesteru 2-{2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-yl}etanolu (**124**) a alkínu **146**.

Navrhli sme metódu na prípravu etylesteru kys. 2-(2-aminooxazo-5-yl)octovej (**123**), z ktorého by bolo možné po redukcii esterovej skupiny na alkohol a premene aminoskupiny na chlór pomocou diazotácie pripraviť požadovaný oxazol-5-yletanol **124** - vhodný na prípravu druhého zamýšľaného "Click" ligandu **118**. Táto metodika sa ukázala byť nevhodná z dôvodu vzniku veľkého množstva prímies v produktoch, ktoré sa kvôli blízkej hodnote teploty varu nedali oddeliť. Problémom bola aj tendencia aldehydov polymerizovať počas čistenia.

Pri Claisenovej kondenzácii, resp. formylácii dietylsukcinátu (**119**) s etylformiátom sa ako katalyzátor osvedčil $t\text{-BuOK}$, pričom sme z reakcie získali zmes produktu **120**, dekarboxylovaného produktu **121** a nečistôt. Zitili sme, že reakcia s EtONa v EtOH , produkt takmer vôbec nedávala. Získanú zmes sa použili na hydrolýzu, kde sme ako účinné činidlo použili octan sodný a vodu. Zmes sa zahrievala za refluxu cez noc, pričom sme priebeh reakcie mohli sledovať na základe aldehydového signálu z NMR spektra. Čistenie produkt zlyhalo, z destilácie sme získavali len malé množstvo bezfarebnej kvapaliny, ktorá bola zmesou produktu **121** a iných neznámych látok. Takúto zmes sme použili na bromáciu, kde sme opäť na základe posunu a zmeny multiplicity signálu pre aldehyd zistili, že produkt **122**

vznikol. Avšak tu bol produkt už len minoritnou zložkou v zmesi, a tak sme túto metódu nakoniec vyhodnotili ako neschodnú.

3.2. Pokus o prípravu but-3-ínyloxazol-2-amínu 146 z etylacetoacetátu (125)

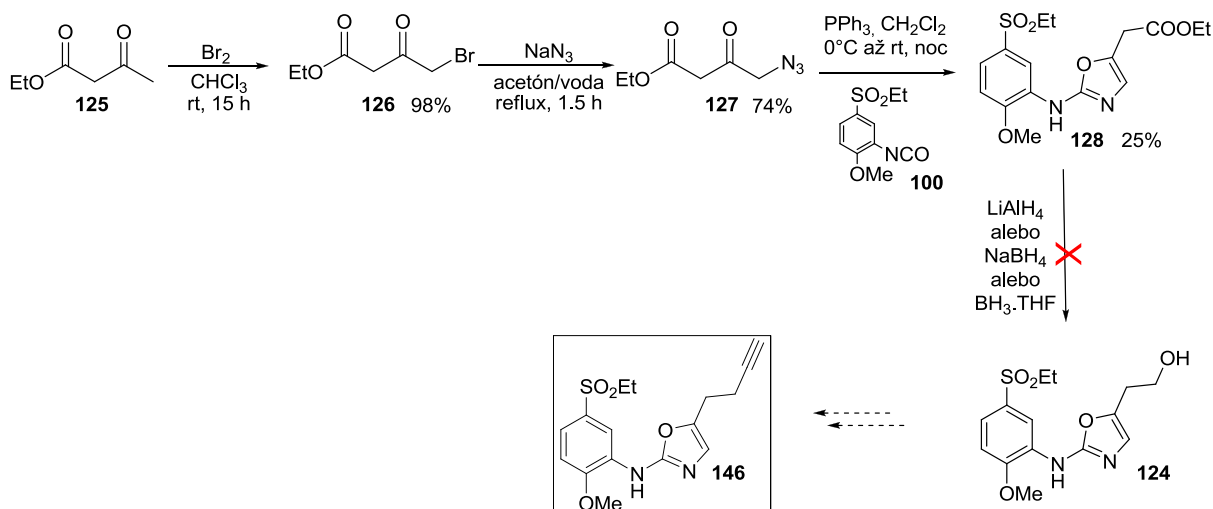


Schéma 35: Príprava etyl 2-{2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-yl}acetátu (**128**), ktorý sa pri pokusoch o redukciu rozkladal.

Alternatívnou metódou na prípravu oxazol-2-amínov je reakcia α -azidokarbonylov a izokyanátov s PPh_3 . Na prípravu etyl-2-{2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-yl}acetátu (**128**) sme potrebovali etyl-4-azido-3-oxobutyrát (**127**) a 5-etylsulfonyl-2-metoxybenzénizokyanát (**100**). Azid **127** sme pripravili z etyl-acetoacetátu (**125**) termodynamicky kontrolovanou bromáciou **126** a následnou substitúciou brómu na azid pri produkte **127**. Ako bromačné činidlo sme použili bróm. Reakciu sme robili v kyseline octovej (rt, 3 h) a v chloroforme (rt, 15 h), pričom výťažky boli približne rovnaké. Odstránenie zvyškov kyseliny octovej nebolo vždy 100 %-né, čo mohlo mať vplyv na citlivejší azid v nasledujúcom stupni. Pri reakcii vzniku produktu **126** ide najprv bróm na uhlík číslo 3, kde sú kyslejšie vodíky. Táto reakcia prebehne do 5 min. Keď sa však reakcia nechá miešať dlhší čas, dochádza k presunu brómu na uhlík číslo 4, keďže produkt **126** je termodynamicky stabilnejší.

Azid **127** sme pripravili z brómderivátu **126** pomocou azidu sodného, pričom sme ako rozpúšťadlo použili zmes vody a acetónu. Reakčnú zmes sme zahrievali na reflux 1.5 h. Výťažky reakcie sa pohybovali do 74 %. Reakcia prebiehala selektívne a spoľahlivo a nepozorovali sme vznik rozkladných produktov ako u iných azidov. Zahrievaním však vzniká

veľa farebných látok, ktoré sa nám podarilo z väčšej časti odstrániť rýchlou filtráciou cez stĺpec silikagelu.

Reakcia prípravy oxazolu **128** bola uskutočnená za prítomnosti trifenyľfosfinu, ktorý s azidom vytváral reaktívny aza-ylid schopný s izokyanátom vytvárať keto-karbodiimid. Reakcia bola robená v suchom dichlórmetáne, pričom sa pridával roztoku azidu **127** a izokyanátu **100** do roztoku trifenyľfosfinu pri 0 °C počas 2 h a následne sa zmes nechala miešať pri rt cez noc. Pri reakcii vznikalo väčšie množstvo vedľajších látok pravdepodobne degradáciou azidu **127** a izokyanátu **100**, preto je výťažok produktu **128** len 25 %. Ďalším stupňom syntézy mala byť redukcia esterovej skupiny **128** na alkohol **124**, ktorý sa mal použiť na premenu na alkín **146**. Pri redukcii sme ale nepozorovali vznik produktu **124**. Ako redukčné činidlá sme použili LiAlH_4 , NaBH_4 a $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$. Použitím LiAlH_4 pri kratších reakčných časoch reakcia neprebiehala, po predĺžení reakčného času sme v NMR spektrách našli rozkladný 5-etylsulfonyl-2-metoxyanilín. Ktorý vznikol odštiepením arylamínu z primárne vzniknutého alkoholátu **124** pravdepodobne jeho intramolekulovým atakom na oxazolový kruh. Reakcia s NaBH_4 prebiehala pomalšie, väčšinou bola izolovaná východisková látka **128** ako dominantná zložka zmesi a niekoľko neznámych látok neobsahujúcich oxazol. Reakcia s $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ bola veľmi pomalá a nevedla k alkoholu **124** ale domnievame sa, že dochádzalo k redukcii násobnej väzby na oxazole **128**. Po neúspešnej redukcii esteru **128** na alkohol **124** sme túto metódu ďalej nerozvíjali.

3.3. Pokus o prípravu "Click" ligandu but-3-ínyloxazol-2-amínu **146** z THF (129), γ -butyrolaktónu (132) a bután-1,4-diolu (134)

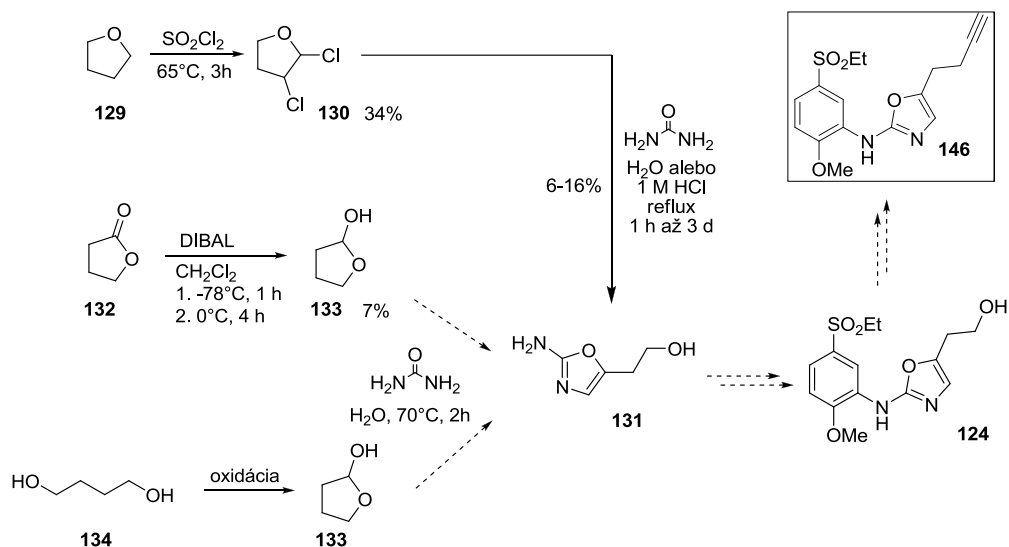


Schéma 36: Návrh prípravy 2-(2-aminooxazo-5-yl)etanolu (**131**) a alkínu **146**.

Aby sme sa vyhli nutnosti redukcie esterovej skupiny v zlúčenine **128**, hľadali sme iné metódy na prípravu 2-(2-aminooxazol-5-yl)etanolu (**131**). Našli sme metódu,⁴⁶ kde reaguje 2,3-dichlór-tetrahydrofurán (**130**) s močovinou za vzniku oxazol-2-amínu **131** s 2-hydroxyetylom v polohe 5. Najprv sme potrebovali pripraviť 2,3-dichlór-tetrahydrofurán (**130**), ktorý sa dá pripraviť dvojnásobnou chloráciou THF (**129**) pomocou sulfurylchloridu. Reakcia prebieha v dvoch stupňoch: a) rýchla substitúcia vodíku za chlór na uhlíku 2, ktorá prebehne takmer okamžite a dá sa sledovať silným vývojom plynov už pred samotným zahrievaním; b) nasledná substitúcia na uhlíku 3 prebieha počas zahrievania, je selektívna a prebieha len na monochlórovanom THF. Produkt **130** počas destilácie silne polymerizuje, čo značne znižuje výťažok produktu **130** na 34 %.

Reakcia dichlór-tetrahydrofuránu (**130**) s močovinou vo vode alebo v 1M HCl neprebieha pri rt spoľahlivo a dominantným produktom je najprv produkt substitúcie chlóru za močovinu. Najlepšiu konverziu na produkt **131** (ca 16 %) sme dosiahli pri reakcii v 1 M HCl po 3 d za refluxu. Reakcia vo vode dáva nízke výťažky a reakcia v etanole vôbec neprebieha. Táto metóda sa ukázala byť preto len málo schodná.

Ďalšou možnosťou ako pripraviť 2-(2-aminooxazo-5-yl)etanol (**131**) bola reakcia močoviny s 2-hydroxytetrahydrofuránom (**133**). Tento sme chceli pripraviť redukciou γ -butyrolaktónu (**132**). Táto reakcia vzniku produktu **133** však prebiehala len s nízkym výťažkom ca 7 %. Po destilácii za zníženého tlaku sme produkt získali ako zmes otvoreného aldehydu 4 % a poloacetálovej formy **133** 96 %. Nízky výťažok bol dôvodom, prečo sme hľadali nový spôsob prípravy alkoholu **131**.

Skúšali sme pripraviť 2-hydroxytetrahydrofurán (**133**) čiastočnou oxidáciou bután-1,4-diolu, pričom sme ako oxidačné činidlá vyskúšali: MnO₂, Dess-Martinovo činidlo, PDC a PCC. Pri reakcii s MnO₂ sme pozorovali vznik poloacetálu **133** len v malom množstve v závislosti od teploty a času: 1 - 12 % v pomere k východiskovej látke. V reakcii s Dess-Martinovým činidlom sme zo zmesi získali len ťažko interpretovateľné NMR spektrum. V reakciách s PDC a PCC sme dostávali približne podobné výsledky, t.j. nízka konverzia a selektivita reakcie. Dochádzalo k vzniku iných neznámych látok, čím sa spektrum značne komplikovalo.

Keďže sa nám ani jednou z týchto metód nepodarilo pripraviť 2-hydroxytetrahydrofurán (**133**), túto metódu prípravy oxazol-2-amínov sme zastavili.

4. Syntéza *m*-OR AAZ derivátov - prekursorov VEGFR2 inhibítorov

4.1. Príprava α -azido-3-bróm-5-(metoxymetoxy)acetofenónu (151)

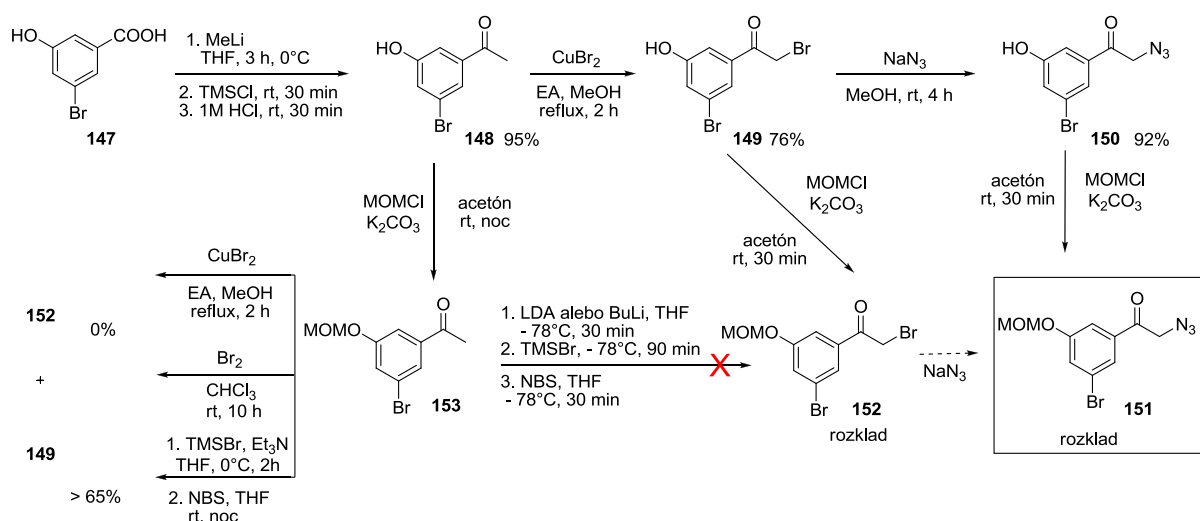


Schéma 37: Príprava α -azido-3-bróm-5-metoxymetyloxyacetofenónu (151)

Na prípravu požadovaného oxazol-2-amínu **160** sme potrebovali syntetizovať vhodný α -azidoacetofenón, napr. **151** so substituovateľným kyslíkom v jednej *meta* polohe a s halogénom v druhej *meta* polohe, ktorý by sme mohli cez couplingovú reakciu premeniť na pyrid-2-yllovú skupinu. Preto sme sa rozhodli pripraviť α -azido-3-bróm-5-hydroxyacetofenónu (**150**) resp. jeho *O*-chránenú formu v podobe zlúčeniny **151**.

Východiskovou látkou pre túto syntézu bola kyselina 3-bróm-5-hydroxybenzoová **147**, ktorú sme pomocou MeLi premenili na príslušný acetofenón **148**. Reakciu sme robili pri 0 °C v suchom THF a pri spracovaní sme najprv použitím TMSCl pripravili TMS-enolát a následným kyslým spracovaním vznikol acetofenón **148**. Produkt sme čistili pomocou FLC a výťažok reakcie bol 95%.

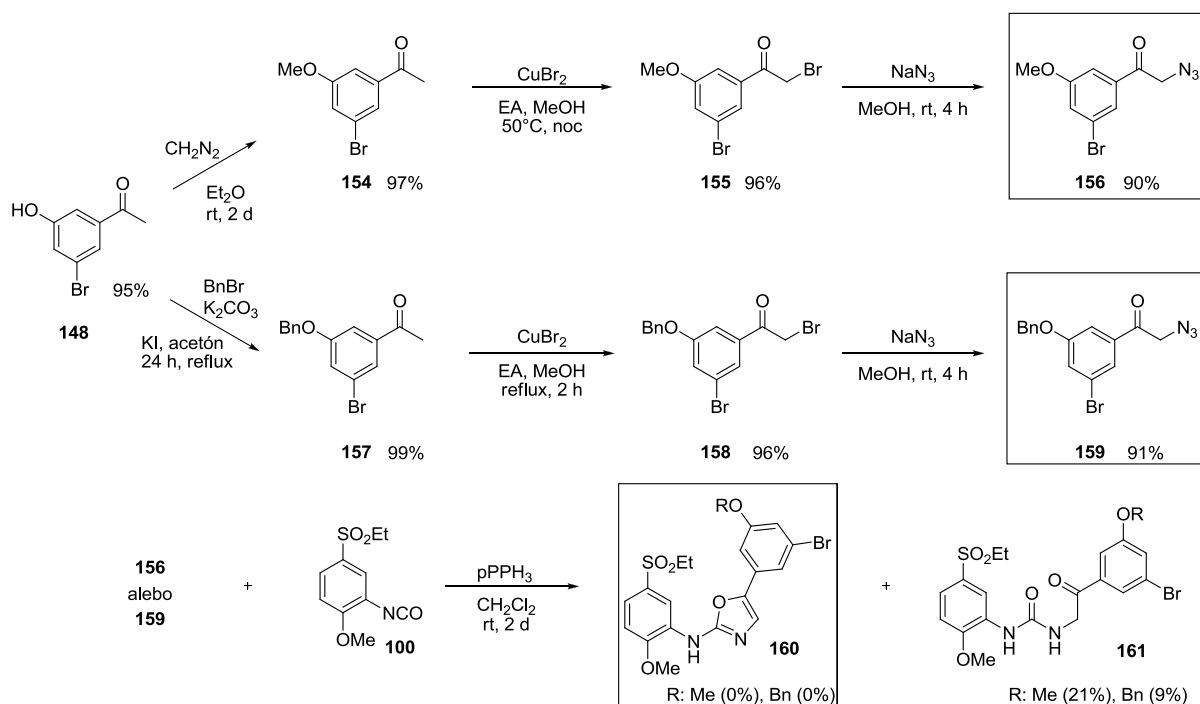
Ďalším stupňom bola bromácia acetofenónu **148** do α -polohy pomocou CuBr₂ v zmesi etylacetátu a metanolu (4 : 1). Po 2 h refluxu sme izolovali produkt **149**, ktorý obsahoval aj malé množstvo dibromacetofenónu, ktorý sme odstránili kryštalizáciou, alebo ak dibromovaného produktu boli len stopy, tak sme produkt použili priamo do reakcie s NaN₃ na prípravu α -azido-3-bróm-5-hydroxyacetofenónu (**150**).

Reakcia chránenia azidu **150** s MOMCl a K_2CO_3 v acetóne už po 30 min miešania pri rt vykazovala, že v reakcii dochádza k rozkladu látok. TLC analýza namiesto jednotlivých škvŕn látok ukázala pás od štartu až k produktu reakcie. Produkt **151** sa pri pokusoch o jeho čistenie len viac a viac kazil.

Predpokladali sme, že výmenou poradia krokov tejto syntézy sa dopracujeme k lepším výsledkom, keďže by sme sa vyhli chráneniu relatívne nestabilného azidového derivátu (Schéma 39). Ale ukázalo sa, že chránenie brómderivátu **149** tiež vedie k podobným výsledkom. Podarilo sa nám však pripraviť stabilný 3-bróm-5-metoxymetyloxyacetofenón (**153**) reakciou 3-bróm-5-hydroxyacetofenónu (**148**) s MOMCl a K_2CO_3 v acetóne cez noc.

Bromácia 3-bróm-5-metoxymetyloxyacetofenónu (**153**) sa však ukázala byť tiež problematická. Reakcie s $CuBr_2$ (v etylacetáte a metanole za refluxu), s NBS (a s TMSBr a trietylamínom v THF pri 0 °C až rt) ako aj brómom (v $CHCl_3$ pri rt) (Schéma 39) viedli k odstráneniu MOM- chrániacej skupiny. Reakcia s NBS, TMSBr a $n-BuLi$ resp. LDA v suchom THF pri - 78°C neprebehla. Rozhodli sme sa preto vyskúšať prípravu *m*-O-substituovaných derivátov odvodených od AAZ s inými chrániacimi skupinami (metylom a benzylom) na kyslíku v *meta* polohe.

4.2. Príprava α -azido-3-bróm-5-metoxyacetofenónu (**156**) a α -azido-3-bróm-5-benzyloxyacetofenónu (**159**)



*Schéma 38: Príprava metoxy a benzyloxy oxazol-2-amínov **160** a močovinových derivátov **161**.*

V predchádzajúcej syntéze sme zistili, že MOM- chránenie vnáša tendenciu α -brómketónu **152** aj α -azido derivátu **151** rozkladať sa. V tejto syntéze sme preto chceli vyskúšať iné chrániace skupiny, pričom sme chránenie pomocou CH_2N_2 a benzylbromidu zaradili pred bromáciu do α -polohy. Tým sme sa chceli vyhnúť komplikáciám, ktoré sme pozorovali v prechádzajúcej syntéze. Pri tejto modifikácii obe chránenia, následné bromácie a substitúcie brómu za azid prebehli hladko. Dôležité však bolo, aby obidva výsledné azidy **156** aj **159** boli použité hneď po príprave do ďalších syntéz, lebo sme opäť pozorovali rozklad, i keď v menšej miere ako pri MOM- deriváte **151**.

Pripravené metoxy a benzyloxy azidy **156** a **159** sme použili do reakcie s izokyanatom **100** v prítomnosti PPh_3 v dichlórmetáne pri rt. V prípade oboch azidov sme z komplikovaných zmesí, ktoré pri reakciách vznikli, neidentifikovali požadované oxazol-2-amínové produkty **160a** a **160b**. Ale identifikovali sme len otvorené močovinové deriváty **161a** a **161b**. V prípade metoxyderivátu sme izolovali močovinový produkt **161a** s 21 % výťažkom. A v prípade benzyloxyderivátu sme dokázali zo zmesi získať malé množstvo frakcie, ktorá obsahovala močovinový derivát **161b** spolu s inou neznámou látkou v pomere 1 : 1. Keďže nešlo o primárne požadovaný produkt, túto zmes sme ďalej nedelili.

5. Syntéza *m*-NO₂ prekursoru (**160c**) *m*-OR a *m*-NHR VEGFR2 inhibítorov

5.1. Príprava *m*-NO₂ prekursoru (**160c**) azaylidovou metódou

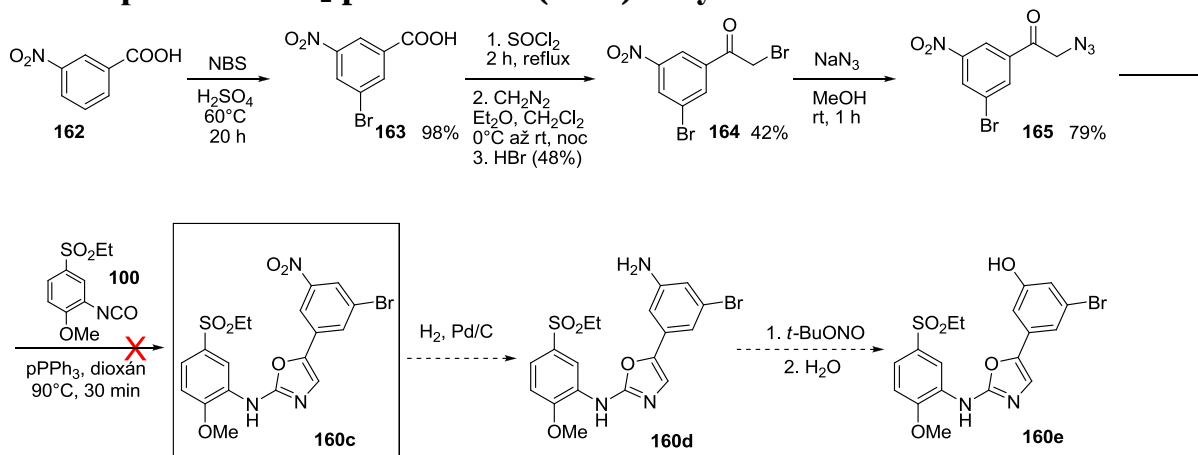


Schéma 39: Pokus o prípravu *m*-nitroderivátu oxazol-2-amínu **160c** azaylidovou metódou.

Vychádzajúc z kyseliny 3-nitrobenzoovej (**162**) sme pripravili 3-nitro azid **165** v troch stupňoch. Prvým stupňom bola bromácia kyseliny **162** s NBS do druhej *meta* polohy aromatického kruhu. Keďže ide o silne deaktivované jadro, museli sme reakciu robiť v koncentrovanej kyseline sírovej za zahrievania na 60 °C počas 20 h. Druhý stupeň sa skladal z troch podreakcií. Najprv sme kyselinu **163** nechali reagovať s tionylchloridom, čím vynikol chlorid kyseliny. Po odstránení zvyšného činidla, sme pridali roztok diazometánu v éteri, čím došlo k inzercii metylénu. Na záver sme do reakčnej zmesi pridali koncentrovanú HBr, čím sa pripravený diazonium chlorid nahradil za bróm a vznikla zlúčenina **164** v 42 % výťažku. Záverečným krokom bola substitúcia brómu za azid, opäť použitím azidu sodného v metanole za vzniku intermediátu **165** v 79 % výťažku.

Nitroderivát oxazol-2-amínu **160c** sme chceli použiť v ďalšej syntéze na prípravu *m*-O- prípadne *m*-N-substituovaných derivátov ligandu **AAZ** (PDB: 1Y6A), ale samotná syntéza oxazolového kruhu s izokyanátom **100** neposkytla žiadne očakávané produkty (t.j. ani oxazol **160c**, ani močovinovový otvorený derivát **161c**). Predpokladáme, že nitro skupina v *meta* polohe znemožňuje priebeh reakcie vzniku oxazolu, t.j. nedochádza k tvorbe oxo-karbodiimidu. Z uvedeného dôvodu sa nedala táto cesta využiť na prípravu požadovaných derivátov oxazolov **160d**, resp. **160e**.

