

UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE

Prírodovedecká fakulta

**Syntéza derivátov arylaminooxazolu a ich využitie pri príprave
prekurzorov inhibítora KDR receptoru**

Diplomová práca

Študijný odbor: 4.1.14 Chémia

Študijný program: Organická a bioorganická chémia

Školiace pracovisko: Katedra organickej chémie

Školiteľ: doc. RNDr. Andrej Boháč, PhD.

Bratislava 2013

Bc. Peter Ribar



Univerzita Komenského v Bratislave
Prírodovedecká fakulta

ZADANIE ZÁVEREČNEJ PRÁCE

Meno a priezvisko študenta: Bc. Peter Ribar
Študijný program: organická a bioorganická chémia (Jednoodborové štúdium, magisterský II. st., denná forma)
Študijný odbor: 4.1.14. chémia
Typ záverečnej práce: diplomová
Jazyk záverečnej práce: slovenský

Názov: Syntéza derivátov arylaminooxazolu a ich využitie pri príprave prekursorov inhibítora KDR receptoru

Literatúra: J. Med Chem, Eur J. Med Chem, databázy Reaxys, SciFinder Scholar

Cieľ: príprava heterocyklických prekursorov a zlúčenín s predpokladanou antiangiogénnou aktivitou

Kľúčové slová: inhibícia angiogenézy, KDR receptor, oxazol, pyridín, pyrimidín, triazín

Vedúci: doc. RNDr. Andrej Boháč, CSc.
Oponent: RNDr. Peter Danko, PhD.
Oponent: Ing. Miroslav Kríž, PhD.
Katedra: PriF.KOrCh - Katedra organickej chémie
PriF vedúci katedry: doc. RNDr. Martin Putala, CSc.

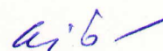
Dátum zadania: 01.09.2012

Dátum schválenia: 23.04.2013


doc. RNDr. Martin Putala, CSc.
vedúci katedry



študent



vedúci práce,
oponent, oponent

Prehlásenie

Čestne prehlasujem, že som predloženú diplomovú prácu spracoval samostatne s použitím uvedenej literatúry a ďalších informačných zdrojov.

V Bratislave 29. 04. 2013

.....

podpis autora práce

Chcel by som poďakovať všetkým, ktorí mi akýmkoľvek spôsobom pomohli pri spracovaní tejto diplomovej práce. Moja vďaka patrí najmä vedúcemu práce, doc. RNDr. Andrejovi Boháčovi, PhD. za vedenie a usmerňovanie, ako aj pani Mirke, ako aj ostatným pracovníkom Katedry organickej chémie PRIF UK. Za počítačové predikcie a návrhy štruktúr nových inhibítorov ďakujem Biomagi a Jurajovi Dobiašovi.

Osobitné poďakovanie patrí mojim rodičom a súrodencom za ich podporu a motiváciu a samozrejme mojej Žabke, bez ktorej by bolo moje štúdium oveľa náročnejšie.

Abstrakt

Bc. Peter Ribar: Syntéza derivátov arylaminooxazolu a ich využitie pri príprave prekursorov inhibítora KDR receptoru

Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra organickej chémie

Diplomová práca, 76 strán, 2013

Liečba nádorových ochorení predstavuje jednu z najväčších výziev súčasnej medicíny. Angiogenéza je proces, pri ktorom dochádza k vzniku nových ciev. Rast nádorových buniek vyžaduje vyššie nároky na výživu z ciev. Bez angiogenézy nie je možný progres nádorového ochorenia. VEGFR-2 receptor zohráva dôležitú úlohu v procese angiogenézy, jeho inhibícia preto predstavuje významný cieľ pri liečbe neoplastických ochorení. Uskutočnili sme úspešnú šesťstupňovú syntézu nízkomolekulového ligandu. Pri príprave potenciálneho inhibítora tumorovej angiogenézy sme vyskúšali niekoľko podmienok cyklotrimerizačných reakcií, v tomto prípade sme nenašli spôsob ako úspešne 2+2+2 cyklotrimerizáciu na málo reaktívnom oxazolcarbonitrile uskutočniť. Uskutočnili sme však prípravu prekursoru amidového inhibítora tumorovej angiogenézy, počas ktorej sme vypracovali metodiku prípravy amidov arylaminooxazolov.

Kľúčové slová: inhibícia angiogenézy, KDR receptor, oxazol, pyridín, pyrimidín, triazín

Abstract

Peter Ribar: Synthesis of aryl aminooxazole derivatives and their exploitation in the preparation of precursors of KDR receptor inhibitor

Comenius University in Bratislava, Faculty of Natural Sciences, Department of Organic Chemistry

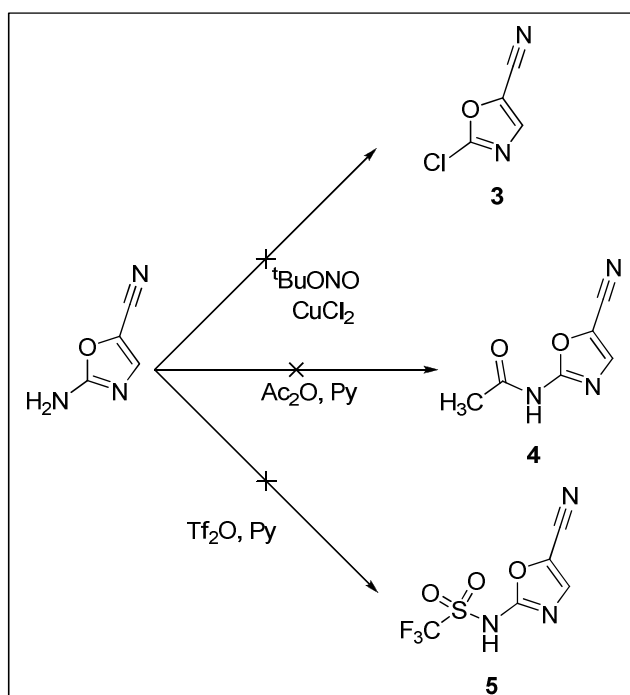
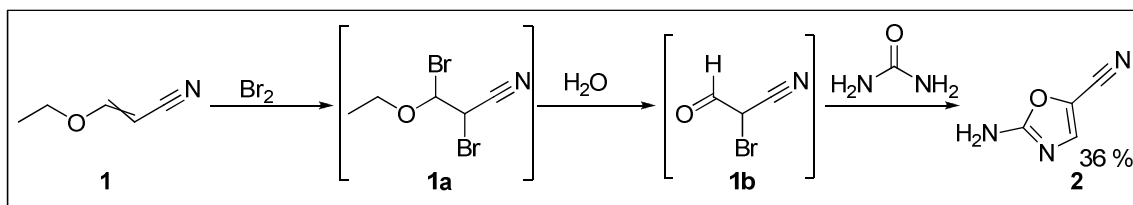
Diploma thesis, 76 pages, 2013

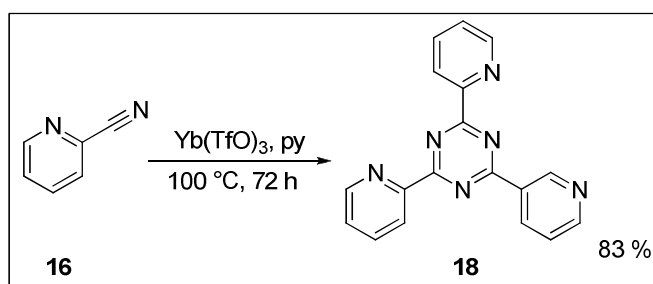
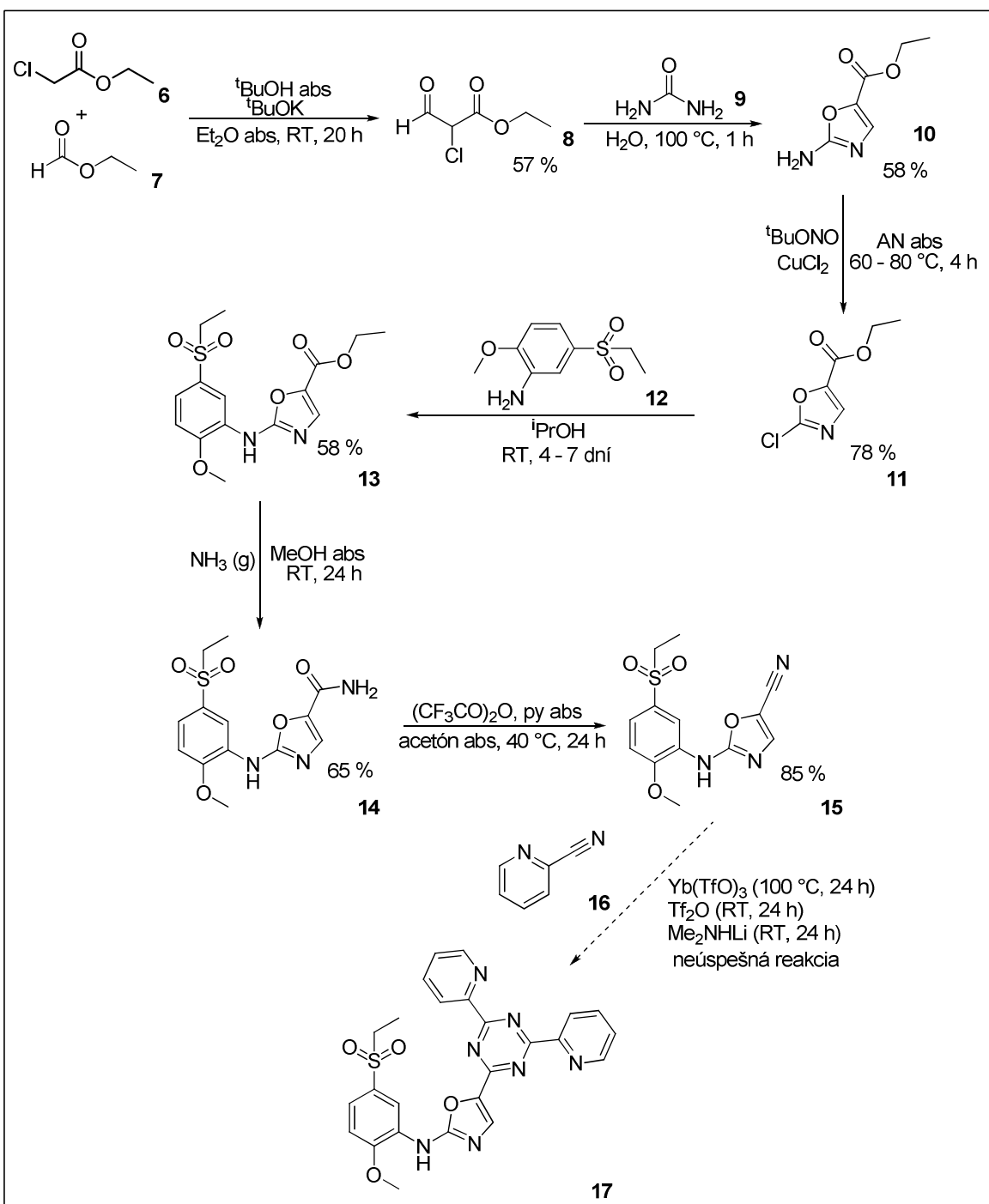
Cancer treatment is one of the biggest challenges of current medicine. Angiogenesis is a process of new vessels formation. A growth of tumor cells requires higher demands on oxygen and nutrition due to new cell formation. Without angiogenesis the progress of cancer is not possible. VEGFR-2 receptor plays a key role in angiogenesis; therefore its inhibition represents an important goal in a treatment of neoplastic diseases. We have performed a successful six-step synthesis of a low molecular weight ligand. When preparing a potential inhibitor of tumor angiogenesis, we have tried several different conditions of 2+2+2 cyclotrimerization reactions. In this case we were not successful due to the low reactivity of starting oxazolcarbonitrile. On the other side we have successfully performed a preparation of a precursor of tumor angiogenesis inhibitor, within that we have developed a new methodology for preparation of amides and aryl aminooxazoles.

Key words: angiogenesis inhibition, KDR receptor, oxazole, pyridine, pyrimidine, triazine

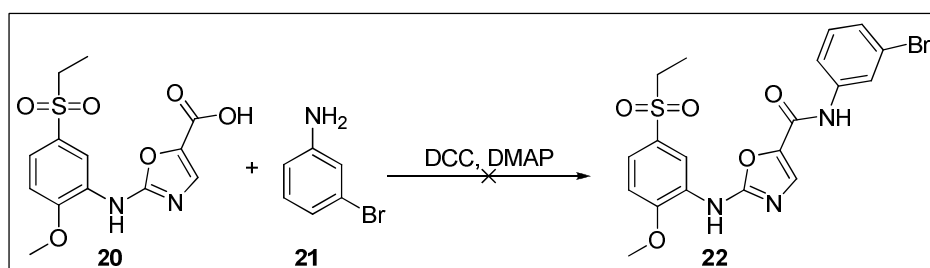
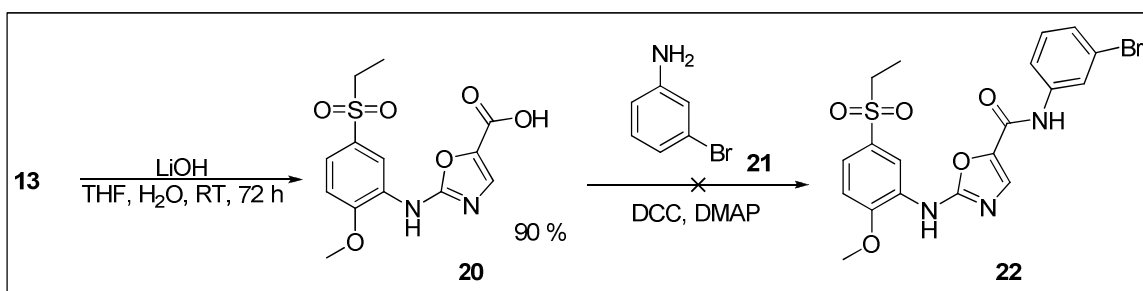
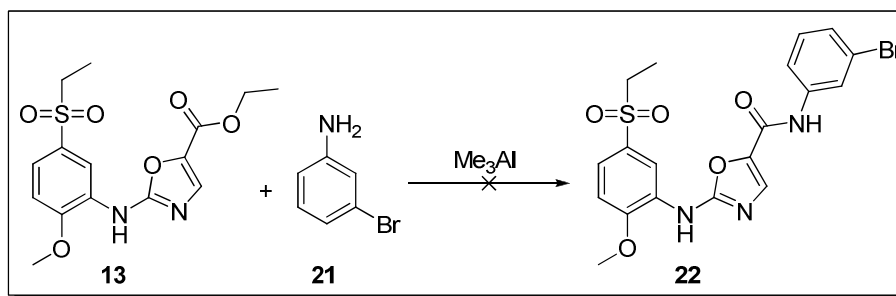
Grafický abstrakt

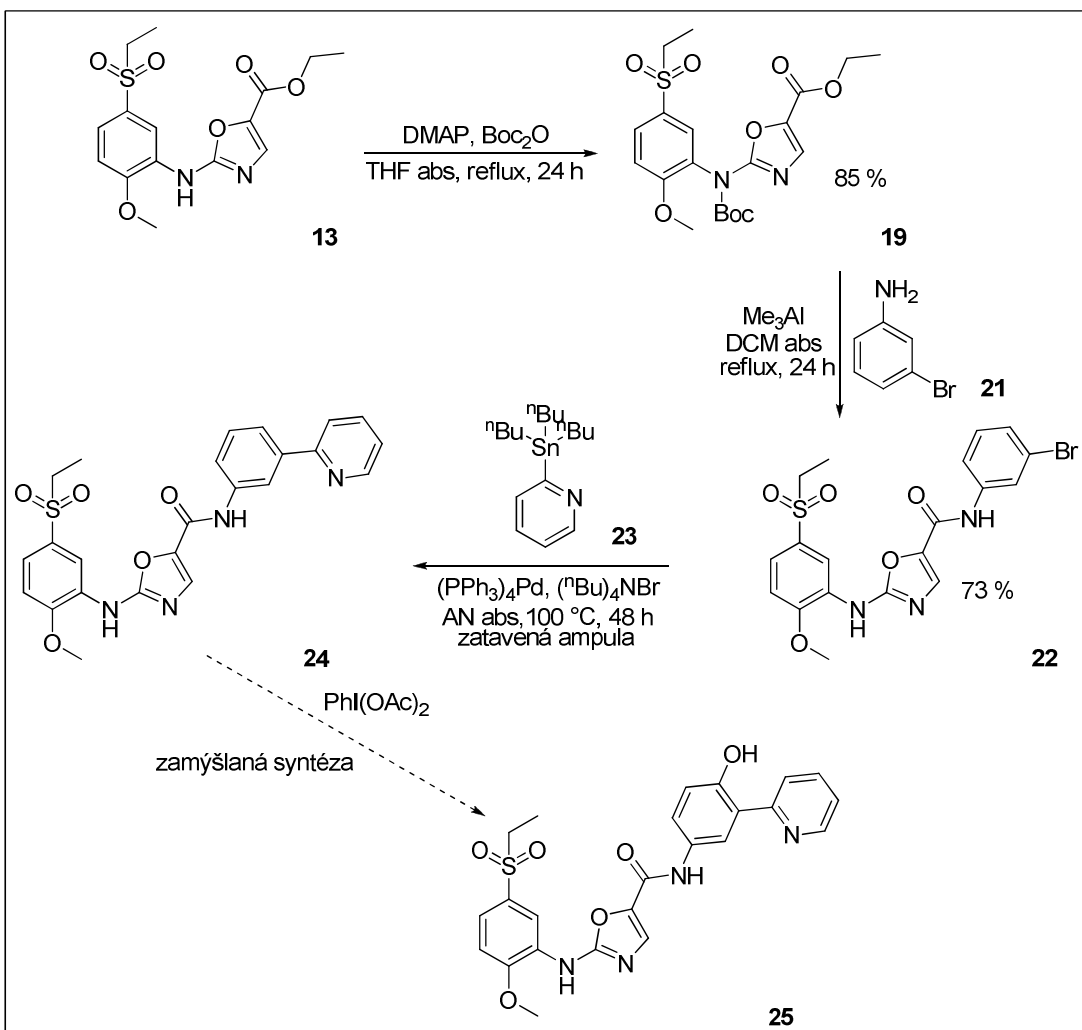
Syntéza potenciálneho inhibítora tumorovej angiogenézy 17



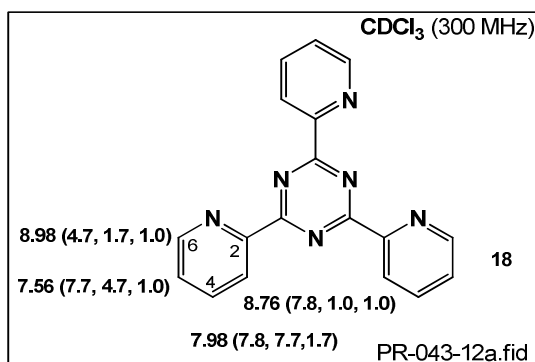
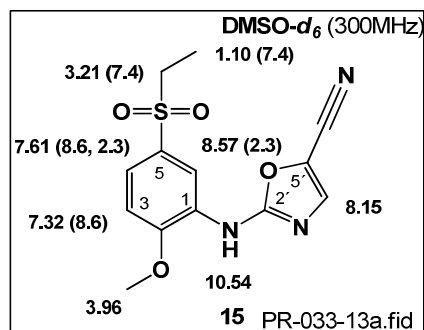
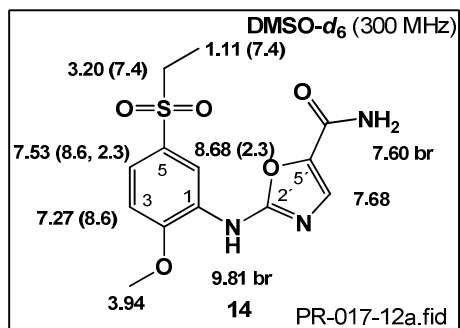
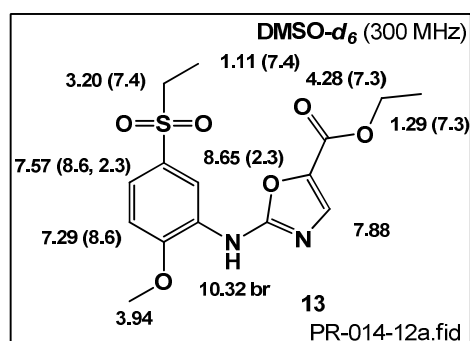
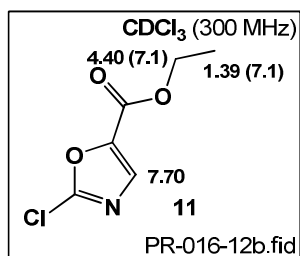
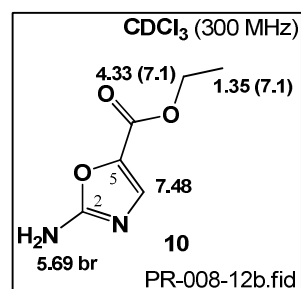
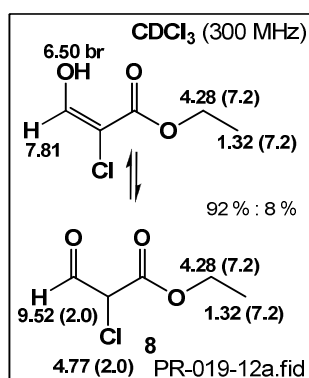
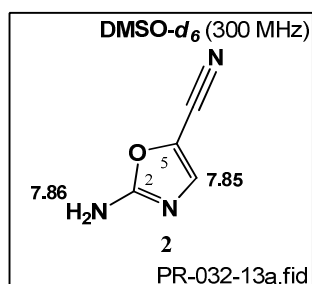


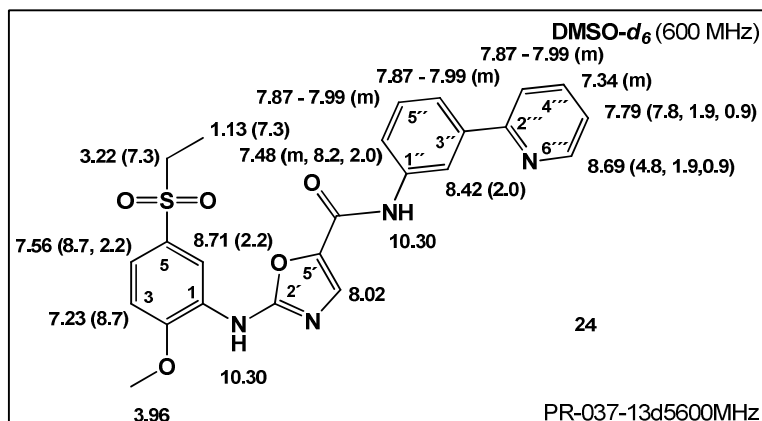
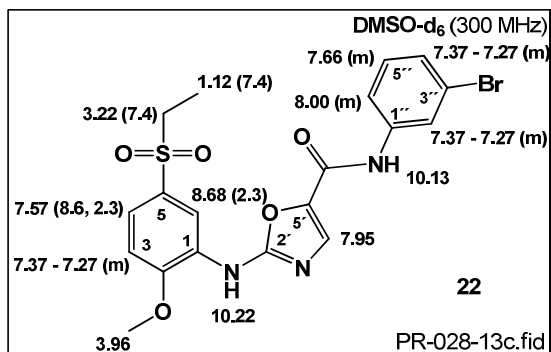
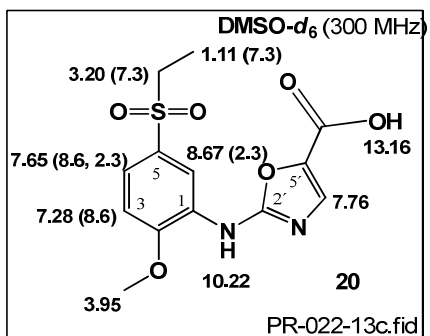
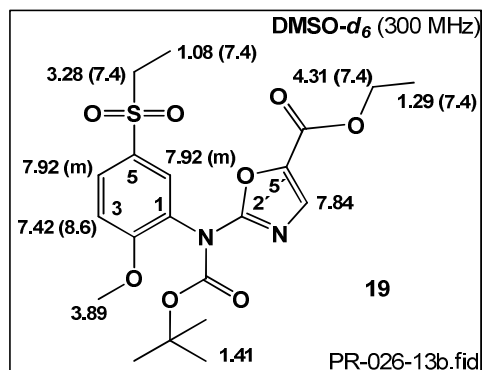
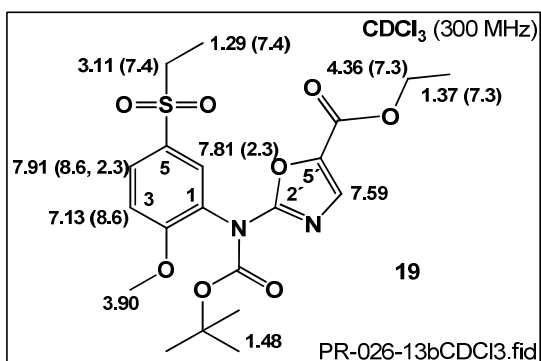
Syntéza potenciálneho inhibítora tumorovej angiogenézy 25





Grafický abstrakt ^1H -NMR spektier





Použité skratky

Ac₂O	anhydrid kyseliny octovej
AN	acetonitril
ATP	adenozíntrifosfát
BuLi	n-butyllítium
b. p.	teplota varu („boiling point“)
DCC	N,N'-dicyklohexylkarbodiimid
DCM	dichlórmétán
DGAT1	diglycerid acyltransferáza 1
DMAP	4-N,N-dimetylamínopyridín
DMSO	dimetylsufoxid
EB	endoteliálne bunky („endothelial cells“)
Et₂O	dietyléter
EtOAc	etyl acetát
FDA	úrad pre kontrolu potravín a liečiv („The Food and Drug Administration“)
FIK	fetálna pečenná kináza
FLC	rýchla kvapalinová chromatografia („Flash Liquid Chromatography“)
HV	vysoké vákuum, olejová výveva („High Vacuum“)
IČ	infračervená spektroskopia
Ig	Imunoglobulín
ⁱPrOH	Izopropyl alkohol
IMPDH II	inozín-5'-monofosfát dehydrogenáza II
LDA	diizopropylamid lítny
LC-MS (ESI+)	hmotnostná spektroskopia spojená s kvapalnou chromatografiou („Liquid Chromatography Mass Spectroscopy“) pozitívny mód
Me₃Al	Trimetylalumínium
Me₂NH	dimetylamín
Me₂NHLi	dimetylamid lítny
MeOH	metanol
NaOAc	octan sodný
NMR	nukleárna magnetická rezonancia
PDGFR	receptor rastových faktorov krvných doštičiek („Platelet-Derived

	Growth Factor Receptor“)
py	pyridín
RT	laboratórna teplota („Room Temperature“)
RVO	rotačná vákuová odparka
^tBuOH	terc-butanol
^tBuOK	terc-butoxid draselný
^tBuONO	terc-butyl nitrit
Tf₂O	anhydrid kyseliny trifluórmétánsulfónovej
TfOH	kyselina trifluórmétánsulfónová
THF	tetrahydrofurán
TLC	chromatografia na tenkej vrstve („Thin Layer Chromatography“)
TMS	tetrametylsilán
UV	ultrafialové žiarenie („Ultraviolet“)
VEGF	vaskulárny endoteliálny rastový faktor - „Vascular Endothelial Growth Factor“
VEGFR-2	transmembránový receptor pre vaskulárne endoteliálne rastové faktory (VEGF-A, PDGF...) - „Vascular Endothelial Growth Factor Receptor“ typ 2

Obsah

1.1	Ciele diplomovej práce	16
2	TEORETICKÁ ČASŤ	17
2.1	Angiogenéza	17
2.1.1	Nádorové ochorenia a angiogenéza	18
2.1.2	Štruktúra VEGFR-2 receptora a jeho funkcia v angiogenéze.....	19
2.1.3	Liečivá nádorových ochorení cielených na angiogézu	20
2.2	Biologická aktivita N-aryloxazol-2-amínov substituovaných v pozícii 5	23
2.3	Cyklotrimerizačné reakcie	25
2.3.1	[2+2+2] Cyklotrimerizačné reakcie za vzniku pyridínov	26
2.3.2	Reakcie nitrilov	28
3	EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	33
3.1	Materiál a použité metódy	33
3.2	Syntéza oxazolkarbonitrilového ligandu 15.....	34
3.2.1	Príprava 2-aminooxazol-5-karbonitrilu (2).....	34
3.2.2	Príprava 2-chlóroxazol-5-karbonitrilu (3)	36
3.2.3	Príprava N-(5-kyanooxazol-2-yl)acetamidu (4)	37
3.2.4	Príprava N-(5-kyanooxazol-2-yl)-1,1,1-trifluórometánsulfónamidu (5)	38
3.2.5	Príprava etylesteru kyseliny 2-chlór-3-oxopropánovej (8).....	38
3.2.6	Príprava etylesteru kyseliny 2-aminooxazolkarboxylovej (10).....	40
3.2.7	Príprava etylesteru kyseliny 2-chlórxazolkarboxylovej (11).....	41
	Príprava etyl 2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-karboxylátu (13)....	42
3.2.8	Príprava amidu kyseliny 2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino] oxazol-5-karboxylovej (14).....	43
3.2.9	Príprava 2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-karbonitrilu (15).	45
3.3	Príprava počítačom navrhnutého inhibítora tumorovej angiogenézy (17)	47
3.3.1	Príprava 2,4,6-tri(pyridín-2-yl)-1,3,5-triazínu (18)	47
3.3.2	Príprava 5-[4,6-di(pyridín-2-yl)-1,3,5-triazín-2-yl]-N-[5-(etylsulfonyl) -2-metoxyfenyl]oxazol-2-amínu (17).....	48
3.4	Príprava počítačom navrhnutého inhibítora angiogenézy 25.....	51
3.4.1	Syntéza etyl 2-[terc-butoxykarbonyl(5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl)amino]oxazol-5-karboxylátu (19)	51

3.4.2	Príprava kyseliny 2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-karboxylovej (20).....	53
3.4.3	Príprava N-(3-brómfenyl)-2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxypenylamino] oxazol-5-karboxamidu (22)	55
3.4.4	Príprava 2-(5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino)-N-(3-(pyridín-2-yl) fenyl) oxazol-5-karboxamidu (24)	58
4	DISKUSIA	61
4.1	Syntéza oxazolkarbonitrilového ligandu 15.....	61
4.1.1	Príprava 2-aminooxazol-5-karbonitrilu (2).....	61
4.1.2	Príprava 2-chlóroxazol-5-karbonitrilu (3)	62
4.1.3	Príprava N-(5-kyanooxazol-2-yl)acetamidu (4) a N-(5-kyanooxazol-2-yl)-1,1,1-trifluórometánsulfónamidu (5)	62
4.1.4	Príprava etylesteru kyseliny 2-chlór-3-oxopropánovej (8).....	63
4.1.5	Príprava etylesteru kyseliny 2-aminooxazolkarboxylovej (10).....	63
4.1.6	Príprava etylesteru kyseliny 2-chlóroxazolkarboxylovej (11).....	64
4.1.7	Príprava etyl 2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-karboxylátu (13)	64
4.1.8	Príprava amidu kyseliny 2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino] oxazol-5-karboxylovej (14).....	65
4.1.9	Príprava 2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-karbonitrilu (15).	65
4.1.10	Príprava 5-[4,6-di(pyridín-2-yl)-1,3,5-triazín-2-yl]-N-[5-(etylsulfonyl) -2-metoxyfenyl]oxazol-2-amínu (17).....	66
4.2	Príprava počítačom navrhnutého VEGFR2 inhibítora 25.....	68
4.2.1	Príprava N-(3-brómfenyl)-2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxypenylamino] oxazol-5-karboxamidu (22)	68
4.2.2	Príprava 2-(5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino)-N-(3-(pyridín-2yl) fenyl) oxazol-5-karboxamidu	70
5	ZÁVER	71
6	SUMMARY	73

ÚVOD

Liečba nádorových ochorení predstavuje komplikované a finančne náročné odvetvie medicíny. Rast a progresia nádorových buniek vyžaduje výživu, ktorú sprostredkujú podporné tkanivá, napr. cievna sieť. Nové cievy vznikajú v procese angiogenézy. Angiogenéza je za normálnych okolností v tele v riadenej rovnováhe. Nádorové bunky sú schopné vyvolať tumorovú angiogézu a týmto spôsobom si zabezpečujú dostatočnú výživu pre rast a tvorbu metastáz. Za jeden z najdôležitejších receptorov angiogenézy je považovaný VEGFR-2 receptor. Inhibícia tohto receptora napr. pomocou malých molekulových inhibítorov predstavuje zaujímavý biologický cieľ pre vývoj kandidátov na liečivá.

1.1 Ciele diplomovej práce

Cieľom diplomovej práce je pripraviť prekursor na syntézu potenciálnych inhibítorov tumorovej angiogenézy. Pripravené prekursor budú obsahovať základné aminooxazolové skelet. Prekursor budú slúžiť na prípravu molekúl s vhodnou štruktúrou, ktorá je stereoelektronicky komplementárna s aktívnym miestom VEGFR-2 receptora.

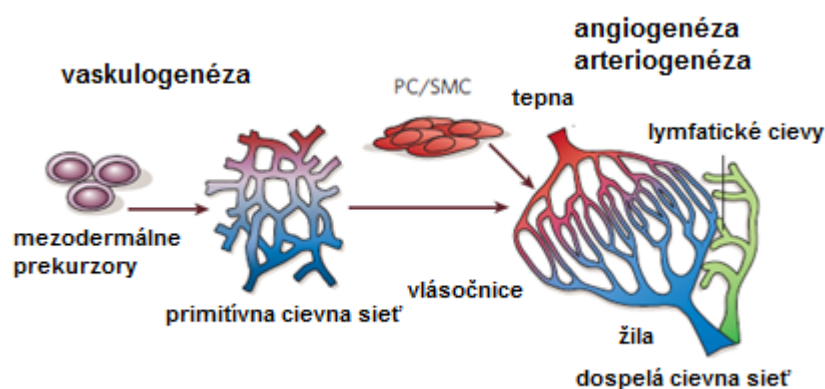
1. Metodika syntézy a príprava nitrilového nízkomolekulového ligandu **15**, prekursoru počítačom navrhnutého triazínového inhibítora tumorovej vaskularizácie **17**
2. Príprava potenciálneho triazínového nízkomolekulového inhibítora tumorovej angiogenézy napr. **17** pomocou [2+2+2] cyklotrimerizačnej reakcie nitrilov
3. Príprava amidového prekursoru **22** počítačom predikovaného inhibítora tumorovej angiogenézy **25**

2 Teoretická časť

2.1 Angiogenéza

Cievny systém vznikol počas evolúcie pre zabezpečenie prenosu kyslíka do vzdialených orgánov. Nie je preto žiadnym prekvapením, že cievy a cievny systém zohrávajú kľúčovú úlohu pri raste orgánov embrya a regenerácii tkaniva v dospelosti.¹

V embryu vznikajú cievy *de novo*, nazhromaždením mezodermálnych endoteliálnych prekursorov (angioblastov, progenitorov), ktoré sa diferencujú do primitívneho cievneho labyrintu (vaskulogenéza). Postupný rast ciev (angiogenéza) vytvára sieť, ktorá sa postupne pretvára na cievy a žily. Následným nahromadením pericytov a buniek hladkého svalstva (SMC) dochádza k obaleniu novovzniknutých tubúl endoteliálnych buniek (EB). Tento proces zabezpečí stabilitu a upraví prekrvenie novovzniknutých ciev (arteriogenéza). (Obrázok 1) V dospelosti sú cievy v kľude a len zriedkakedy tvoria nové vetvy, EB (endoteliálne bunky) si napriek tomu zachovávajú schopnosť vnímania a reagovania na signály angiogenézy.²



Obrázok 1. Vývoj cievneho systému počas vaskulogenézy.¹

Angiogenéza, je komplexný, viacstupňový proces, pri ktorom dochádza k tvorbe nových ciev z už existujúcej cievnej siete.³ Zohráva významnú úlohu v mnohých fyziologických procesoch, ako napr. hojenie rán, alebo rast sliznice maternice (regulovaná angiogenéza), ako aj pri patologických procesoch, napr. rakovinové ochorenia alebo

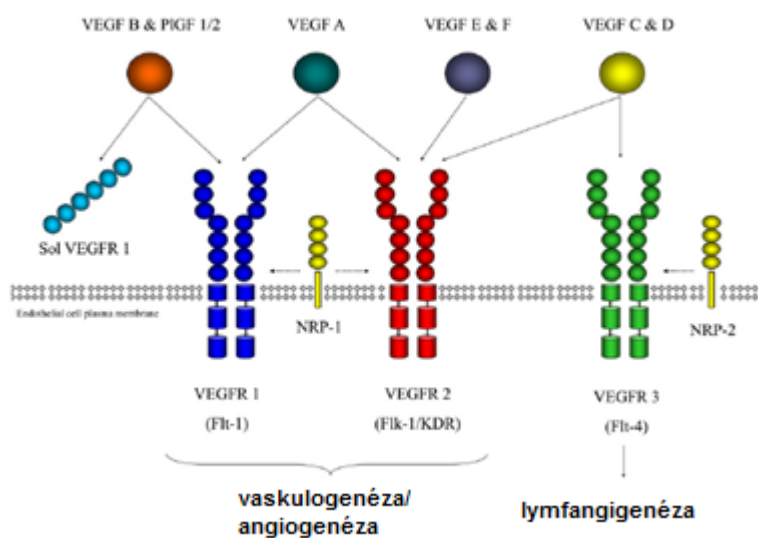
¹ Carmeliet, P. *Nature* **2005**, 438, 932 – 936.

² Potente, M.; Gerhardt, H.; Carmeliet, P. *Cell* **2011**, 146, 873 -887.

³ Vujasinović, T.; Buta, M.; Markicević, M.; Nikolić- Vukasavlević, D. *Arch. Onkol.* **2006**, 14, 126 - 130.

zápalové ochorenia (patologická angiogenéza).⁴ Za normálnych fyziologických podmienok je proces angiogenézy veľmi dobre regulovaný pomocou pro- a anti-angiogénnych faktorov a je spúšťaný len v prípade menštruačného cyklu, tehotenstva a pri hojení rán.⁵ Medzi hlavné regulátory angiogenézy patria vaskulárne endoteliálne rastové faktory (VEGF).³

Skupina VEGF pozostáva z piatich členov: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D a placentárneho rastového faktoru PlGF. Angiogénny efekt VEGF je prenášaný pomocou troch tyrozínkinázových receptorov: VEGFR-1, VEGFR-2 a VEGFR-3.⁵



Obrázok 2. Afinita rôznych VEGF cytokínov k jednotlivým izoformám VEGFR. NRP: neuropilín.⁶

2.1.1 Nádorové ochorenia a angiogenéza

Angiogenéza zohráva veľmi významnú úlohu pri raste nádorov a tvorbe metastáz.⁵ Aby nádor mohol rásť, potrebuje zásoby kyslíka a živín, ktoré získava prostredníctvom ciev. Nádorová bunka, ktorá sa nachádza blízko cievy, môže byť zásobovaná difúziou pokiaľ nedosiahne určitý limitný objem (1-2 mm³).^{7,5} Nádorová bunka potom môže existovať, ak jej to jej genetická výbava umožní, no ak sa chce nádor šíriť ďalej, musí si zabezpečiť dostatočný prísun kyslíka a živín. V takomto prípade nádorová bunka produkuje rastový faktor VEGF-A, ktorý aktivuje endoteliálne bunky (EB) k proliferácii, migrácii a tvorbe cievnych štruktúr. Takéto rozšírenie cievnej siete sa môže udiť viacerými spôsobmi: rastom ciev pomocou „klíčiacej“ angiogenézy (migrácia

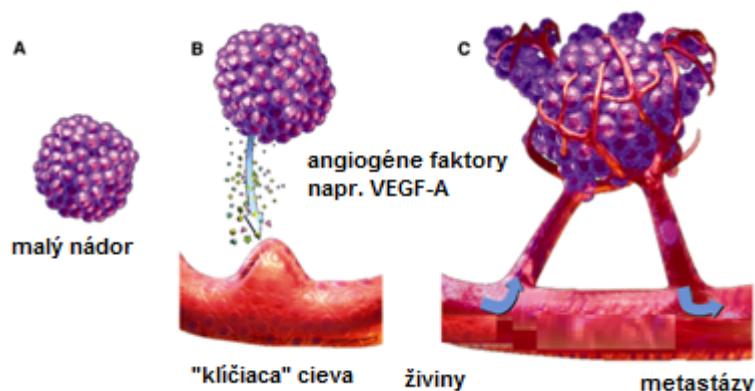
⁴ Tugues, S.; Koch, S.; Gualdi, L.; Li, X.; Cleasson-Welsh, L. *Mol. Aspects Med.* **2011**, 32, 88 – 111.

⁵ Gotnik, K. J.; Werheul, H. M. W. *Angiogenesis* **2010**, 13, 1 - 14.

⁶ Mazon, R.; Anderson, B.; Supiot, S.; Paris, F.; Deutsch, E. *Cancer Treat. Rev.* **2011**, 37, 476 – 486.

⁷ Jin, Y.; Jakobsson, L. *Cancers* **2012**, 4, 400 – 419.

a proliferácia EB), intususcepcie (rozdelenie ciev vytvorením pilierov), ko-opciou (nádorová bunka prijme existujúcu cievu), alebo „loopingom“ (nové cievy vznikajú pomocou pnutia).⁷



Obrázok 3. Rast nádoru. A- malý nevyživovaný nádor. B- „klíčiaca cieva“ C- plne vyživovaný nádor schopný šíriť metastázy.⁸

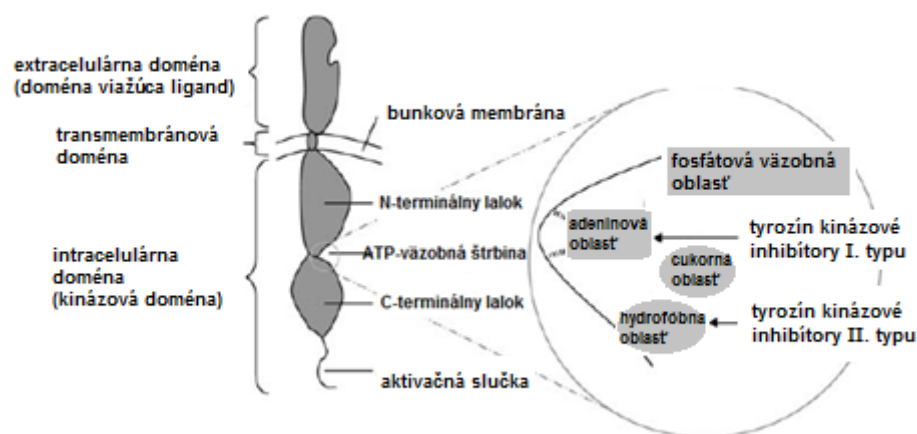
2.1.2 Štruktúra VEGFR-2 receptora a jeho funkcia v angiogenéze

Všetky proteínové tyrozínkinázové receptory pozostávajú z troch základných častí: a/ extracelulárnej domény, b/ jednoduchej transmembránovej domény a c/ intracelulárnej domény. Extracelulárna doména pozostáva zo siedmych imunoglobulínových (Ig) častí (D1 - D7).⁹ Intracelulárna doména pozostáva z dvoch lalokov, C- terminálneho a N- terminálneho, medzi ktorými sa nachádza ATP-väzobné miesto. ATP väzobné miesto pozostáva z troch oblastí: z adenínovej oblasti, cukornej oblasti a oblasti viazania sa fosfátového zvyšku. (Obrázok 4)

VEGFR signálnu dráhu iniciuje naviazanie sa dimerického ligandu (napr. VEGF-A) na extracelulárnu časť receptora, čo vyvolá homodimerizáciu receptora, následnú autofosforyláciu jeho intracelulárnej domény a finálnu bunkovú signalizáciu.⁹

⁸ <http://www.angioworld.com/DominiqueGarrel.html> (03. 01. 2013)

⁹ Pavlakovic, H.; Becker, J.; Albuquerque, R.; Wilting, J.; Abati, J. *Ann. N.Y. Sci.* **2010**, 1207, E7 - E15.



Obrázok 4. Štruktúra tyrozínkinázových inhibítorov. Extracelulárna doména receptora je schopná viazať špecifické ligandy, ako napr. VEGF. Intracelulárna doména zabezpečuje po aktivácii a dimerizácii vzájomnú autofosforyláciu kinázových častí. Transmembránová oblasť je ukotvená v bunkovej membráne a zabezpečuje oddelenie extra- a intracelulárnej oblasti. ATP väzobné miesto sa nachádza medzi dvomi lalokmi intracelulárnej domény a je schopná viazať inhibítory tyrozínkináz I a II typu.⁵

Naviazanie homodimérneho VEGFR ligandu na extracelulárnu časť receptora napomáha dimerizácii VEGF receptorových jednotiek, čo vedie k autofosforylácii špecifických tyrozínových zvyškov cytoplazmatickej kinázovej domény. Okrem týchto fosforylačných miest, ktoré slúžia na reguláciu vlastnej kinázovej aktivity receptora, obsahujú kinázové receptory aj ďalšie fosforylačné miesta, ktoré slúžia na kontrolu proteínových interakcií. Aktivovaný receptor potom naviaže interagujúce proteíny, ktoré sa viažu na konkrétne fosforylačné miesta. Takto naviazané signálne proteíny sa následne fosforylujú a po uvoľnení z receptora sú schopné fosforylovať ďalšie proteíny z cytosolu (druhotné posly). Aktivácia VEGFR-2 signálnych dráh vyvoláva viaceré biologické odpovede, ako napr. bunkovú aktiváciu, proliferáciu, diferenciáciu, migráciu, prežívanie a vaskulárnu permeabilitu.⁵

2.1.3 Liečivá nádorových ochorení cielených na angiogénzu

V roku 1971 prišiel Folkman¹⁰ s myšlienkou, že rôzne typy nádorových ochorení, je možné liečiť zastavením tumorovej vaskularizácie. V súčasnej dobe existuje veľké množstvo zlúčenín, ktoré vykazujú antiangiogénnu aktivitu. Veľkej väčšine z nich, s výnimkou látok zameraných na VEGF a VEGFR, sa nepodarilo potvrdiť dobré výsledky v predklinických testoch, ani v reálnych klinických skúškach.⁴

¹⁰ Folkman, J. N. *Engl. J. Med.* **1971**, 285, 1182 – 1186.