5.2. Overenie 2-hydroxypyrimidínovej metódy s 2,3'-dibrómacetofenónom (166)

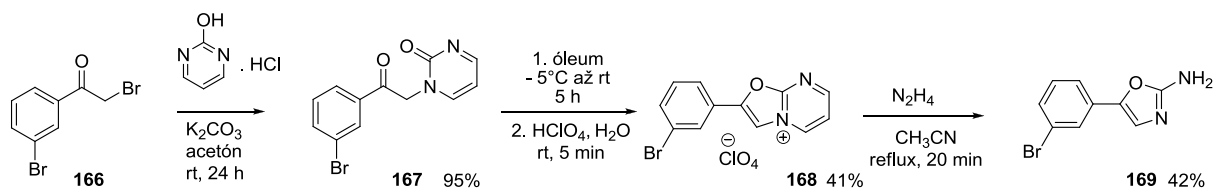


Schéma 40: Príprava 5-(3-brómfenyl)oxazol-2-amínu **169** 2-hydroxypyrimidínovou metódou.

V prvom rade sme chceli túto netradičnú metódu prípravy elektróndeficitných oxazolov vyskúšať na α -bróm deriváte, ktorý máme dostupný a ktorý by bol svojou substitúciou aromatického jadra čo najbližšie k látkam opísaných v literatúre.⁴⁸ Preto sme si vybrali 2,3'-dibrómacetofenón (**166**). V prvom stupni sme vo veľmi dobrom výťažku (95 %) získali pyrimidín-2-ónový derivát **167**. Podľa TLC analýzy zmesi sme zistili, že reakcia prebehla už po 24 h (v lit. až 2 dni). V druhom stupni sme použili 20 % oleum, pričom sme zachovali 5 h reakčný čas uvedený v lit. Následné spracovanie kyselinou chloristou účinne vyzrážalo očakávaný produkt **168** v 41 % výťažku. Posledný stupeň - reakcia soli **168** s hydrazínom prebehla štandardne podľa opisu z literatúry s tým, že po pridaní hydrazínu bolo po dobu ca. 15 min vidieť oranžové zafarbenie pochádzajúceho z intermediátu reakcie. Nakoniec sme získali produkt **169** v 42 % výťažku. Posledné dva stupne sa síce vyznačovali relatívne nízkymi výťažkami 41 – 42 %, ale na potvrdenie metodiky nám postačovali.

5.3. Syntéza *m*-NO₂ prekurzoru (**160c**) 2-hydroxypyrimidínovou metódou

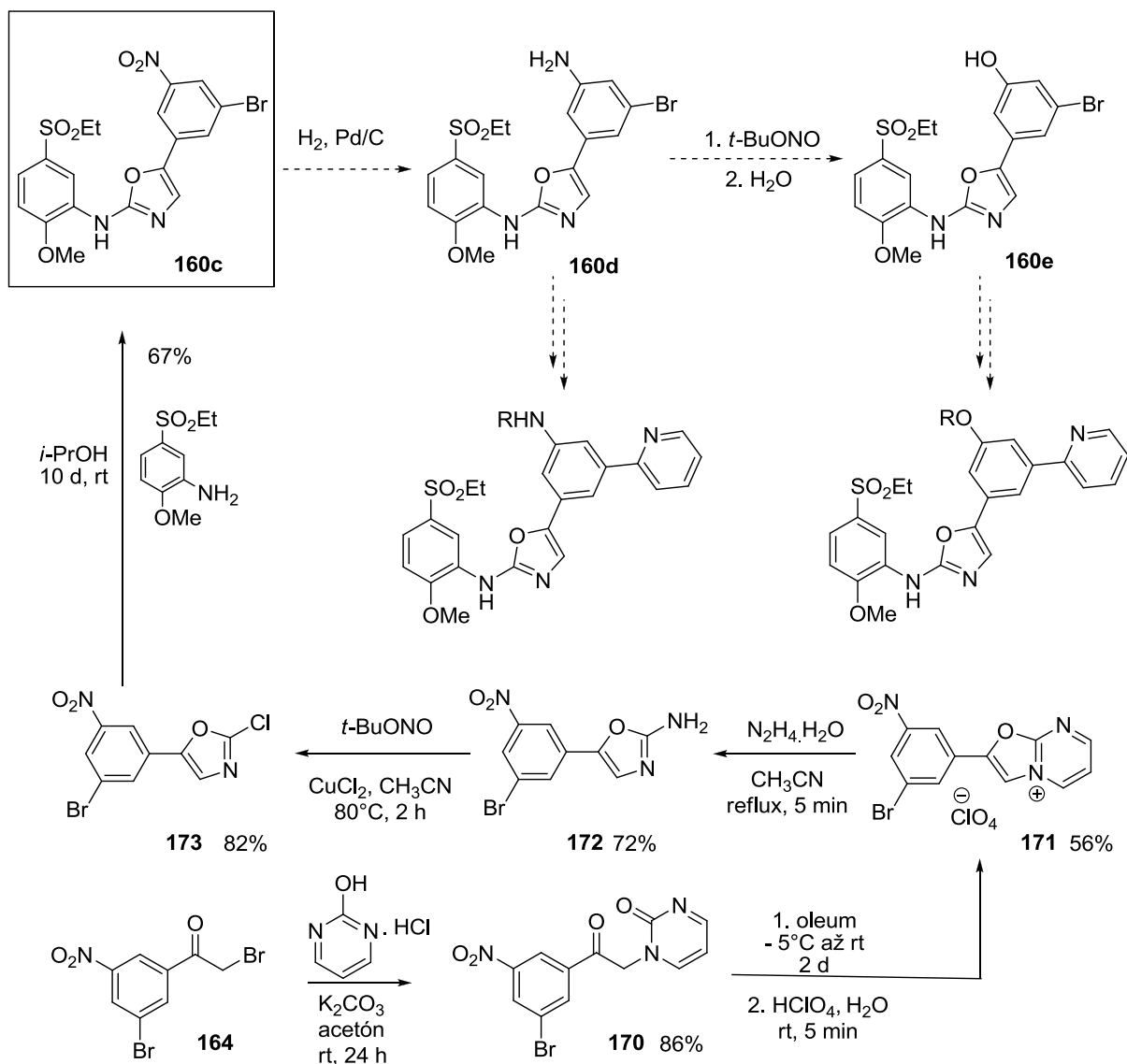


Schéma 41: Príprava 5-(3-bróm-5-nitrofenyl)oxazol-2-amínu **172** 2-hydroxypyrimidínovou metódou a následné použitie 2-chlórooxazolovej metódy na prípravu *m*-NO₂ prekurzoru **160c**.

Keďže sa nám dosiaľ nepodarilo získať žiaden pozitívny výstup z reakcie *m*-nitro azidu **165** s izokyanatom **100**, pokúsili sme sa požadovaný 5-(3-bróm-5-nitrofenyl)-*N*-{5-(etylsulfonyl)-2-metoxi-fenyl}oxazol-2-amín (**160c**) pripraviť pomocou 2-hydroxypyrimidínovej metódy. Vychádzajúc z 2,3'-dibróm-5-nitroacetofenónu (**164**) sme zopakovali syntézu podobne, ako v prípade 2,3'-dibrómacetofenónu (**166**) len s pár úpravami. V druhom stupni V druhom stupni pri reakcii s oleom bolo treba predĺžiť reakčný čas až na 2 dni a v treťom stupni pri reakcii s hydrazínom naopak, reakčný čas skrátiť z 20 na 5 min. Oranžové sfarbenie intermediátu

takmer okamžite zmizlo. Zistili sme, že ak reakcia s hydrazínom prebieha dlhšie (30 min a viac) dochádza aj k nežiadúcej redukcii nitro skupiny v **172** na amino skupinu.

Pripravený oxazol-2-amín **172** sme použili do reakcie s *t*-BuONO a CuCl₂, ktorou sme získali 2-chlóroxazol **173** s 82 % výťažkom. Druhým krokom bola nukleofilná substitúcia chlóru za aminoskupinu anilínového derivátu, pričom sme reakciu nechali prebiehať počas 10 d pri rt. Z predchádzajúcich štúdií¹³⁰ sme zistili, že zahrievanie, ktoré by reakciu urýchlilo, môže viesť k rozkladu 2-chlóroxazolu. Dôležitý *N*,5-diaryloxazol-2-amín **160c** sme získali v dobrom 67 % výťažku, pričom táto látka bude ďalej použitá na prípravu *m*-*O*- a *m*-*N*-substituovaných analógov **AAZ** z komplexu PDB: 1Y6A.

6. Porovnanie metód na prípravu oxazol-2-amínov

V rámci výskumu v našej výskumnej skupine sme spoznali a využili štyri zaujímavé metodiky na prípravu rôznych vzácnych oxazol-2-amínov:

a) azaylidová metóda: reakcia arylizokyanátu, alebo arylizotiokyanátu (**36**) s α -azidoketónom (**37**) (Schéma 7)

b) močovinová metóda:^{96,130} reakcia močoviny (**45**), resp. jej derivátu (**42**) s α -halogénketónom (**43**) (Schéma 10)

c) 2-hydroxypyrimidínová metóda: trojstupňová metóda vychádzajúca z α -halogénketónu (**43**) a 2-hydroxypyrimidínu (Schéma 14)

d) 2-chlóroxazolová metóda: metóda substitúcie primárnej amino skupiny na *N*-R substituovaný derivát (napr. Schéma 41)

6.1. Použitie azaylidovej metódy

Azaylidová metóda je široko používaná pri prípravu *N*-aryloxazol-2-amínov, pričom ako pomocné činidlo sa používa trifenyľfosfín, alebo jeho polymérny analóg pPPh₃. Najčastejšie sa používa buď miešanie pri rt v CH₂Cl₂ alebo krátke (30 min) zahrievanie v dioxáne. Už z literatúry (viď teoretickú časť) je známe, že výťažky môžu byť veľmi rôzne (1 – 95 %). V rámci nášho výskumu sme sa pokúsili určiť, od čoho závisí výťažok reakcie.

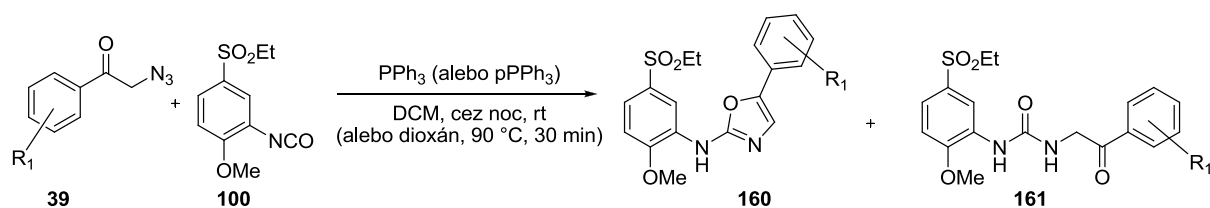


Schéma 42: Všeobecná schéma pre prípravu oxazol-2-amínov **160** azaylidovou metódou s R^1 uvedenými v Tabuľke 13

Tabuľka 13: Experimentálne údaje z príprav rôznych oxazol-2-amínov **160** azaylidovou metódou, kde A: DCM, cez noc, rt; B: dioxán, 90°C, 30 min.

	azid	R^1	r. podm.	160	161
1	39a ⁹⁶	3-BrPh	PPh ₃ , A	28%	0%
2	39a ⁹⁶	3-BrPh	pPPh ₃ , B	35%	0%
3	99	3,5-diBrPh	pPPh ₃ , A	19%	26%
4	156	3-Br,5-MeOPh	pPPh ₃ , A	0%	21%
5	39b ¹³⁰	3-Br,4-MOMOPh	pPPh ₃ , A	31%	29%
6	39b ¹³⁰	3-Br,4-MOMOPh	pPPh ₃ , B	40%	15%
7	159	3-Br,5-BnOPh	pPPh ₃ , A	0%	9%
8	165	3-Br,5-NO ₂ Ph	pPPh ₃ , B	0%	0%
9	112	Me	PPh ₃ , A	25%	0%
10	39c ⁹⁶	CH ₂ COOEt	PPh ₃ , A	25%	0%

Z uskutočnených experimentov v Tab. 13 sme vyvodili nasledovné pozorovania:

1. ak východiskový azid napr. **39** nesie v oboch *meta* polohách substituent, výťažky bývajú nižšie, ako u derivátov s iba jedným substituentom v *meta*, alebo *para* polohe
2. reakčné podmienky B v prípade **39a** a **39b** dali lepšie výťažky než podmienky A
3. elektrónový charakter substituentov na aromatickom jadre východiskového azidu **39** ovplyvňuje výťažky oboch produktov
 - *m*NO₂-derivát **165** neposkytoval žiaden produkt aj keď boli použité reakčné podmienky B
 - deriváty **99**, **39a,b,c** poskytli oxazolový produkt, najlepší 40 % výťažok sa získali pri azidoketóne **39b**, v ktorom sa kombinujú priaznivé efekty polohy substituenta a elektrónodonných vlastností MOMO- skupiny

6.2. Použitie 2-hydroxypyridínovej a 2-chlóroxazolovej metódy

2-Hydroxyryrimidínová metóda sa stala známou len nedávno, ale v našom prípade sa ukázala byť užitočná najmä pri príprave *m*-NO₂ prekursoru (**160c**) (Schéma 41). Ide o trojstupňovú metódu so spoľahlivým priebehom a relatívne ľahkou izoláciou medziproduktov. Je o to významnejšia, že pre nás zastala úlohu alternatívnej metódy voči ťažko výťažkovo predpovedateľnej azaylidovej metóde. 2-Hydroxyryrimidínovou metódou sa dajú pripravovať práve tie oxazol-2-amíny, ktorých príprava azaylidovou metódou je sťažená. Ide predovšetkým o elektrónakceptorné, alebo halogénmi substituované deriváty a dvakrát *meta* substituované substráty. Táto metóda sa ale nedá použiť na elektrónodonorné substituované halogénketóny (**43**) (Schéma 14), keďže by v reakcii s oleom dochádzalo k vedľajším sulfonačným reakciám na aromaticke⁴⁸.

Ďalším dôležitým aspektom tejto metódy je jej kombinovanie s relatívne spoľahlivou 2-chlóroxazolovou metódou (nízka miera rozkladu 2-chlóroxazolov pri reakciách bez zahrievania objavená v našej výskumnej skupine), ktorá dvomi stupňami (diazotačno-chloračným a nukleofilnou substitúciou v polohe 2 oxazolu) poskytuje žiadaný intermediát **160c** (Schéma 43).

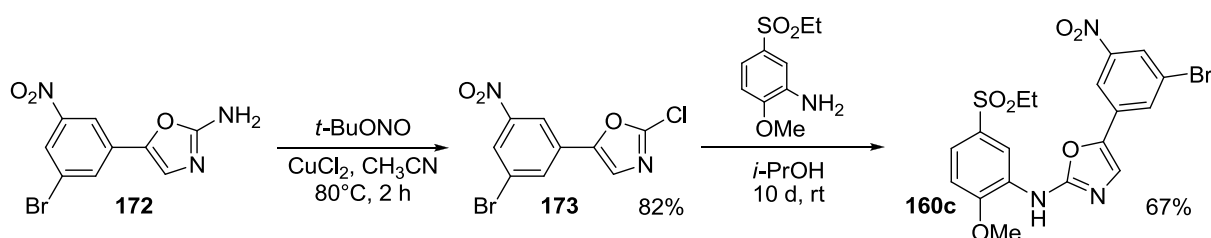


Schéma 43: Použitie 2-chlóroxazolovej metódy na prípravu nitroderivátu **160c**

7. Príprava *N*-Boc-*N*-propargylbenzoimidazolónu (**179**) prekurzoru a pokus o prípravu sunitinibového analógu (**23**)

7.1. Príprava *N*-Boc-*N*-propargylbenzoimidazolónu (**179**)

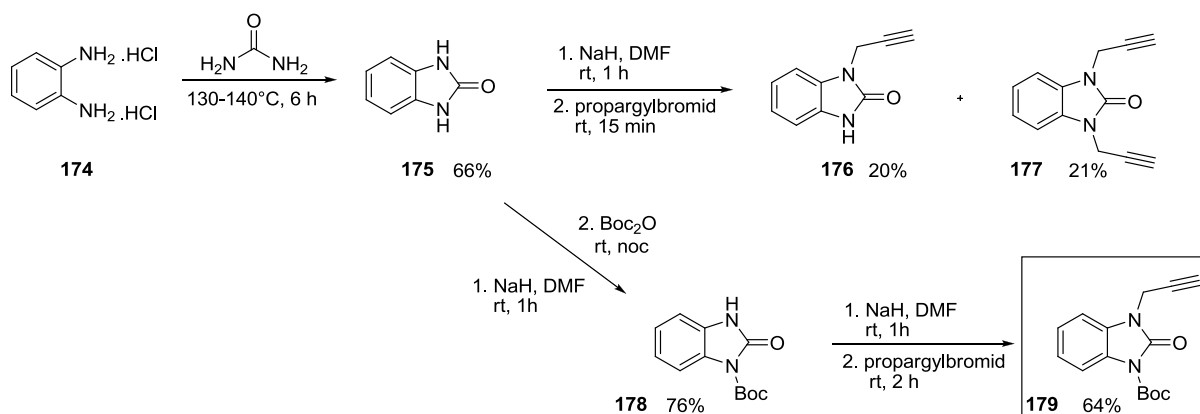


Schéma 43: Príprava alkínových ligandov **176** a **179**.

Na prípravu cieľových "click-chemistry" derivátov bolo dôležité pripraviť ligand s koncovou trojitou väzbou, ktorým mal byť *N*-propargylbenzoimidazolón (**176**). V prvom kroku sme pripravili benzoimidazolón (**175**) z benzén-1,2-diamínu dihydrochloridu (**174**) jeho reakciou s močovinou pri 130 – 140 °C. Vplyvom teploty dôjde v prvej hodine tejto reakcie najprv k roztaveniu zmesi. V tejto fáze reakcie je dôležité aby došlo k premiešaniu oboch zložiek, keďže hmota po reakcii zatuhne. Reakciu treba zahrievať, až kým sa už nepozoruje únik amoniaku. Pri purifikácii produktu sa osvedčilo najprv sa zbaviť farebných nečistôt pomocou varenia s aktívnym uhlím a až potom roztok produktu filtrovať cez stĺpec silikagélu.

Zistili sme, že priame zavádzanie propargylu na dusík imidazolónu **175** nie je selektívny proces. Predpokladáme, že *N*-substitúcia do druhého stupňa prebieha rýchlejšie než do prvého stupňa, keďže už po pár minútach máme v zmesi oba možné produkty. Pokiaľ sa reakcia nechala bežať dlhšie, vznikala prednostne disubstituovaný produkt. Takýto proces nie je efektívny, a preto sme sa rozhodli najprv chrániť jeden dusík Boc chrániacou skupinou a potom selektívne zaviesť propargyl na druhý dusík. Takto sme súčasne zvýšili rozpustnosť substrátu v bežných organických rozpúšťadlách (EA, CHCl_3) a získali sme alkínový ligand **179** v 49 % výtlačku po chránení a propargylácii.

7.2. Príprava 1-azido-4-(dietylaminu)-bután-4-ónu (**183**)

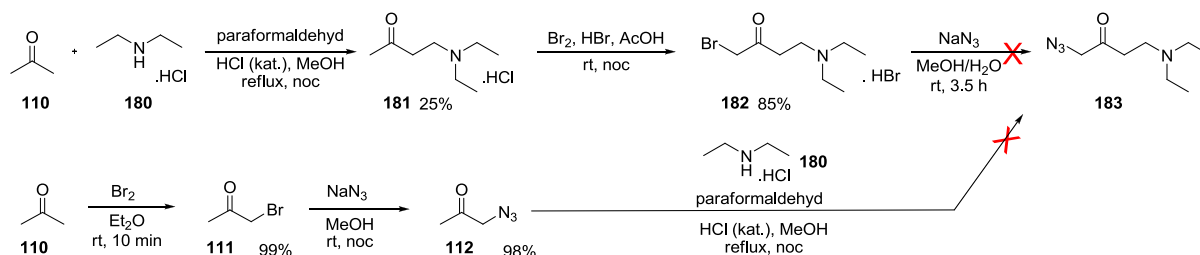


Schéma 44: Pokus o prípravu azidového ligandu **183**

Pre "click-chemistry" experiment sme okrem alkínového ligandu **179** potrebovali aj azidový ligand **183**. Prvým navrhnutým azidovým ligandom bol 1-azido-4-(dietylaminu)-bután-4-ón (**183**). Pri jeho príprave bola využitá Mannichova reakcia acetónu (**110**) s dietylamin hydrochloridom (**180**) a paraformaldehydom. Zahrievaním zmesi v metanole sme získali zmes látok, ktorú sme destilovali za zníženého tlaku. Bolo nutné produkt viackrát destilovať, až kým sme získali dostatočne čistý produkt **181** v 25 % výťažku.

Druhým stupňom bola bromácia ketónu **181** do α polohy voči karbonylovej skupine. Použili sme bróm a roztok kyseliny bromovodíkovej v kyseline octovej. Získali sme tmavočervenú sirupovitú hmotu, ktorú sme sa pokúšali kryštalizovať, ale vypadával produkt **182** opäť len ako olej. Ten bol na základe ^1H NMR dostatočne čistý, aby bol použitý do ďalšej reakcie, ktorou bola substitúcia s azidom sodným. Pri tejto reakcii sme ale zistili, že sa látka rozpadá a dochádza k uvoľneniu dietylaminovej skupiny. Druhý spôsob prípravy 1-azido-4-(dietylaminu)-bután-4-ónu (**183**) bol založený na zmene reakčných stupňov. Vychádzali sme z acetónu (**110**), ktorý sme úspešne a selektívne brómovali na **111** a následne sme substituovali bróm v **111** za azid. Získaný α -azidoacetón (**112**) sme použili do Mannichovej reakcie ako v metóde A. V tomto prípade však produkt **183** nevznikal, keďže v zmesnom spektre sme nepozorovali typické tripletety metylénov ktoré sú charakteristické pre novu $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ väzbu v produkte **183**.

7.3. „Click-chemistry“ syntéza 4-(dietylamino)buta-2-ónového derivátu 23 odvedeného od sunitinibu alternatívnou metódou

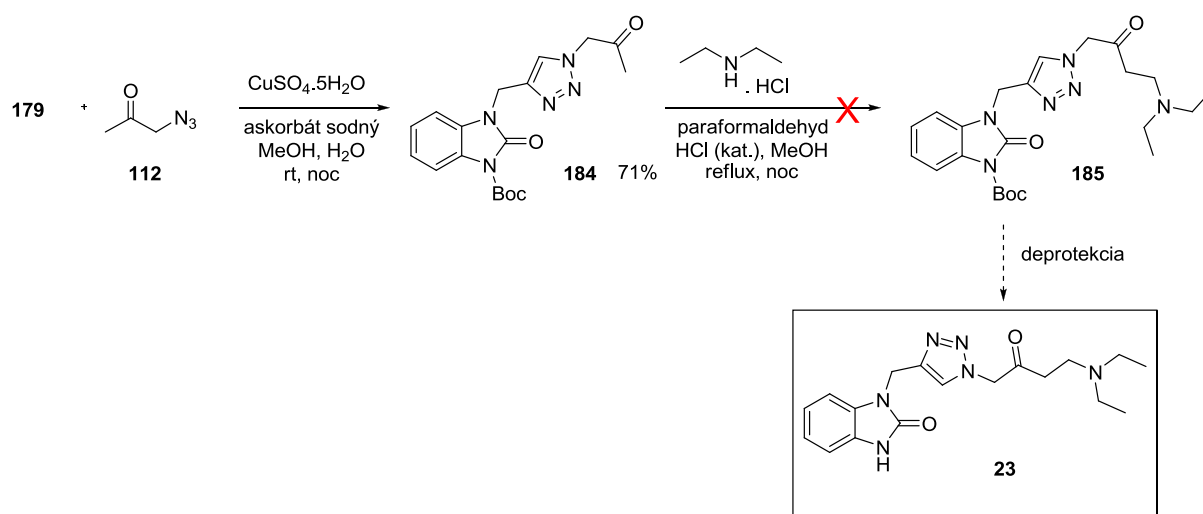


Schéma 45: Pokus o prípravu 4-(dietylamino)buta-2-ónového analógu mimetika sunitinibu 23

Keďže sme mali pripravený azidoacetón **112** a propargylovaný benzoimidazolón **179**, chceli sme tieto látky použiť do "Click-chemistry" a následne na takto pripravený triazolový derivát napojiť dietylamínovú skupinu pomocou Mannichovej reakcie. V "Click" reakcii sme vyrobili med'ný katalyzátor *in situ* zo síranu med'natého a askorbátu sodného. Získali sme triazolový produkt **184** v 71 % výťažku. Mannichova reakcia na **184** však neprebehla - z reakcie sme izolovali len znečistenú východiskovú látku, resp. jej analóg bez Boc chrániacej skupiny. Týmto sme vyčerpali stratégie na prípravu 4-dietylamino-buta-2-ónového derivátu **23** odvedeného od ličiva Sutent. V ďalšej počítačovej predikcii sme objavili deriváty, ktoré mali ešte lepšie predikčné hodnoty väzobných energií, preto sme sa rozhodli venovať príprave týchto derivátov.

8. Príprava glycinového analógu sinitinibu (24)

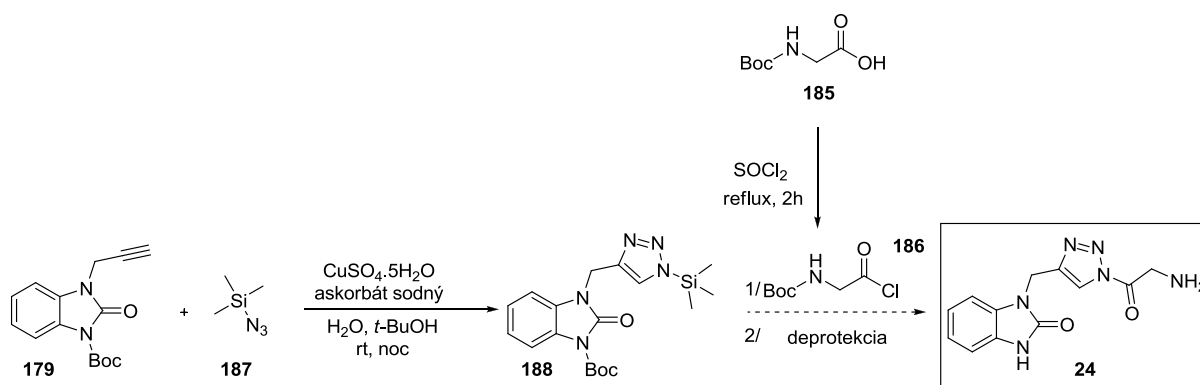


Schéma 46. Pokus o prípravu glycinového analógu mimetika sunitinibu **24**.

Ďalšou metódou sme chceli pripraviť TMS chránený 1,2,3-triazol reakciou dostupného propargybenzylimidazolónu **179** s TMS-N₃ (**187**), pričom sme pre "click-chemistry" reakciu opäť použili síran meďnatý a askorbát sodný. Zistili sme, že pri reakcii dochádza aj k odstráneniu chrániacej skupiny. Podarilo sa nám v malom množstve 23 % izolovať 1,2,3-triazol, ktorý si na benzoimidazolóne uchoval Boc chrániacu skupinu **188a**. Zvyšné látky, ktoré o Boc chránenie prišli, boli silne polárne a nepodarilo sa nám ich oddeliť od meďných a meďnatých solí. V ďalšej reakcii sme chceli na dusík triazolu pripojiť glycín pomocou *N*-glycín chloridu **186**. Táto reakcia však neprebehla.