Jednotlivé antiangiogénne inhibítory je možné rozdeliť do nasledujúcich skupín: antiangiogénne inhibítory, ktoré interferujú s angiogénnymi rastovými faktormi; antiangiogénne inhibítory, ktoré interferujú s receptormi angiogénnych faktorov; inhibítory matrixových metaloproteináz a inhibítory adhézie endoteliálnych buniek.¹¹

➤ **Antiangiogénne inhibítory interferujúce s angiogénnymi faktormi**

V súčasnosti existuje viacero stratégií a liečiv, ktoré neutralizujú tvorbu a funkciu rastových faktorov napr. VEGF a bFGF, nakoľko tieto zohrávajú najdôležitejšiu úlohu v tumorovej angiogenéze. Medzi takéto liečivá patrí napr.:

Avastin (*Bevacizumab*, Genentech), čo je humanizovaná monoklonálna protilátka proti VEGF a zároveň aj prvé liečivo založené na princípe angiogenézy, ktoré FDA v roku 2004 schválila na liečbu rakoviny. Avastin je schopný neutralizovať biologicky aktívne formy VEGF, čo vedie k neutralizácii angiogénnych vlastností VEGF, vrátane mitogénnej aktivity EB a zvýšenej priepustnosti ciev.¹²

Aflibercept (Regeneron Pharmaceuticals a Sanofi-Aventis), je experimentálne liečivo, ktoré funguje ako pasca pre VEGF. Aflibercept je plne rozpustný ľudský fúzny proteín VEGFR, ktorý je schopný viazať VEGF-A a funguje ako „pascový“ receptor.

➤ **Antiangiogénne inhibítory, ktoré interferujú s receptormi angiogénnych faktorov (malé molekulové inhibítory)**

Neutralizácia angiogénnych faktorov (napr. VEGF) je komplikovaná, keďže ich koncentrácia v krvi nie je konštantná a časom sa mení. Oproti tomu množstvo VEGF receptorov v aktivovaných EB je relatívne nízke a teda je aspoň teoreticky nutné menšie množstvo molekúl na vyblokovanie všetkých receptorov.¹¹ Malé molekulové inhibítory pracujú na kompetitívnej báze- naviazaním sa do ATP-väzobného miesta tyrozínkinázového receptora.⁴

V súčasnej dobe existuje veľké množstvo inhibítorov kinázových receptorov, vyberáme len tie, ktoré blokujú VEGFR-2 receptor.

¹¹Mauriz, J. L.; González-Gallego, J. J. *Pharm. Sci.***2008**, 97, 4129 – 4154.

¹²Shojaei, F. *Cancer Lett.***2012**, 320, 130 – 137.

Sorafenib tozylát (*Nexavar*; Bayer, FDA 2005) je malý molekulový inhibítor PDGFR, VEGFR-2 a VEGFR-3. V súčasnosti sa používa na liečbu rakoviny obličiek.

Sunitinib L-malát (*Sutent*; Pfizer, FDA 2006) je perorálne podávaný tyrozínkinázový inhibítor s protinádorovým a antiangiogénnym účinkom. Sunitinib vykazuje inhibičnú aktivitu voči viacerým biologickým cieľom, medzi ktoré patria VEGFR-1,2,3, ako aj receptor rastových faktorov derivátov krvných doštičiek (PDGFR α a β), fetálna pečenevá kináza 3 (FLK 3) a ďalšie. Sunitinib sa v súčasnosti používa na liečbu pokročilého karcinómu obličiek a gastrointestinálneho stromálneho tumoru.

Pazopanib (*Votrient*; GlaxoSmithKline, FDA 2009) je orálne podávaný malý molekulový inhibítor VEGFR-1, 2, 3 a PDGFR. V súčasnej dobe je vo fáze III klinických testov aj pre viaceré nádorové ochorenia.¹³

➤ **Inhibítory matrixových metaloproteináz**

Matrixové metaloproteíny zohrávajú významnú úlohu v procese patologickej angiogenézy, keďže sú zodpovedné za degradáciu extracelulárnej siete, čím umožňujú prienik EB buniek cez bazálnu membránu a ich prístup k tumoru.

Funkcia inhibítorov matrixových metaloproteináz spočíva v inhibícii VEGF indukovanej migrácii, ako aj k zamedzeniu vytvárania priechodov v bazálnej membráne.¹¹

➤ **Inhibítory adhézie endoteliálnych buniek**

Migrácia EB závisí na proteínoch extracelulárnej siete. Adhézia EB je sprostredkovaná cez receptory bunkovej adhézie, ktoré sa nazývajú integríny. Integríny sa vo veľkých množstvách nachádzajú v nádorových cievach. Z toho vyplýva, že zablokovanie týchto integrínov môže mať antitumorové, antiangiogénne a antistereolitické účinky.⁴

Vitaxín (*Ixsys* a *MedImune*) je humanizovaná monoklonálna protilátka, ktorá inhibuje adhéziu endoteliálnych buniek, proliferáciu *in vitro* a angiogénu *in vivo*.¹¹

¹³ Wu, H. C.; Huang, C. T.; Chang, D. K. *J. Cancer Mol.* **2008**, 4, 37 – 45.

2.2 Biologická aktivita N-aryloxazol-2-amínov substituovaných v pozícii

5

Databázy Reaxys a SciFinder Scholar opisujú 775 zlúčenín, ktoré vo svojej štruktúre obsahujú N,5-diarylamino-2-oxazolový fragment. N,5-diarylamino-2-oxazol je v súčasnej dobe možné nájsť vo veľkom počte biologicky aktívnych látok.^{14,15}

Jednotlivé zlúčeniny obsahujúce N,5-diarylamino-2-oxazol vykazujú biologickú aktivitu voči viacerým biologickým cieľom, ktoré sa podieľajú na nádorových ochoreniach. Medzi tieto ciele patria: VEGFR (264 zlúčenín),¹⁶ inozínmonofosfát dehydrogenáza II (242),¹⁷ receptor epidermálneho rastového faktoru (228),¹⁷ cyklín-závislé kinázy 2 a 4 (225),¹⁸ receptor rastového faktoru krvných doštičiek (225),¹⁸ kapsaicínový receptor (87),¹⁹ proteín tyrozín fosfatáza 1B (55),²⁰ diacylglycerol acetyltransferáza (41),²¹ cKit tyrozínkináza (19),²² Flt1 a Flt3 receptorová kináza (18),²³ tubulíny (16)²⁴ a ďalšie... (Obrázok 5).

Zlúčeniny, ktoré obsahujú N,5-diarylamino-2-oxazol, sa využívajú aj ako antiangiogéne a antitumorové látky.^{16,17} Používajú sa tiež ako antibiotiká²⁵, imunosupresíva²⁵, protizápalové²⁵ a protivirálne látky,¹⁷ fungicídy,¹⁷ ale aj ako antireumatiká²² a anti-diabetiká²⁰.

¹⁴ <https://www.reaxys.com/reaxys/secured/start.do> (04. 01. 2013)

¹⁵ <https://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/> (20. 11. 2012)

¹⁶ Harris, P. A.; Cheung, M.; Hunter, R. N.; Brown, M. L.; Veal, J. M.; Nolte, R. T.; Wang, L.; Liu, W.; Crosby, R. M.; Johnson, J. H.; Epperly, A. H.; Kumar, R.; Luttrell, D. K.; Stafford, A. F. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 1610 – 1619.

¹⁷ 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.; Witmer, M. R.; Tredup, J. A.; Chen, B. C.; Yhao, R.; Bednarz, M. S.; Cheney, D. L.; MacMaster, J. F.; Miller, L. M.; Berry, K. K.; Harper, T. W.; Barrish, J. C.; Hollenbaugh, D. L.; Iwanowicz, E. J. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2127 – 2130.

¹⁸ WO2004/4032882 A2, **2004**.

¹⁹ US2009/124666 A1, **2009**.

²⁰ WO2005/116003 A2, **2005**.

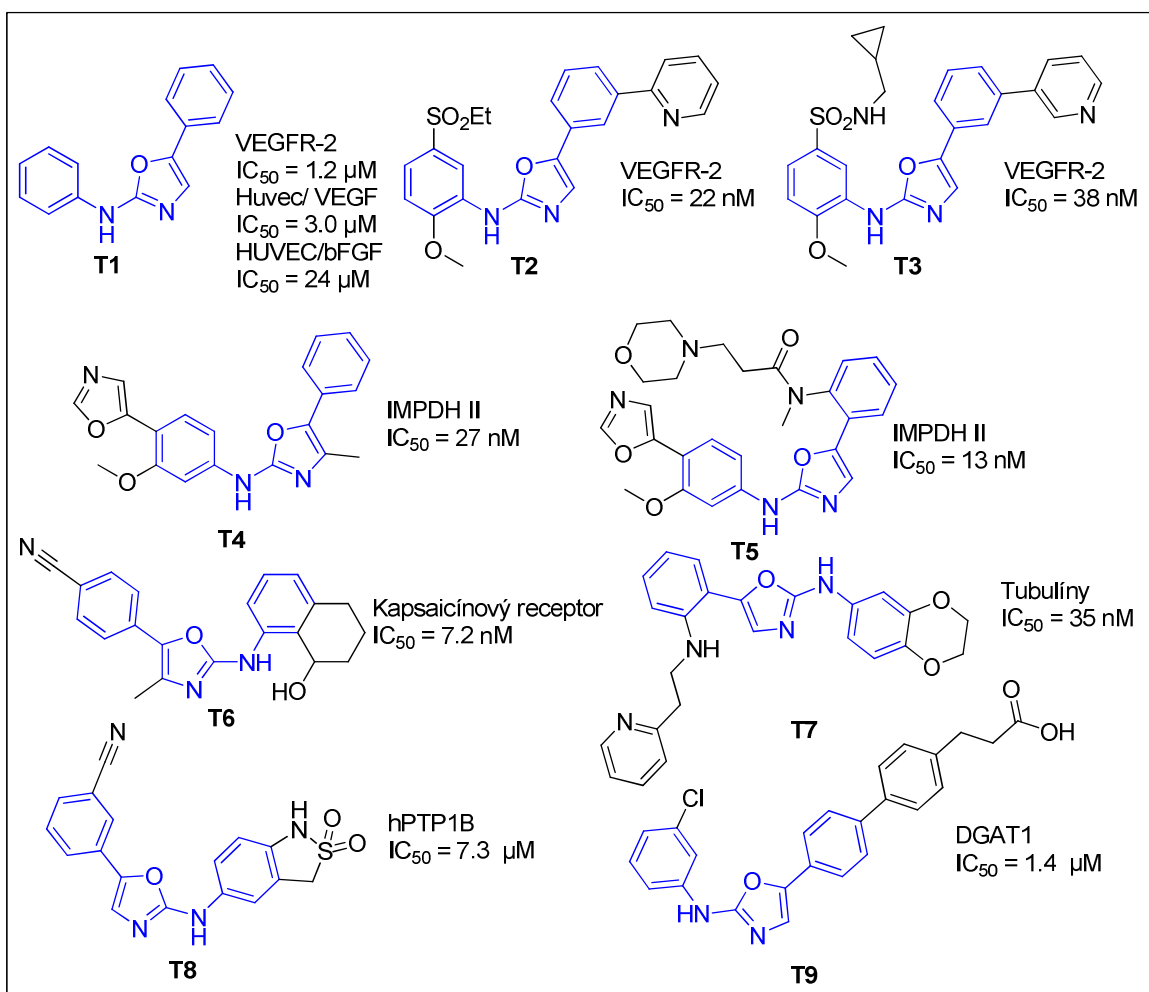
²¹ WO2007/126957 A2, **2007**.

²² WO2006/106437 A2, **2006**.

²³ MacHrouhi, F.; Ouhamou, N.; Bukhtiyarova, M.; Ehrlich, P. J.; Klon, A. E.; Laderoute, K.; Calaoagan, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 6394 – 6399.

²⁴ Ouyang, X.; Piatnitski, E. L.; Pattaropong, V.; Chen, X.; He, H.; Kiselyov, A. S.; Velankar, A.; Kawakami, J.; Labelle, M.; Smith, L.; Lohman, J.; Lee, S. P.; Malikzay, A.; Fleming, J.; Gerlak, J.; Wang, Y.; Rosler, L. R.; Zhou, K.; Mitelman, S.; Camara, M.; Surguladze, D.; Dooby, J. F.; Tuma, C. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 1191 – 1196.

²⁵ WO2004/000214 (A2), **2003**.



Obrázok 5. Štruktúra N,5-diarylmino-2-oxazolu **T1** a ďalších zlúčenín obsahujúcich tento farmakofórny fragment, ich biologická aktivita a testovaný biologický cieľ.²⁶

²⁶ Lintnerová, L.; Kováčová, L.; Hanquet, G.; Boháč, A. J. Het. Chem. **2013** v tlači.

2.3 Cyklotrimerizačné reakcie

Heterocyklické aromatické zlúčeniny predstavujú v súčasnej dobe jednu z najzaujímavejších častí syntetickej organickej chémie. Väčšina látok syntetizovaných v prírode a veľmi významná skupina priemyselne vyrábaných chemikálií obsahuje vo svojej štruktúre heterocykly. Heterocykly majú nesmierny biologický a priemyselný význam a zohrávajú tiež dôležitú úlohu v rôznych biologických procesoch.

Väčšina liečiv a biologicky aktívnych agrochemikálií má heterocyklickú štruktúru. Heterocyklus obsahuje aj veľké množstvo chemikálií používaných v kozmetickom priemysle, priemysle plastov a tiež množstvo zlúčenín používaných v priemysle nosičov informácií.²⁷ Významné postavenie medzi týmito zlúčeninami patrí pyridínom a 1,3,5-triazínom. Z tohto dôvodu bolo vyvinuté veľké úsilie pri vývoji syntetických metód prípravy takýchto zlúčenín.

Multisubstituované pyridíny sa štandardne pripravujú pomocou aromatických elektrofilných substitúcií, alebo pomocou kovom katalyzovaných couplingových reakcií.²⁸ Štandardná syntéza s-triazínov vychádza z 2,4,6- trichlór-s-triazínu.²⁹ Hoci sú tieto reakcie účinné, často vyžadujú viacstupňové syntézy. Pri využití aromatických elektrofilných substitúcií sme navyše obmedzení elektrónovým účinkom funkčných skupín a stáva sa, že je veľmi ťažké, alebo dokonca nemožné pridať určitú funkčnú skupinu na aromatický kruh.²⁸

Oproti tomu [2+2+2] cyklotrimerizačné reakcie sú veľmi efektívne, keďže v jednom kroku vytvárajú viac väzieb C-C, alebo C-heteroatóm. Ďalším veľmi dôležitým rysom [2+2+2] cykloadičných reakcií je ich veľká tolerancia k množstvu funkčných skupín, ako napr. alkoholy, amíny, alkény, estery, halogenidy a nitrily.²⁸ Medzi veľké nevýhody týchto reakcií patrí fakt, že často poskytujú neželané vedľajšie produkty, medzi ktoré v prípade cyklotrimerizácie za vzniku pyridínov patria substituované benzény. Tieto vedľajšie produkty je však možné minimalizovať technikami pomalého pridávania, alebo technikou veľkého zriedenia.³⁰

²⁷ Shaaban, M. R.; El-Sayed, R.; Elwahy, A. H. M. *Tetrahedron* **2011**, 67, 6095 – 6130.

²⁸ Chopade, P. R.; Louie, J. *Adv. Synth. Catal.* **2006**, 348, 2307 - 2327.

²⁹ Srinivas, K.; Srinivas, U.; Rao, V. J.; Bhanuprakash, K.; Kishore, K. H.; Murty, U. S. N. *Bioorg. Medicinal Chem. Lett.* **2005**, 15, 1121 – 1123.

³⁰ Xu, F.; Wang, C.; Li, X.; Wan, W. *Chem. Sus. Chem.* **2012**, 5, 854 – 857.

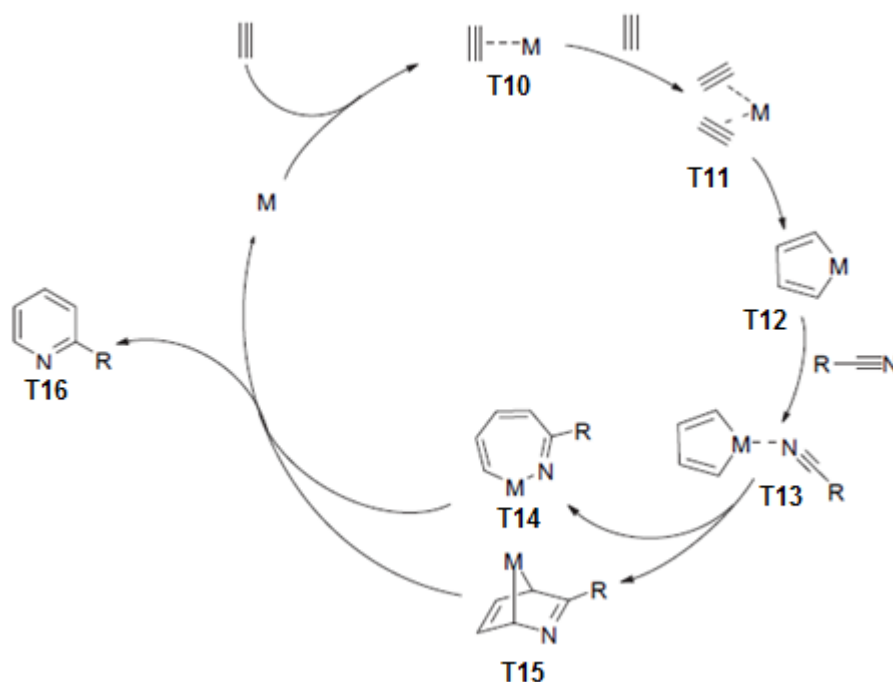
2.3.1 [2+2+2] Cyklotrimerizačné reakcie za vzniku pyridínov

Pyridínový fragment sa nachádza vo veľkom množstve molekúl používaných vo farmaceutickom priemysle. Z tohto dôvodu sa kladie dôraz na ich jednoduchú a bezodpadovú syntézu. Medzi takéto spôsoby syntézy patrí aj kovom katalyzovaná [2+2+2] cyklotrimerizácia alkínov s nitrilmi.³¹

[2+2+2] Cyklotrimerizačné reakcie katalyzované prechodným kovom patria v dnešnej dobe medzi najjednoduchší spôsob prípravy viac substituovaných pyridínov. Tieto reakcie sa vyznačujú veľkou účinnosťou.³⁰ Na katalýzu takýchto reakcií sa používajú komplexy prechodných kovov, ako napr.: Co, Rh, Fe, Ru, Ti, Ta a.i.³² Všeobecný mechanizmus kovom katalyzovanej cyklotrimerizačnej reakcie alkínov s nitrilom znázorňuje Obrázok 5, pričom mechanizmus prebieha nasledovne: postupnou koordináciou alkínových molekúl na kov vznikajú mono- a dialkylkomplexy **T10** a **T11**, následne dochádza k vzniku metalocyklapentadiénu **T12**. Oxidatívny *coupling* dvoch koordinovaných alkínov vedie k zvýšeniu oxidačného stupňa kovu o dva, čo spôsobí, že kov uprednostňuje koordináciu nitrilu namiesto ďalšieho alkínu. (v prípade, že je na nitrile naviazaná elektrónakceptorná skupina, prednostne vzniká benzén). Vzniknutý nitrilový komplex **T13** následne vytvára metalocykloheptatriénový komplex **T14**, pričom nitrilová skupina je vložená do komplexu **T13** a dusík je viazaný na kov. Druhou alternatívou je vytvorenie Dielsovho-Alderovho medziproduktu **T15**. V oboch prípadoch nakoniec dochádza k redukčnej eliminácii za vzniku pyridínu.²⁷

³¹ Heller, B.; Sundermann, B.; Buschmann, H.; Drexler, H. J.; You, J.; Holzgrabe, U.; Heller, E.; Oehme, G. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 4414 – 4422.

³² J. A. Varela, Saa, C. *Chem. Rev.* **2003**, 103, 3787 – 3801.



Obrázok 6. Všeobecný mechanizmus kovom katalyzovanej [2+2+2] cyklotrimerizačnej reakcie alkínov a nitrilov.²⁷

Nasledujúce schémy zachytávajú niekoľko príkladov kovom katalyzovaných cyklotrimerizačných reakcií. V literatúre je od roku 2010 opísaných len veľmi málo nových reakcií (staršie sme uviedli v BcDP: P. Ribar, PRIF UK, Bratislava, 2011).

Jeden z nových príkladov predstavuje cyklotrimerizačná reakcia zobrazená na schéme 1. Reakcia je katalyzovaná ródiovým katalyzátorom, prebieha za miernych podmienok a dáva dobrý výťažok.

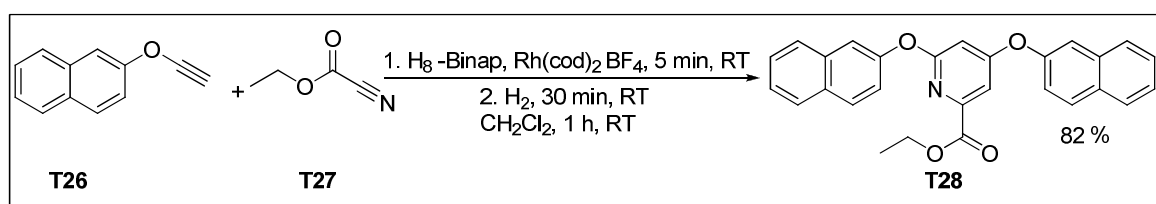


Schéma 1. Cyklotrimerizačná reakcia katalyzovaná ródiovým katalyzátorom.³³

Iným príkladom je cyklotrimerizačná reakcia katalyzovaná formálne dvojkovovým katalyzátorom. Reakcia dáva dobrý výťažok, aj keď pri nej vzniká aj druhý regioizomér. Reakcia prebieha za pomerne náročných podmienok.

³³ Komine, Y.; Tanaka, K. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1312-1315.