Záver

Z plánovaných inhibítorov odvodených od 1Y6A a 1Y6B sa nám podarilo pripraviť trojicu bispyridylových derivátov **22SYM**, **23ASYM** a **33SYM**, ktoré boli testované na ich enzymatickú aktivitu. Z tejto trojice bol najúčinnším inhibítorm **22SYM** ($IC_{50} = 15.3 \text{ nM}$), ktorý bol použitý aj v sérii *in vitro* a *in vivo* testov. Bioogické testy ukázali, že **22SYM** inhibítor je schopný: a) selektívne inhibovať delenie endoteliálnych buniek, pričom inhibícia tumorových buniek bola ovplyvnená oveľa menšou mierou; b) vyvolať apoptózu endoteliálnych buniek; c) inhibovať tvorbu kapilár a cievnych sietí; d) brániť migrácii endoteliálnych buniek; e) inhibovať tvorbu cievneho systému v Zebrafish embryách. Vo všetkých týchto *in vitro* a *in vivo* testoch sa prejavili inhibičné, resp. požadované vlastnosti v μM a submikromolárnych koncentráciách, pričom inhibítor **22SYM** pôsobí selektívne a nebol toxický.

Pri porovnaní IC_{50} hodnôt pôvodného **AAZ** inhibítora z PDB: 1Y6A a nami pripravenej zlúčeniny **22SYM** (22 nM a 15.3 nM, vďaka) a oboch vypočítaných väzobných energií (-52.9 kcal/mol a -60.06 kcal/mol), sme pozorovali určitú nezrovnalosť. Predpokladali sme pri **22SYM** lepšiu inhibičnú aktivitu ako má pôvodný inhibítor **AAZ**. Na základe analýzy 34 VEGFR2 TK variantov sme ukázali, že za tento rozdiel je pravdepodobne zodpovedná flexibilita aktivačnej slučky, ktorá často chýba v Röntgenno-štruktúrnych analýzach komplexov VEGFR2 TK. Typ I inhibítorov sa môže viazať v aktívnej (PDB-in), ako aj v inaktívnej (PDB-out) kináze. Dokázali sme, že inhibítory Typu I v inaktívnych (PDB-out) kinázach nemajú dostatočne stabilizovanú aktivačnú slučku a táto môže zaujímať od otvorenej až po uzavretú konformáciu. V prípade uzavretej konformácie Phe z DFG fragmentu výrazne kolидуje s „U-like“ pyridylovým substituentom. Aktivačná slučka pri svojom dynamickom pohybe naráža na toto pyridínové jadro inhibítora **22SYM**, čo negatívne kompenzuje väčší očakávaný počet interakcií medzi **22SYM** inhibítorom a VEGFR2 proteínom v porovnaní s ligandom **AAZ**.

Naším výskumom sme vyvinuli aktívny nM inhibítor **22SYM** ale len s o niečo lepšou zistenou IC_{50} inhibičnou hodnotou, ako bol inšpirujúci ligand **AAZ** z komplexu PDB: 1Y6A. Pri pokuse o zistenie príčiny jeho nižšej, ako očakávanej aktivity, sme túto skutočnosť vysvetlili zaujímavým správaním sa A-slučky VEGFR2 kináz. Zistili sme, že poloha aktivačnej slučky kináz nie stabilná a nezávisí od konformácie DFG-out fragmentu v prípade inhibítorov Typu I ku ktorým patrí aj náš inhibítor **22SYM**.

V ďalšej časti práce sme rozobrali naše snahy o prípravu ligandov pre „Click-chemistry“ ligandy odvodené od ligandu z komplexu 1Y6A. Dokopy sme navrhli osem rôznych syntéz, ale vo všetkých sme narazili na neschodný syntetický stupeň: nereaktivitu substrátov, rozklad látok, alebo vznik zložitých, ťažko deliteľných zmesí. V rámci týchto syntéz sme pripravili niekoľko nových látok, vrátane dvoch synteticky cenných oxazol-2-amínových derivátov (**113**, **128**), ktoré boli spektrálne charakterizované.

V ďalšej časti práce sme sa venovali príprave derivátov oxazol-2-amínu odvodených od **AAZ** ligandu z komplexu 1Y6A so zavedeným *meta* O-substituentom. Zistili sme, že použité *m*-MOMO substituovaného acetofenónu je problematické, keďže aj α -brómketón **151** a aj α -azido derivát **150** sa rýchle rozkladajú. Použitie iných chrániacich skupín na kyslíku (MeO a BnO) nám umožnilo pripraviť požadované azidoketóny, ale v oboch prípadoch sa nám po reakcii ktorá mala zabezpečiť vznik oxazolového kruhu nepodarilo identifikovať požadovaný oxazol-2-amín **160a** a **160b**. Získali sme v malom množstve len vedľajšie močovínové deriváty **161a** a **161b**. Ďalšou možnosťou bolo použitie kyseliny *m*-nitrobenzoovej **162**, keďže nitroskupina sa cez diazóniové soli dá previesť na hydroxy, či prípadne inú funkčnú skupinu. Podarilo sa nám pripraviť požadovaný azidoketón **165**, ale opäť sme v nasledujúcej reakcii nezískali oxazol-2-amín a dokonca v tomto prípade ani močovínový derivát. Skutočnosť, že reakcia neprebíha so substrátom so silne elektrón akceptornou skupinou v *meta* polohe, je v súlade s literatúrou.²

Objavili sme v literatúre novú metódu na prípravu elektrónakceptorných oxazol-2-amínov cez 2-hydroxypyrimidín. Pomocou tejto metódy, ktorú sme oskúšali na 2,3'-dibrómacetofenóne (**166**), sme pripravili 5-(3-bróm-5-nitrofenyl)oxazol-2-amín (**172**), ktorý sme použili pre prípravu 2-chlóroxazolu **173** a pripravili sme z neho *m*-nitro analóg - prekursor inhibítora **160c**. Z časových dôvodov táto syntéza nebola ukončená, ale odskúšanie novej a spoľahlivej metódy na prípravu oxazol-2-amínov otvára perspektívny smer pre vývoj zamýšľaných inhibítorov VEGFR2 kinázy.

V poslednej časti práce sme sa venovali príprave "click-chemistry" analógov sunitinibu (aktívnej zložky liečiva Sutent). Úspešne sme pripravili alkínový ligand od *N*-propargylbenzoimidazolónu (**179**). Pri jeho príprave sme narazili na problém so selektivitou v propargylácii na dusíku, keďže prednostne vznikla bispropargylovaný derivát **176**. Na zabránenie alkylácie do druhého stupňa sme jeden z dusíkov museli chrániť Boc skupinou

a následná reakcia s propargylbromidom už prebiehala selektívne. Súčasne sme takto získali intermediát **179**, ktorý bol rozpustnejší v bežných organických rozpúšťadlách, čo zjednodušilo prácu s ním.

Pri príprave azidových ligandov sme však neboli tak úspešní. V prípade 4-(dietylamino)buta-2-ónového analógu **23** sme navrhli tri syntézy, pričom ani jednu sme sa nedopracovali k požadovanému derivátu **23**. Avšak pomocou [3+2] cykloadície sa nám podarilo pripraviť 1-(2-oxopropyl)-1,2,3-triazol **184**. V prípade glycínového analógu **24** sme sa tiež dostali k 1,2,3-triazolovému derivátu **188a**, ale zároveň došlo k odstráneniu TMS skupiny z dusíka triazolu. Samotné zavedenie glycínového zvyšku nebolo úspešné. Zistili sme, že v prípade predčasného odbúrania Boc chránenia z imidazolónového dusíku sa molekula stáva veľmi zle separovateľnou od meďných, meďnatých a iných anorganických solí, a preto sme pozorovali pomerne veľké straty pri separácii.

Zoznam použitej literatúry

Teoretická časť

Angiogenéza

- [1] Ruch, C.; Skiniotis, G.; Steinmetz, M.O.; Walz, T. ; Ballmer-Hofer, K. *Nat. Struct. Molec. Biol.* **2007**, *14*, 249-250.
- [2] Harris, P.A.; Cheung, M.; Hunter III., R.N.; Veal, J.M.; Nolte, R.T.; Wang, L.; Liu, W.; Crosby, R.M.; Johnson, J.H.; Epperly; A.H.; Kuma, R.; Luttrell, D.K.; Stafford, J.A. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 1610-1619.
- [3] <http://www.nobelplus.sk/web/humanne-lieky/detail/nexavar-17503.html>.
- [4] <http://www.nobelplus.sk/web/humanne-lieky/detail/sutent-25556.html>.

"Click-chemistry"

- [5] Kolb, H.C.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.
- [6] Yap, A.H.; Weinreb, S.M. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 3035-3038.
- [7] Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V.V.; Noodleman, L.; Sharpless, K.B.; Fokin, V.V. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 210-216.
- [8] Rostovtsev, V.V.; Green, L.G.; Fokin, V.V.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.
- [9] T.R. Chan; R. Hilgraf; K.B. Sharpless; V.V. Fokin, *Org. Lett.*, **2004**, *6*, 2853-2855.
- [10] H.A. Orgueira; D. Fokas; Y. Isome; P. C.-M. Chan; C.M. Baldino; *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2911-2914.
- [11] A.K. Feldman; B. Colasson; V.V. Fokin, *Org. Lett.*, **2004**, *6*, 3897-3899.
- [12] Zhang, L.; Chen, X.; Xue, P.; Sun, H.H.Y.; Williams, I.D.; Sharpless, K.B.; Fokin, V.V.; Jia, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15998-15999.
- [13] Whiting, M.; Tripp, J.C.; Lin, Y-C.; Lindstrom, W.; Olson, A.J.; Elder, J.H.; Sharpless, K.B.; Fokin, V.V. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 7697-7710.
- [14] A.R. Katritzky; S.K. Singh, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 9077-9079.
- [15] P. Appukkuttan; W. Dehaen; V.V. Fokin; E. Van der Eycken, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4223-4225.
- [16] Ijsselstijn, M.; Cintrat, J.-C. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 3837-3842.
- [17] Weterings, J.J.; Khan, S.; van der Heden, J.; Drijfhout, J.W.; Melief, C.J.M.; Overkleeft, H.S.; van der Burg, S.H.; Ossendorp, F.; van der Marel, G.A.; Filippov, D.V., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 3258-3261.
- [18] Guerin, D.J.; Miller, S.J.; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2134-2136.

- [19] Deiters, A.; Cropp, T.A.; Mukherji, M.; Chin, J.W.; Anderson, J.C.; Schultz, P.G. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11782-11783.
- [20] Tornøe, C.W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064.
- [21] Löber, S.; Gmeiner, P., *Tetrahedron* **2004**, *60*, 8699-8702.
- [22] Poulin-Kerstien, A.T.; Dervan, P.B. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15811-15821.
- [23] Fazio, F.; Bryan, M.C.; Blixt, O.; Paulson, J.C.; Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14397-14402.
- [24] Chittaboina, S.; Xie, F.; Wang, Q. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2331-2336.
- [25] Hasegawa T.; Umeda M.; Numata M.; Li, C.; Bae, A.-H.; Fujisawa, T.; Haraguchi, S.; Sakurai, K.; Shinkai, S. *Carbohydrate Research* **2006**, *341*, 35-40.
- [26] Suarez, P.L.; Gándara, Z.; Gómez, G.; Fall, Y. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 4619-4621.
- [27] Lee, L.V.; Mitchell, M.L.; Huang, S.-J.; Fokin, V.V.; Sharpless, K.B.; Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9588 – 9589.
- [28] Kolb, H.C.; Sharpless, K.B. *Drug Discovery Today* **2003**, *8*, 1128 – 1137.
- [29] Lewis, W.G.; Green, L.G.; Grynszpan, F.; Radić, Z.; Carlier, P.R.; Taylor, P.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1053-1057.
- [30] Manetsch, R.; Krasiński, A.; Radić, Z.; Raushel, J.; Taylor, P.; Sharpless, K.B.; Kolb, H.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12809-12818.
- [31] Bourne, Y.; Radić, Z.; Kolb, H.C.; Sharpless, H.B.; Taylor, P.; Marchot, P. *Chem. Biol. Inter.* **2005**, *157-158*, 159-165.
- [32] Radić, Z.; Manetsch, R.; Krasiński, A.; Raushel, J.; Yamauchi, J.; Garcia, C.; Kolb, H.C.; Sharpless, K.B.; Taylor, P. *Chem. Biol. Inter.* **2005**, *157-158*, 133-141.

Metódy prípravy oxazol-2-amínov a 2-H-oxazolov

- [33] Perner, R.J.; Koenig, J.R.; Didomenico, S.; Gomtszan, A.; Schmidt, R.G.; Lee, C.-H.; Hsu, M.C.; Heath, A.; Joshi, S.; Turner, T.M.; Reillz, R.M.; Kzm, P.R.; Kort, M.E. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 13, 4821-4829.
- [34] Bursavich, M.G.; Prker, D.P.; Willardsen, J.A.; Gao, Z.-H.; Davis, T.; Ostanin, K.; Robinson, R.; Peterson, A.; Cimborá, D.M.; Zhu, J.F.; Richards, B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 1677-1679.
- [35] Dhar, T.G.M.; Shen, Z.; Guo, J.; Liu, C.; Watterson, S.H.; Gu, H.H.; Pitts, W.J.; Fleener, C.A.; Rouleau, K.A.; Sherbina, N.Z.; McIntyre, K.W. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 11, 2127-2130.
- [36] Dhar, T.G.M.; Quo, J.; Shen, Y.; Pitts, W.J.; Gu, H.H.; Chen, B.-C.; Zhao, R.; Bednarz, M.S.; Iwanowicz, E.J. *Organic Letters* **2002**, *4*, 12, 2091-2094.
- [37] Takeuchi, H.; Yanagida, S.; Ozaki, T.; Hagiwara, S.; Eguchi, S. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 431-434.
- [38] Qui, X.-L.; Li, G.; Wu, G.; Zhu, J.; Zhou, L.; Chen, P.-L.; Lee, W.-H.; Chamberlin, A. R. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 1757 - 1767.
- [39] Koch, P.; Laufer, S. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 4798-4802.
- [40] Pathak, V.N.; Goyal, M.K.; Jain, M.; Joshi, K.C. *J. Indian. Chem. Soc.* **1993**, *70*, 539-542.

- [41] Kelly, T.R.; Lang, F. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 4623-4633.
- [42] Butlin, R. J.; Davies, R.; McCoull, W. PCT Int. Appl. 141 502, 2007, *Chem. Abstr.* **2007**, *148*, 055033.
- [43] Lange, U. E. W.; Backfisch, G.; Delzer, J.; Geneste, H.; Graef, C.; Hornberger, W.; Kling, A.; Lauterbach, A.; Subkowski, T.; Zechel, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 1379 - 1382.
- [44] Vieira, E.; Huwyôer, J.; Jolidon, S.; Knoflach, F.; Mutel, V.; Wichmann, J. *Bioorg, Med. Chem. Lett.* **2009**, *6*, 1666-1669.
- [45] Collins, J. L.; Blanchard, S. G.; Boswell, G. E.; Charifson, P. S.; Cobb, J. E.; Henke, B. R.; Hull-Ryde, E. A.; Kazmierski, W. M.; Lake, D. H.; Leesnitzer, L. M.; Lehmann, J.; Lenhard, J. M.; Orband-Miller, L. A.; Gray-Nunez, Y.; Parks, D. J.; Plunkett, K. D.; Tong, W.-Q. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 5037 - 5054.
- [46] Reppe *Just. Lieb. Ann. Chem.* **1955**, 596, 117.
- [47] Anderson, G. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1942**, *64*, 2902.
- [48] Alifanov, V.L.; Babaev, E.V. *Synthesis* **2007**, *2*, 263-270.
- [49] Ohta, H.; Ishizaka, T.; Tatsuzuki, M.; Yoshinaga, M.; Iida, I.; Yamaguchi, T.; Tomishima, Y.; Futaki, N.; Toda, Y.; Saito, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 1111-1124.
- [50] Viera, E.; Huwyler, J.; Jolidon, S.; Knoflach, F.; Mutel, V.; Wichmann, J. *Bioorg. Mech. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 1666-1669.
- [51] Fukushima, K.; Ibata, T. *Heterocycles* **1995**, *40*, 149-154.
- [52] Lapierre, J.-M.; Namdev, N. D.; Ashwell, M. A.; France, D. S.; Wu, H.; Hutchins, P. M.; Tandon, M.; Liu, Y.; Link, J. S. Ali, S. M.; Brassard, C. J.; Nicewonger, R. B.; Filikov, A.; Carazza, R. J. Int. Patent 123892, A2, 2007.
- [53] Muto, S.; Itai, A. Eur. Patent 1512396, A1, 2005.
- [54] Dumas, J.; Khire, U.; Lowinger, T. B.; Paulsen, H.; Riedl, B.; Scott, W. J.; Smith, R. A.; Wood, J. E.; Hatoum-Mokdad, H.; Johnson, J.; Lee, W.; Redman, A.; Sibley, R.; Renick, J. Eur. Patent 1047418, B1, 2005.
- [55] Borman, R. A.; Coleman, R. A.; Clark, K. L.; Oxford, A. W.; Hynd, G.; Archer, J. A.; Aley, A.; Harris, N. V. Int. Patent 12263, A1, 2005.
- [56] Powner, M.W.; Szostak, J.W.; Sutherland, J.D. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 46, 16677-16688.
- [57] Neville, M. C.; Verge, J. P. US Patent 4122183, A1, 1978.
- [58] Ulbricht, H.; Kramarczyk, K.; Tonew, M.; Hoffmann, H.; Wilke, I. *Pharmazie* **1992**, *47*, 301-302.
- [59] Anastasi, C.; Buchet, F.F.; Crowe, M.A.; Helliwell, M.; Raftery, J.; Sutherland, J.D. *Chemistry -- A. Eur. J.* **2008**, *14*, 2375-2388.
- [60] Katsura, Y.; Nishimo, S.; Inoue, Y.; Sakane, K.; Matsumoto, Y.; Morinaga, C.; Ishikawa, H.; Takasugi, H. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1, 143-150.
- [61] Fukushima, K.; Ibata, T. *Heterocycles* **1995**, *40*, 1, 149-154.
- [62] Fukushima, K.; Lu, Y.-Q.; Ibata, T. *Bull. Chem. Soc. Jap.* **1996**, *69*, 11, 3289-3296.
- [63] Ducept, P.C.; Marsden, S.P. *Synlett* **2000**, *5*, 692-694.
- [64] Morschny, T.; Hartmann, H. *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 11, 1981-1993.
- [65] Pascual, A. *Helv. Chim. Acta* **1989**, *72*, 556-569.
- [66] Saalfrank, R.W.; Fischer, M.; Wirth, U.; Zimmermann, H. *Angew. Chem.* **1987**, *99*, 11, 1218-1219.

- [67] Saalfrank, R.W.; Ackermann, E.; Fisher, M.; Wirth, U.; Zimmermann, H. *Chem. Ber.* **1990**, *123*, 1, 115-120.
- [68] Saalfrank, R.W.; Lurz, C.-J.; Hassa, J.; Danion, D.; Toupet, L. *Chem. Ber.* **1991**, *124*, 3, 595-608.
- [69] Overman, L.E.; Roos, J.P. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 4, 811-813.
- [70] Atkins, J. M.; Vedejs, E. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 15, 3351 – 3354.
- [71] Kameda, M.; Kobayashi, K.; Ito, H.; Miyazoe, H.; Tsujino, T.; Nakama, C.; Kawamoto, H.; Ando, M.; Sato, N.; Ito, S.; Suzuki, T.; Kanno, T.; Tokita, S.; Tanaka, T.; Tahara, Y.; Tani, T.; Tanaka, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 15, 4325 – 4329.
- [72] Sherry, B. D.; Chen, Y.-C. J.; Mangion, I. K.; Yin, J. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 7, 730 - 732
- [73] Egan, B. A.; Marquez, R.; Paradowski, M.; Thomas, L. H. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 50, 9700 – 9707.
- [74] Hamada, Y.; Makino, K. Int. Patent 75651, A1, 2006,.
- [75] Suzuki, M.; Iwasaki, T.; Miyoshi, M.; Okumura, K.; Matsumoto, K. *J. Org. Chem.* **1973**, *36*, 3571-3575.
- [76] Chen, G.; Cushing, T. D.; Fisher, B.; He, X.; Li, K.; Li, Z.; McGee, L. R.; Pattaropong, V.; Faulder, P.; Seganish, J. L.; Shin, Y.; Wang, Z.; Liu, W. Int. Patent 158011, A1, 2009.
- [77] Rusch, M.; Hedberg, C.; Zahov, S.; Lehr, M.; Vetter, I. R. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 1100-1112.
- [78] Kozikowski, A.P.; Ames, A. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 21, 4821-4834.
- [79] Kozikowski, A.P.; Ames, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 2, 860-862.
- [80] Chandhok, M.; Hudyma, R. US Patent 082900, A1, 2007.
- [81] Ogihara, A.; Sakai, H.; Matsui, N.; Miyazaki, H. Eur. Patent 1371649, A1, 2003.
- [82] Baxendale, I.R. Buckle, C.D., Ley, S.V. Tamborini, L. *Synthesis* **2009**, *9*, 1485-1493.
- [83] Baumann, M.; Baxendale, I.R.; Ley, S.V.; Smith, C.D.; Trammer, G.K. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 23, 5231-5234.
- [84] Nakamura, T.; Sato, M.; Kahinuma, H.; Mizata, N.; Taniguchi, K.; Bando, K.; Koda, A.; Kameo, K. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 25, 5416-5427.
- [85] Howard, J.; Fordice, M. W.; Greenwald, R. B.; Hannah, J.; Jacobs, A.; Ruyle, W. V.; Walford, G.L.; Shen, T. Y. *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 1100-1104.
- [86] Myllymäki, M.; Castillo-Melendez, J.; Koskinen, A.; Minkkilä, A.; Saario, S.; Nevalainen, T.; Järvinen, T.; Poso, A.; Salo-Ahen, O.; Patent 129129, A1, 2008.
- [87] Lafontaine, J.A.; Day, R.F.; Dibrino, J.; Hadcock, J.R.; Hargrove, D.M.; Linhares, M.; Martin, K.A.; Tristan S.; N.; Nancy A., T.; DaSilva-Jardine, P. *Bioorg. Med. Che. Lett.* **2007**, *17*, 18, 5245-5250.
- [88] Whitney, S. E.; Winters, M.; Rickborn, B. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3, 929-935.

Praktická část

- [89] Dauben, W.G.; Evans, W.L.; Meltzer, R.I. *J.Am.Chem.Soc.* **1941**, *63*, 1883-1885.
- [90] You, Y.; An, C.G.; Lee, D.S.; Kim, J.J.; Park, Y.Y. *J. Mat. Chem.* **2006**, *16*, 48, 4706 – 4713.
- [91] Hangeland, J. J.; Quan, M. L.; Smallheer, J. M.; Bisacchi, G. S.; Corte, J. R.; Friends, T. J.; Sun, Z.; Rossi, K. A.; Cavallaro, C. L.; Int. Patent 123050, A2, 2005.

- [92] Peddibhotla, S.; Khan, P.; Smith, L. H.; Mangravita-Novo, A.; Vicchiarelli, M.; Roth, G. P.; Shi, R.; Su, Y.; Reed, J.C.; Okolotowicz, K.J.; Cashman, J. R. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 12, 4793 – 4797.
- [93] Laufer, S. A.; Hauser, D. R. J.; Liedtke, A.J. *Synthesis* **2008**, 2, 253 – 266.
- [94] Briner, K.; Deva Bartolome, M.; Cases-Thomas, M. J.; Galka, C., Stanley; Marcos Llorente, A.; Martinez-Grau, M., Angeles; Mazanetz, M. P.; O'Toole, J. C.; Rathmell, R. E.; Reinhard, M. R.; Sapmaz, S.; Williams, A. C. Int. Patent 028083, A1 a A2, 2007.
- [95] Chintakunta, V. K.; Akella, V.; Vedula, M. S.; Mamnoor, P. K.; Mishra, P.; Casturi, S. R.; Vangoori, A.; Rajagopalan, R. *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, *37*, 4, 339 – 348.
- [96] Lintnerová, L. Syntéza derivátov oxazolu využitelných pre VEGFR-2 „Click-chemistry“ knižnicu, diplomová práca, PriF UK, Bratislava, 2008.
- [97] Vegh, D.; Kovac, J.; Dandarova, M.; Bris, V.; Seman, M. *Coll. Czech. Chem. Comm.* **1983**, *48*, 7, 1891 – 1897. $T_v = 138 - 140^{\circ}\text{C}$ (760 Torr)
- [98] Kuang, R.; Shue, H.-J.; Blythin, D. J.; Shih, N.-Y.; Gu, D.; Chen, X.; Schwerdt, J.; Lin, L.; Ting, P. C.; Zhu, X.; Aslanian, R.; Piwinski, J. J., Xiao, L.; Prelusky, D.; Wu, P.; Zhang, J.; Zhang X.; Celly, C. S.; Minnicozzi, M.; Billah, M.; Wang, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 18, 5150 – 5154.
- [99] Ray, N. C.; Bull, R. J.; Finch, H.; Van den Heuvel, M.; Bravo, J. A. Int. Patent 17669, A1, 2007.
- [100] Cornwall, P.; Dell, C. P.; Knight, D. W. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1991**, 10, 2417-28.
- [101] Gould, N. P.; Lee, T.-J. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 22, 4528 – 4530.
- [102] Ebel, K.; Eiermann, M.; Papkalla, T. Eur. Patent 0725055, A1, 1996.
- [103] Vitali, T.; Impicciatore, M.; Plazzi, P. V.; Bordi, F.; Morini, G. *Farmaco*, **1986**, *41*, 6, 483 – 498.
- [104] Yasohara, Y.; Kizaki, N.; Hasegawa, J.; Wada, M.; Kataoka, M.; Shimizu, S. *Tetrahedron Assym.* **2001**, *12*, 1713-1718.
- [105] Choi, H. Y.; Chi, D. Y. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4, 411-414.
- [106] Thomas, A. A.; Huerou, Y. L.; Meese, J. D.; Gunawardana, I.; Kaplan, T.; Romoff, T. T.; Gonzales, S. S.; Condroski, K.; Boyd, S. A.; Ballard, J.; Bernat, B.; DeWolf, W.; Han, M.; Lee, P.; Lemieux, C.; Pedersen, R.; Pheneger, J.; Poch, G.; Smith, D.; Sullivan, F.; Weiler, S.; Wright, S. K.; Lin, J.; Brandhubera, B.; Vigers, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 6, 2206 – 2210.
- [107] Lee, D. A.; Smith, K. M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 8, 1215 – 1228.
- [108] Crombie, L.; Wyvill, R.D. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1985**, 1971-1982.
- [109] Green, D. L.C.; Kiddle, J. J.; Thompson C. M. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 10, 2865-2874.
- [110] Maier, G.; Sayrac, T. *Chem. Ber.* **1968**, *10*, 1354-1370.
- [111] Fyfe, M. C. T.; Bertram, L. S.; Thomas, G. H.; Williams, G. M. Int. Patent. 67531, A1, 2006.
- [112] Constantino, M. G.; De Souza, A. X., Da Silva, G. V. *J. Molecules* **2002**, *7*, 6, 475-486.
- [113] Bi, L.; Zhang, Y.; Zhao, M.; Wang, C.; Chan, P.; Tok, J. B.-H.; Peng, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 19, 5640 - 5646.
- [114] Mutel, V.; Windenaum, J. US Patent 19424, A1, 2002.
- [115] Dubowchik, G.M.; Michne, J. A.; Zuev, D.; Schwartz, W.; Scola, P. M.; James, C. A.; Ruediger, E. H.; Pin, S. S.; Burris, K. D.; Balanda, L. A.; Gao, Q.; Wu, D.; Fung, L.; Fiedler, T.; Browman, K. E.; Taber, M. T.; Zhang, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 22, 3997 – 4000.
- [116] Shimada, S.; Tojo, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1983**, *31*, 12, 4247 – 4258.