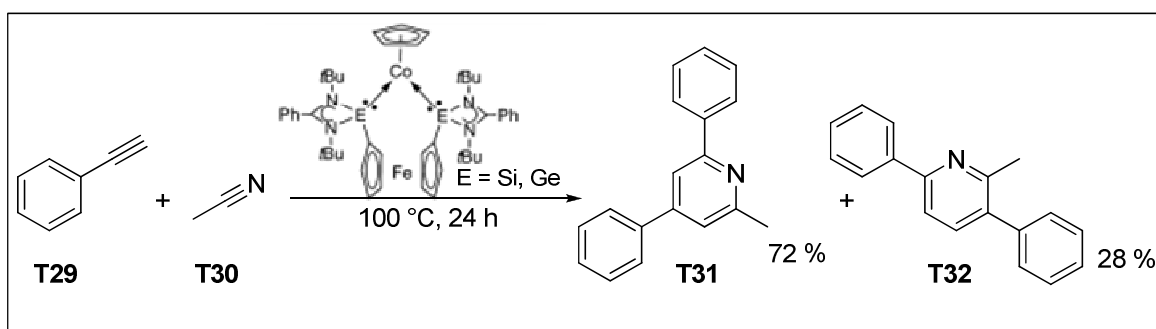
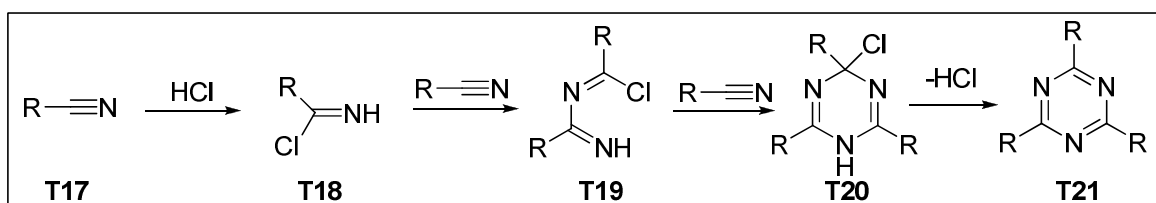


Schéma 2. Cyklotrimerizačná reakcia katalyzovaná dvojkovovým katalyzátorom.³⁴

2.3.2 Reakcie nitrilov

[2+2+2] Cyklotrimerizácia nitrilov je vhodná na prípravu symetrických derivátov a patrí medzi vhodné spôsoby prípravy veľkého množstva dôležitých triazínov. Na prípravu substituovaných 1,3,5-triazínov sa najčastejšie využíva kyslá katalýza (Brønstedtove a Lewisove kyseliny), alebo bázičky katalyzovaná cyklotrimerizačná reakcia nitrilov.³⁵ Predpokladá sa, že kyslo katalyzované reakcie prebiehajú cez cyklický tranzitný stav. Pri bázičky katalyzovaných reakciách sa naopak predpokladá, že reakcia prebieha sériou nukleofilných substitúcií.³⁶

Pri kyslo katalyzovaných reakciách, prebieha reakcia prostredníctvom vytvorenia aduktu **T19**. Na tento adukt sa aduje molekula tretieho nitrilu. (Obrázok 7)



Obrázok 7. Mechanizmus kyslo katalyzovanej cyklotrimerizačnej reakcie nitrilov.³⁷

Príkladom bázičky katalyzovanej cyklickej trimerizácie môže byť reakcia katalyzovaná amoniakom. Reakcia prebieha cez vytvorenie imidínového intermediátu **T25**,

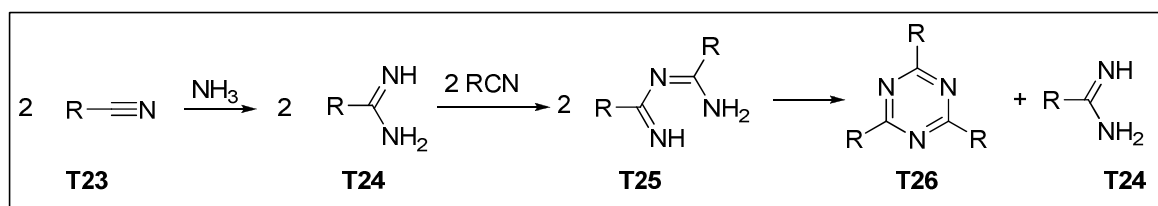
³⁴ Wang, W.; Inoue, S.; Enthaler, S.; Driess, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 6167-6171.

³⁵ Katritzky, A. R.; Rees, C. W.: *Comprehensive Heterocyclic Chemistry I*, Elsevier Science Ltd., **1997**, 503 – 507

³⁶ Eicher, T.; Hauptmann, S. *The chemistry of heterocycles, Secon edition*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. **2003**, ISBN: 2-527-307-20-6.

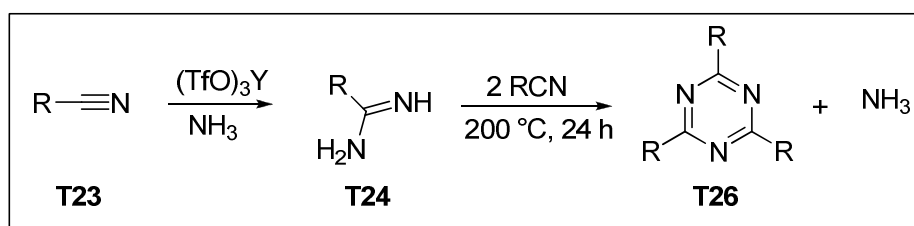
³⁷ Grundmann, C.; Weise, G.; Seide, S. *Liebigs. Ann. Chem.* **1952**, 577, 77.

ktorý reaguje s ďalšou takouto molekulou za vzniku s-triazínu **T26** a imidínu **T24**. (Obrázok 8)



Obrázok 8. Mechanizmus bázičky katalyzovanej cyklotrimerizačnej reakcie.³⁸

Inú možnosť prípravy s-triazínov pomocou cyklotrimerizačnej reakcie predstavuje reakcia katalyzovaná soľami lantanoidov, napr Y^{3+} . Na začiatku tejto reakcie vzniká imidamidový intermediát, ktorý reaguje s ďalšími dvoma molekulami nitrilu, pričom vzniká 1,3,5-triazín **T26**. (Obr. 9)



Obrázok 9. Cyklotrimerizačná reakcia katalyzovaná soľami lantanoidov³⁹

Niekoľko príkladov cyklotrimerizačných reakcií nitrilov zachytávajú nasledujúce schémy. V prípade týchto reakcií sa od roku 2010 objavilo niekoľko nových, pre naše účely zaujímavých reakcií.

Príkladom je trimerizačná reakcia zobrazená na Schéme 3. Reakcia je katalyzovaná kyselinou chlorovodíkovou, prebieha za miernych podmienok a poskytuje stredne dobrý výťažok.

³⁸ Katritzky, A. R.; Ramsden, C. A.; Scriven, E. F. V.; Taylor, R. J. K.: *Comprehensive Heterocyclic Chemistry III*, Elsevier Ltd., **2008**, 244 -246.

³⁹ Forsberg, J. H.; Spaziano, V. T.; Klump, S. P.; Sanders, K. M. *J. Heterocycl. Chem.* **1988**, 25, 767 – 770.

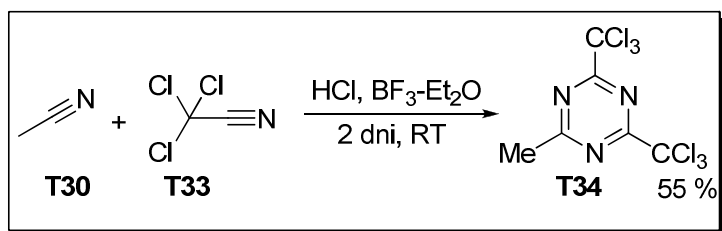


Schéma 3. Cyklotrimerizačná reakcia katalyzovaná s HCl.⁴⁰

Ďalšia schéma znázorňuje cyklotrimerizačnú reakciu, ktorú katalyzuje ClSO₃H. (Schéma 4) Reakcia prebieha pri miernej teplote a poskytuje pomerne dobrý výťažok.

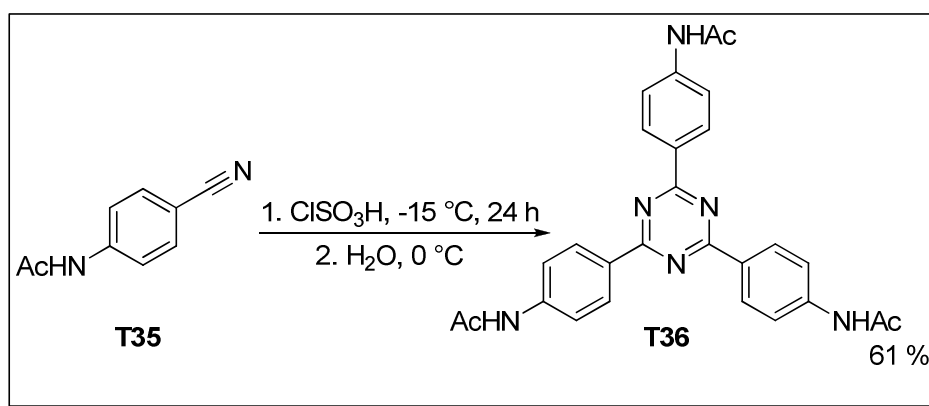


Schéma 4. Cyklotrimerizačná reakcia katalyzovaná ClSO₃H⁴¹

Ďalší príklad znázorňuje Schéma 5. Reakcia je katalyzovaná kyselinou trifluometánsulfónovou, prebieha za miernych podmienok a poskytuje veľmi dobrý výťažok.

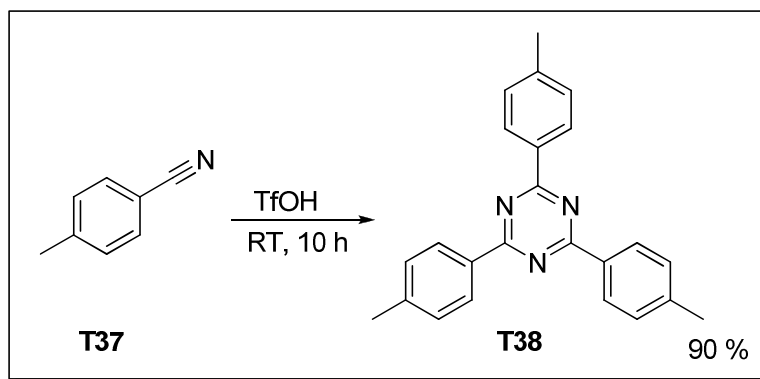


Schéma 5. Cyklotrimerizačná reakcia katalyzovaná TfOH.⁴²

⁴⁰ Davis, M.; Groshens, T. J. *Synth. Commun.* **2012**, 42, 2664 - 2675.

⁴¹ Gattuso, G.; Grasso, G.; Marino, N.; Notti, A.; Pappalardo, A.; Pappalardo, S.; Parisi, M. F. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 2011, 5696 - 5703.

⁴² Lin, Z.; Emge, T. J.; Warmuth, R. *Chem. Eur. J.* **2011**, 17, 9359 - 9405.

Ďalšia schéma zachytáva cyklotrimerizačnú reakciu katalyzovanú ZnCl_2 . (Schéma 6) Reakcia síce poskytuje dobrý výťažok no prebieha pri vysokej teplote.

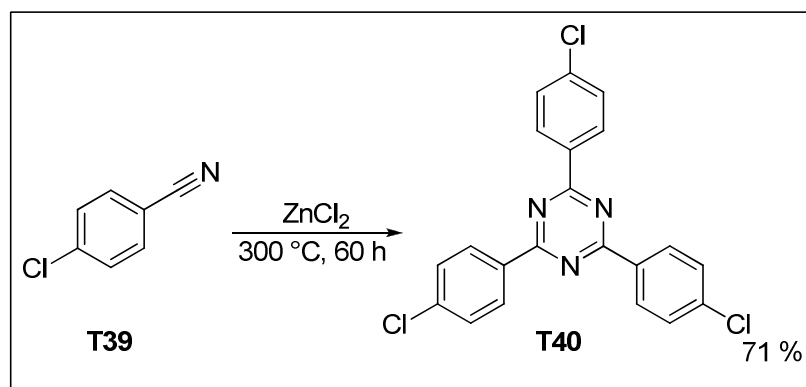


Schéma 6. Cyklotrimerizačná reakcia katalyzovaná ZnCl_2 .⁴³

Ďalšou reakciou je cyklotrimerizácia, ktorú katalyzuje NaH. Reakcia prebieha pri vyššej teplote a poskytuje dobrý výťažok.

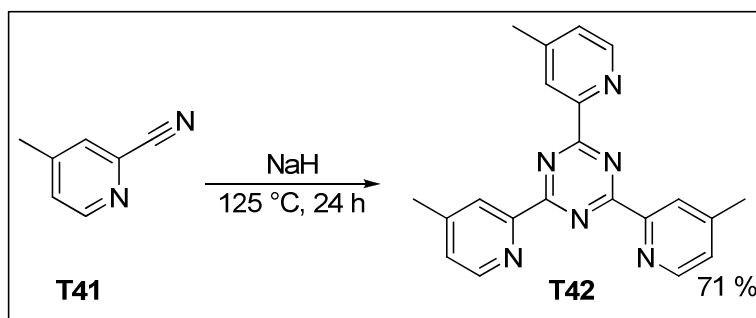


Schéma 7. Cyklotrimerizačná reakcia katalyzovaná hydridom sodným.⁴⁴

Posledná schéma zachytáva cyklotrimerizačnú reakciu dvoch východiskových látok. Reakcia je katalyzovaná dimetylamidom lítnym, tento vzniká *in situ* v reakčnej zmesi z BuLi a Me_2NH . Reakcia prebieha za miernych podmienok a poskytuje dobrý výťažok.

⁴³ Berger, R.; Hauser, J.; Labat, G.; Weber, E.; Hulliger, J. *Cryst. Eng. Commun.* **2012**, 14, 768 - 770.

⁴⁴ Kajiwara, T.; Tanaka, H.; Nakano, M.; Takaishi, S.; Nazakawa, Y.; Yamashita, M. *Inorg. Chem.* **2010**, 49, 8358 - 8370.

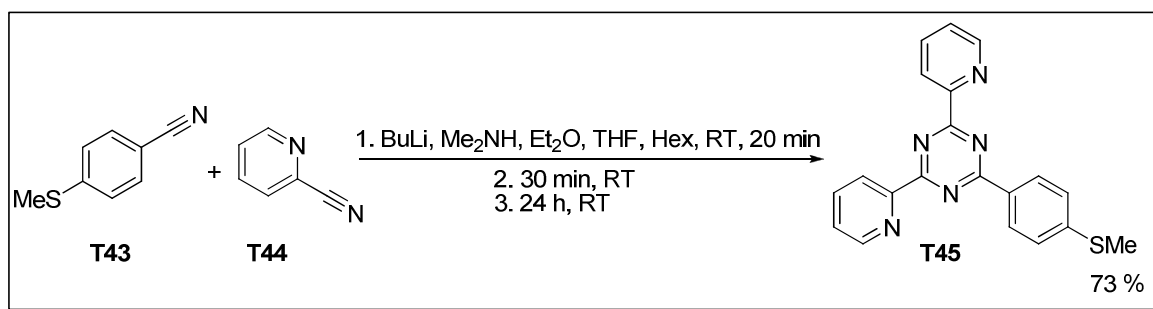


Schéma 8. Cyklotrimerizačná reakcia katalyzovaná Me₂NLi.⁴⁵

⁴⁵ Hain, S. K.; Heinemann, F. W.; Gieb, K.; Mueller, P.; Hoerner, G.; Grohmann, A. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2010**, 2, 221 - 232.

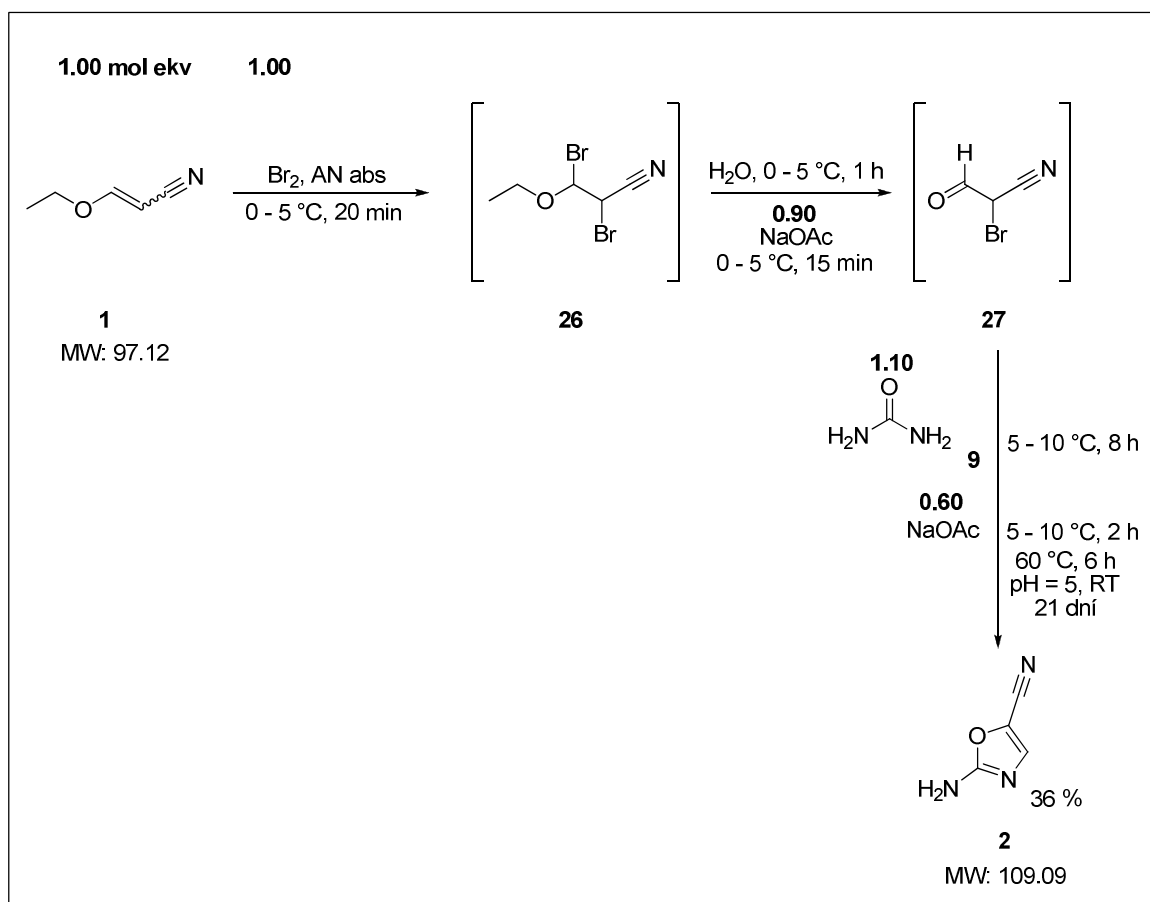
3 Experimentálna časť

3.1 Materiál a použité metódy

^1H - a ^{13}C -NMR spektrá boli merané v CDCl_3 a DMSO na prístrojoch Varian (300 (600) a 75 MHz). Chemické posuny sú udané v ppm, ako vnútorný štandard bol použitý tetrametysilán (TMS). Priebeh reakcií sme sledovali TLC analýzou (Merck Silica gel 60 F_{254}), na detekciu škvrn sa používala UV lampa 254 nm, ako aj pary jódu. Na FLC chromatografickú separáciu sme používali silikagél Merck 60 (40 – 63 μm). Teploty topenia boli namerané na Koflerovom aparáte a nie sú korigované. Infračervené spektrá boli merané na prístroji FT-IR ThermoNicolet iS10. Všetky použité rozpúšťadlá boli sušené pomocou štandardných postupov uvedených v literatúre. Komerčne dostupné zlúčeniny boli zakúpené od firmy Sigma-Aldrich.

3.2 Syntéza oxazolkarbonitrilového ligandu 15

3.2.1 Příprava 2-aminooxazol-5-karbonitrilu (2)



Literatúra:⁴⁶ (v lit. bol iný substrát, použitá tiomočovina namiesto našej močoviny a kratší reakčný čas)

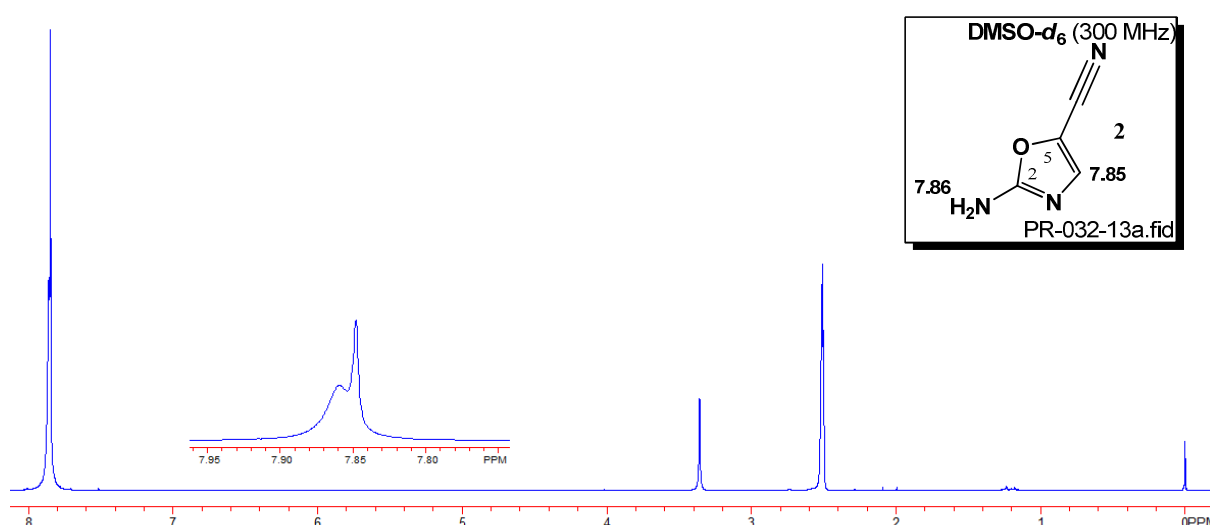
Experimentálny postup: K 3.00 g (30.88 mmol, 1.00 mol ekv) zmesi akrylonitrilov **1** v 4 ml AN abs sme pri teplote 0 - 5 °C po častiach pridávali roztok 4.94 g (1.58 ml, 30.88 mmol, 1.00 mol ekv) Br_2 v 5 ml AN abs a zmes sme pri rovnakej teplote miešali 20 min. Následne sme pridali 20.57 g (20.6 ml, 37.04 mol ekv) H_2O (ochladenej na 5 °C) a zmes sme miešali 2 h pri 0 až 5 °C. Potom sme do r. zmesi pridali 3.78 g (27.80 mmol, 0.90 mol ekv) NaOAc . 3 H_2O a zmes sme miešali 15 min pri rovnakej teplote. Následne sme pridali 2.04 g (33.98 mmol, 1.10 mol ekv) močoviny a reakčnú zmes miešali po dobu 8 h pri teplote 5 až 10 °C. P uplynutí 8 h sme pridali ďalších 2.52 g (18.53 mmol, 0.60 mol ekv) NaOAc . 3 H_2O a zmes miešali pri 10 °C 2 h. Potom sme reakčnú zmes zahriali na 60 °C a miešali pri tejto teplote 6 h. Po uplynutí tohto času sme zmes ochladili na RT a upravili

⁴⁶ Zhao, M.; Yin, J.; Huffman, M. A.; McNamara, J. M. *Tetrahedron* **2006**, 62, 1100 - 1110.

jej pH na hodnotu 5. Takúto zmes sme miešali pri RT počas 21 dní. Potom sme reakčnú zmes extrahovali 3 x 30 ml EtOAc, spojené organické fázy sme premyli nas. roztokom NaCl a vysušili státím nad bezvodým Na₂SO₄. Zmes sme prefiltrovali, filtrát zahustili pomocou RVO a dosušili s HV. Získali sme 2.43 g surového produktu, ktorý sme prečistili pomocou FLC s elučnou zmesou hexán / EtOAc (1/1). Získali sme 1.22 g (11.18 mmol, 36.04 %) aminooxazolkarbonitrilu **2** vo forme kryštalickej látky.

M. p.: 117.0 – 121.0 °C [H / EtOAc], biela kryštalická látka

TLC: (SiO₂, H / EtOAc (1 / 3), 1 x vyvolané) R_F = 0.41 (UV₂₅₄), I₂ - bez odozvy



¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, PR-032-13a.fid): δ = 7.86 (br s, 2H, NH₂), 7.85 (s, 1H, H-Cox).

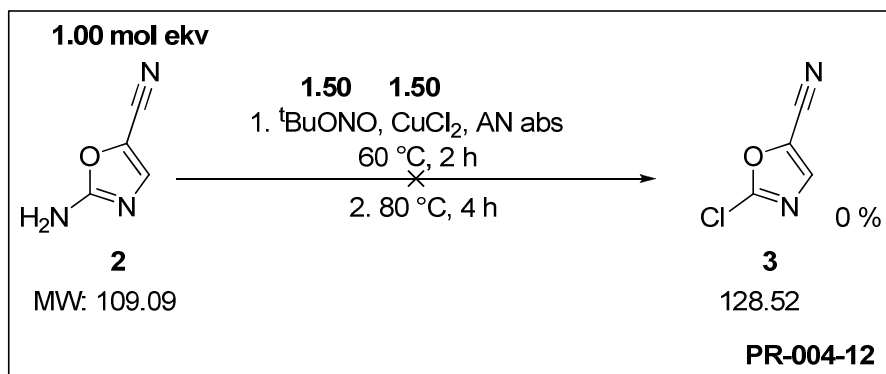
¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, PR-032-13a-13C.fid): δ = 161.6 (s, C₂), 142.0 (s, C₅), 115.4 (d, C₄), 111.3 (s, CN). (spektrum uvádzame v Prílohe 1)

FT IR (solid, cm⁻¹): ν = 3420 (s, -NH), 3323 (w, -NH), 3234 (w), 3093 (m, =CH-), 2979 (w), 2729 (w), 2633 (w), 2216 (s, -CN), 1763 (w), 1660 (s), 1569 (s), 1397 (w), 1277(m), 1227 (w), 1200 (w), 1167 (m), 1074 (m), 966 (m, -NH), 882 (m, -NH) 747 (m), 698 (w). (Príloha 2)

LC-MS (ESI+): m/z 110.1 [M+H]⁺ (100 %), 111.1 [M+2H]²⁺ (7 %). (Príloha 3)

Elem. Anal.: vypoč. C₄H₃N₃O (109.09): C, 44.04; H, 2.77; N, 38.52; Získané: C, 44.51; H, 2.95; N, 38.61.

3.2.2 Príprava 2-chlóroxazol-5-karbonitrilu (3)

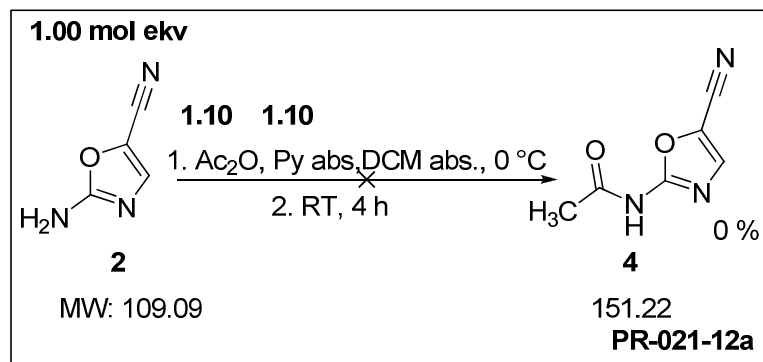


Literatúra:⁴⁶ (iný substrát, pôvodne 2-aminotiazol-5-karbonitril)

Experimentálny postup: K 2 ml bezvodého AN abs sme pridali 110.1 mg (0.69 mmol, 1.50 mol ekv) CuCl₂ a 106.3 mg (123 μl, 0.69 mmol, 1.50 mol ekv) ^tBuONO. Zmes sme zahrievali na 60 °C po dobu 2 h. Následne sme postupne pridávali 50.0 mg (0.46 mmol, 1.00 mol ekv) 2-aminooxazol-5-karbonitrilu (**2**) a reakčnú zmes sme nechali miešať pri 80 °C po dobu 4 h. K ochladenej zmesi sme pridali 10 ml vody a 2 ml 36 % vodného roztoku HCl. Zmes sme extrahovali 3 x 10 ml EtOAc, spojené organické fázy premyli nas. roztokom NaCl a vysušili státím nad bezvodým Na₂SO₄. Zmes sme prefiltrovali, zahustili na RVO a dosušili na HV. Získali sme 34.2 mg tmavej lepkavej hmoty, ktorú sme sa snažili prečistiť pomocou FLC v zmesi hexán / EtOAc (1 / 1). Nepodarilo sa nám však izolovať látku zodpovedajúcu produktu.

Poznámka: Reakciu sme uskutočnili viackrát, pričom sme sa snažili o optimalizáciu reakčných podmienok, zmenou teploty (80 až 160 °C) a zmenou poradia pridávania reaktantov. Priebeh reakcie sme sledovali pomocou TLC, pričom vznikala nová škvrna. Po separácii sme vo všetkých prípadoch vyizolovali hlavne VL.

3.2.3 Príprava N-(5-kyanooxazol-2-yl)acetamidu (4)



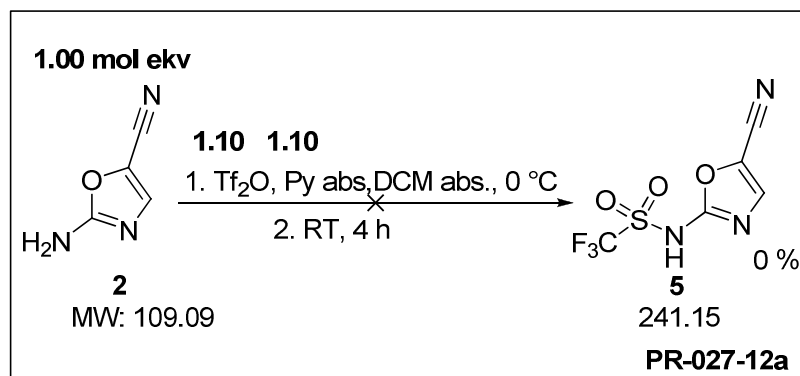
Literatúra:⁴⁷ (iný substrát, pôvodne aminooxazol)

Experimentálny postup: K roztoku ochladenému na 0 °C pozostávajúceho zo 100.0 mg (0.92 mmol, 1.00 mol ekv) 2-aminoxazol-5-karbonitrilu (2) a 79.75 mg (81 µl, 1.01 mmol, 1.10 mol ekv) pyridínu abs, 10 ml DCM abs, sme postupne prikvapkávali 143 µl (211.8 mg, 1.01 mmol, 1.10 mol ekv) dest Ac₂O. Po ukončení pridávania, sme teplotu reakčnej zmesi nechali vystúpiť na RT a zmes sme miešali po dobu 4 h. Po uplynutí tohto času sme k reakčnej zmesi pridali 2 ml nasýteného roztoku NH₄Cl. Zmes sme extrahovali 3 x 10 ml DCM, spojené organické fázy premyli nas. roztokom NaCl a vysušili státím nad bezvodým Na₂SO₄. Suspenziu sme prefiltrovali, zahustili na RVO a dosušili s HV. Produkt sme sa snažili detegovať pomocou ¹H NMR zo surovej zmesi, získané posuny však nezodpovedali predpokladaným posunom produktu.

Poznámka: Priebeh reakcie sme sledovali pomocou TLC. Na platničke vznikala nová škvrna a škvrna VL zanikala. Po spracovaní sme sa produkt snažili detegovať pomocou ¹H NMR. Podmienky reakcie sme sa snažili optimalizovať s cieľom získať produkt. Menili sme reakčnú teplotu (RT až 160 °C). Produkt sa nám však nepodarilo získať.

⁴⁷ Cockerill, A. F.; Deacon, A.; Harrison, R. G.; Osborne, D. J. Prime, D. M.; Ross, W. J.; Todd, A.; Verge, J. P. *Synthesis* **1976**, 9, 591 – 593.

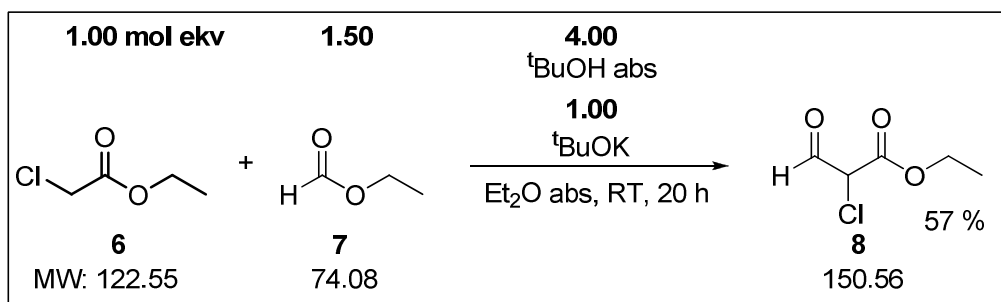
3.2.4 Príprava *N*-(5-kyanooxazol-2-yl)-1,1,1-trifluórometánsulfónamidu (5)



Literatúra:⁴⁸ (iný substrát, pôvodne aminobenzoxazol)

Experimentálny postup: K roztoku ochladenému na 0 °C pozostávajúceho zo 100.0 mg (0.92 mmol, 1.00 mol ekv) 2-aminooxazol-5-karbonitrilu (**2**) a 79.8 mg (81 µl, 1.01 mmol, 1.10 mol ekv) pyridínu abs v 10 ml DCM abs, sme postupne prikvapkávali 187 µl (312.8 mg, 1.01 mmol, 1.10 mol ekv) Tf₂O. Po ukončení pridávania, sme teplotu reakčnej zmesi nechali vystúpiť na RT a zmes sme miešali po dobu 4 h. Po uplynutí tohto času sme k reakčnej zmesi pridali 2 ml nasýteného roztoku NH₄Cl. Zmes sme extrahovali 3 x 10 ml DCM, spojené organické fázy premyli nas. roztokom NaCl a vysušili nad bezvodým Na₂SO₄. Zmes sme prefiltrovali, zahustili na RVO a dosušili na HV. Po spracovaní sa nám podarilo izolovať iba východiskovú látku.

3.2.5 Príprava etylesteru kyseliny 2-chlór-3-oxopropánovej (**8**)



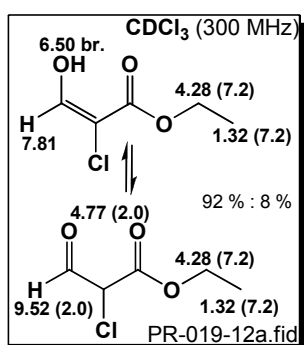
⁴⁸ FR1579473 A, 1976.

Literatúra:⁴⁹ (pôvodný postup na separáciu),⁵⁰ (použitý postup pre pridávanie látok)

Experimentálny postup: K roztoku 36.29 g (46.8 ml, 122.4 mmol, 4.00 mol ekv) ^tBuOH a 13.73 g (122.4 mmol, 1.00 mol ekv) ^tBuOK v 75 ml Et₂O sme po ochladení na 0 °C postupne pridávali roztok 13.1 ml (15.00 g, 122.4 mmol, 1.00 mol ekv) etylesteru kyseliny 2-chlóroctovej (**6**) a 14.8 ml (13.61 g, 183.6 mmol, 1.50 mol ekv) etylesteru kyseliny mravčej (**7**) v 75 ml Et₂O. Teplotu reakčnej zmesi sme následne nechali vystúpiť na RT a túto miešali po dobu 20 h. Po odstavení reakcie sme odfiltrovali hnedú zrazeninu, premyli ju Et₂O (3 x 50 ml) a vysušili. Zrazeninu sme rozpustili v 500 ml vody a pH roztoku sme upravili na 4 pomocou 10 % roztoku HCl. Roztok sme extrahovali 3 x 150 ml EtOAc, spojené organické fázy premyli nas. roztokom NaCl a vysušili bezvodým Na₂SO₄. Zmes sme prefiltrovali, zahustili na RVO a dosušili na HV. Surovú reakčnú zmes sme nechali kryštalizovať pri 10 °C z EtOAc. Získali sme 10.52 g (69.87 mmol, 57.1 %) produktu **8** v podobe mazľavej kryštalickej látky.

M. p.: 82.0 – 84.0 °C [EtOAc], (83 - 84 °C),⁴⁹ biela kryštalická látka

TLC: (SiO₂, H / EtOAc (1 / 2), 2 x vyvolané) R_F = 0.54 (UV₂₅₄) rozťahnutá škvrna (nedeliteľná rovnováha enol/keto tautomézie), I₂ - bez odozvy.



¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, PR-019-12a.fid – enol forma): δ 7.81 (s, 1H, CH-OH), 6.50 (br s, 1H, -OH), 4.28 (q, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.2$ Hz, COOCH₂), 1.32 (t, 3H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.2$ Hz, COOCH₂CH₃).

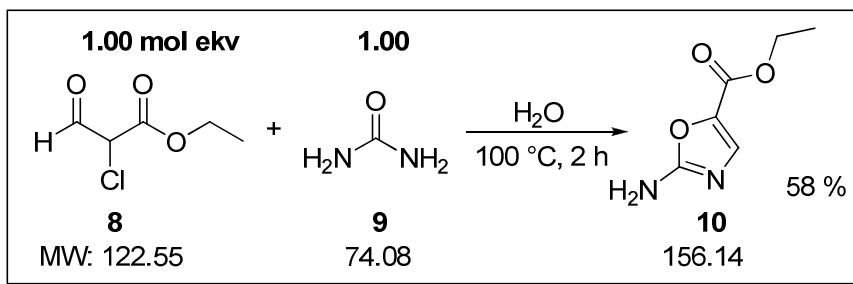
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, PR-019-12a.fid – keto forma): δ 9.52 (d, 1H, $J(\text{CHO}, \text{CHCl}) = 2.0$ Hz, CHO), 4.77 (d, 1H, $J(\text{CHO}, \text{CHCl}) = 2.0$ Hz, CHCl), 4.28 (q, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.2$ Hz, COOCH₂), 1.32 (t, 3H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.2$ Hz, COOCH₂CH₃).

¹³C-NMR (CDCl₃), IR (KBr, cm⁻¹) a Element. analýza sú dostupné v literatúre.⁵⁰

⁴⁹ Yoffe, S. T.; Petrovsky, P. V.; Goryunov, Y. I.; Yershova, T. V.; Kabachnik, M. I. *Tetrahedron* **1972**, 28, 2783 - 2798.

⁵⁰ Kováčiková, L. *Dizertačná práca*, **2010**, PRIF UK Bratislava, 110 -114.

3.2.6 Príprava etylesteru kyseliny 2-aminooxazolkarboxylovej (10)

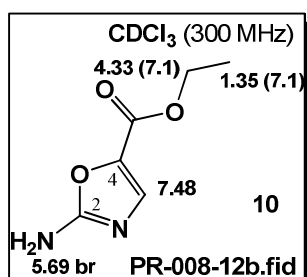


Literatúra:⁵¹ (pôvodný postup na separáciu),⁵⁰ (použitý postup pre reakčné podmienky)

Experimentálny postup: 3.00 g (19.93 mmol; 1.00 mol ekv) etylesteru kyseliny 2-chlór-3-oxopropánovej (**8**) sme rozpustili v 27 ml vody a pridali 1.20 g (19.93 mmol; 1.00 mol ekv) močoviny (**9**). Reakčnú zmes sme zahrievali na $100\text{ }^\circ\text{C}$ počas 1 h. Ochladenú zmes sme extrahovali 3 x 20 ml EtOAc, spojené organické fázy sme premyli nas. roztokom NaCl a vysušili nad bezvodým Na_2SO_4 . Zmes sme prefiltrovali, zahustili na RVO a dosušili na HV. Získali sme 2.64 g hnejdej mazľavej látky, ktorú sme následne prečistili pomocou FLC v zmesi hexán / EtOAc (1 / 1). Získali sme 2.23 g (14.28 mmol, 58.3 %) produktu v podobe svetlohnejdej kryštalickej látky.

M. p.: $154.0 - 155.0\text{ }^\circ\text{C}$ [FLC] ($155\text{ }^\circ\text{C}$ [EtOH])⁵¹

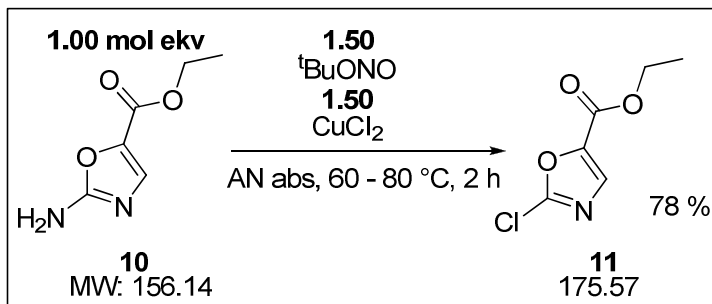
TLC: (SiO_2 , H / EtOAc (1 / 3), 1 x vyvolané) $R_F = 0.32$ (UV_{254}), I_2 (pary) - oranžová škvrna.



$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) a IR (KBr , cm^{-1}) sú opísané v literatúre.⁵⁰

⁵¹ Dornow, A.; Frese, A *Archiv der Pharmazie* **1953**, 286, 494 – 499.

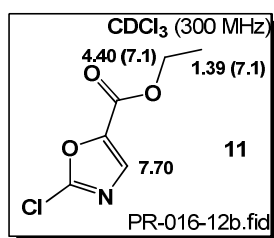
3.2.7 Príprava etylesteru kyseliny 2-chlór oxazolkarboxylovej (11)



Literatúra:⁵²(použitý postup pre reakčné podmienky),⁵⁰ (použitý postup pre separáciu)

Experimentálny postup: K 11 ml AN abs sme pridali 645.8 mg (4.27 mmol, 1.50 mol ekv) CuCl_2 a 495.3 mg (0.57 ml, 4.27 mmol, 1.50 mol ekv) $t\text{BuONO}$. Zmes sme zahrievali na 60 °C počas 2 h. Následne sme postupne k r. zmesi pridávali 500.0 mg (3.20 mmol, 1.00 mol ekv) etylesteru kyseliny 2-aminooxazolkarboxylovej (**10**) a zmes sme nechali miešať pri 80 °C po dobu 2 h. K ochladenej zmesi sme pridali 6 ml vody a 6 ml 10 % vodného roztoku HCl, extrahovali ju 3 x 10 ml EtOAc, spojené organické fázy premyli nas. roztokom NaCl a vysušili státím nad bezvodým Na_2SO_4 . Zmes sme prefiltrovali, zahustili na RVO a dosušili na HV. Získali sme 486.1 mg surového produktu, ktorý sme prečistili pomocou FLC v zmesi hexán / EtOAc (1 / 1). Získali sme 440.9 mg (2.511 mmol, 78.4 %) produktu vo forme žltého oleja.

TLC: (SiO_2 , H / EtOAc (1 / 3), 1 x vyvolané) R_F = 0.66 (UV_{254}), I_2 (pary) bez odozvy.

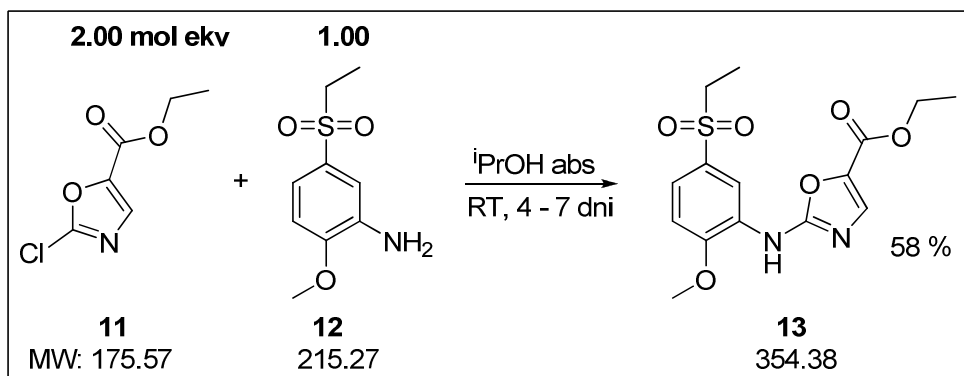


$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , PR-016-12b.fid): δ 7.70 (s, 1H, H-Cox), 4.40 (q, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.1$ Hz, COOCH_2), 1.39 (t, 3H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.1$ Hz, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) a **IR** (KBr , cm^{-1}) sú dostupné v literatúre.⁵²

⁵² Atkins, J. M.; Vedejs, E. *Org. Lett.* **2005**, 7, 3351 – 3354.

Príprava etyl 2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-karboxylátu (13)

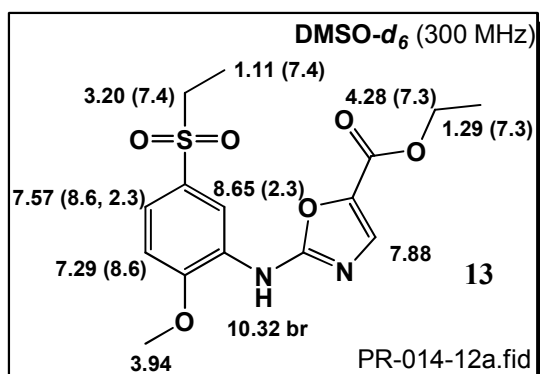


Literatúra:⁵⁰

Experimentálny postup: K 60.0 mg (0.28 mmol, 1.00 mol ekv) 5-(etylsulfonyl)-2-metoxyanilínu (**12**) rozpusteného v 1.2 ml ⁱPrOH sme po kvapkách pridávali roztok 50.0 mg (0.28 mmol, 1.00 mol ekv) etylesteru kyseliny 2-chlóroxazolkarboxylovej (**11**) v 0.15 ml *i*-PrOH. Reakčnú zmes sme miešali pri RT po dobu 4 dní. Priebeh reakcie sme sledovali TLC analýzou v elučnej zmesi hexán / EtOAc (1 / 3), na základe ktorej (prítomnosť východiskového anilínu **12**) sme sa rozhodli pridať ďalší ekvivalent činidla **11**. Z reakčnej zmesi sme po ukončení reakcie (7 dní) odparili rozpúšťadlo, zvyšok rozpustili v EtOAc a extrahovali nas. roztokom NaHCO₃ a 2 x 10 ml vody. Spojené organické fázy sme vysušili státím nad bezvodým Na₂SO₄, zmes prefiltrovali, zahustili na RVO a dosušili na HV. Produkt sme prečistili kryštalizáciou zo zmesi EtOAc / hexán. Získali sme 57.3 mg (0.16 mmol, 57.9 %) produktu vo forme hnedej kryštalickej látky.

M. p.: 142.0 – 143.0 °C [H / EA], (142.0 – 143.0 °C [H/ EA]),⁵⁰ bledohnedá kryštalická látka.

TLC: (SiO₂, H / EtOAc (1 / 3), 1 x vyvolané) R_F = 0.34 (UV₂₅₄), I₂ - oranžová škvrna.