- [117] Kok, G. B.; von Itzstein, M. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1* **1998**, 5, 905-907.
- [118] Qian, M.; Negishi, E. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 16, 2927 – 2930.
- [119] Bull, J. A.; Balskus, E. P.; Horan, R. A. J.; Langner, M.; Ley, S. V. *Chem.--A Eur. J.* **2007**, 13, 19, 5515 - 5538.
- [120] Moyroud, J.; Guesnet, J.-L.; Bennetau, B.; Mortier, J. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 6, 881 – 884.
- [121] Rosenmund, K.W.; Pfroepffer, K. *Chem. Ber.* **1957**, 90, 1922-1926.
- [122] Wang, Q.; Huang, Q.; Chen, B.; Lu, J.; Wang, H.; She, X.; Pan, X. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 22, 3651 – 3653.
- [123] Campos, F.; Bosch, M. P.; Guerrero, A. *Tetrahedron: Asym.* **2000**, 11, 13, 2705 – 2718.
- [124] Suzuki, S.; Kotake, M.; Miyamoto, M.; Kawahara, T.; Kajiwar, A.; Hishinuma, I.; Okano, K.; Miyazawa, S.; Clark, R.; Ozaki, F.; Sato, N.; Shinoda, M.; Kamada, A.; Tsukada, I.; Matsuura, F.; Naoe, Y.; Terauchi, T.; Oohashi, Y.; Ito, O.; Tanaka, H. Eur. Patent 1391451, 2004.
- [125] Spitzer, W. A.; Victor, F.; Pollock, G. D.; Hayes, J. S. *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 1590-1595.
- [126] Singh, S. B.; Pettit, G. R. *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 17, 4105 – 4114.
- [127] Hua, D. H.; Huang, X.; Chen, Y.; Battina, S. K.; Tamura, M.; Noh, S. K.; Koo, S. I.; Namatame, I.; Tomoda, H.; Perchellet, E. M.; Perchellet, J.-P. *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 18, 6065 – 6078.
- [128] Rajesh, K.; Somasundaram, M.; Saiganesh, R.; Balasubramanian, K. K. *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 15, 5867 – 5869.
- [129] Buckman, B.; Nicholas, J. B.; Serebryany, V.; Seiwert, S. D. US Patent 0152246, A1, 2011.
- [130] Lucia Kováčiková. Návrh nosných štruktúr, syntéza organických angio a kancerostatík, stanovenie ich biologickej aktivity, dizertačná práca, PriF UK, Bratislava, 2010.
- [131] Crank, G.; Mursyidi, A. *Aust. J. Chem.* **1982**, 35, 4, 775 – 784.
- [132] Tapia, I.; Alonso-Cires, L.; López-Tudanca, P. L.; Mosquera, R.; Labeaga, L.; Innerarity, A.; Orjales, A. *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 15, 2870 – 2880.
- [133] Meanwell, N. A.; Sit, S. Y.; Gao, J.; Wong, H. S.; Gao, Q.; St. Laurent, D. R.; Balasubramanian, N. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 6, 1565–1582.
- [134] Aso, K.; Kobayashi, K.; Takai, T.; Kojima, T.; Tokumaru, K.; Mochizuki, M.; Hoashi, Y. US Patent 186879, A1, 2009.
- [135] Freeman, P. K.; Pugh, J. K. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 11, 3947 – 3953.
- [136] Djerassi, C.; Mizzoni, R. H.; Scholz, C. R. *J. Org. Chem.* **1950**, 15, 700 – 706.
- [137] Nair, M. G.; Otis, Eldridge B.; Kisliuk, Roy L.; Gaumont, Y. *J. Med. Chem.* **1983**, 26, 2, 135 – 140.
- [138] Brak, K.; Barrett, K. T.; Fuchi, N.; Ellman, J. A.; Kerr, I. D.; Debnath, M.; Ang, K.; Engel, J. C.; McKerrow, J. H.; Doyle, P. S.; Brinen, L. S. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 4, 1763 – 1773
- [139] Melikian, A.; Wright, J. J.; Krasinski, A.; Hu, C.; Novack, A. Int. Patent 059108, A2, 2007.
- [140] Rasheed, A.; Ravichandran, V.; Kohli, D. V. *Pharmazie* **1999**, 54, 11, 857 – 858.
- [141] Huettel, R.; Kratzer, J. *Chem. Ber.* **1959**, 92, 2014 – 2020.

Výstupy z dizertačnej práce

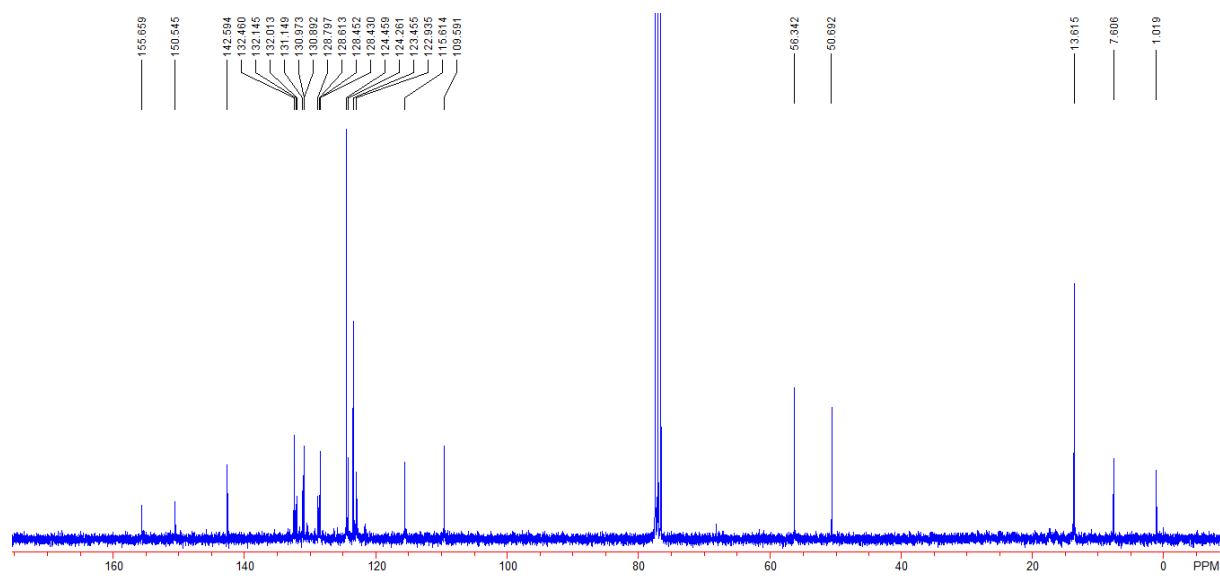
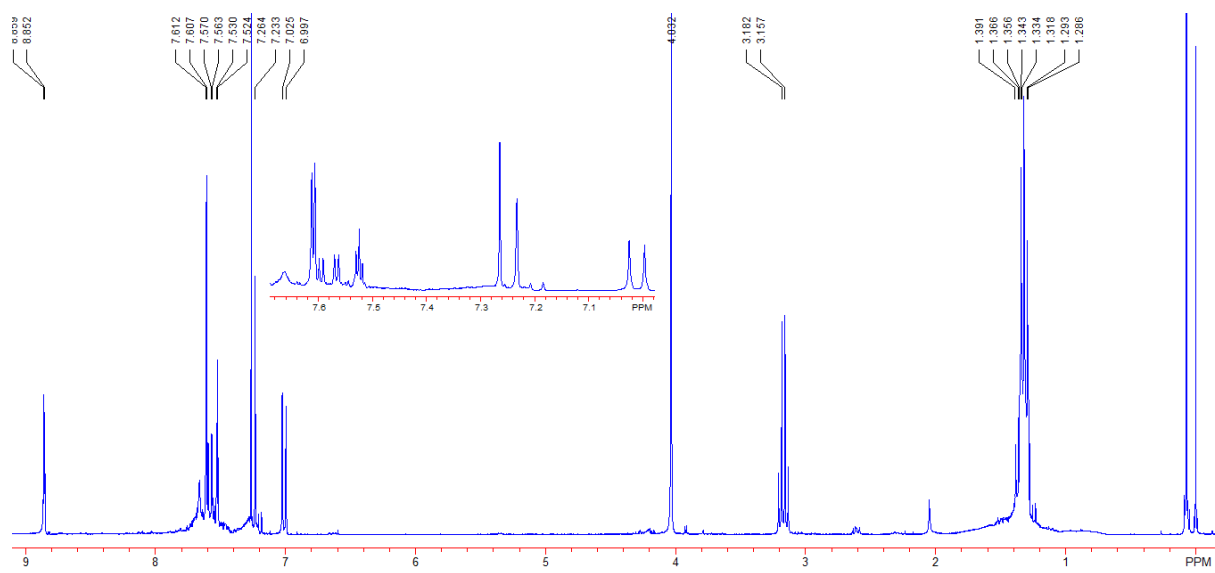
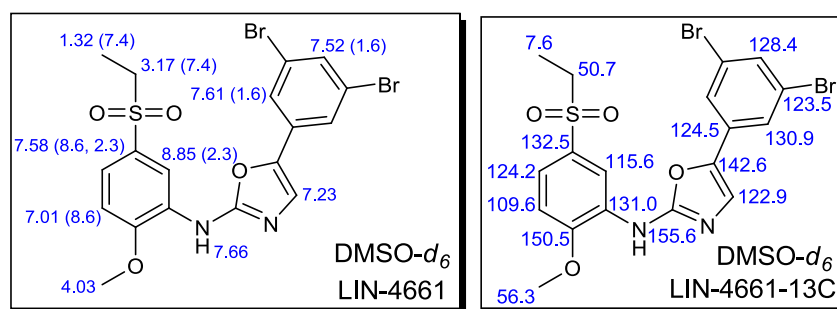
1. Účasť na zahraničných a domácich konferenciách

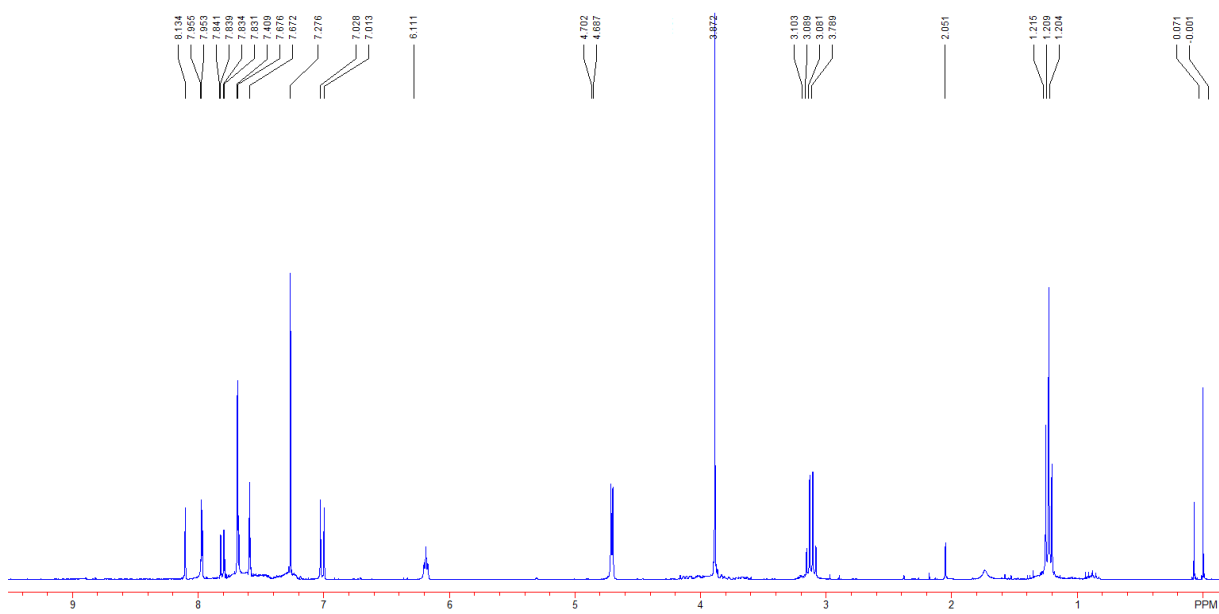
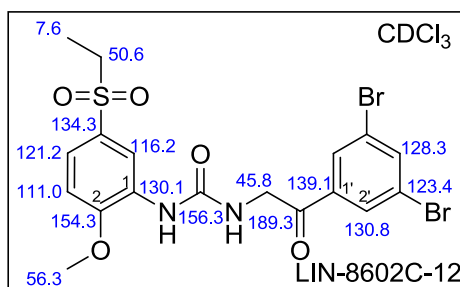
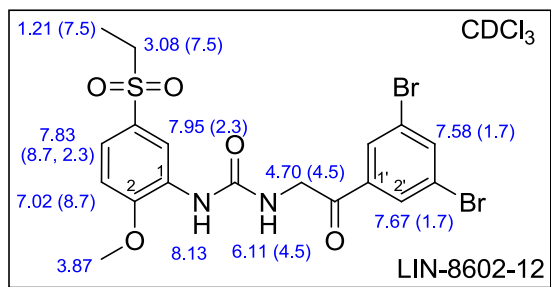
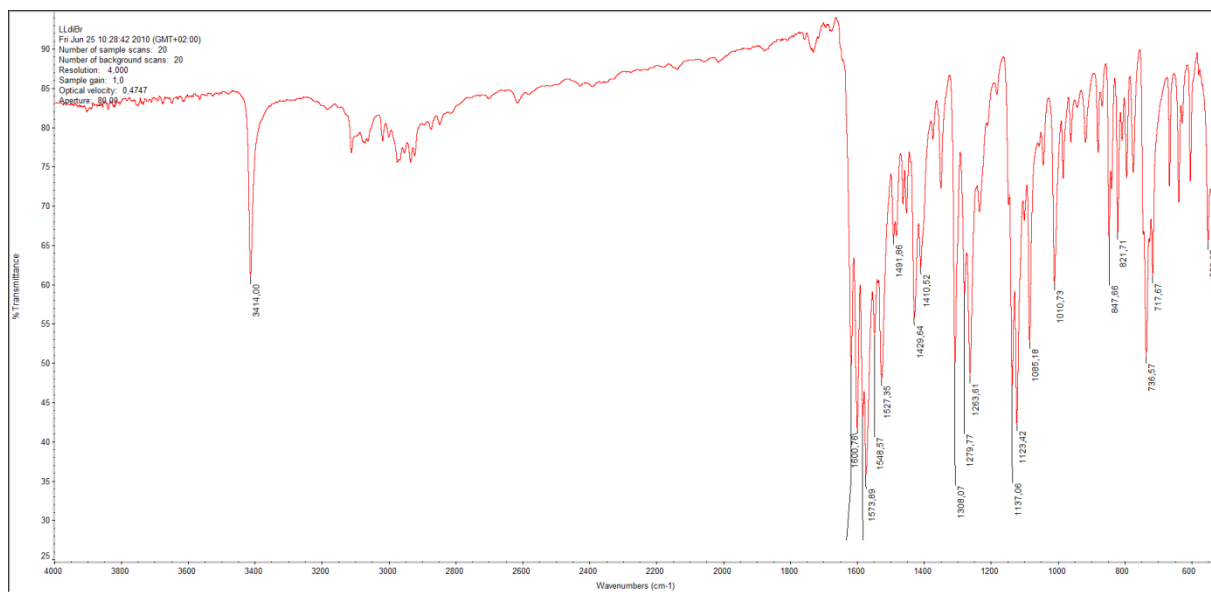
- COST Action CM0602 Inhibition of Angiogenesis: design, synthesis and biological exploitation (Angiokem) Favignana, Taliansko 2009
- Študentská vedecká konferencia PriF UK 2009
- COST Action CM0602 Inhibition of Angiogenesis: design, synthesis and biological exploitation (Angiokem) Dublin, Írsko 2010
- Študentská vedecká konferencia PriF UK 2010
- COST Action CM0602 Inhibition of Angiogenesis: design, synthesis and biological exploitation (Angiokem) Rhodos, Grécko 2010 (letná škola)
- COST Action CM0602 Inhibition of Angiogenesis: design, synthesis and biological exploitation (Angiokem) Smolenice, Slovensko 2011

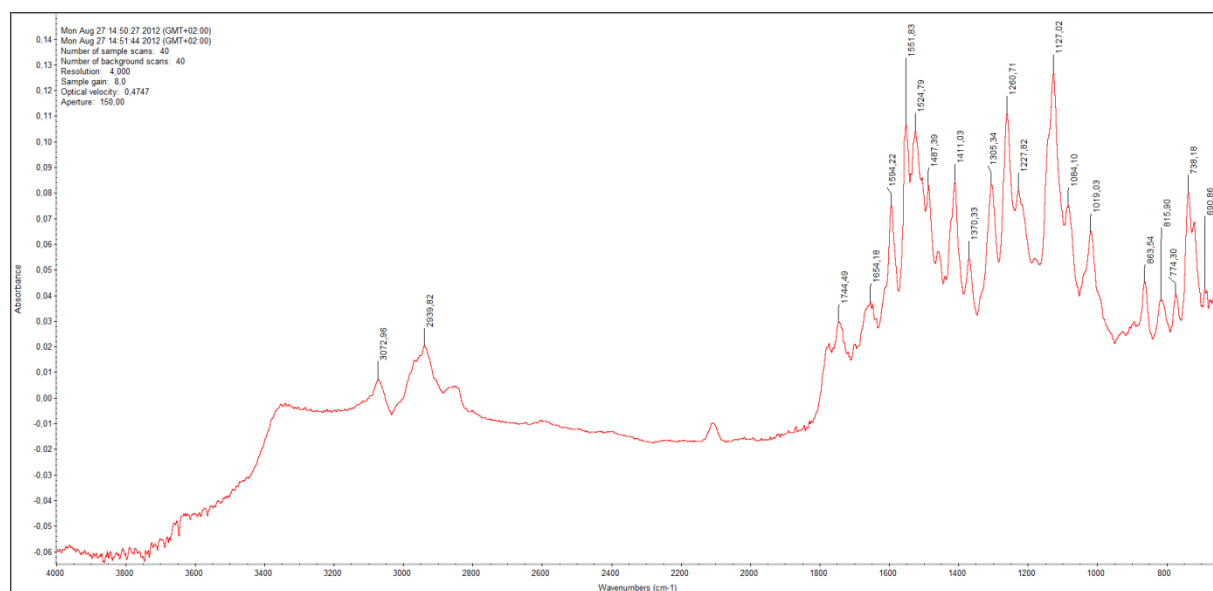
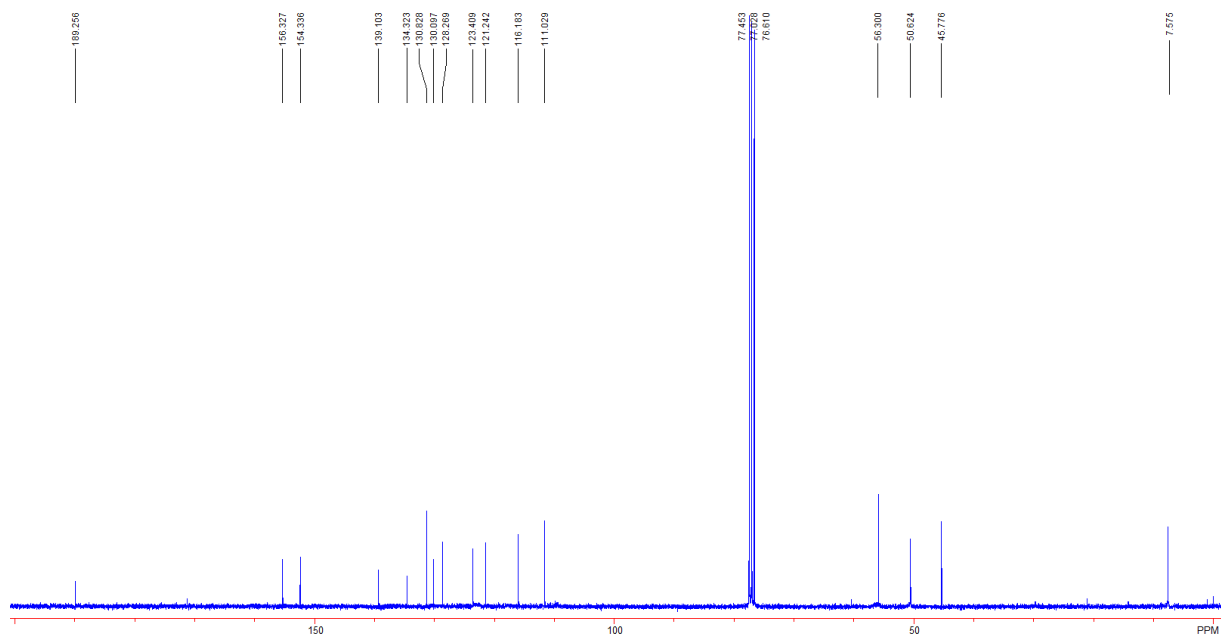
2. Publikačná činnosť

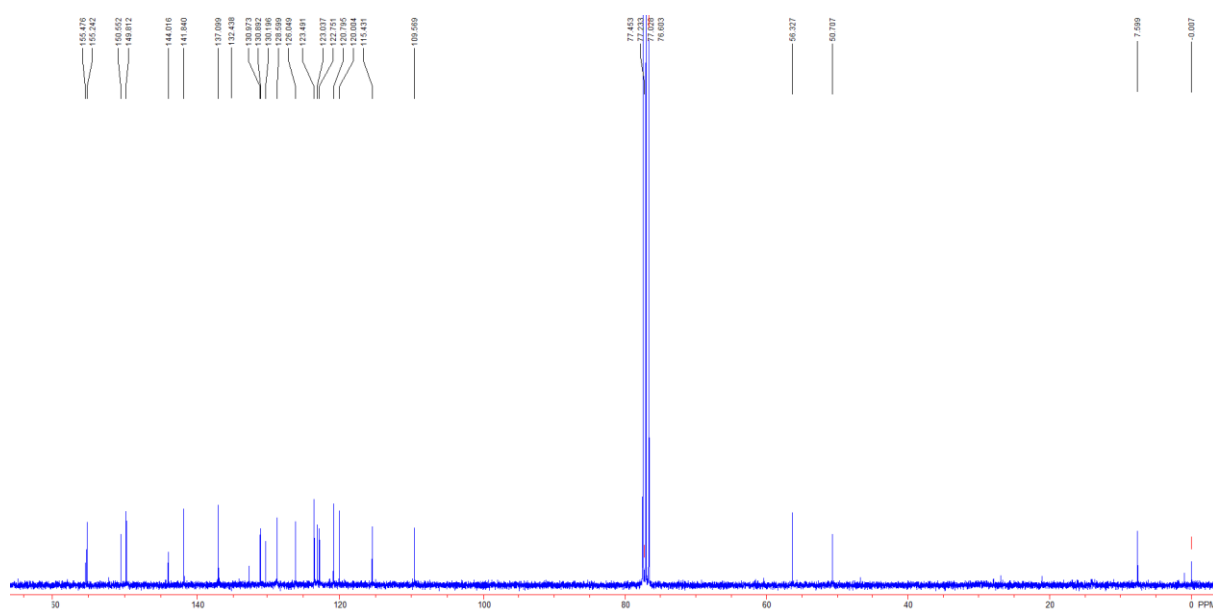
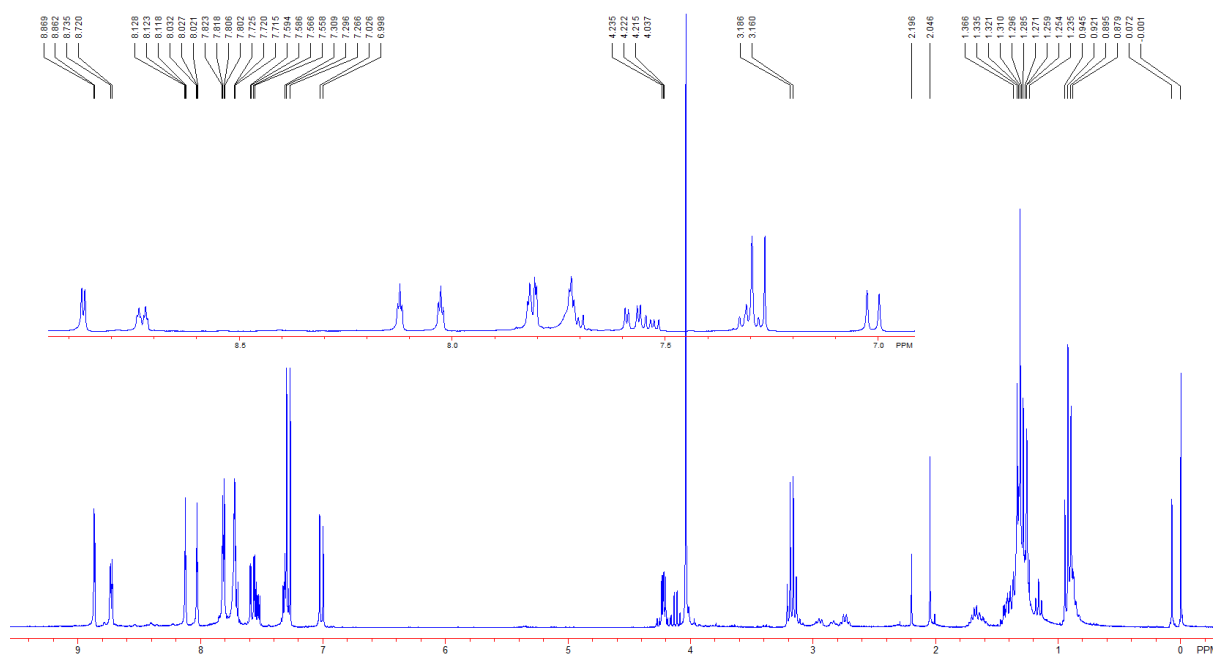
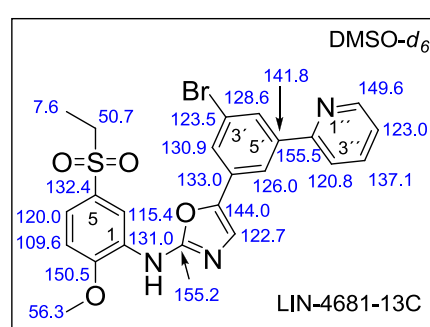
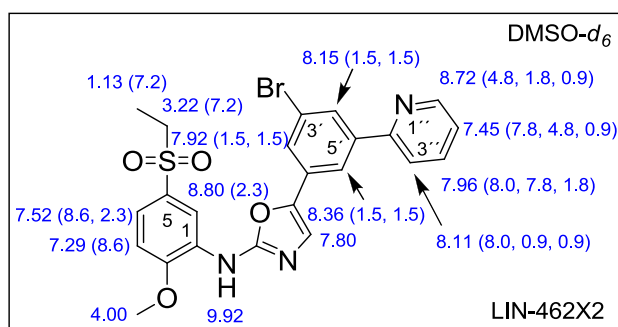
- príloha č.2: výpis z evidencie publikačnej činnosti
- Manuskript: Lintnerová, Lucia; Kováčiková, Lucia; Hanquet, Gilles; Boháč, Andrej: Selected Methodologies Convenient for the Synthesis of *N*,5-Diaryloxazole-2-amine Pharmacophore, *J. Het. Chem.* **2013** (prijaté s malou opravou, oprava zaslaná), ISSN: 1943-5193
- Manuskript: Lintnerová, Lucia; Gregáň, Fridrich; Melicherčík, Milan; Lác, Ján; Sališová, Marta; García-Caballero, Melissa; Rodriguez Quesada, Ana; Dobiaš, Juraj; Boháč, Andrej: Development of VEGFR2 Inhibitor Based on Two Ligand Conformers in PDB Complex 1Y6A and Its Medicinal Chemistry Consequences, *Eup. J. Med. Chem.* **2013** (poslané do tlače), ISSN: 0223-5234