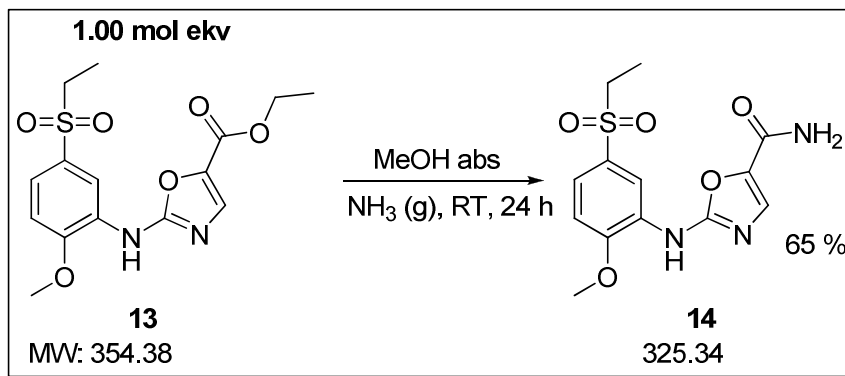


¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, PR-014-12a.fid): δ 10.32 (br s, 1H, NH), 8.65 (d, 1H, *J*(4,6) = 2.3 Hz, H-C(6)), 7.88 (s, 1H, H-C_{ox}), 7.57 (dd, 1H, *J*(3,4) = 8.6 Hz, *J*(4,6) = 2.3 Hz, H-C(4)), 7.29 (d, 1H, *J*(3,4) = 8.6 Hz, H-C(3)), 4.28 (q, 2H, *J*(CH₂,CH₃) = 7.3 Hz,

COOCH₂), 3.94 (s, 3H, OCH₃), 3.20 (q, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.4$ Hz, SO₂CH₂), 1.29 (t, 3H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.3$ Hz, COOCH₂CH₃), 1.11 (t, 3H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.4$ Hz, SO₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (CDCl₃), IR (KBr, cm⁻¹) a element. analýza sú dostupné v literatúre.⁵⁰

3.2.8 Príprava amidu kyseliny 2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-karboxylovej (**14**)



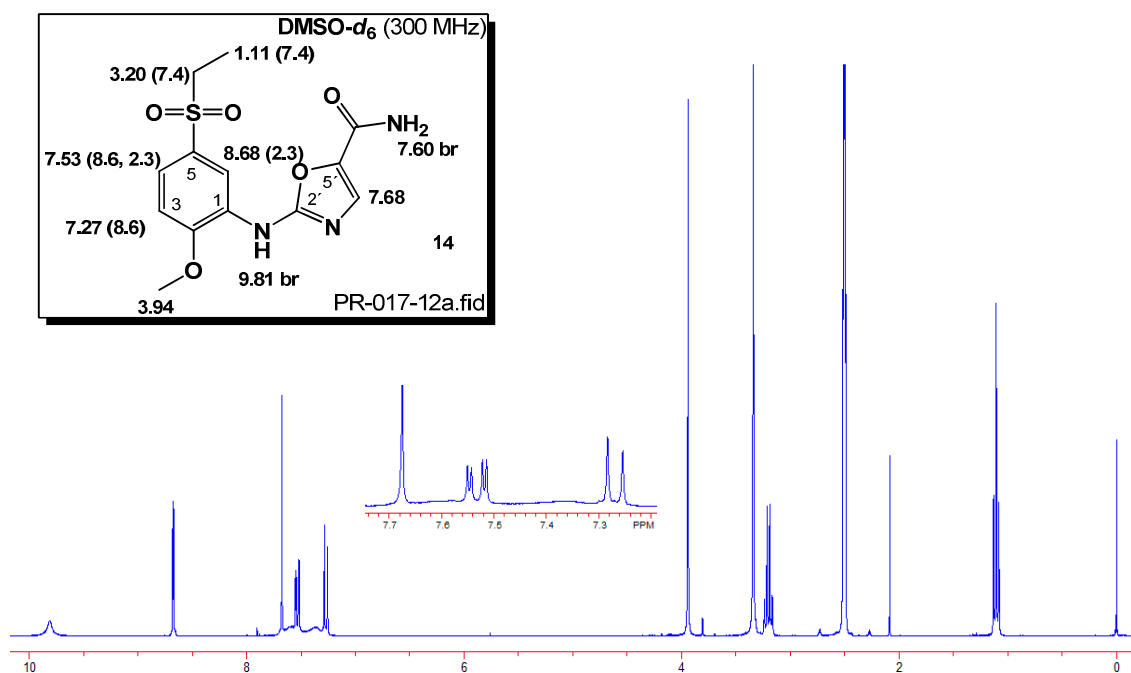
Literatúra:⁵³ (použitý iný substrát, iný reakčný čas, použitý plynný amoniak)

Experimentálny postup: 200.0 mg (0.56 mmol, 1.00 mol ekv) etyl 2-(5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino)oxazol-5-karboxylátu (**13**) sme rozpustili v 10 ml MeOH abs. Do roztoku sme zavádzali NH₃(g) (z balónika rýchlosťou 10 bubliniek / s, celkovo 2 h). Reakčnú zmes sme potom miešali po dobu 24 h pri RT. Po ukončení reakcie sme vzniknutú bielu zrazeninu odfiltrovali, premyli ju na filteri s malým množstvom MeOH a nechali vysušiť na vzduchu. Získali sme 119.5 mg (0.39 mmol, 65.1 %) produktu **14** vo forme bielej kryštalickej látky.

M. p.: 264.0 – 266.0 °C [MeOH], biela kryštalická látka.

TLC: (SiO₂, EA / MeOH (16 / 1), 2 x vyvolané) R_F = 0.18 (UV₂₅₆), I₂ - bez odozvy.

⁵³ Romero, A. F.; Hwang, I.; Boger, D. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 14004 -14005.



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, PR-017-12a.fid): δ 9.81 (br s, 1H, NH), 8.68 (d, 1H, $J(4,6) = 2.3$ Hz, H-C(6)), 7.68 (s, 1H, H-C_{ox}), 7.60 (br s, 2H, CONH₂, prekrytý) 7.53 (dd, 1H, $J(3,4) = 8.6$ Hz, $J(4,6) = 2.3$ Hz, H-C(4)), 7.27 (d, 1H, $J(3,4) = 8.6$ Hz, H-C(3)), 3.94 (s, 3H, OCH₃), 3.20 (q, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.4$ Hz, SO₂CH₂), 1.11 (t, 3H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.4$ Hz, SO₂CH₂CH₃).

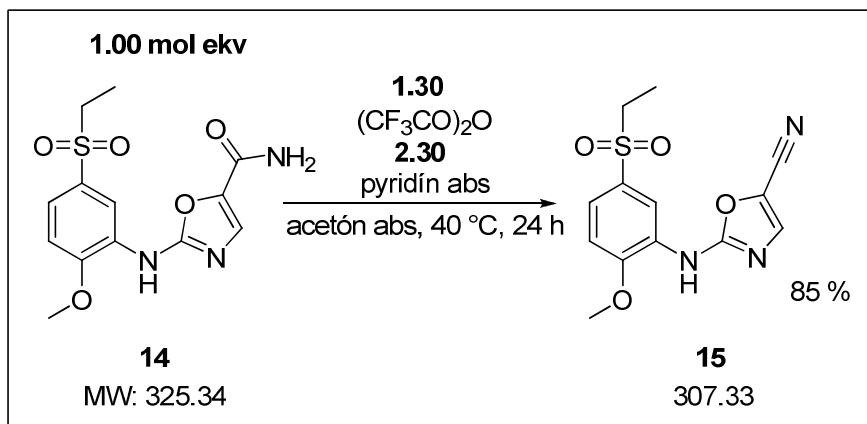
$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, PR-017-12a-13C.fid): 158.2 (C=O), 157.5 (C2'), 151.9 (C2), 139.2 (C5'), 130.6 (C4'), 129.9 a 128.2 (C1 a C5), 123.1 (C4), 116.7 (C6), 110.1 (C3) 56.2 (OCH₃), 49.6 (SO₂CH₂), 7.2 (SO₂CH₂CH₃). (Príloha 4)

FT IR (solid, cm^{-1}): $\nu = 3394$ (m, -NH-), 3294 (w, -NH-), 3162 (w, -NH-), 1681 (m), 1601 (s), 1568 (s), 1397 (s), 1263 (s, S=O) 1134 (s), 1120 (s, S=O), 1054 (m), 1020 (w), 729 (s, C-H). (Príloha 5)

LC-MS (ESI+): m/z 348.1 [$\text{M}+\text{Na}$]⁺ (100 %), 326.1 [$\text{M}+\text{H}$]⁺ (19 %). (Príloha 6)

Elem. Anal.: vypoč. C₁₃H₁₅N₃O₃S (325.34): C, 47.99; H, 4.65; N, 12.92; S, 9.86 Získané: C, 48.34; H, 4.94; N, 12.44; S, 9.71.

3.2.9 Príprava 2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-karbonitrilu (15)

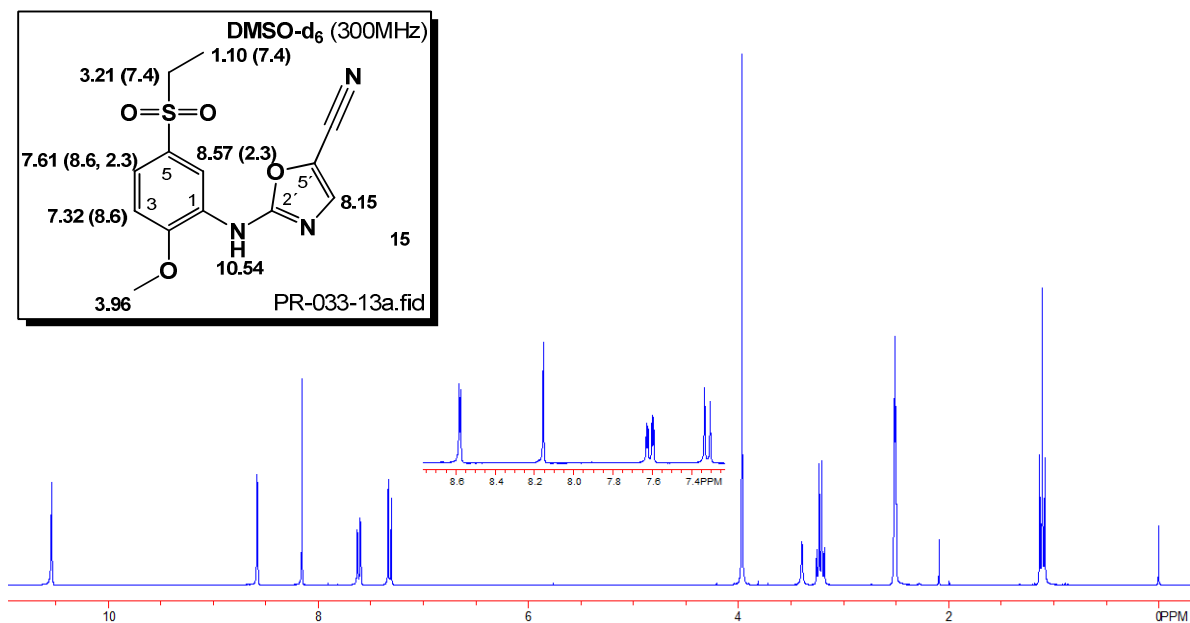


Literatúra:⁵³ (iný substrát, dlhší reakčný čas)

Experimentálny postup: 50.0 mg (0.154 mmol, 1.00 mol ekv) amidu kyseliny 2-(5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino)oxazol-5-karboxylovej (**14**) sme rozpustili v 4.3 ml bezvodého acetónu a pridali 30.4 mg (0.354 mmol, 31 µl, 2.30 mol ekv) bezvodého pyridínu. Následne sme po kvapkách pridali 29 µl (41.46 mg, 0.120 mmol, 1.30 mol ekv) anhydridu kyseliny trifluóroctovej. Reakčnú zmes sme miešali pri 40 °C počas 24 h. Po ukončení reakcie sme zmes zriedili 10 ml DCM, organickú fázu extrahovali nas. roztokom NaCl a vysušili nad Na₂SO₄. Zmes sme prefiltrovali, zahustili na RVO a dosušili na HV. Získali sme 49.0 mg hnedého oleja, ktorý sme prečistili kryštalizáciou z MeOH pri -10 °C. Získali sme 40.2 mg (0.101 mmol, 85.2 %) oxazol karbonitrilu **15** vo forme bielej kryštalickej látky.

M. p.: 198.0 – 201.0 °C [MeOH], biela kryštalická látka.

TLC: (SiO₂, H / EA (1 / 3), 1 x vyvolané) R_F = 0.38 (UV₂₅₆), I₂ - žltá škvrna.



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, PR-033-13a.fid): δ 10.53 (s, 1H, NH), 8.57 (d, 1H, $J(4,6) = 2.3$ Hz, H-C(6)), 8.15 (s, 1H, H-C_{ox}), 7.61 (dd, 1H, $J(3,4) = 8.6$ Hz, $J(4,6) = 2.3$ Hz, H-C(4)), 7.32 (d, 1H, $J(3,4) = 8.6$ Hz, H-C(3)), 3.96 (s, 3H, OCH₃), 3.21 (q, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.4$ Hz, SO₂CH₂), 1.10 (t, 3H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.4$ Hz, SO₂CH₂CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, PR-033-13a-13C.fid): 158.9 (C2'), 152.6 (C2), 140.9 (C1), 129.9 (C5'), 127.1 a 124.3 (C5 alebo C4), 118.2 a 116.9 (C6 alebo C4'), 111.5 (C3), 110.7 (CN), 56.3 (OCH₃), 49.6 (SO₂CH₂), 7.2 (SO₂CH₂CH₃). (Príloha 7)

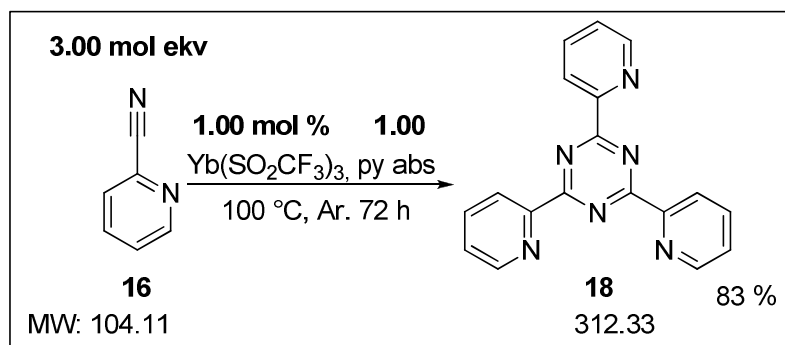
FT IR (solid, cm^{-1}): $\nu = 3308$ (w, -NH-), 2962 (w, -HC-), 2224 (m, -CN), 1734 (w), 1618 (m), 1578 (s), 1519 (s, C-O), 1309 (s, S=O), 1138 (s, S-O), 795 (w). (Príloha 8)

LC-MS (ESI+): m/z 308.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %), 309.1 $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ (20 %), 340.1 $[\text{M}+\text{MeOH}+\text{H}]^+$ (19 %). (Príloha 9)

Elem. Anal. vypoč. C₁₃H₁₃N₃O₄S (307.33): C, 50.81; H, 4.26; N, 13.67; S, 10.43 Získané: C, 50.95; H, 4.55; N, 13.38; S, 10.64.

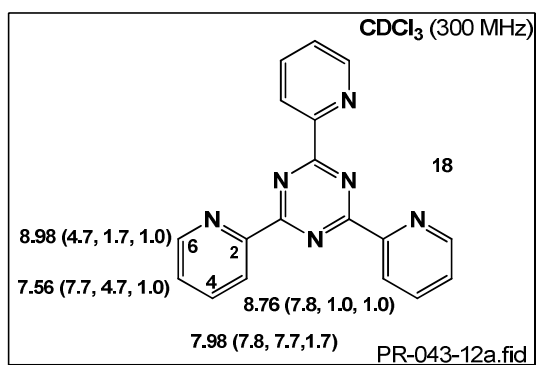
3.3 Príprava počítačom navrhnutého inhibítora tumorovej angiogenézy (17)

3.3.1 Príprava 2,4,6-tri(pyridín-2-yl)-1,3,5-triazínu (18)



Literatúra:⁵⁴ (použitý iný substrát, iný reakčný čas, použitý iný katalyzátor)

Experimentálny postup: Do suchej ampule sme navážili 100.0 mg (0.96 mmol, 3.00 mol pikolínitrilu (**16**), 5.95 mg (0.0096 mmol, 1.00 mol %) yterbium triflátu a 75.98 mg (77 μl , 0.96 mmol, 1.00 mol ekv) bezvodého pyridínu. Ampulu sme zatavili pod argónovou ochrannou atmosférou a reakčnú zmes sme zahrievali na 100 °C po dobu 72 h. Následne sme ampulu otvorili a jej obsah vymyli DCM. Organickú fázu sme extrahovali nas. roztokom NaHCO_3 , nasýteným roztokom NaCl a spojené organické fázy sušili státím nad bezvodým Na_2SO_4 . Zmes sme prefiltrovali, zahustili pomocou RVO a dosušili s HV. Po spracovaní sme získali 83.3 mg (0.267 mmol, 83.2 %) produktu **18**.



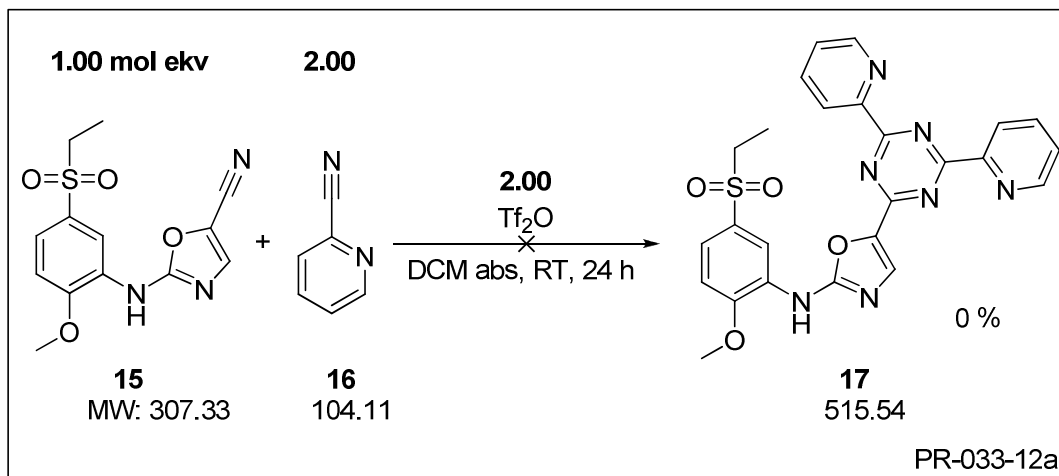
^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , PR-043-12a.fid): δ 8.98 (ddd, 1H, $J(5,6) = 4.7$ Hz, $J(4,6) = 1.7$ Hz, $J(3,6) = 1.0$ Hz, H-C(6)), 8.76 (ddd, 1H, $J(3,4) = 7.8$ Hz, $J(3,5) = 1.0$ Hz, $J(3,6) =$

⁵⁴ de la Hoz, A.; Diaz-Ortiz, A.; Elguero, J.; Martinez, L. J.; Moreno, A.; Sanchez-Migallon, A. *Tetrahedron* **2001**, 57, 4397 – 4403.

1.0 Hz, H-C(3)), 7.98 (ddd, 1H, $J(3,4) = 7.8$ Hz, $J(3,4) = 7.7$ Hz, $J(4,6) = 1.7$ Hz, H-C(4)), 7.56 (ddd, 1H, $J(4,5) = 7.7$ Hz, $J(5,6) = 4.7$ Hz, $J(3,5) = 1.0$ Hz, H-C(5)).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6), IR (KBr, cm^{-1}) a MS sú dostupné v literatúre.^{55, 56}

3.3.2 Príprava 5-[4,6-di(pyridín-2-yl)-1,3,5-triazín-2-yl]-N-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl]oxazol-2-amínu (17)



Literatúra:⁵⁷ (použitý iný substrát, iný reakčný čas)

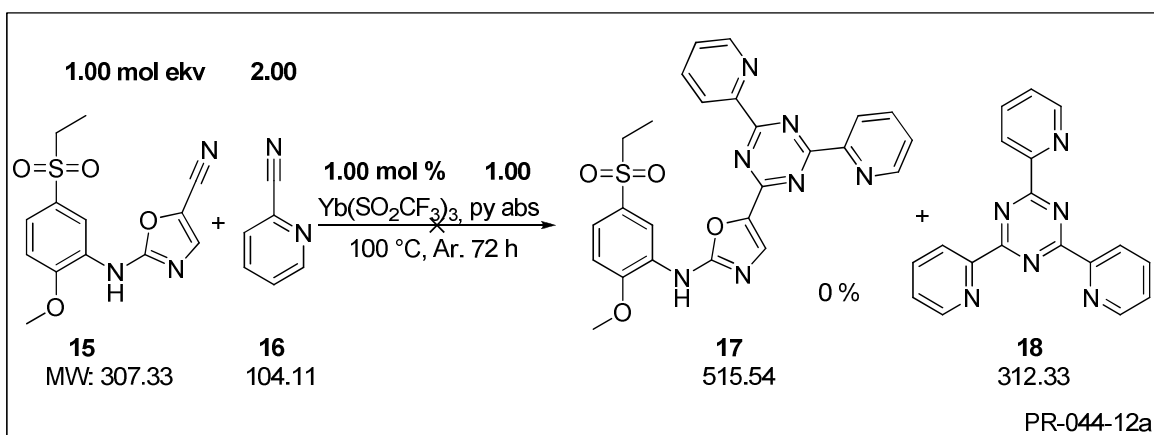
Experimentálny postup: 5.00 mg (0.016 mmol, 1.00 mol ekv) 2-[5-(Etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-karbonitrilu (**15**) sme rozpustili v 2 ml DCM abs. Do roztoku sme prikvapkali 5.5 μl (9.17 mg, 0.0033 mmol, 2.00 mol ekv) Tf₂O rozpustený v 0.5 ml DCM abs. Zmes sme miešali 15 min pri RT. Následne sme po kvapkách pridali roztok 3.39 mg (0.0033 mmol, 2.00 mol ekv) pikolínitrilu (**16**) v 0.5 ml DCM abs. Zmes sme miešali 24 h pri RT. Potom sme k reakčnej zmesi pridali 2 ml nasýteného vodného roztoku NH₄Cl. Zmes sme extrahovali 3 x 10 ml EtOAc, spojené organické fázy premyli nas. roztokom NaCl, vysušili nad bezvodým Na₂SO₄, prefiltrovali, zahustili na RVO a dosušili na HV. Po spracovaní sme izolovali iba východiskové látky.

Poznámka: Experiment sme opakovali viackrát, pričom sme vymenili rozpúšťadlo (toulén) a reakčnú teplotu sme zvyšovali postupne o 20 °C až na hodnotu 110 °C. Žiadne reakčné podmienky však neposkytli požadovaný produkt.

⁵⁵ Rubino, S.; Girasolo, A.; Orecchio, S.; Stocco, G. C.; Portanova, P.; Calvaruso, G. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 1041 – 1048.