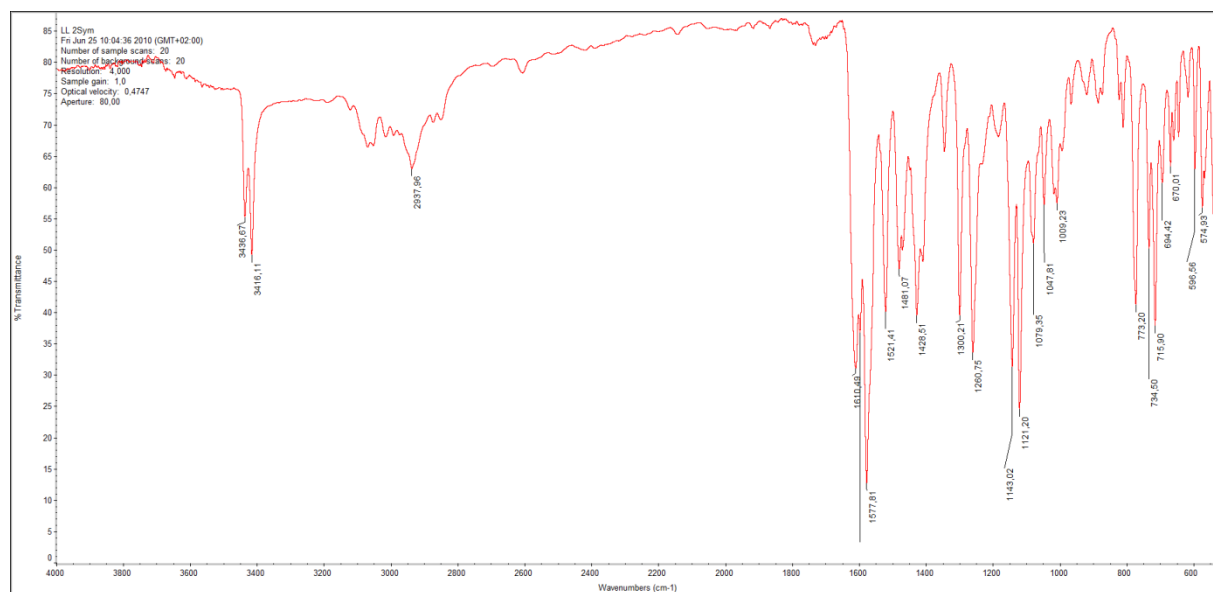
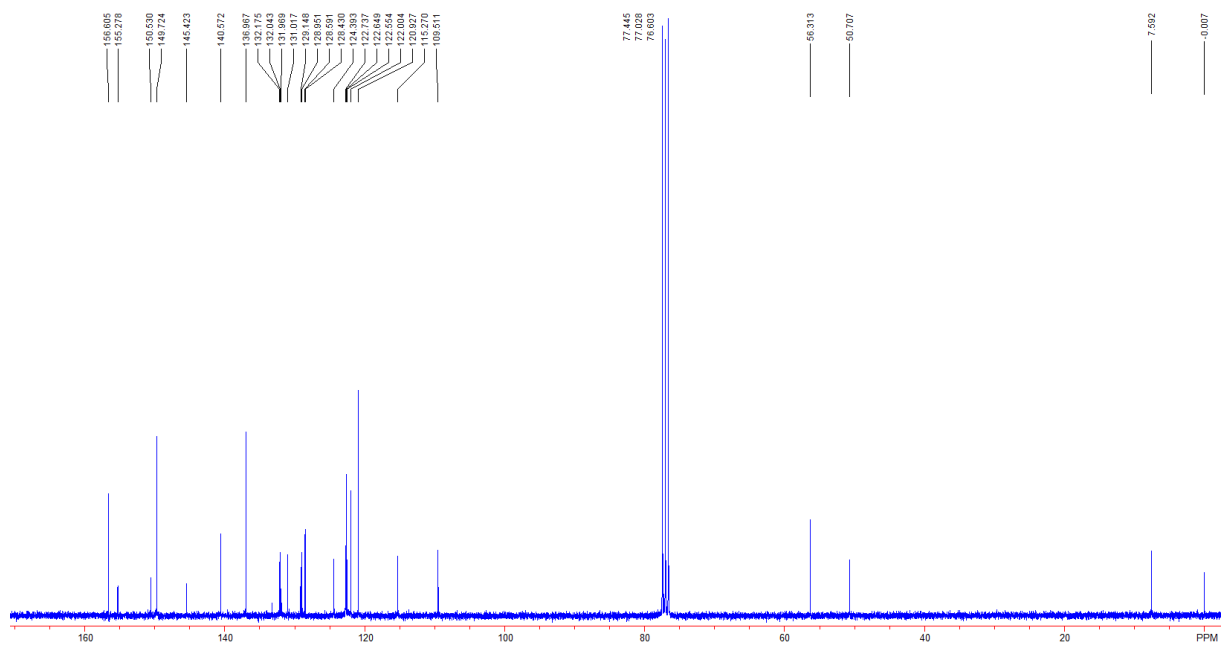
č.1

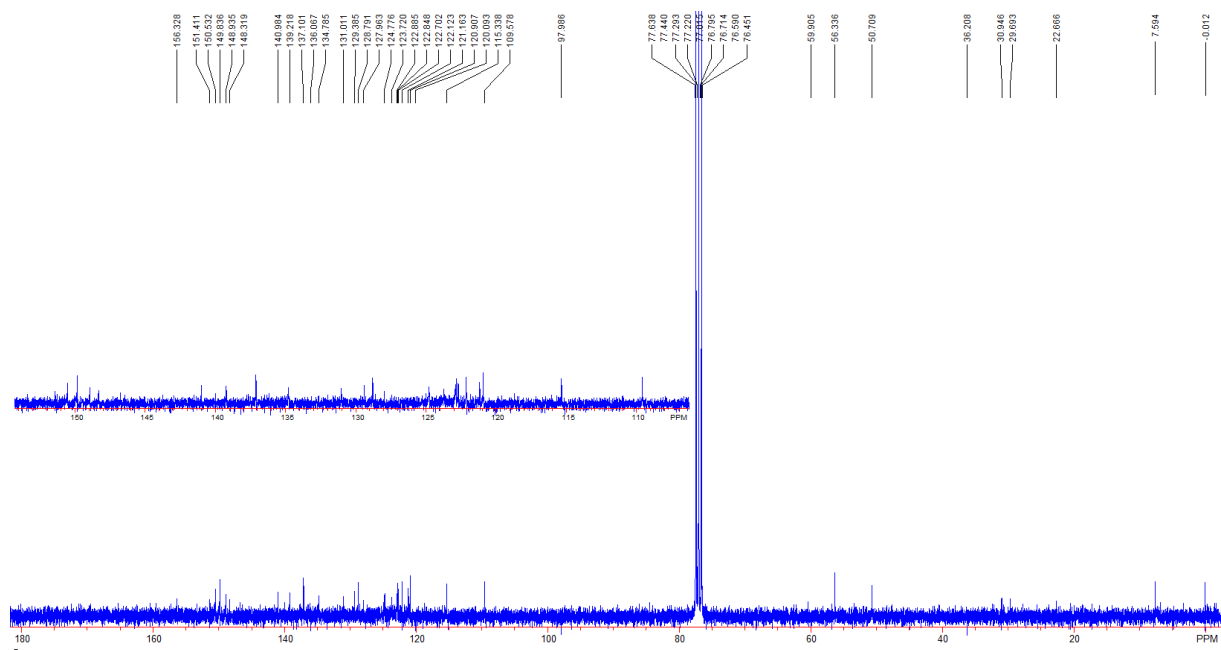
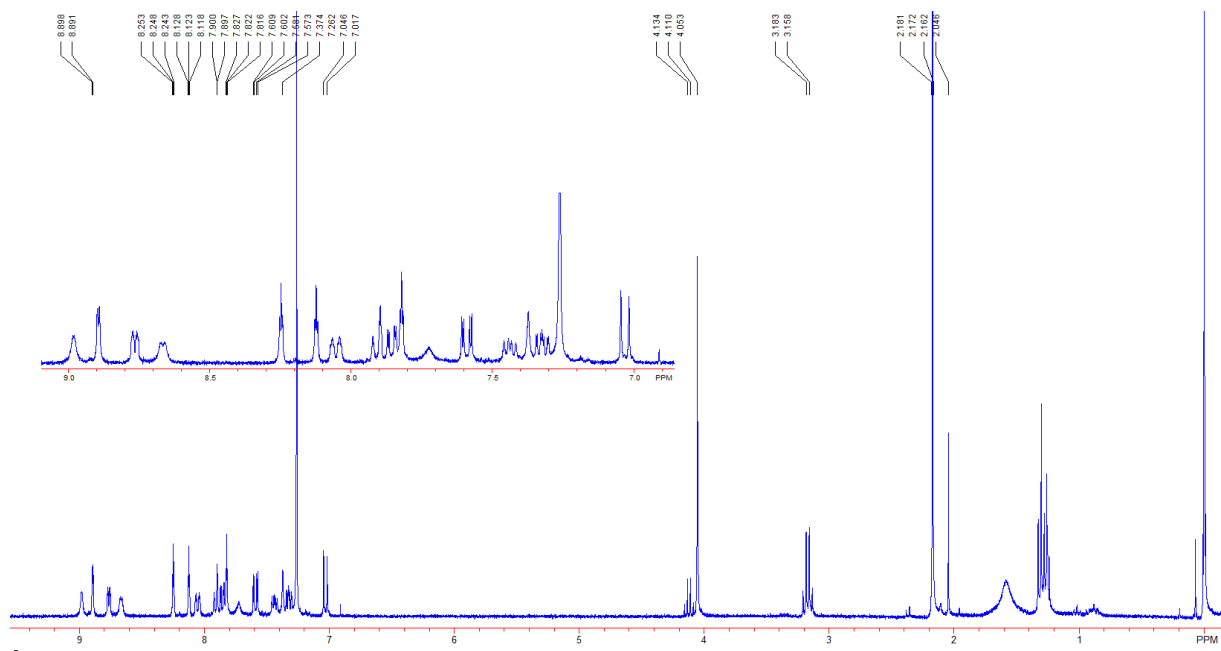
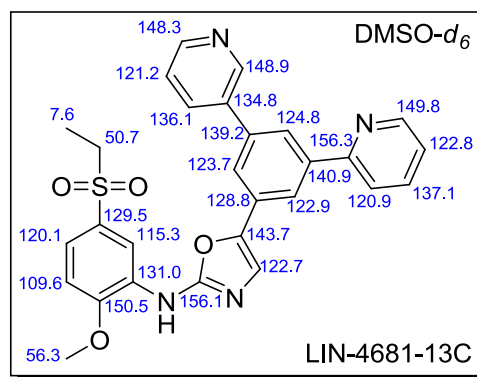
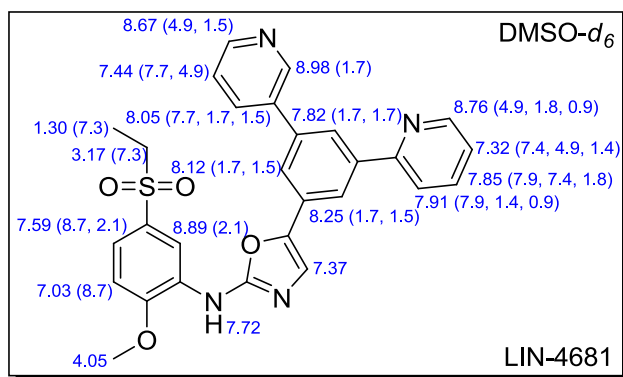


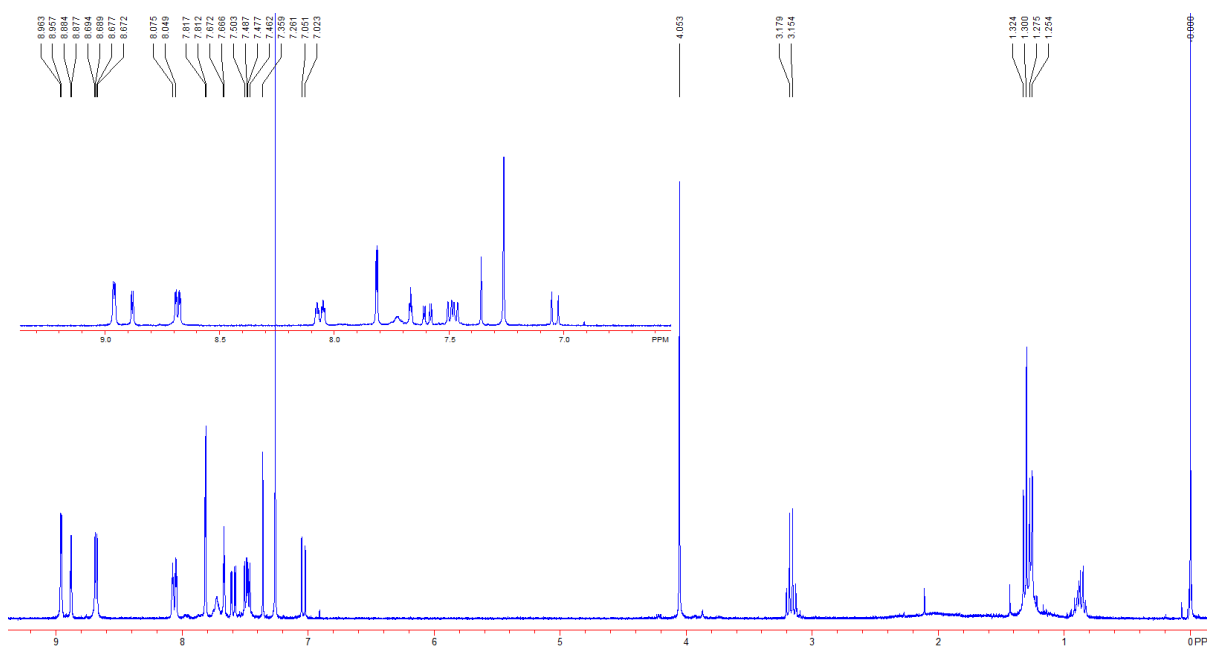
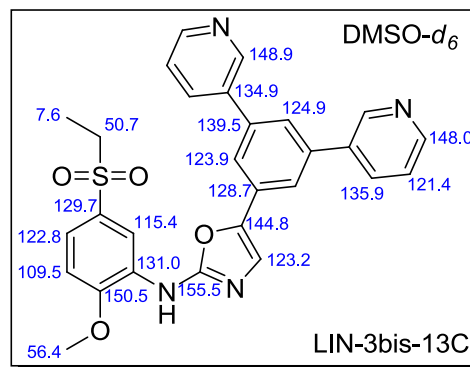
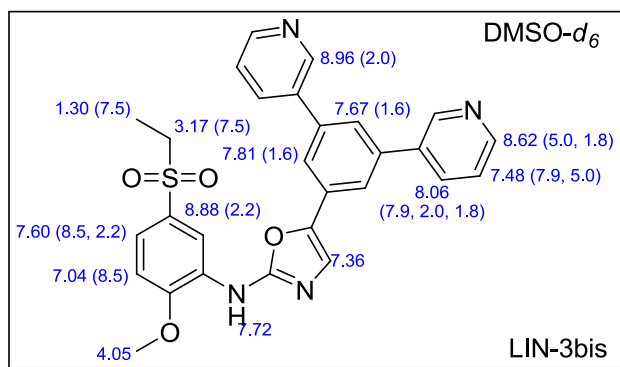
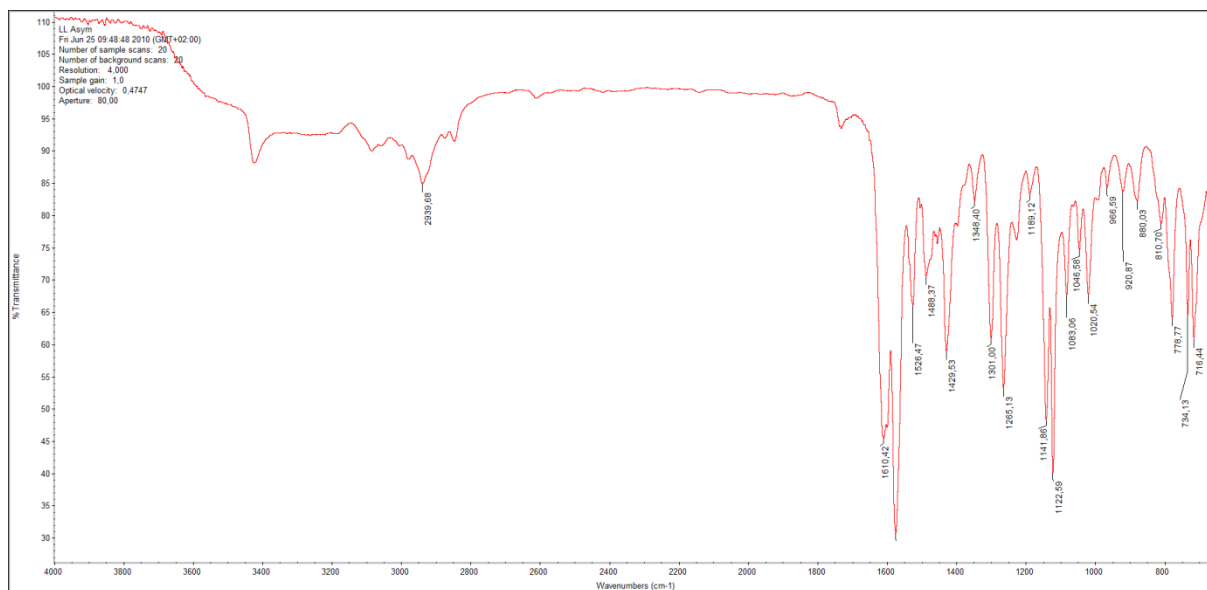


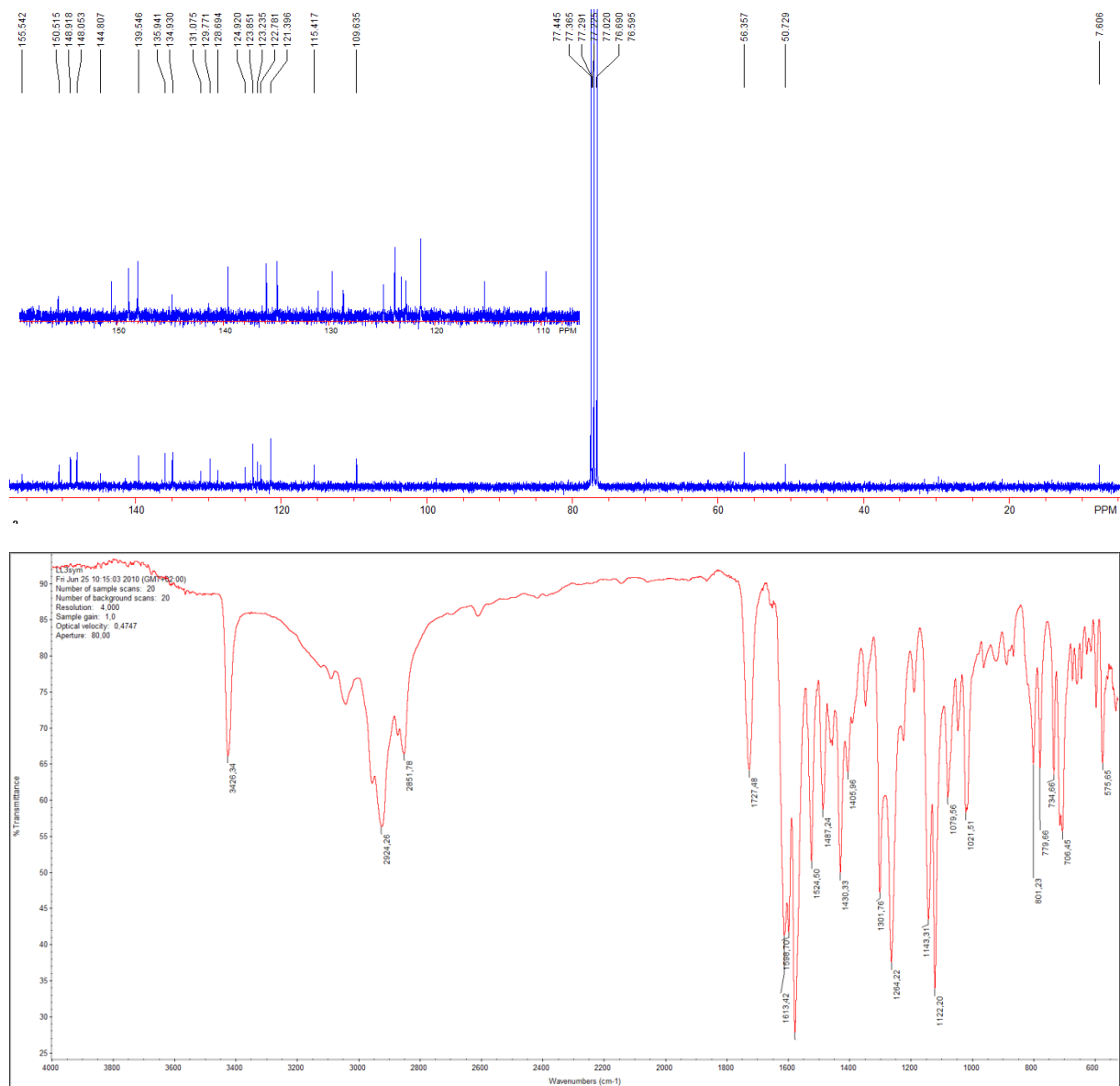


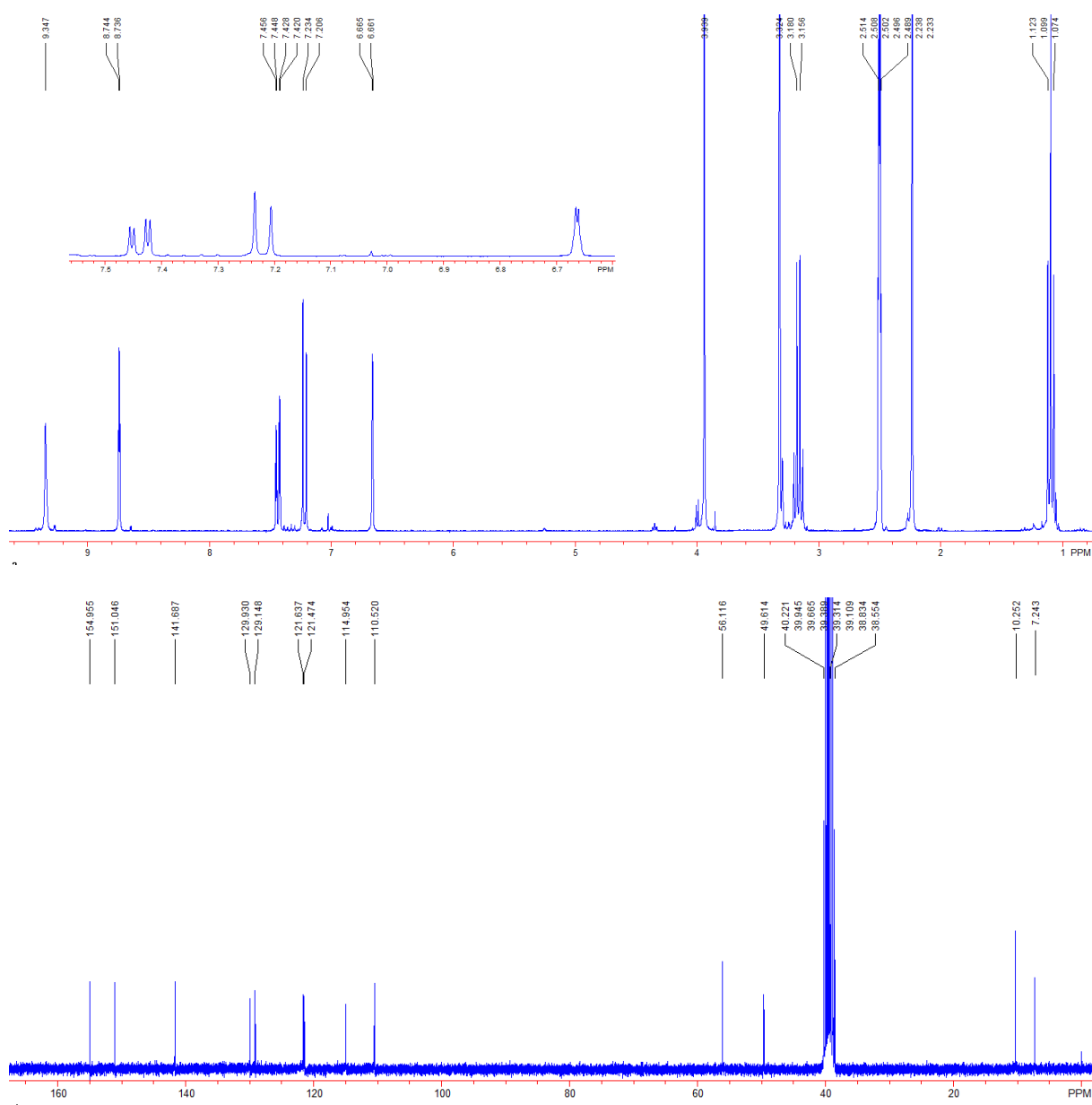
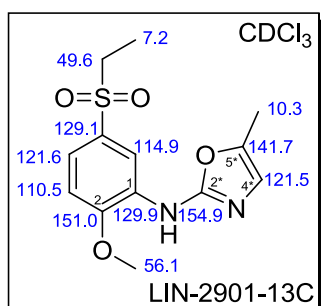
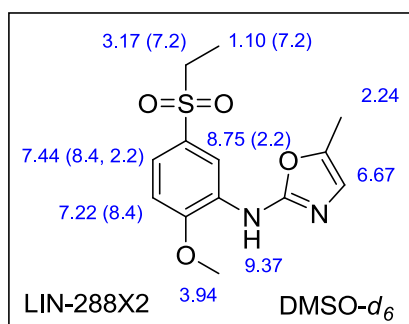