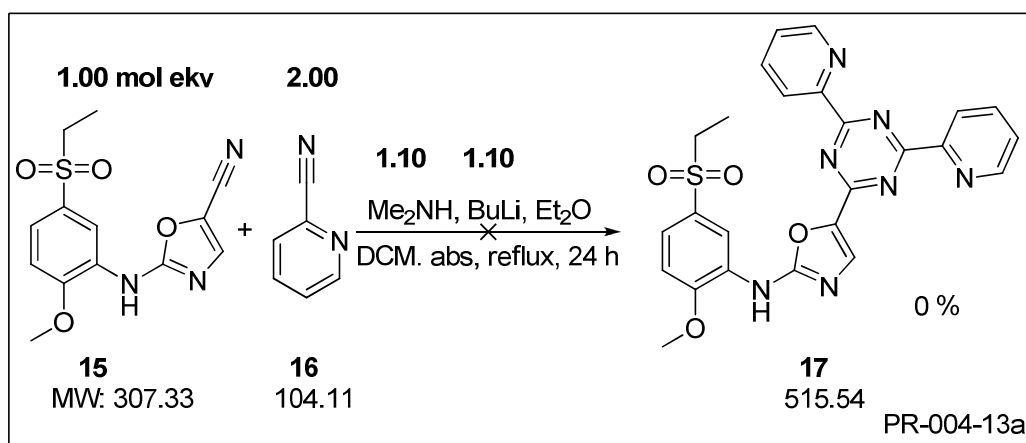
⁵⁶ Llobera, A.; Saa, J. M.; Peralta, A. *Synthesis* **1985**, *1*, 95 – 98.

⁵⁷ Herrera, A.; Martinez-Alvarez, R.; Ramiro, P.; Chioua, M.; Chioua, R. *Synthesis* **2004**, *4*, 503 – 505.



Literatúra:⁵⁴ (použitý iný substrát, iný reakčný čas, použitý iný yterbiový katalyzátor.)

Experimentálny postup: Do suchej ampule sme navážili 20.0 mg (0.065 mmol, 1.00 mol ekv) 2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-karbonitrilu (**15**), 13.6 mg (12.5 μl , 0.130 mmol, 2.00 mol ekv) pikolínitrilu (**16**), 0.37 mg (0.00065 mmol, 1.00 mol %) yterbium triflátu a 5.54 mg (6.54 μl , 0.065 mmol, 1.00 mol ekv) bezvodého pyridínu. Ampulu sme zatavili pod argónovou ochrannou atmosférou a reakčnú zmes sme zahrievali na 100 °C po dobu 72 h. Následne sme ampulu otvorili a jej obsah vymyli DCM. Organickú fázu sme extrahovali nas. roztokom NaHCO_3 , nasýteným roztokom NaCl a spojené organické fázy sušili státím nad bezvodým Na_2SO_4 . Zmes sme prefiltrovali, zahustili pomocou RVO a dosušili s HV. Po spracovaní sme izolovali len vedľajší produkt symetrický pyridínový triazín **18**.



Literatúra:⁵⁸ (použitý iný substrát, iný reakčný čas)

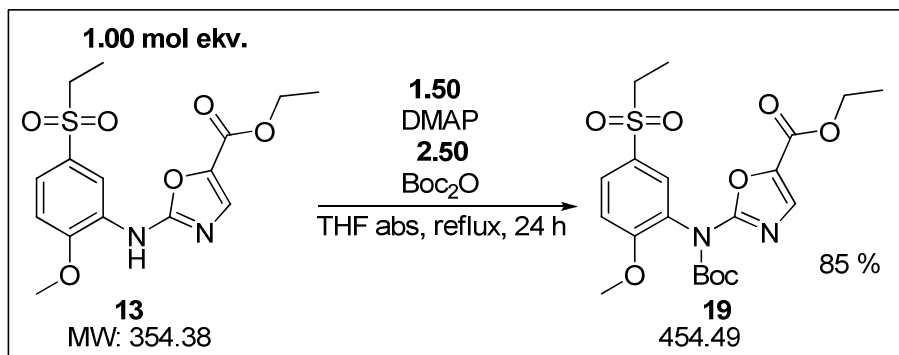
Experimentálny postup: K 156 μl (0.072 mmol, 1.10 mol ekv) 0.46 M roztoku dimetylamínu v THF, rozpustenom v 2 ml Et_2O abs sme po kvapkách pridávali 36 μl (0.072 mmol, 1.10 mol ekv) 2 M roztoku BuLi v hexánoch. Zmes sme nechali miešať po dobu 20 min. Následne sme k reakčnej zmesi pridali 2 ml DCM abs a 20 mg (0.065 mmol, 1.00 mol ekv) 2-[5-(ethylsulfonyl)-2-metoxifenylamino]oxazol-5-karbonitrilu (**15**). Reakčnú zmes sme miešali počas 1 h pri RT. Potom sme k nej prikvapkali 7.5 μl (8.8 mg, 0.072 mmol, 1.10 mol ekv) pikolínitrilu (**16**) v 1 ml DCM abs. Reakčnú zmes sme miešali za refluxu po dobu 24 h. Následne sme zmes ochladili na RT a pridali k nej 2 ml 1 M roztoku HCl. Zmes sme extrahovali 3 x 10 ml EtOAc, spojené organické fázy premyli nas. roztokom NaCl a vysušili nad bezvodým Na_2SO_4 . Zmes sme prefiltrovali, zahustili pomocou RVO a dosušili na HV. Po spracovaní sme izolovali iba východiskové látky.

Poznámka: Reakciu sme opakovali viackrát, pričom sme vymenili rozpúšťadlo (toulén) a postupne sme menili aj teplotu zahrievania reakčnej zmesi až na reflux. Žiadne s týchto podmienok však neposkytli požadovaný produkt. Za rovnakých r. podmienok sme namiesto Me_2NLi použili aj LDA, no ani táto zmena neviedla k úspešnej príprave želaného produktu.

⁵⁸ Medlycott, A. E.; Theobald, I.; Hanan, S. G. *Eur J Inorg Chem* **2005**, 7, 1223 – 1226.

3.4 Príprava počítačom navrhnutého inhibítora angiogenézy 25

3.4.1 Syntéza etyl 2-[terc-butoxykarbonyl(5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl)amino] oxazol-5-karboxylátu (19)

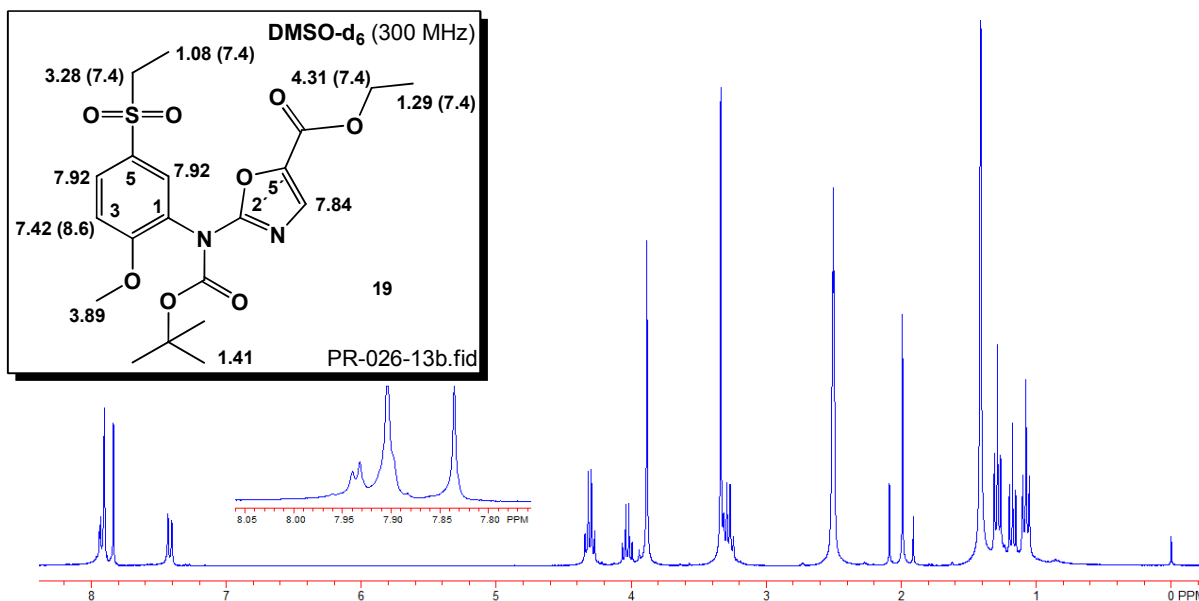


Literatúra:⁵⁹ (použitý iný oxazolový substrát, iný reakčný čas)

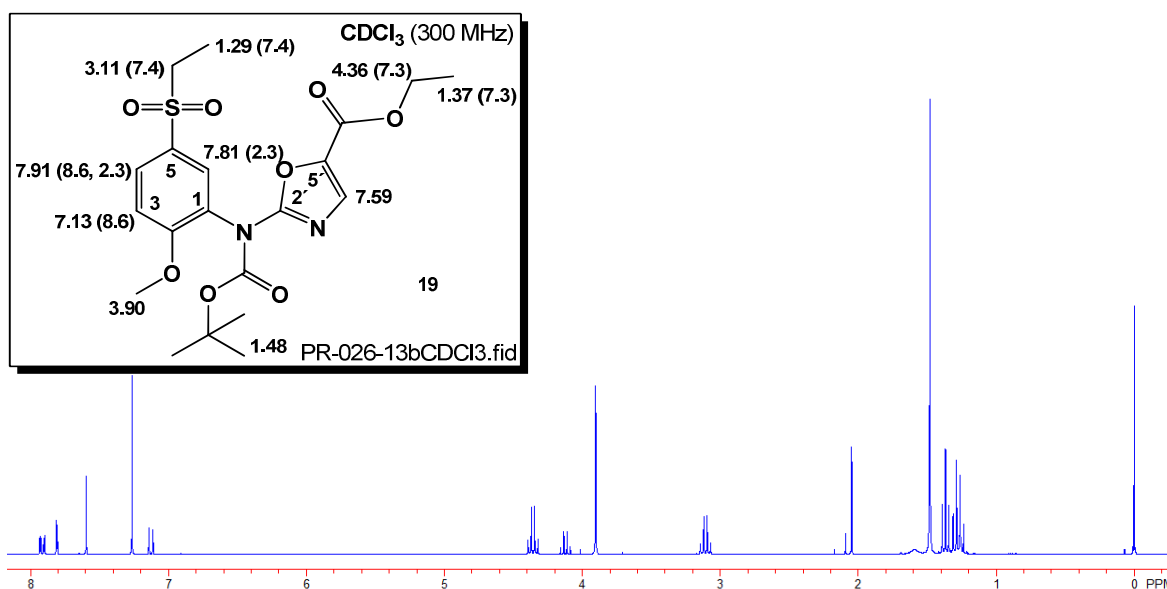
Experimentálny postup: 300.0 mg (0.847 mmol, 1.00 mol ekv) etyl 2-(5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino)oxazol-5-karboxylátu (**13**) sme rozpustili v 25 ml THF abs. Následne sme k zmesi pridali 155.1 mg (1.27 mmol, 1.50 mol ekv) DMAP (dimetylamínopyridínu) a zmes refluxovali počas 1 h. Potom sme reakčnú zmes ochladili na RT, pridali k nej 461.9 mg (2.12 mmol, 2.50 mol ekv) Boc_2O a zahrievali na reflux počas 24 h. Po ochladení zmesi na RT sme k nej pridali 25 ml ľadovej vody a upravili pH pridaním 1 M roztoku HCl na pH = 4. Zmes sme extrahovali 3 x 20 ml EtOAc, spojené organické fázy premyli nas. roztokom NaCl a vysušili nad bezvodým Na_2SO_4 . Zvyšok sme prefiltrovali, zahustili pomocou RVO a dosušili na HV. Získali sme 357.8 mg surového produktu, ktorý sme prečistili FLC chromatografiou v zmesi hexán / EtOAc (1 / 1). Získali sme 325.9 mg (0.72 mmol, 84.7 %) produktu **19** vo forme žltého oleja.

TLC: (SiO_2 , H / EtOAc (1 / 3), 1 x vyvolané) R_F = 0.43 (UV_{254}), I_2 - bez odozvy.

⁵⁹ Schnuerch, M.; Khan, A. F.; Mihovilovic, M. D. Stanetty, P. *Eur J Org Chem* **2009**, 19, 3228 – 3236.



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6 , PR-026-13b.fid): δ 7.92 (2H, m (vyšší poriadok), H-C(4) a H-C(6)), 7.84 (s, 1H, H-C_{ox}), 7.42 (d, 1H, $J(3,4) = 8.6$ Hz, H-C(3)), 4.31 (q, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.4$ Hz, COOCH₂), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 3.28 (q, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.4$ Hz, SO₂CH₂), 1.41 (s, 9H, COOC(CH₃)₃), 1.29 (t, 3H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.4$ Hz, COOCH₂CH₃), 1.08 (t, 3H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.4$ Hz, SO₂CH₂CH₃).



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl₃, PR-026-13bCDCl3.fid): δ 7.91 (dd, 1H, $J(3,4) = 8.6$ Hz, $J(4,6) = 2.3$ Hz, H-C(4)), 7.81 (d, 1H, $J(4,6) = 2.3$ Hz, H-C(6)), 7.59 (s, 1H, H-C_{ox}), 7.13 (d, 1H, $J(3,4) = 8.6$ Hz, H-C(3)), 4.36 (q, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.3$ Hz, COOCH₂), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 3.11 (q, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.4$ Hz, SO₂CH₂), 1.48 (s, 9H, COOC(CH₃)₃), 1.37

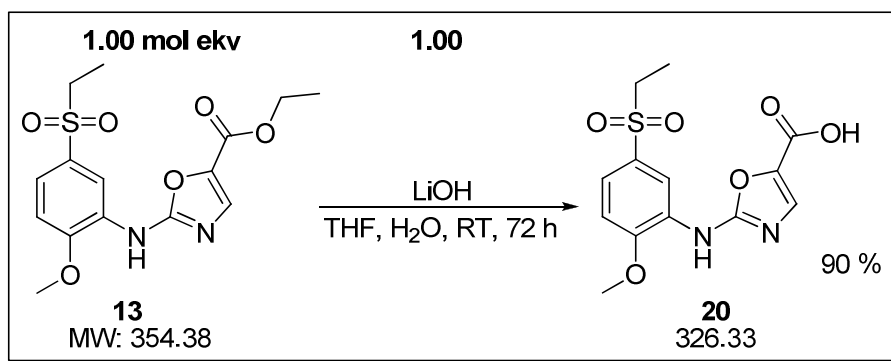
(t, 3H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.3 \text{ Hz}$, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 1.29 (t, 3H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.4 \text{ Hz}$, $\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6 , PR-026-13b-13C.fid): 158.2 a 156.7 ((C=O) alebo (CO, Boc)), 156.7 (C2'), 149.6 (C2), 134.6 (C5'), 130.1 (C4' alebo C5), 130.1 (C5 alebo C4'), 130.0 a 129.8 (C1 alebo C4), 127.3 (C6), 112.9 (C3), 83.5 ($\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$), 60.1 (COOCH_2), 56.6 (OCH_3), 49.2 (SO_2CH_2), 14.2 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) 7.2 ($\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$). (Príloha 10)

FT IR (solid, cm^{-1}): $\nu = 3001$ (m, =C-H), 2926 (m, -CH), 2851 (w), 2556 (w), 2254 (w), 1731 (s, C=O), 1540 (m, C-C), 1309 (m, S=O), 1128 (s, S-O), 1017 (m), 853 (w). (Príloha 11)

LC-MS (ESI+): m/z 477.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (100 %), 493.2 $[\text{M}+\text{K}]^+$ (16 %), 931.4 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$ (90 %), 377.1 $[\text{M}-\text{Boc}+\text{Na}+\text{H}]^{2+}$ (77 %), 355.2 $[\text{M}-\text{Boc}+2\text{H}]^{2+}$ (65 %). (Príloha 12)

3.4.2 Príprava kyseliny 2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-karboxylovej (20)



Literatúra:⁶⁰ (iný tiazolový substrát, dlhší reakčný čas)

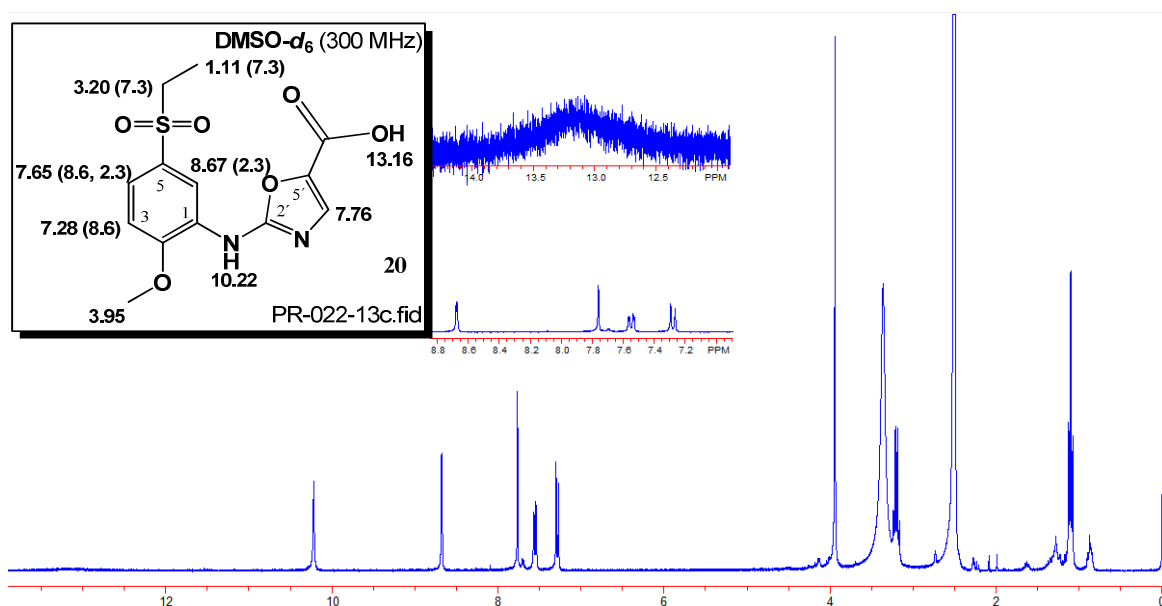
Experimentálny postup: 100.0 mg (0.306 mmol, 1.00 mol ekv) Etyl 2-(5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino)oxazol-5-karboxylátu (**13**) sme rozpustili v 10 ml THF a 6.5 ml H₂O. Následne sme pridali 38.6 mg (0.92 mmol, 3.00 mol ekv) LiOH . H₂O. Reakčnú zmes sme miešali pri RT po dobu 72 h. Po uplynutí tohto času sme upravili pH reakčnej zmesi na

⁶⁰ Romero, A. F.; Hwang, I.; Boger, D. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 14004 -14005.

hodnotu medzi 4 a 3. Zmes sme extrahovali 3 x 20 ml EtOAc, spojené organické fázy premyli nas. roztokom NaCl, vysušili státím nad bezvodým Na₂SO₄, zmes prefiltrovali, zahustili pomocou RVO a dosušili na HV. Získali sme 87.5 mg surového produktu, ktorý sme prečistili kryštalizáciou z EtOAc. Dostali sme 82.7 mg (0.253 mmol, 89.9 %) produktu vo forme bielej kryštalickej látky.

M. p.: 196.0 – 198.0 °C [EtOAc], biela kryštalická látka

TLC: (SiO₂, MeOH, 1 x vyvolané) R_F = 0.54 (UV₂₅₄), I₂ - žltá škvrna.



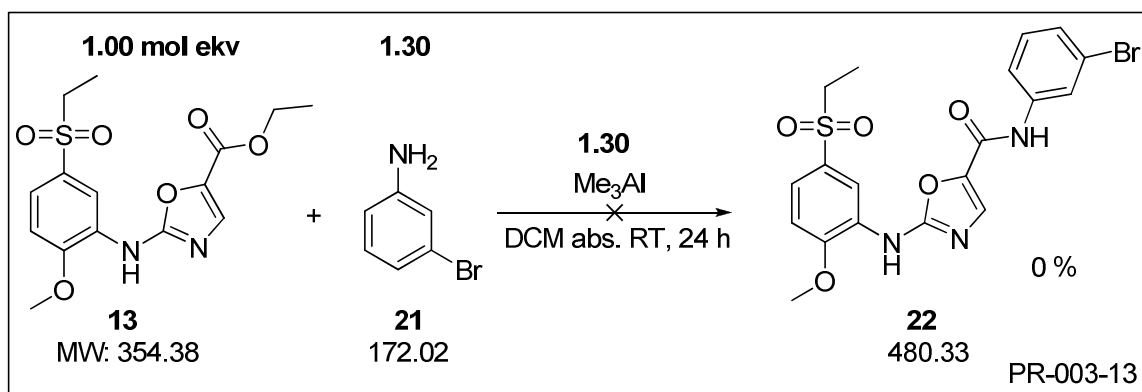
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, PR-022-13c.fid): δ 13.16 (br s, 1H, OH), 10.22 (s, 1H, NH), 8.67 (d, 1H, *J*(4,6) = 2.3 Hz, H-C(6)), 7.76 (s, 1H, H-C_{ox}), 7.65 (dd, 1H, *J*(3,4) = 8.6 Hz, *J*(4,6) = 2.3 Hz, H-C(4)), 7.28 (d, 1H, *J*(3,4) = 8.6 Hz, H-C(3)), 3.95 (s, 3H, OCH₃), 3.20 (q, 2H, *J*(CH₂,CH₃) = 7.3 Hz, SO₂CH₂), 1.11 (t, 3H, *J*(CH₂,CH₃) = 7.3 Hz, SO₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, PR-022-13c-13C.fid): 158.4 a 158.4 ((C=O) a (C2')), 152.2 (C2), 136.7 a 134.9 (C1 a C5'), 129.9 (C4'), 127.9 (C5), 123.5 (C4), 117.9 (C6), 111.2 (C3) 56.2 (OCH₃), 49.6 (SO₂CH₂), 7.2 (SO₂CH₂CH₃). (Príloha 13)

FT IR (solid, cm⁻¹): ν = 3450 (m, N-H), 3166 (m, -OH), 2964 (w, -CH), 2927 (m, -CH), 2852 (w), 2437 (w), 1688 (m, C=O), 1639 (m), 1580 (m, C-C), 1300 (w), 1275 (m, C-O), 1121 (s, S-O), 1019 (w), 823 (w). (Príloha 14)

LC-MS (ESI+): m/z 326.2 [M] (16 %), 348.1 [M+Na-H] (100 %), 349.1 [M+Na]⁺ (28 %). (Príloha 15)

3.4.3 Príprava N-(3-brómfenyl)-2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxypenylamino]oxazol-5-karboxamidu (**22**)



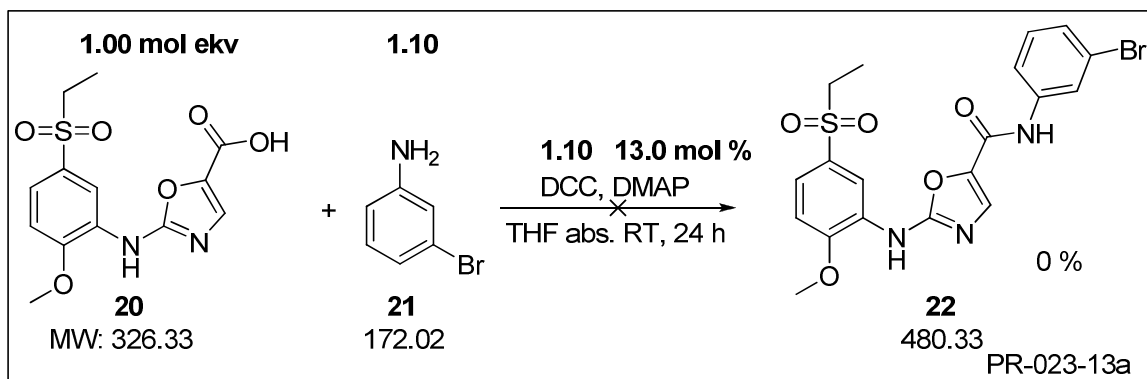
Literatúra:⁶¹ (použitý imidazolový substrát, iný reakčný čas, iná teplota)

Experimentálny postup: K zmesi 15.0 mg (0.042 mmol, 1.00 mol ekv) etyl 2-(5-(etylsulfonyl)-2-metoxypenylamino)oxazol-5-karboxylátu (**13**) a 6 μ l (9.47 mg, 0.055 mmol, 1.30 mol ekv) 3-brómanilínu (**21**) v 2 ml DCM abs, sme postupne pridali 28 μ l (0.055 mmol, 1.30 mol ekv) 2 M roztoku Me₃Al v hexáne. Reakčnú zmes sme miešali pod argónom za refluxu po dobu 24 h. Následne sme pridali 2 ml vody a upravili pH roztoku pomocou 1 M roztoku HCl na 4. Zmes sme extrahovali 3 x 10 ml EtOAc, spojené organické fázy premyli nas. roztokom NaCl a vysušili nad bezvodým Na₂SO₄. Zmes sme prefiltrovali, zahustili pomocou RVO a dosušili s HV. Po spracovaní sme izolovali len východiskové látky.