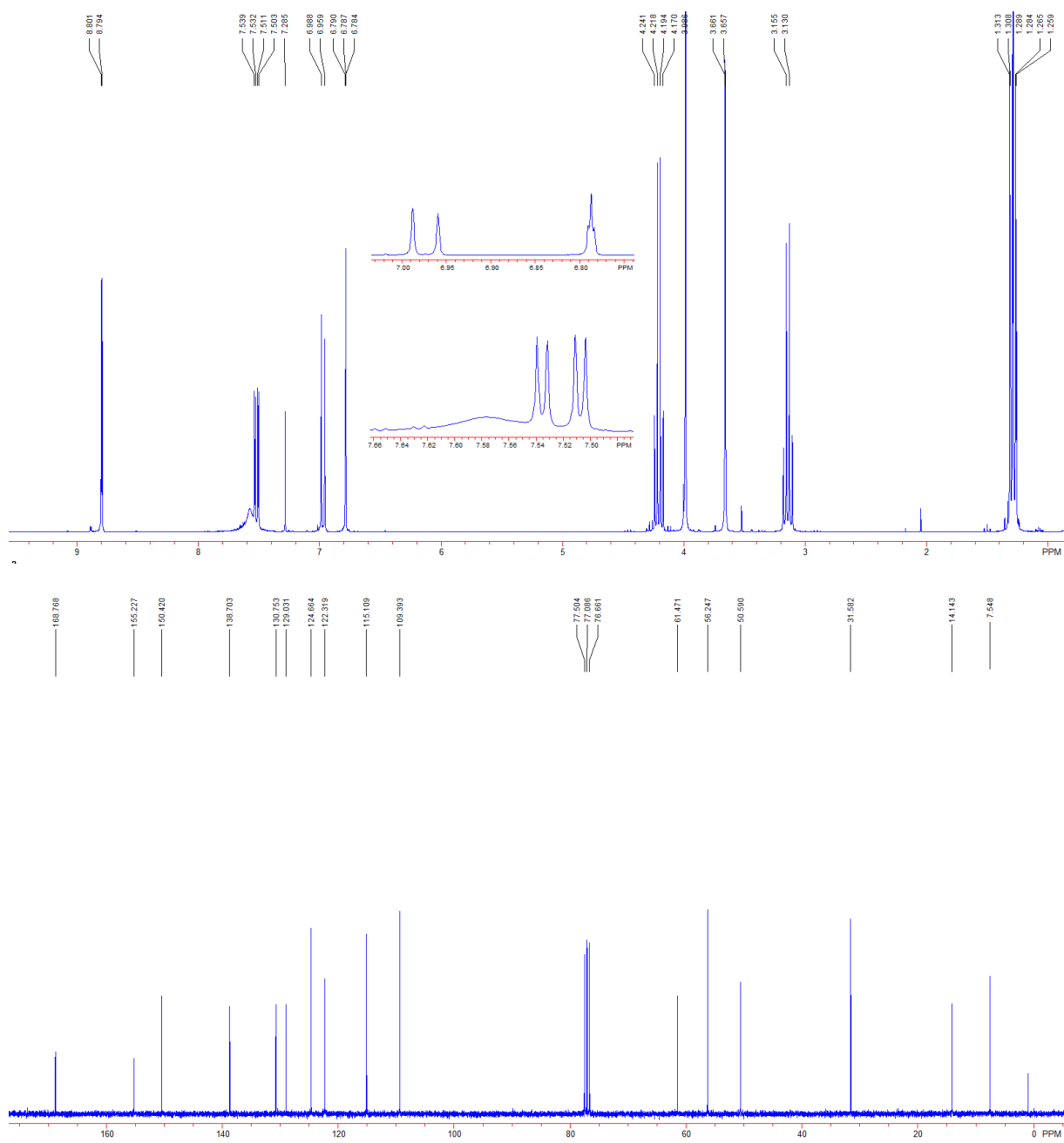
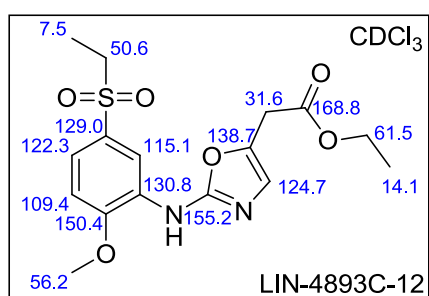
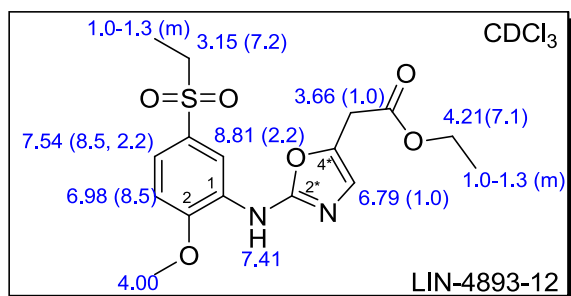


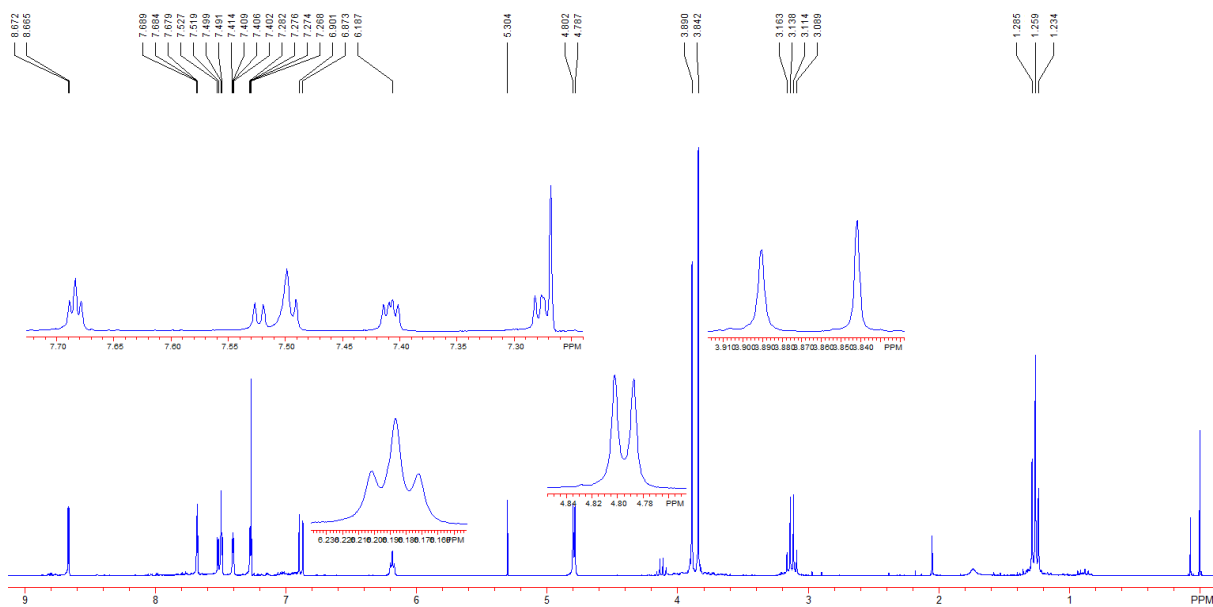
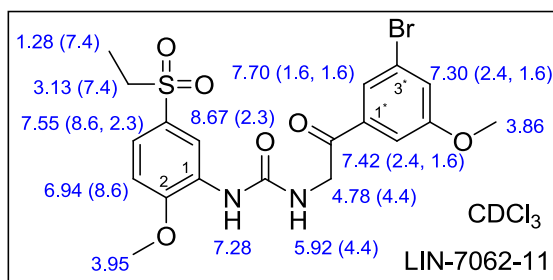
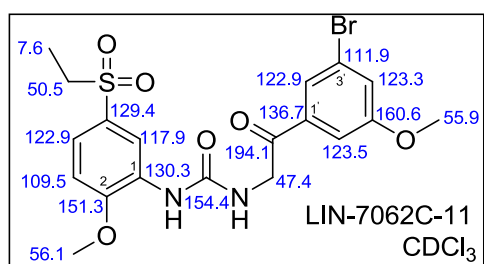
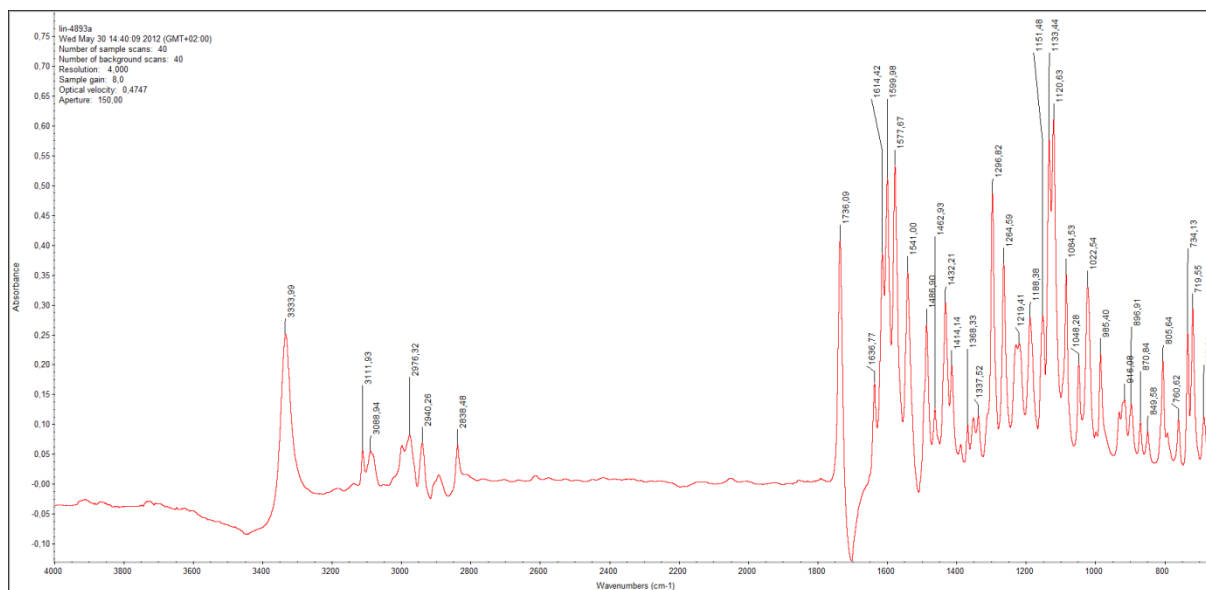


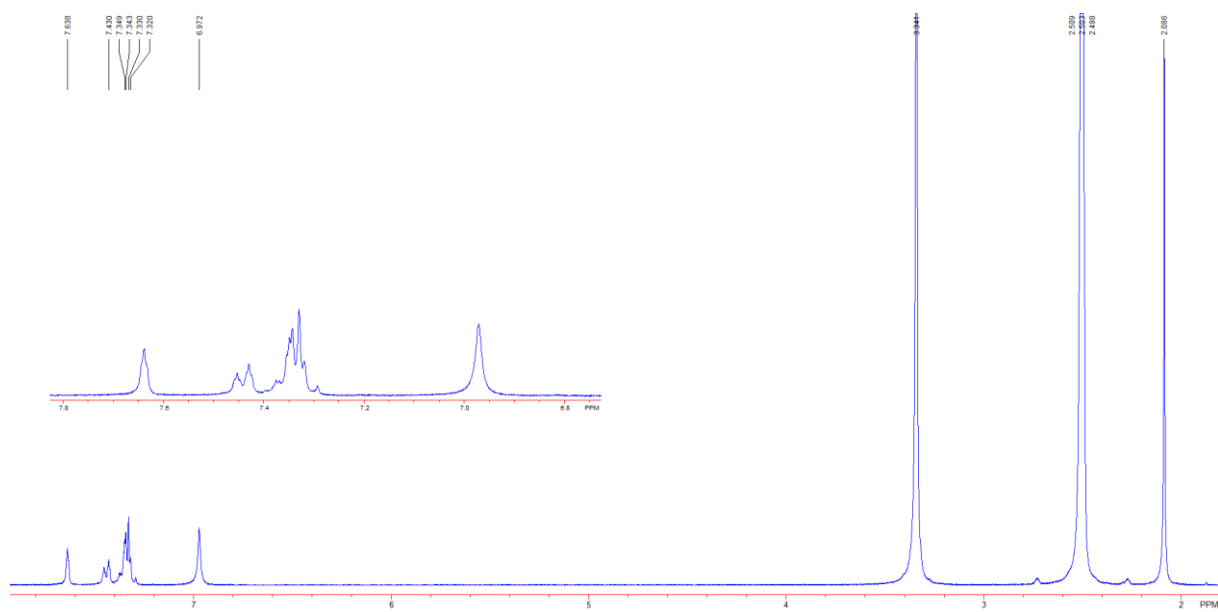
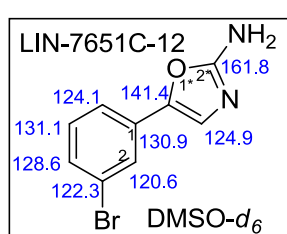
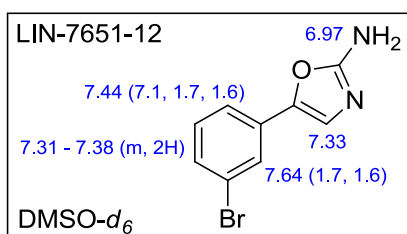
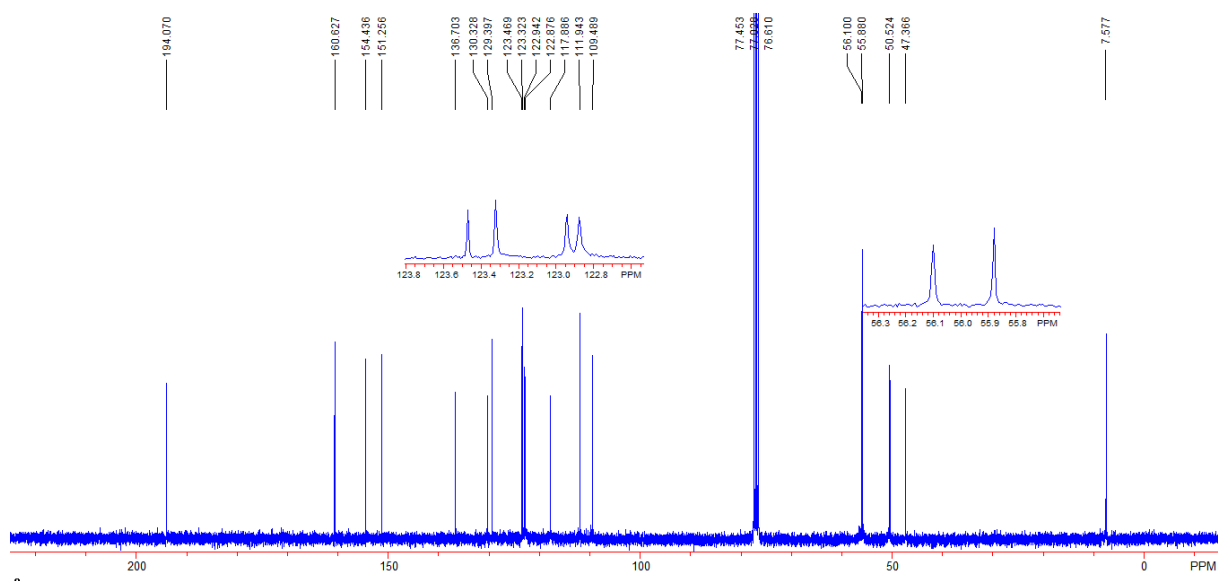


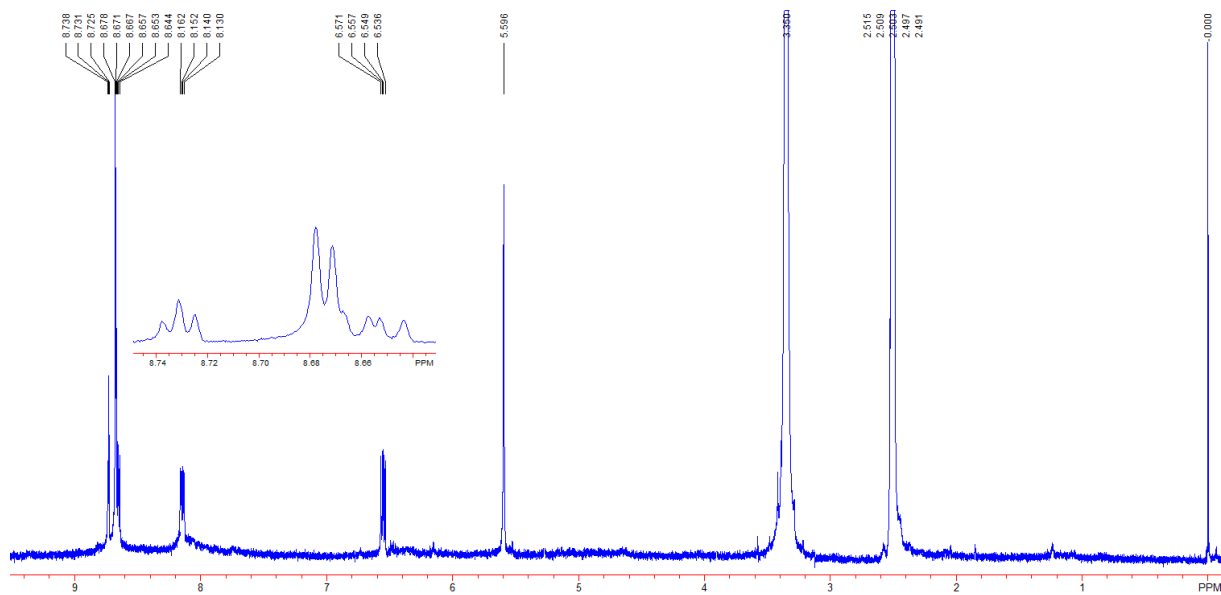
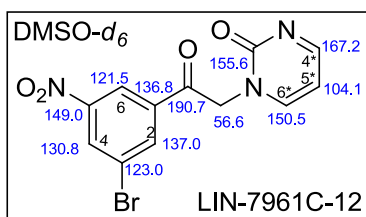
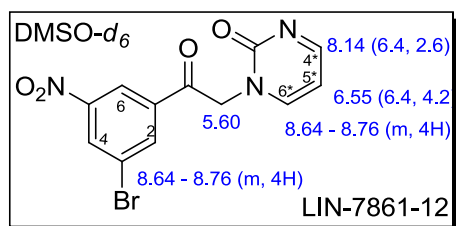
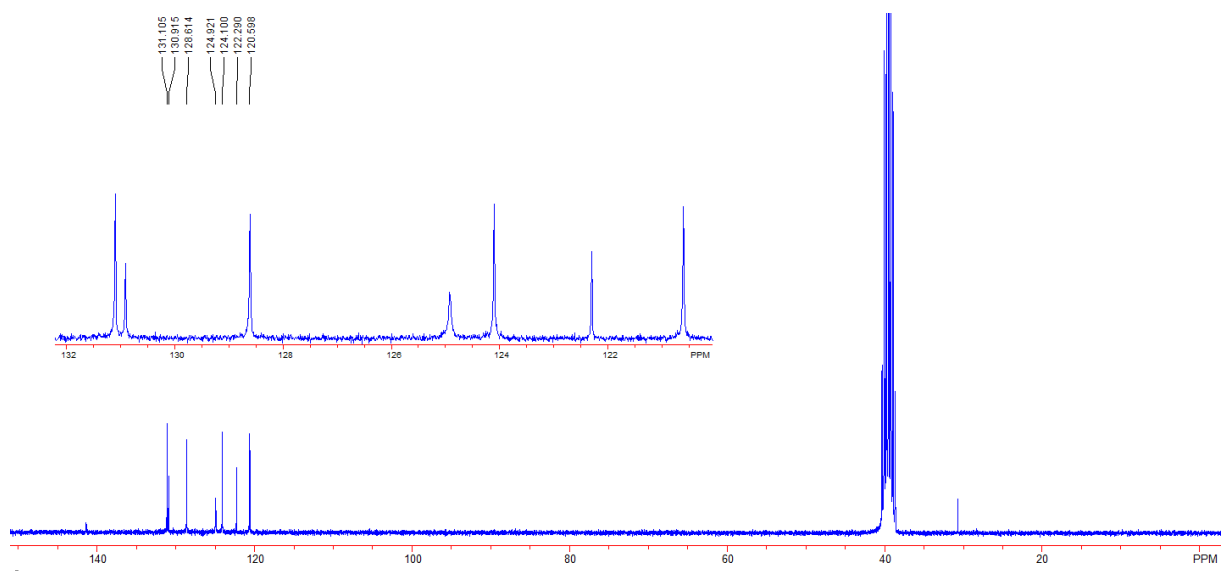


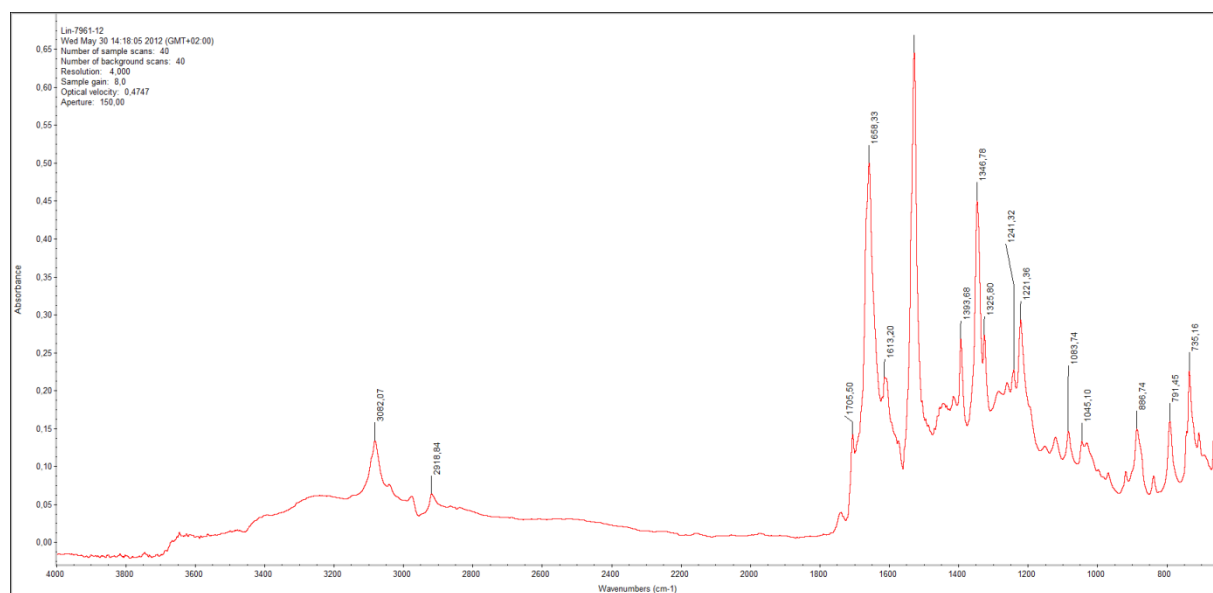
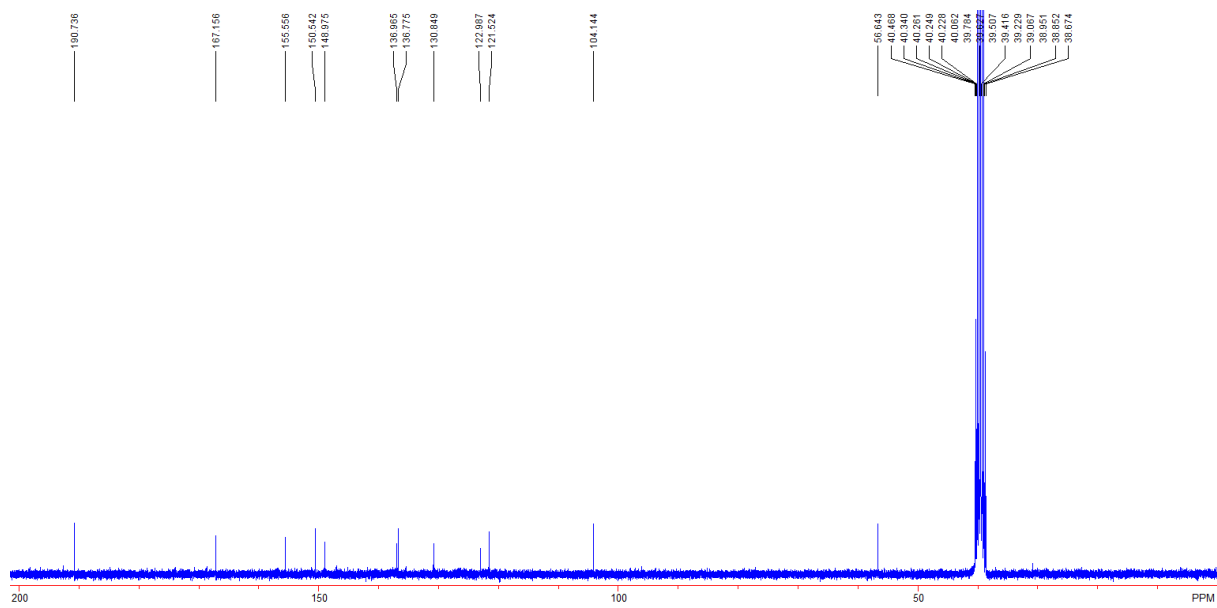


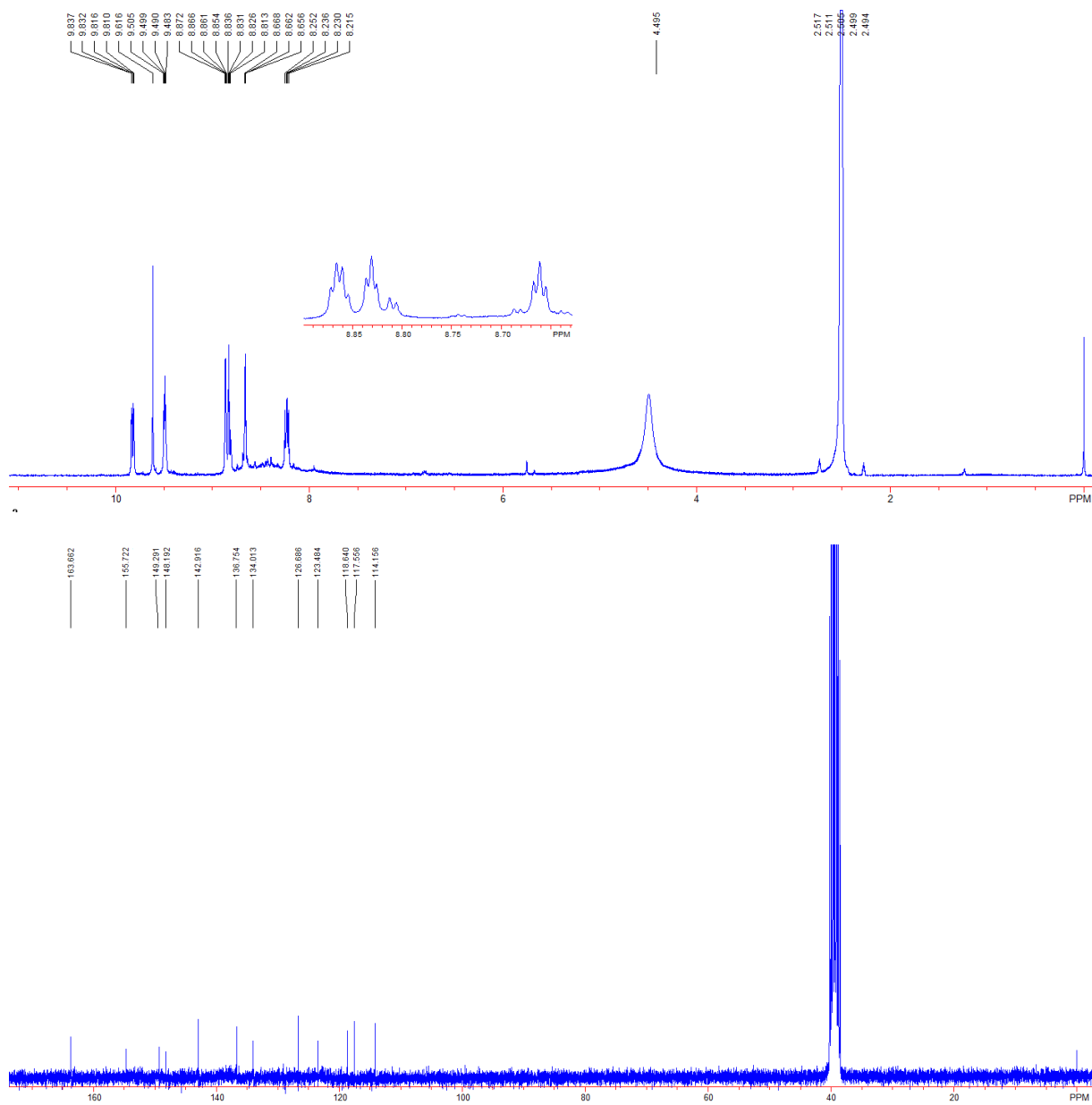
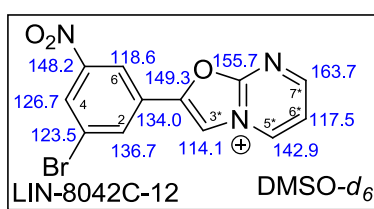


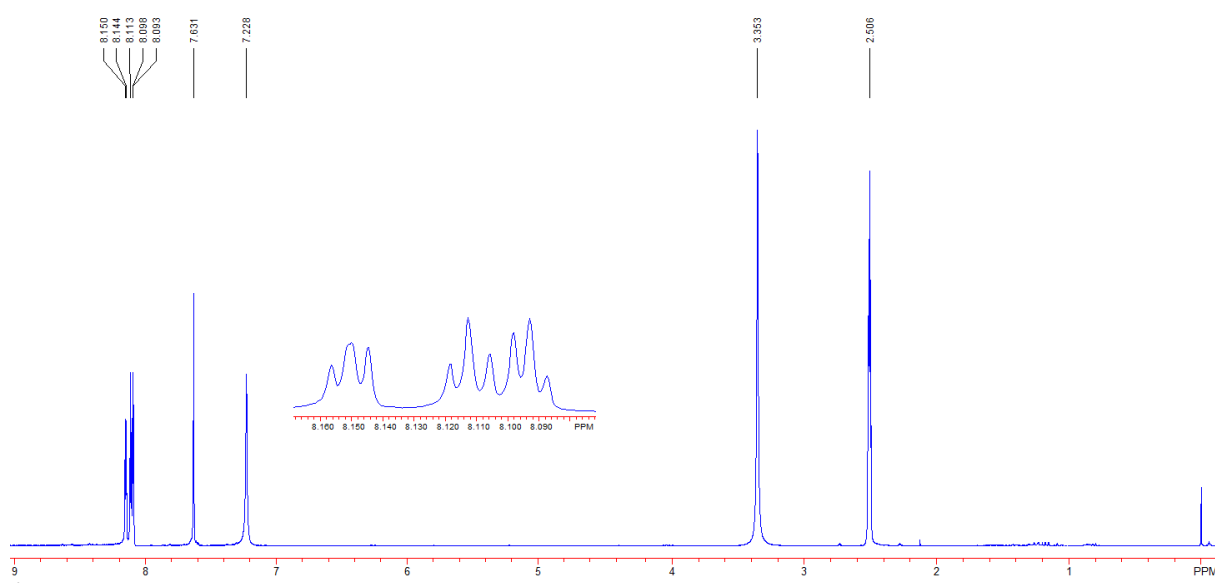
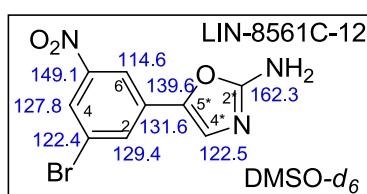
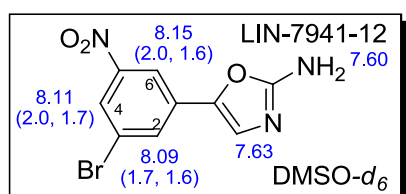
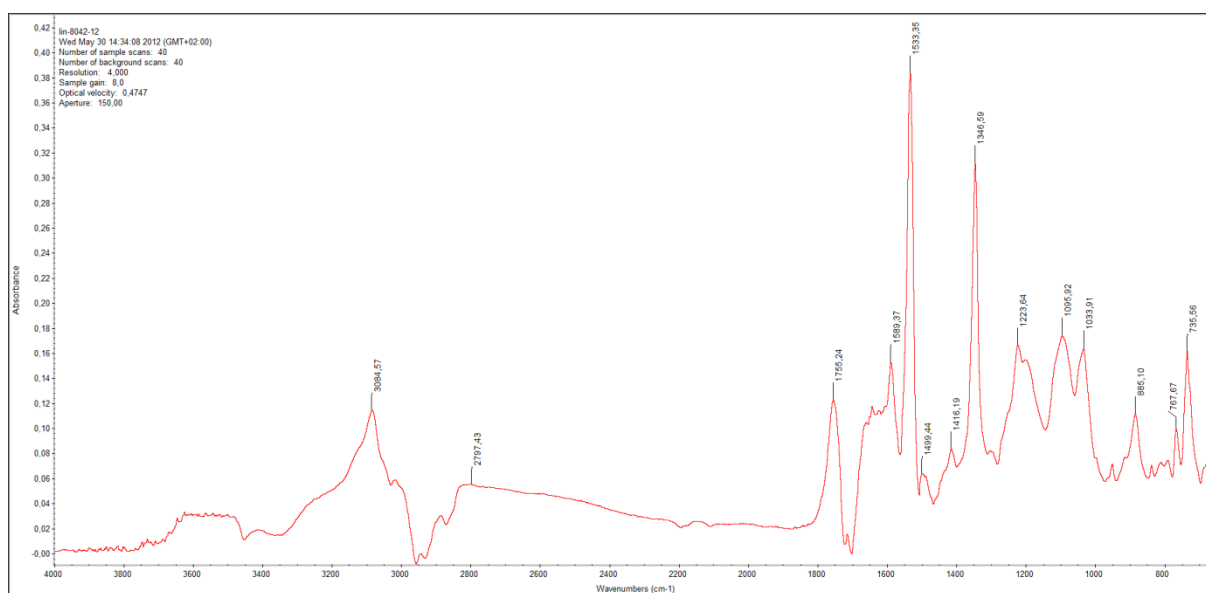


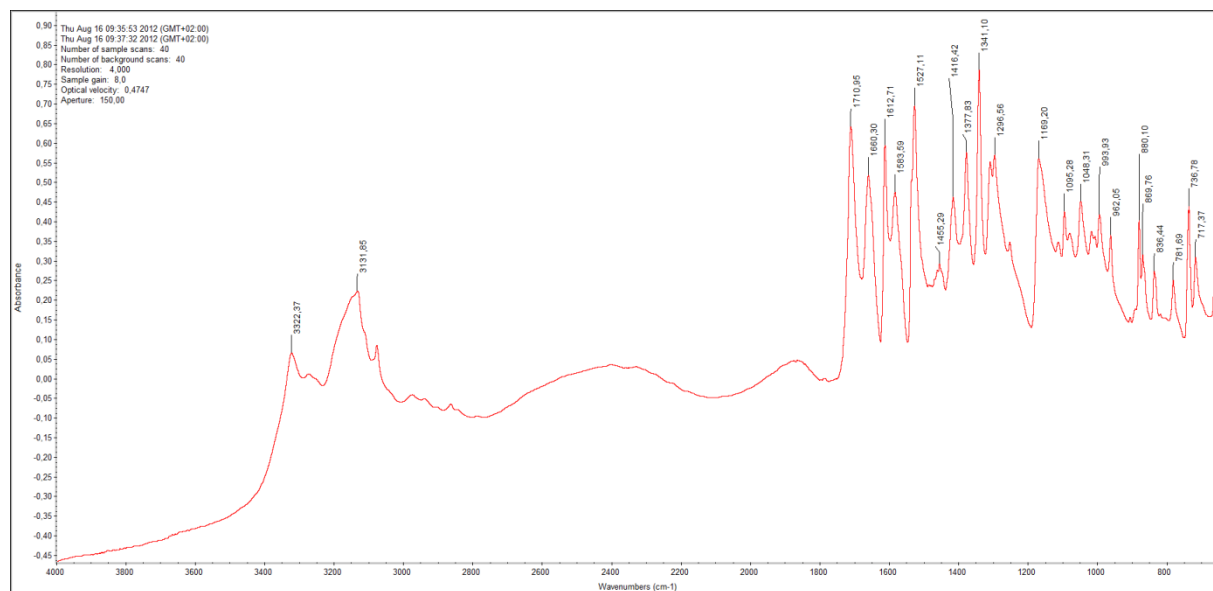
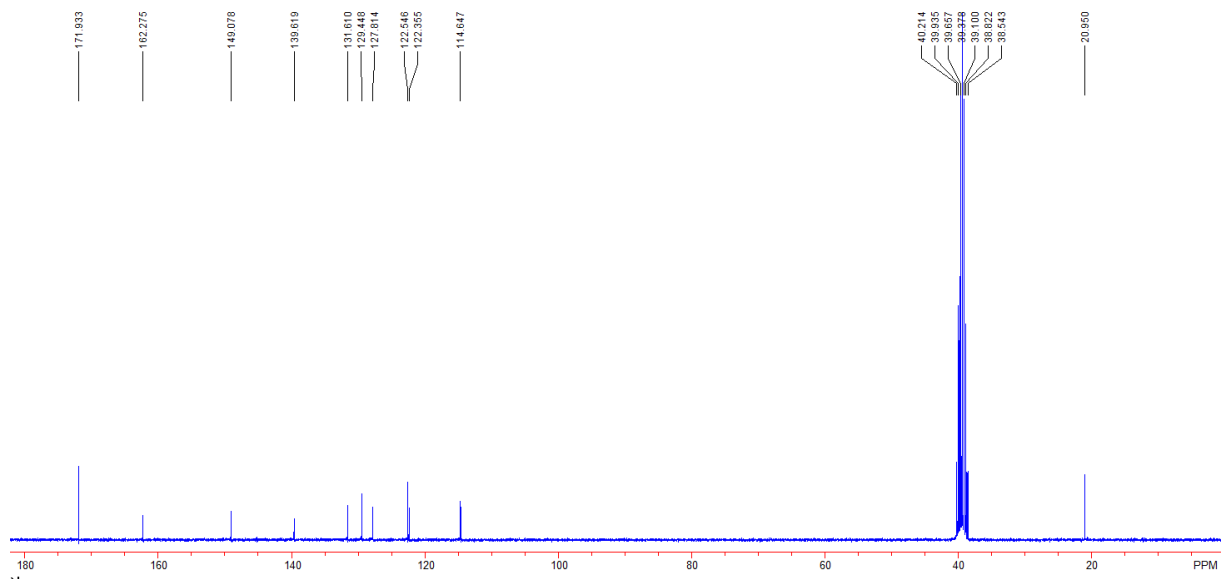


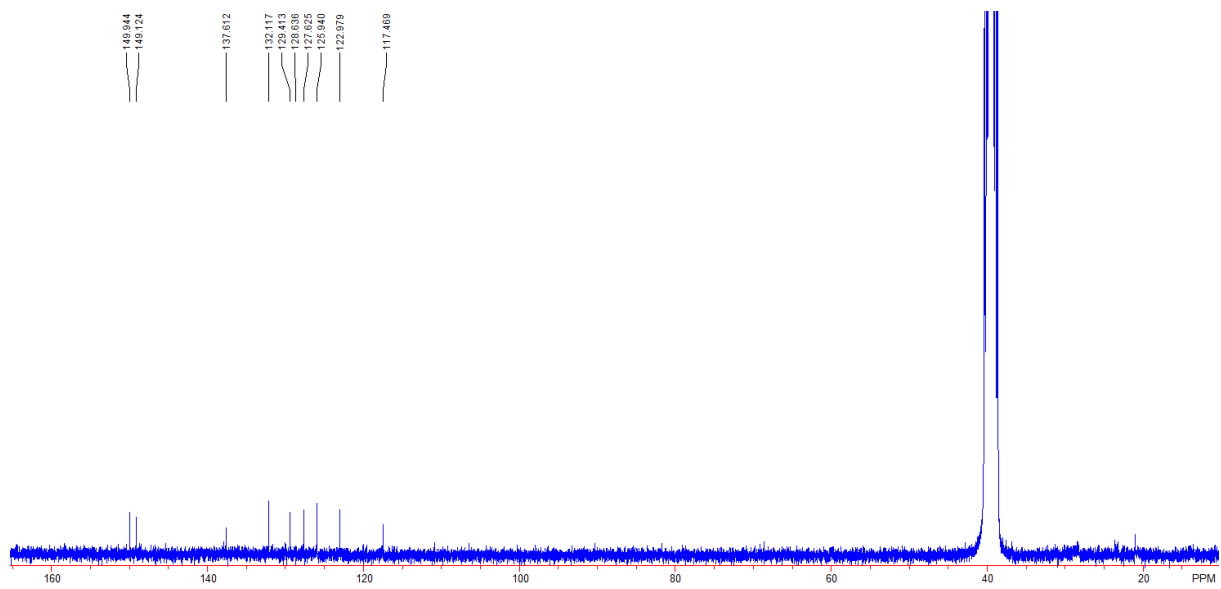
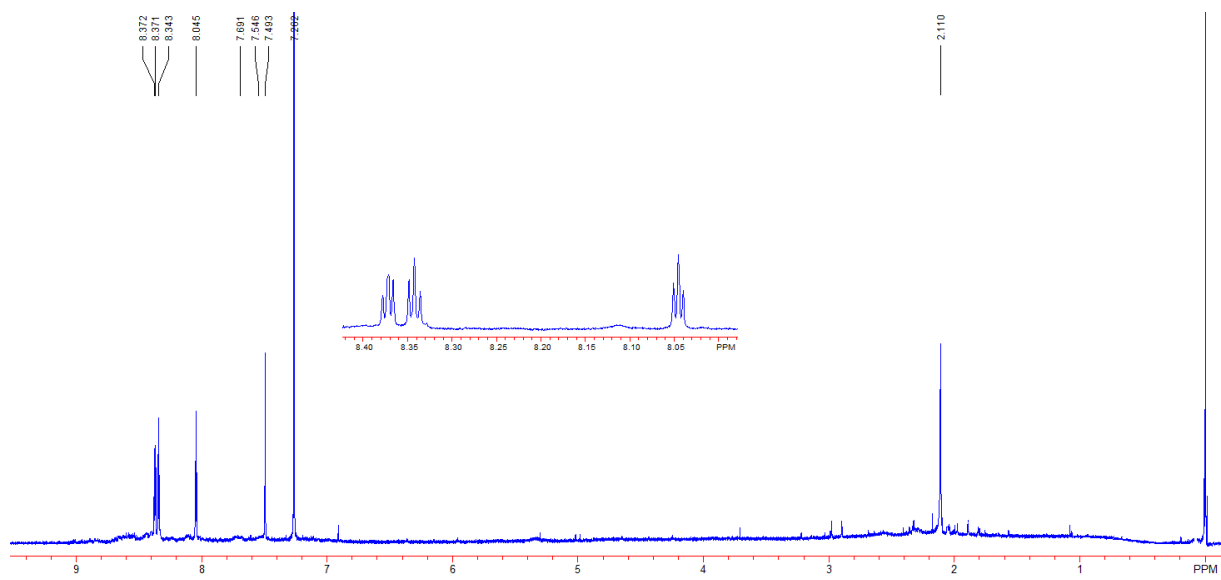
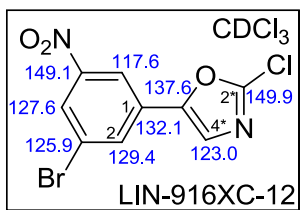
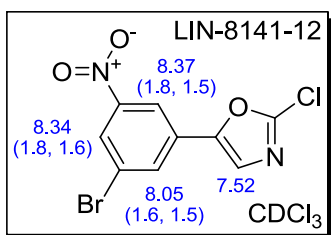


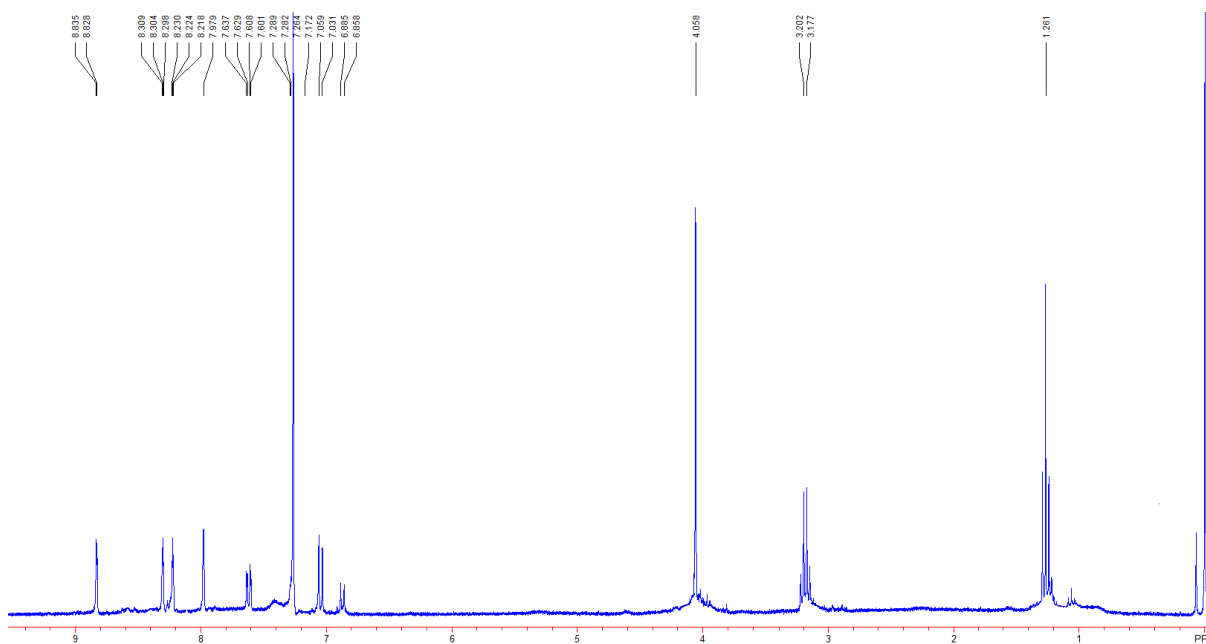
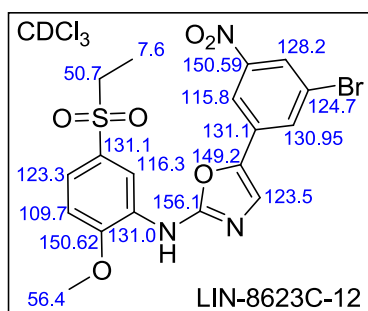
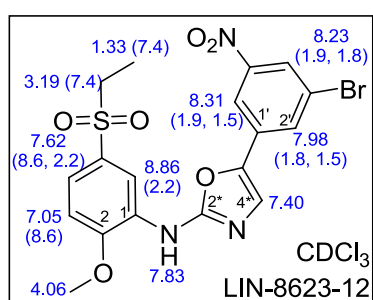
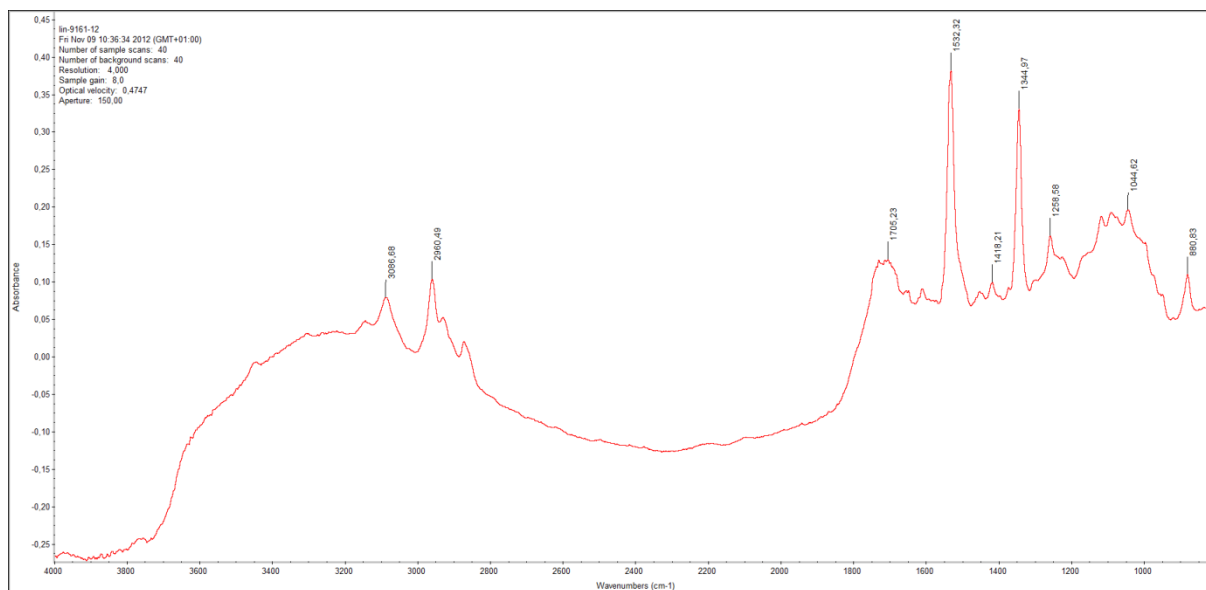


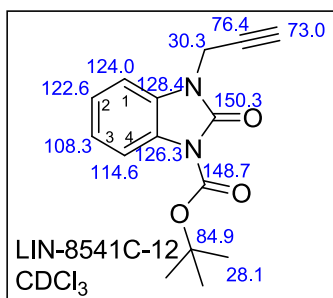
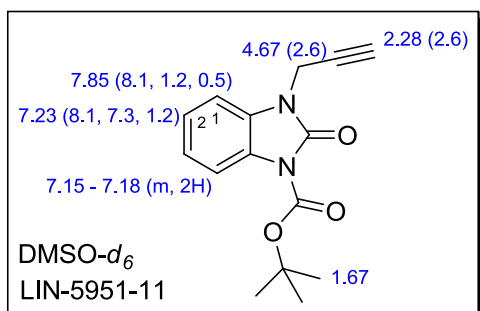
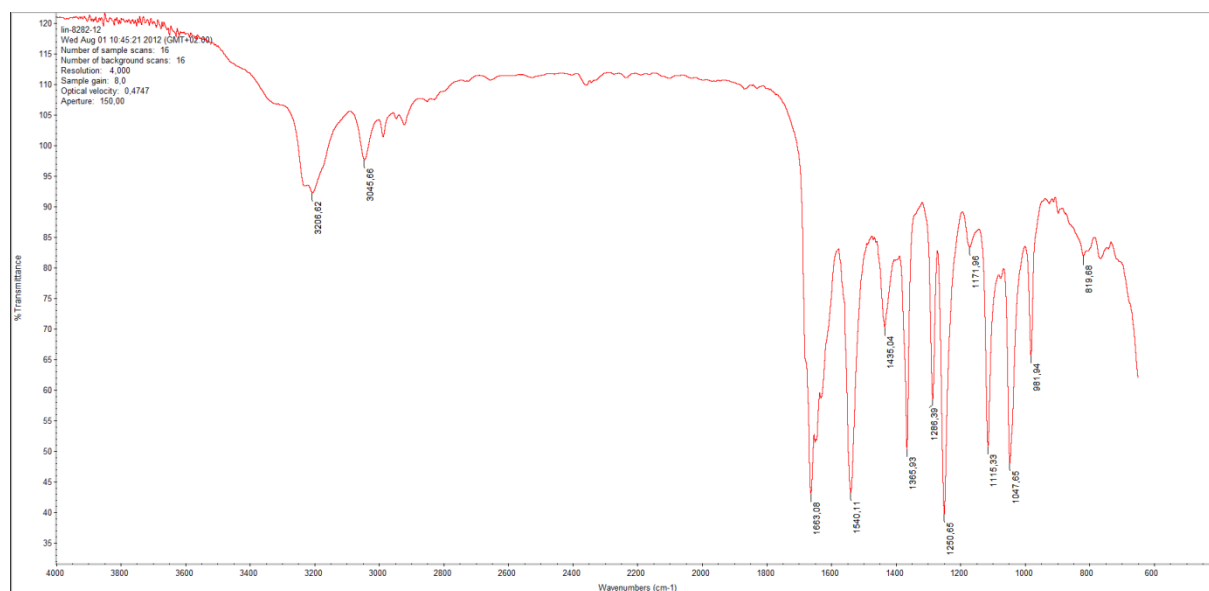
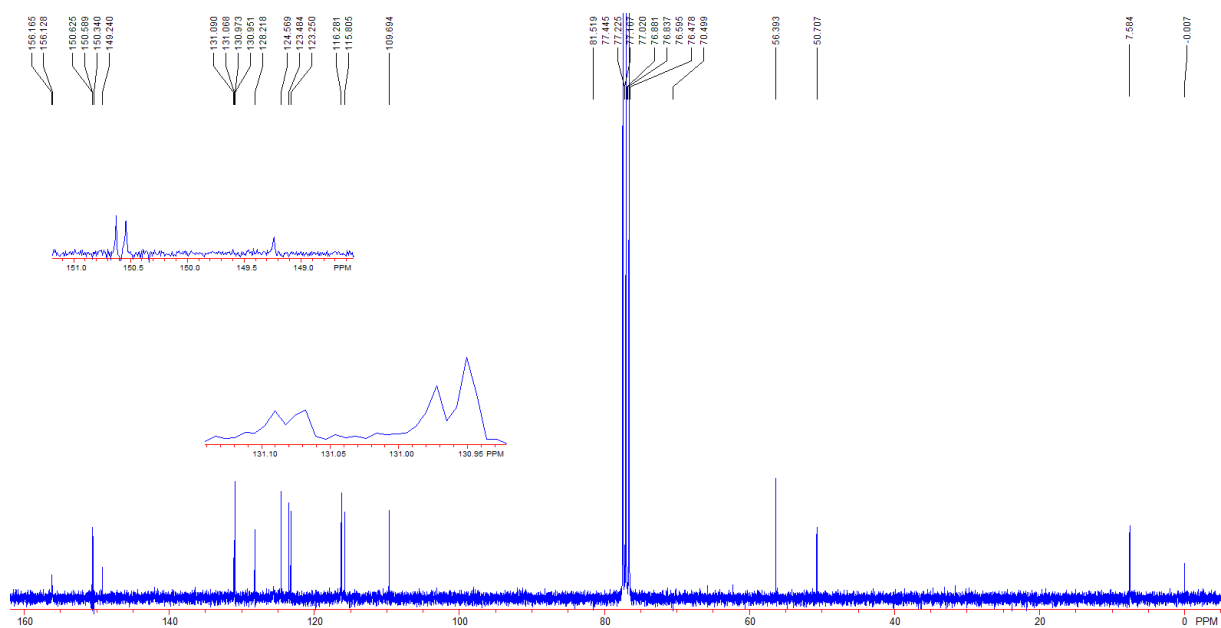


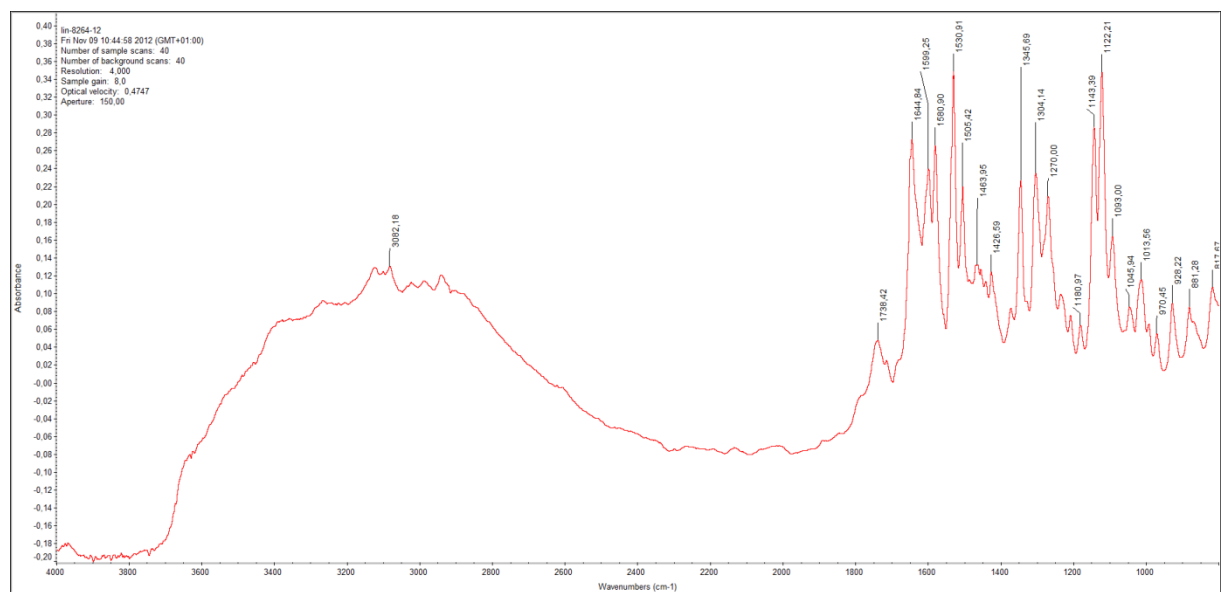
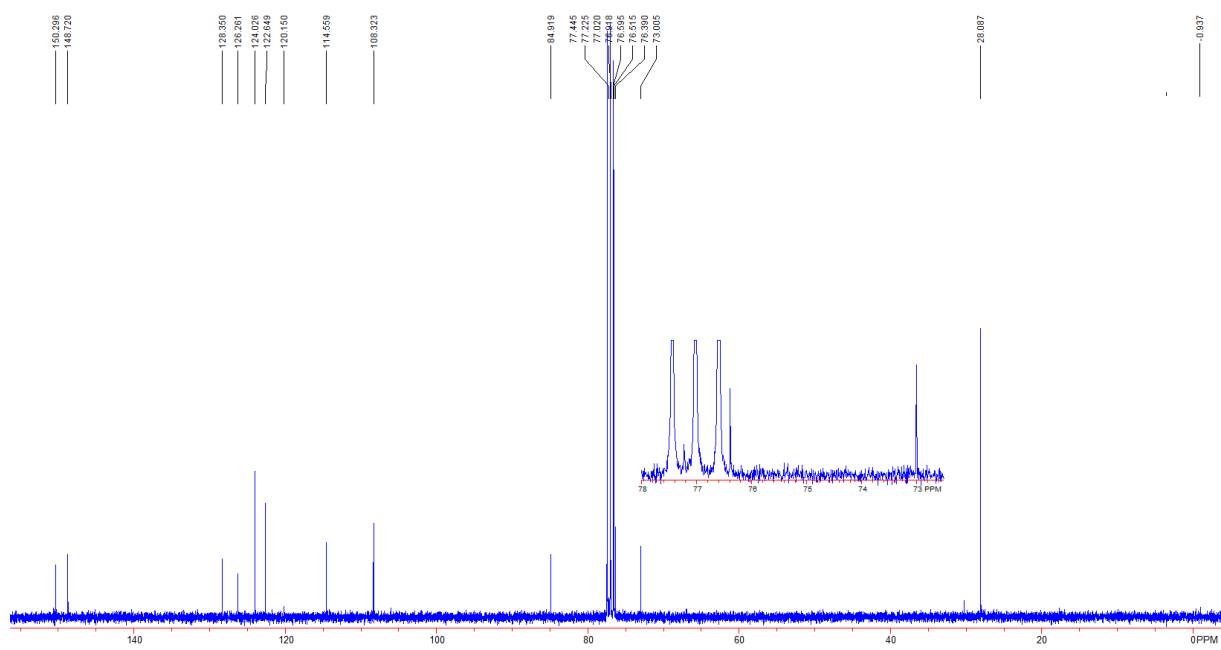
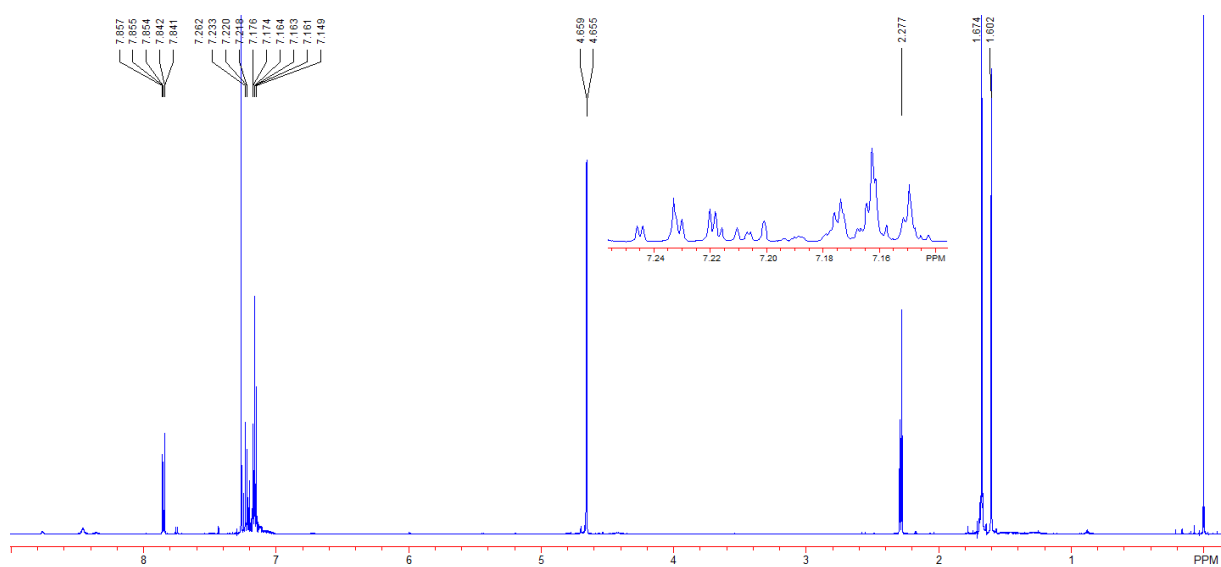


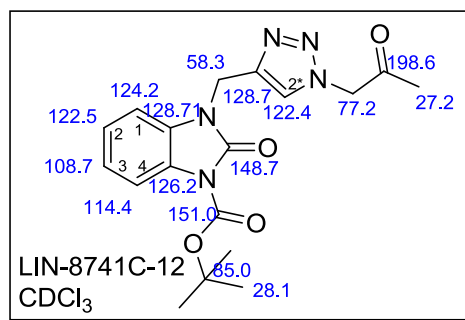


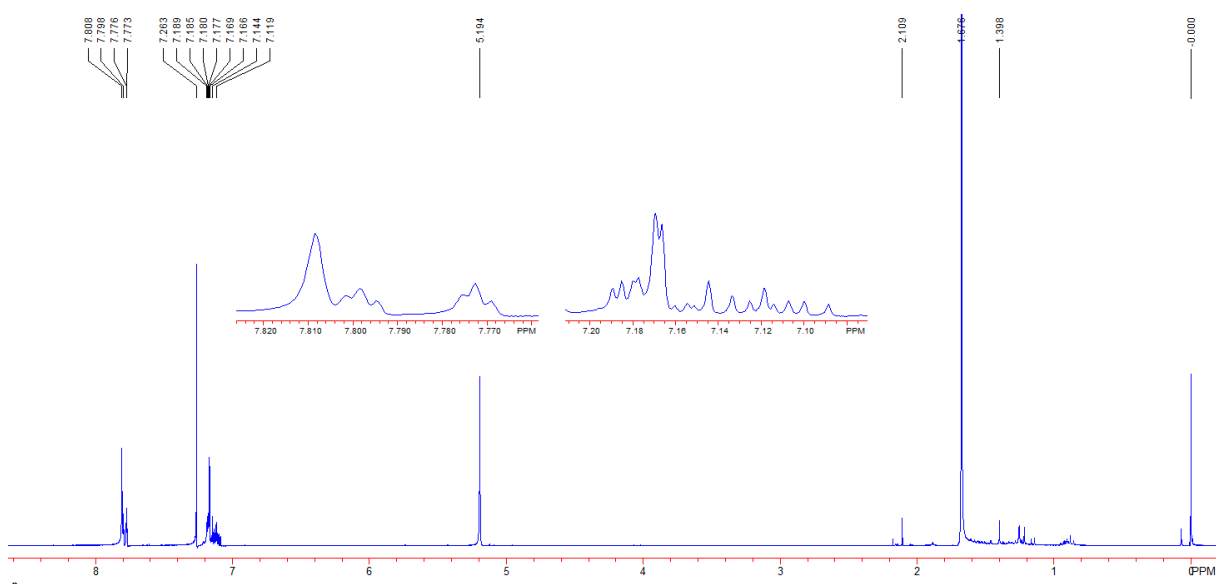
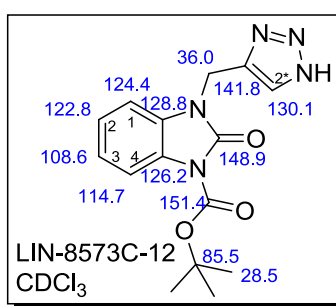
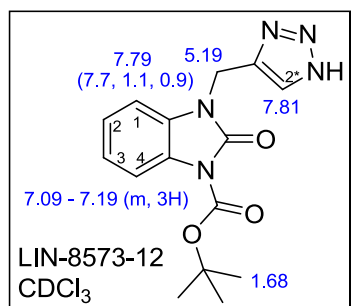
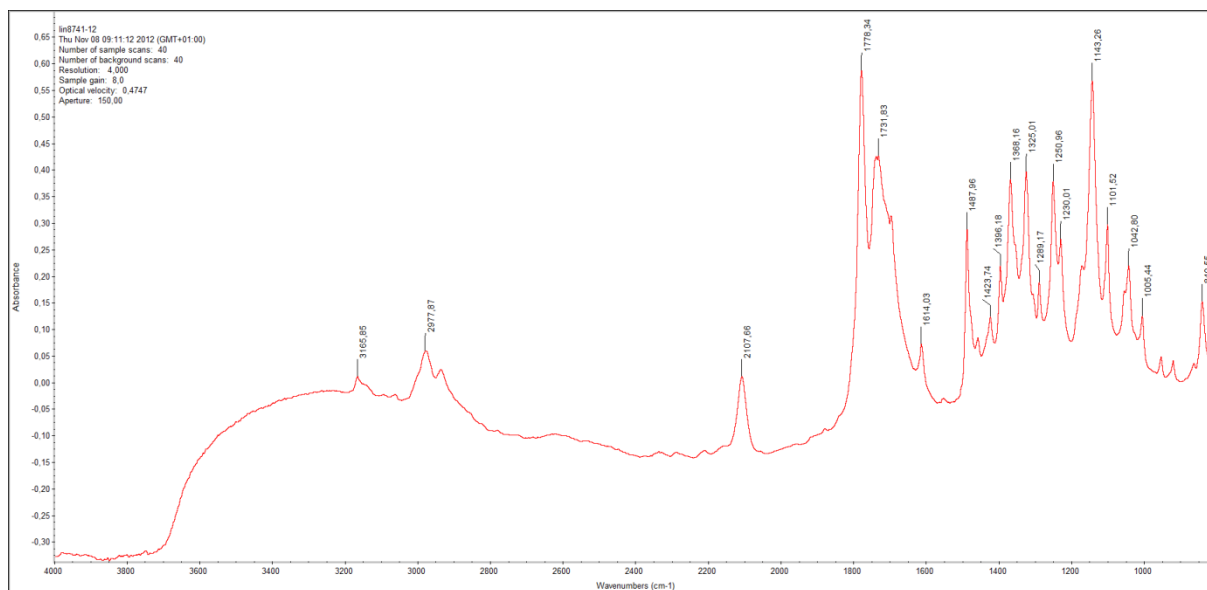


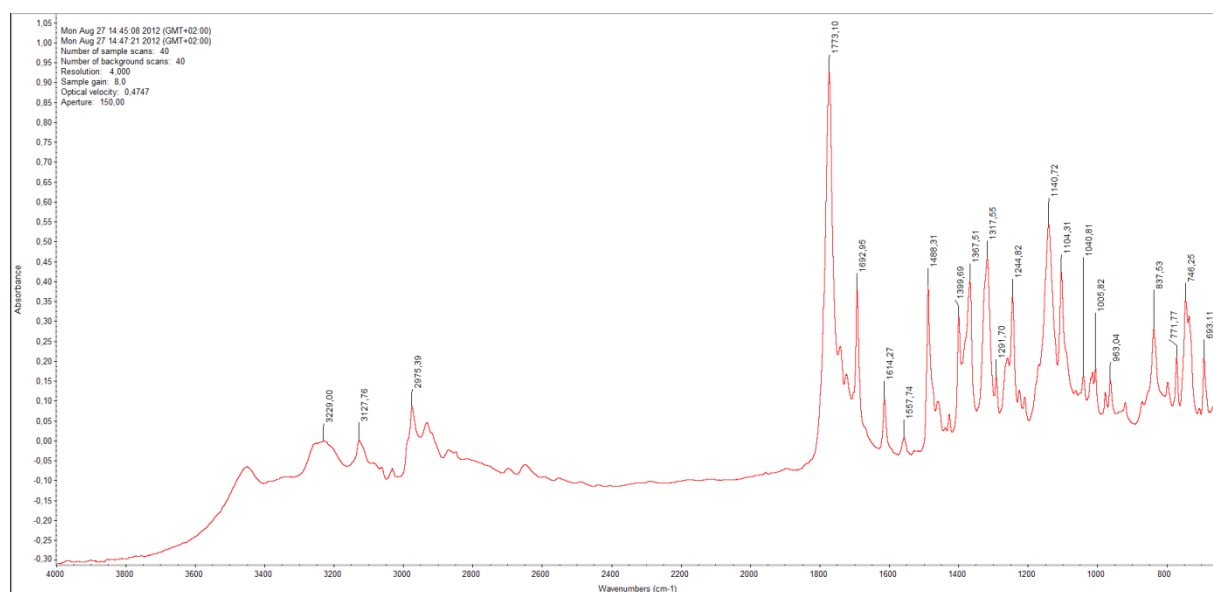
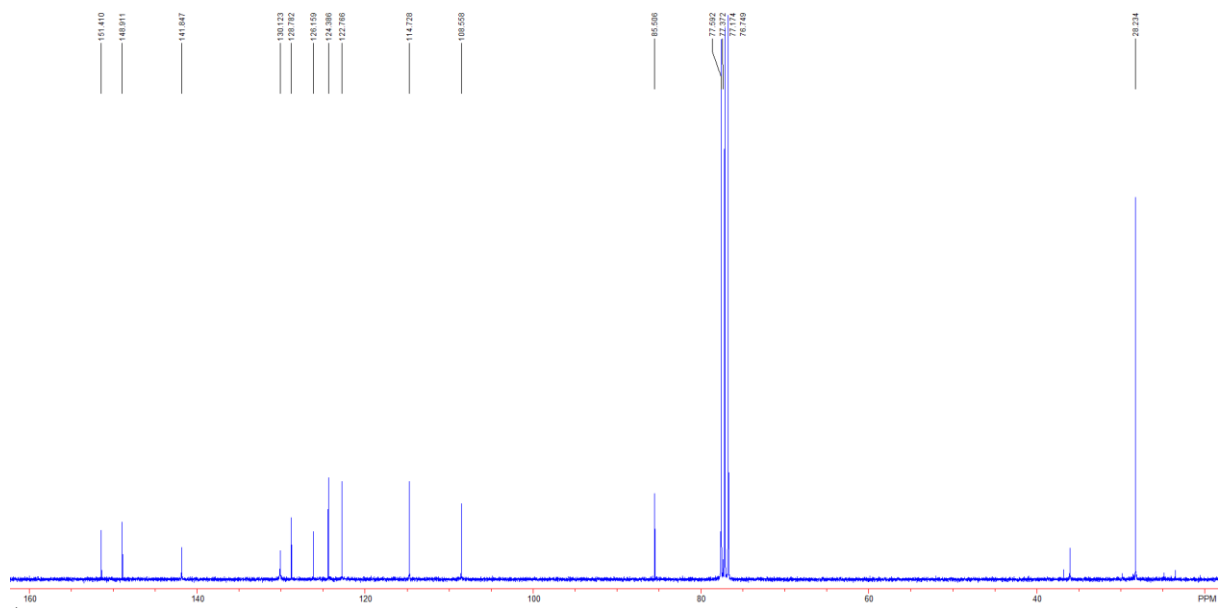












Zoznam publikačnej činnosti

Štatistika kategórií (Záznamov spolu: 13):

AEG Stručné oznámenia, abstrakty vedeckých prác v zahraničných karentovaných časopisoch (1)

AFD Publikované príspevky na domácich vedeckých konferenciách (3)

AFE Abstrakty pozvaných príspevkov zo zahraničných konferencií (1)

AFH Abstrakty príspevkov z domácich konferencií (1)

AFK Postery zo zahraničných konferencií (4)

AFL Postery z domácich konferencií (3)

AEG Stručné oznámenia, abstrakty vedeckých prác v zahraničných karentovaných časopisoch

AEG01 Kováčová, Silvia - Kováčiková, Lucia - Lintnerová, Lucia - Medveď, Miroslav - Sališová, Marta 16% - Boháč, Andrej 16% : Syntéza farmakofórových ligandov pre VEGFR-2 inhibíciu
Lit.: 2 záz.
In: Chemické listy. - Vol. 102, No. 8 (2008), s. 698-699
[60. jubilejný sjezd asociací českých a slovenských chemických spoločností. Olomouc, 1.-4.9.2008]

AFD Publikované príspevky na domácich vedeckých konferenciách

AFD01 Lintnerová, Lucia - Mikulec, Marcel - Sališová, Marta - Boháč, Andrej : Príprava inhibítora angiogenézy ako potenciálneho liečiva proti rakovine
Recenzované
Lit.: 7 záz., 3 schémy
In: Študentská vedecká konferencia 2007. 2. zväzok - chemická, geologická, geografická a didaktická sekcia. - Bratislava : Kartprint, 2007. - S. 53-55. - ISBN 978-80-88870-65-4
[Študentská vedecká konferencia 2007. Bratislava, 18.4.2007]

AFD02 Lintnerová, Lucia 40% - Gregáň, Fridrich 10% - Melicherčík, Milan, st. 10% - Boháč, Andrej 30% - Sališová, Marta 10% Návrh štruktúr a syntéza inhibítorov tumorovej neovaskularizácie s VEGFR-2 receptorovou selektivitou [elektronický dokument]
Recenzované
Lit.: 4 záz.
In: Študentská vedecká konferencia 2010. Zborník recenzovaných príspevkov (CD-ROM). - Bratislava : Univerzita Komenského, 2010. - S. 730-734. - ISBN 978-80-223-2819-7
[Študentská vedecká konferencia 2010. Bratislava, 28.4.2010]

AFD03 Lintnerová, Lucia 40% - Mikulec, Marcel 10% - Boháč, Andrej 40% - Sališová, Marta 10% Príprava

organického inhibítora VEGFR-2 receptoru, významného pre proces neovaskularizácie tumorov

Lit.: 6 záz., 5 obr.

In: Študentská vedecká konferencia PriF UK 2011. Zborník recenzovaných príspevkov [elektronický zdroj]. - Bratislava : Univerzita Komenského, 2011. - S. 950-954 [CD-ROM]. - ISBN 978-80-223-3013-8 [Študentská vedecká konferencia PriF UK 2011. Bratislava, 27.4.2011]

AFE Abstrakty pozvaných príspevkov zo zahraničných konferencií

AFE01 Boháč, Andrej 25% - Kováčiková, Lucia 25% - Lintnerová, Lucia 25% - Sališová, Marta 25%
Development of Organic VEGFR-2 Tyrosine Kinase Inhibitors

In: Joint Meeting on Medicinal Chemistry. - [S.l.] : [s.n.], 2011. - nestr. [1 s.]

[Hungarian-Austrian-Czech-Greek-Italian-Polish-Slovak-Slovenian Joint Meeting on Medicinal Chemistry. Catania, 30.6.-2.7.2011]

AFH Abstrakty príspevkov z domácich konferencií

AFH01 Kováčiková, Lucia 50% - Lintnerová, Lucia 30% - Boháč, Andrej 10% - Sališová, Marta 10% Structure
Based Modelling in Development of Pharmacophoric Compounds

Lit.: 1 záz.

In: Naše proteíny 2010 - Štruktúra a funkcia. - Bratislava : [s.n.], 2010. - S. 14

[Naše proteíny 2010 - Štruktúra a funkcia. Bratislava, 16.3.2010]

AFK Postery zo zahraničných konferencií

AFK01 Lintnerová, Lucia 20% - Sališová, Marta 16% - Boháč, Andrej 16% - Gregáň, Fridrich 16% -
Melicherčík, Milan, st. 16% - Medveď, Miroslav 16% Design and synthesis of sym and asym bispyridine
analogues of 1Y6A inhibitor

In: COST Action CM0602. Inhibitors of angiogenesis: design, synthesis, and biological
exploitation(ANGIOKEM). - Milano : University of Milano, 2009,. - S. 11

[Inhibitors of angiogenesis: design, synthesis and biological exploitation (ANGIOKEM). 3rd Workshop.
Favignana, 16.-18.10.2009]

AFK02 Kováčiková, Lucia 10% - Lintnerová, Lucia 10% - Cehlárik, Ľuboš 10% - Čibová, Alexandra 10% -
Sališová, Marta 10% - Hrčka, Rastislav 10% - Mikulec, Marcel 10% - Vojtičková, Margaréta 10% -
Hanquet, Gilles 10% - Boháč, Andrej 10% : Fragment, clickchemistry and structure based approaches in
development of VEGFR-2 Tyrosine Kinase Inhibitors

In: Drug Discovery Chemistry. - Needham : Cambridge Healthtech Institute, 2010. - S. 14

[Drug Discovery Chemistry. Conference. San Diego, 27.-29.4.2010]

POZNÁMKA: Vyšlo aj - Cost Action CM0602: Inhibitors of angiogenesis: design, synthesis and
biological exploitation (ANGIOKEM). Working Groups 2-3 Meeting. - [S.l.] : [s.n.], 2010. - nestr.[1 s.].

AFK03 Lintnerová, Lucia 40% - Sališová, Marta 30% - Boháč, Andrej 30% : Synthesis of Bispyridine Analogues of 1Y6A

In: Cost Action CM0602: Inhibitors of angiogenesis: design, synthesis and biological exploitation (ANGIOKEM). - [S.l.] : [s.n.], 2010. - S. 19

[Cost Action CM0602: Inhibitors of angiogenesis: design, synthesis and biological exploitation (ANGIOKEM). Working groups 2-3 Meeting. Dublin, 7.-9.5.2010]

AFK04 Lintnerová, Lucia 34% - Sališová, Marta 33% - Boháč, Andrej 33% : Synthesis of Novel click-chemistry ligands derived from 1Y6A

In: Cost Action CM0602: Inhibitors of angiogenesis: design, synthesis and biological exploitation (ANGIOKEM). - [S.l.] : [s.n.], 2010. - S. P 16

[Cost Action CM0602: Inhibitors of angiogenesis: design, synthesis and biological exploitation (ANGIOKEM). Training School and Meeting. Rhodes, 27.-30.9.2010]

AFL Postery z domácich konferencií

AFL01 Lintnerová, Lucia - Boháč, Andrej - Sališová, Marta : Syntéza organického inhibitora angiogenézy - potenciálneho liečiva s antitumorovou aktivitou

In: ChemZi. - Roč. 3, č. 1 (2007), s. 119

[59. zjazd chemikov. Tatranské Matliare, 2.-6.9.2007]

AFL02 Lintnerová, Lucia 25% - Kováčiková, Lucia 20% - Kováčová, Silvia 10% - Sališová, Marta 15% - Boháč, Andrej 30% : Synthesis of new pharmacophoric fragments for KDR inhibition

Lit.: 1 záz. n.

In: 10 More Years of Chirality in Chemistry and Medicinal Chemistry. - Bratislava : STU, 2008. - S. 60. - ISBN 978-80-227-2955-0

[10 More Years Chirality in Chemistry and Medicinal Chemistry. Bratislava, 16.-19.10.2008]

AFL03 Lintnerová, Lucia 50% - Sališová, M. 20% - Boháč, Andrej 30% : Application of computational chemistry in medicinal chemistry and drug design

In: Cost CM0602. Inhibitors of angiogenesis: design, synthesis and biological exploitation (ANGIOKEM). - [s.l.] : [s.n.], 2011. - S. 39

[Cost CM0602. Inhibitors of angiogenesis: design, synthesis and biological exploitation (ANGIOKEM). Final Conference. Smolenice, 11.-14.6.2011]