Poznámka: Priebeh reakcie sme sledovali pomocou TLC analýzy, nakoľko na platničke nevznikala, za pôvodných podmienok, žiadna nová škvrna. Zvýšili sme teplotu na reflux.

⁶¹ Gustafsson, T.; Ponten, F.; Seeberger, P. H. *Chem. Commun.* **2008**, 9, 1100 – 1102.

Po tejto zmene vznikala nová škvrna, no po separácií sme vyizolovali len východiskovú látku.

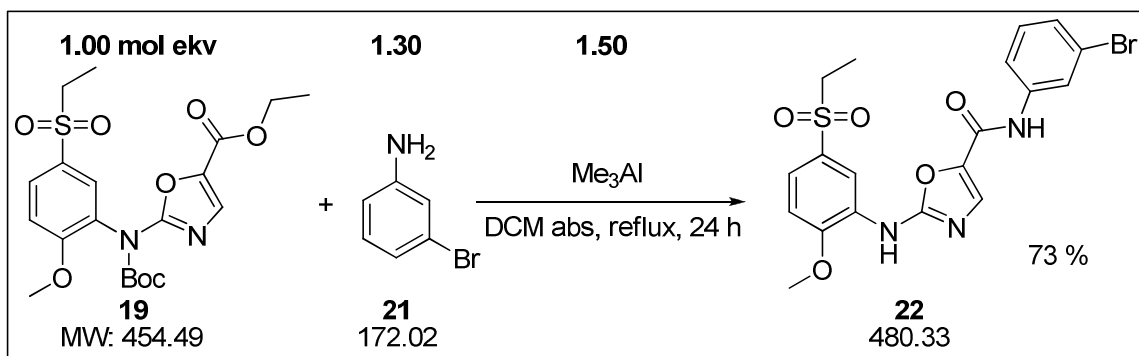


Literatúra:⁶² (použitý necyklycký substrát, iný reakčný čas, iná teplota)

Experimentálny postup: 20.0 mg (0.061 mmol, 1.00 mol ekv) kyseliny 2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxifenylamino]oxazol-5-karboxylovej (**20**) sme rozpustili v 2 ml THF abs. Následne sme pridali 7 µl (11.7 mg, 0.068 mmol, 1.10 mol ekv) 3-brómanilínu **21**. K reakčnej zmesi sme pridali 13.9 mg (0.068 mmol, 1.10 mol ekv) DCC a katalytické množstvo 1.0 mg (0.0082 mmol, 13.0 mol %) DMAP. Reakčnú zmes sme miešali pri RT po dobu 24 h. Následne sme pridali 5 ml H₂O a zmes extrahovali 3 x 10 ml EtOAc, spojené organické fázy sme premyli nas. roztokom NaCl a vysušili nad bezvodým Na₂SO₄. Zmes sme prefiltrovali, zahustili pomocou RVO a dosušili s HV. Po spracovaní sme izolovali iba východiskové látky.

Poznámka: Priebeh reakcie sme sledovali pomocou TLC analýzy, nakoľko na platničke nevznikala, za pôvodných podmienok, žiadna nová škvrna, zvýšili sme teplotu na reflux. Táto zmena nepriniesla žiadnu zmenu na TLC. Zmenili sme rozpúšťadlo na chloroform a teplotu zvýšili na reflux CHCl₃. Po tejto zmene vznikala nová škvrna, no po separácií sme vyizolovali len východiskovú látku.

⁶² Coppola, M. G.; Damon, E. R. *Synth. Commun.* **1993**, 23, 2003-2010.

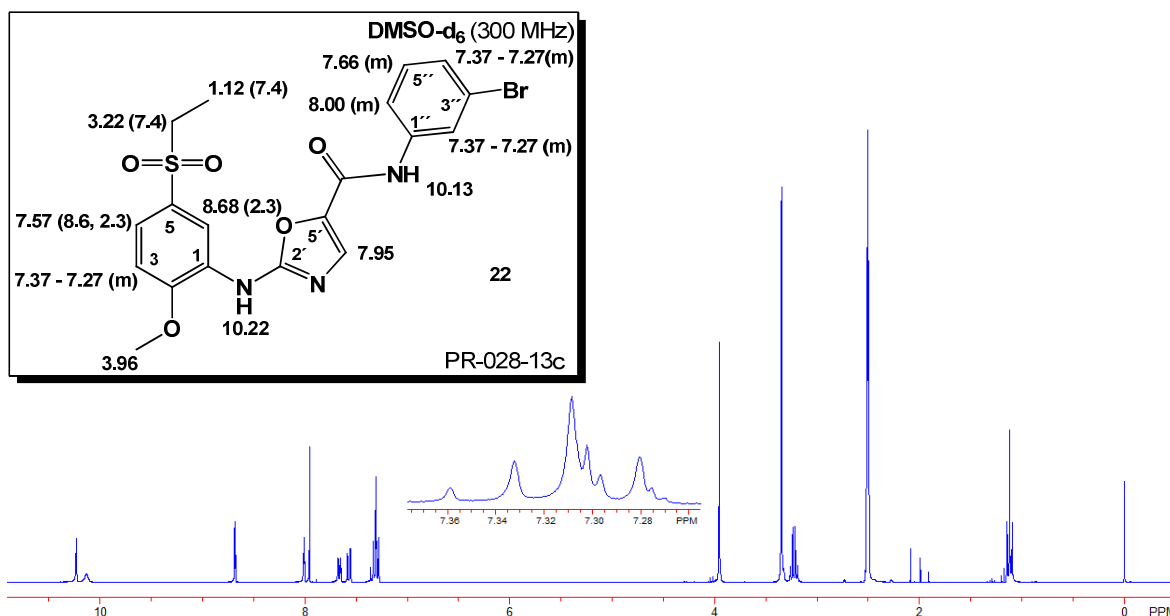


Literatúra:⁶¹ (iný imidazolový substrát, iný reakčný čas)

Experimentálny postup: K zmesi 50.0 mg (0.110 mmol, 1.00 mol ekv) etyl 2-[terc-butoxykarbonyl(5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenyl)amino]oxazol-5-karboxylátu (**19**) a 15 μl (24.3 mg, 0.143 mmol, 1.30 mol ekv) 3-brómanilínu (**21**) v 2.5 ml DCM abs, sme postupne po kvapkách pridali 88 μl (0.165 mmol, 1.50 mol ekv) 2 M roztoku Me_3Al v hexáne. Následne sme reakčnú miešali pod argónom za refluxu po dobu 24 h. Po uplynutí tejto doby sme pridali 5 ml ľadovej vody a upravili pH roztoku pomocou 1 M roztoku HCl na hodnotu 4. Zmes sme extrahovali 3 x 10 ml EtOAc, spojené organické fázy premyli nas. roztokom NaCl, vysušili státím nad bezvodým Na_2SO_4 , zmes sme prefiltrovali, zahustili na RVO a dosušili na HV. Po spracovaní sme získali 42.3 mg tmavohnedej tuhej látky, ktorú sme prečistili pomocou kryštalizácie z EtOAc. Získali sme 38.7 mg (0.08 mmol, 73.2 %) amidického produktu **22** vo forme bielej kryštalickej látky.

M. p.: 222.0 – 225.0 °C [EtOAc], biela kryštalická látka.

TLC: (SiO_2 , H / EtOAc (1 / 3), 1 x vyvolané) R_F = 0.28 (UV_{254}), I_2 – oranžová škvrna.



¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, PR-028-13c.fid): δ 10.22 (br s, 1H, NH), 10.13 (br s, 1H, NH), 8.68 (d, 1H, *J*(4,6) = 2.3 Hz, H-C(6)), 8.00 (t), 7.95 (s, 1H, H-C_{ox}), 7.66 (dt, 1H), 7.57 (dd, 1H, *J*(3,4) = 8.6 Hz, *J*(4,6) = 2.3 Hz, H-C(4)), 7.37 -7.27 (m, 3H, H-C(3), H-C(2''), H-C(4'')), 3.96 (s, 3H, OCH₃), 3.22 (q, 2H, *J*(CH₂,CH₃) = 7.4 Hz, SO₂CH₂), 1.12 (t, 3H, *J*(CH₂,CH₃) = 7.4 Hz, SO₂CH₂CH₃).

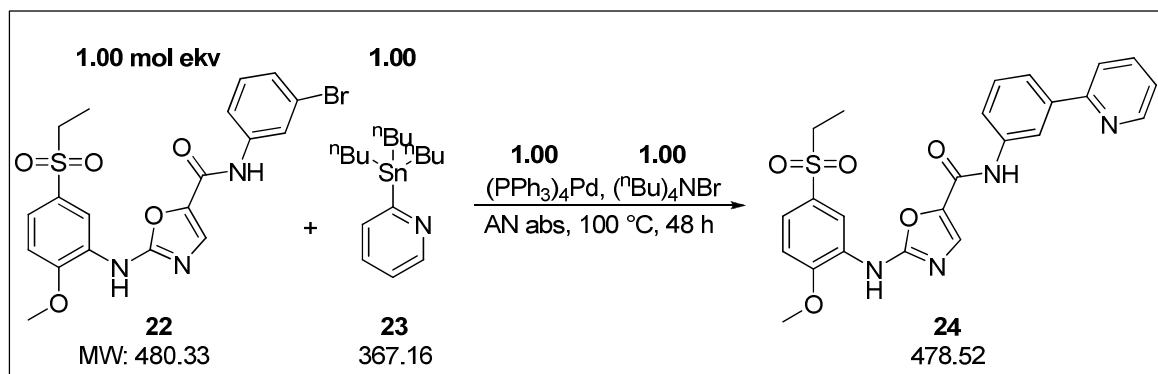
¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, PR-028-13c-13C.fid): 158.1 (C=O), 155.2 (C2'), 152.3 (C2), 140.2 a 138.6 (C5' a C1''), 132.2, 130.6 a 130.6 (C4', C5 a C4), 128.0 (C1), 126,2 (C5'') 123.6 (C4''), 122.2 a 121.2 (C3'' a C2''), 118.7 (C1''), 117.1 (C6), 111.3 (C3), 56.4 (OCH₃), 49.7 (SO₂CH₂), 7.3 (SO₂CH₂CH₃). (Príloha 16)

FT IR (solid, cm⁻¹): ν = 3306 (m, N-H), 3265 (m, N-H), 3087 (w), 2927 (w, C-H), 1666 (m), 1603 (m, N-H), 1570 (s), 1524 (m), 1302 (w), 1261 (m), 1120 (s, S-O), 1087 (m), 883 (w). (Príloha 17)

LC-MS (ESI+): *m/z* 480.0 [M+H]⁺ (7 %), 503.1 [M+Na+H]²⁺ (93 %), 504.1 [M+Na+2H]³⁺ (100 %), 983.2 [2M+Na+2H]³⁺ (100 %). (Príloha 18)

Elem. Anal.: vypoč. C₁₉H₁₈N₃O₅S (480.33): C, 47.51; H, 3.78; Br, 16.64; N, 8.75; S, 6.68
Získané: C, 47.55; H, 3.67; Br, 16.74; N, 8.32; S, 6.62.

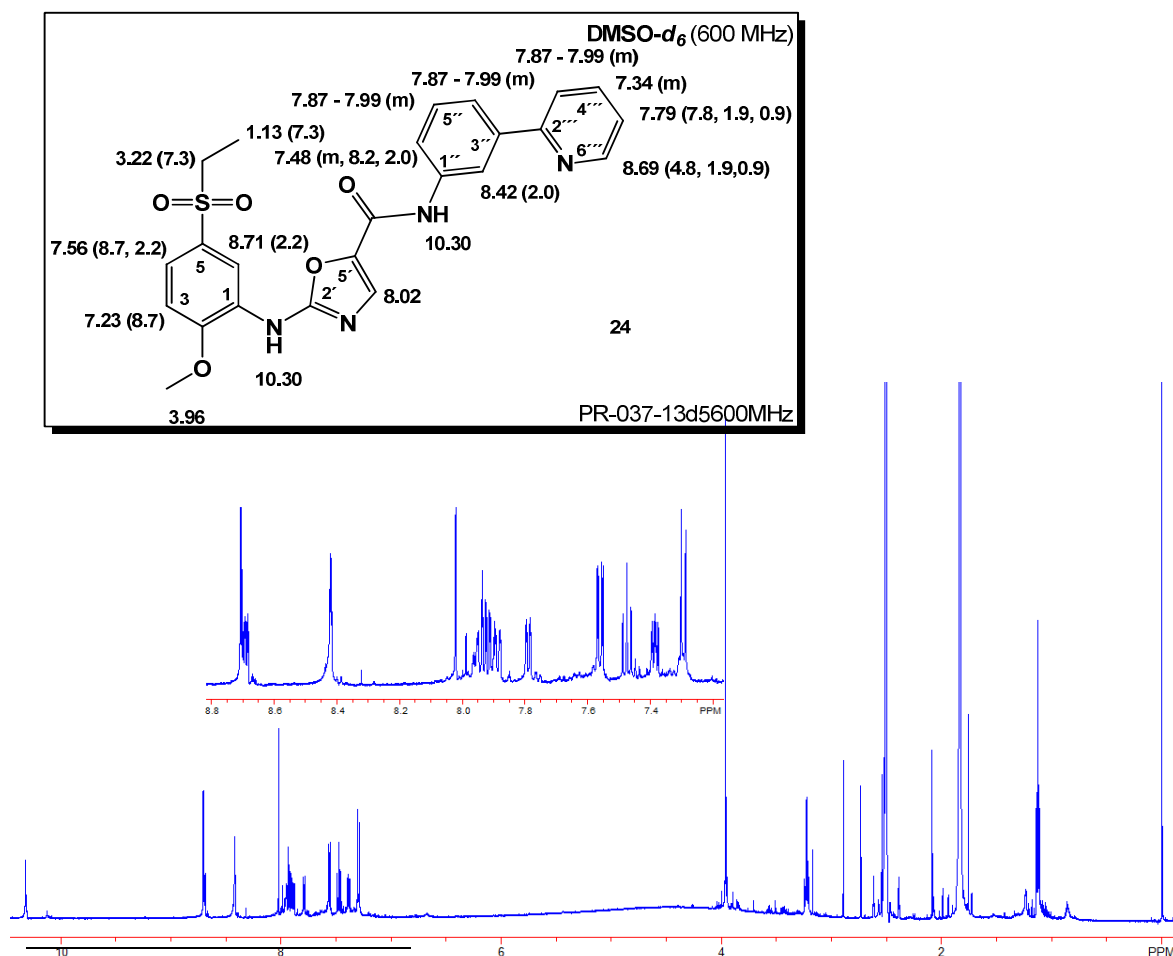
3.4.4 Príprava 2-(5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino)-N-(3-(pyridín-2-yl) fenyl) oxazol-5-karboxamidu (24)



Literatúra:⁶³ (iný arylaminooxazolový substrát, iný reakčný čas)

Experimentálny postup: Do suchej ampule sme postupne navážili 100.0 mg (0.208 mmol, 1.00 mol ekv) **22**, 67.1 mg (0.208 mmol, 1.00 mol ekv) tetrabutylamónium bromidu, 19.4 mg (0.013 mmol, 6.0 mol %) tetrakistrifenyľfosfín paládia a prikvapkali sme 67 uL (76.7 mg, 0.208 mmol, 1.00 mol ekv) (Bu)₃Sn(py-2-yl) **23**. Na záver sme pridali 2 ml abs AN. Ampulu s r. zmesou sme zatačili pod Ar a zmes zahrievali na 100 °C po dobu 48 h. Po ochladení sme ampulu otvorili a jej obsah preliali do zmesi 20 ml 1 M vodného roztoku KF s 40 ml EA a nechali miešať 3 h. Po oddelení organickej vrstvy sme vodnú vrstvu ešte raz extrahovali EtOAc. Spojené organické vrstvy sme sušili státím nad bezvodým Na₂SO₄. Zmes sme prefiltrovali, zahustili pomocou RVO a dosušili s HV. Získali sme 76.3 mg tmavočervenej látky, ktorú sme prečistili FLC chromatografiou s elučnou zmesou Hexsol / EtOAc (1 / 1). Získali sme 23.2 mg (0.05 mmol, 23.3 mol %) produktu **24**.

TLC: (SiO₂, H / EtOAc (1 / 3), 1 x vyvolané) R_F = 0.21 (UV₂₅₄), I₂ – bez odozvy.



⁶³ Sandee, A. J.; Williams, C. K.; Evans, N. R.; Davies, J. E.; Boothby, C. E.; Koehler, A.; Friend, R. H.; Holmes, A. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 7041 – 7048.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆, PR-037-13d5600MHz.fid): δ 10.30 (s, 1H, NH), 8.71(d, 1H, *J*(4,6) = 2.2 Hz, H-C(6)), 8.69 (ddd, 1H, *J*(m, 6''') = 4.8 Hz, *J*(5''', 6''') = 1.9 Hz, *J*(m, 6''') = 0.9 Hz, H-C(6''')), 8.42 (m, 1H, *J*(2'',6'') = 2.0 Hz, H-C(2'')), 8.02 (s,1H, H-C_{ox}), 7.89 – 7.99 (m, 3H, H-C(4'')) a H-C(5'') a H-C(3'')), 7.79 (ddd, 1H, *J*(m, 5'') = 7.8 Hz, *J*(5''',6''') 1.9 Hz, *J*(m,5'') = 0.9 Hz, H-C(5'')), 7.56 (dd, 1H, *J*(3,4) = 8.7 Hz, *J*(4,6) = 2.2 Hz, H-C(4)), 7.48 (m, 1H, *J*(6'',m) = 8.2 Hz, *J*(2'',6'') = 2.0 Hz, H-C(6'')), 7.34 (m, 1H, H-C(4'')), 7.23 (d, 1H, *J*(3,4) = 8.7 Hz, H-C(3)), 3.96 (s, 3H, OCH₃), 3.22 (q, 2H, *J*(CH₂,CH₃) = 7.3 Hz, SO₂CH₂), 1.13 (t, 3H, *J*(CH₂,CH₃) = 7.3 Hz, SO₂CH₂CH₃).

LC-MS (ESI+): *m/z* 479.2 [M+H]⁺ (100 %), 501.3 [M+Na]⁺ (10 %), 979.5 [2M+Na]⁺ (20 %). (Príloha 19)

4 Diskusia

4.1 Syntéza oxazolkarbonitrilového ligandu 15

Zlúčenina **15** predstavuje kľúčový prekursor pre prípravu viacerých navrhnutých inhibítorov tumorovej angiogenézy. Jeho úspešná príprava nám umožnila testovanie viacerých reakčných podmienok [2+2+2] cyklotrimerizačnej reakcie.

4.1.1 Príprava 2-aminoxazol-5-karbonitrilu (2)

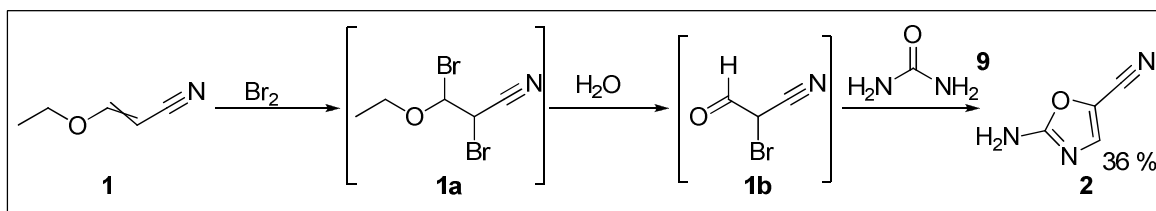


Schéma 9. One-pot syntéza 2-aminoxazol-5-karbonitrilu.

Pri príprave aminooxazolu **2** sme vychádzali z komerčne dostupnej zmesi etoxyakrylonitrilov **1** (2:1 zmes, cis / trans izoméru). Pre použitie tejto východiskovej látky miesto pôvodného, v literatúre opísaného, metoxyakrylonitrilu sme sa rozhodli pre jeho výrazne nižšiu cenu. Syntézu sme uskutočnili na základe *one pot* syntézy tiazolového analógu, ktorú sme prebrali z literatúry.⁴⁶ Reakciu sme uskutočnili zavádzaním roztoku Br_2 v AN do zmesi východiskového akrylonitrilu **1** v AN za chladenia na 0 °C. Získaný dibrómdderivát **1a** sme bez separácie premenili pomocou vodného roztoku NaOAc na oxonitrilový derivát **1b**, ktorý sme za bázických podmienok (NaOAc) a chladenia (5 – 10 °C) nechali reagovať s močovinou (**9**). Pre získanie želaného aminooxazolu **2** bolo nevyhnutné miešať reakčnú zmes pri pH 5 po dobu 21 dní. Naše pokusy o optimalizáciu a skrátenie r. času zmenou reakčnej teploty v poslednej fáze *one pot* syntézy nepriniesli úspešný výsledok. Produkt sme sa po viacerých neúspešných pokusoch o kryštalizáciu rozhodli izolovať pomocou FLC zmesou Hexol / EtOAc (1 / 1). Po FLC separácii sme získali 36 % produktu **2**. Tento produkt sme chceli využiť na prípravu karbonitrilu **3** v nasledujúcom stupni.

4.1.2 Príprava 2-chlóroxazol-5-karbonitrilu (3)

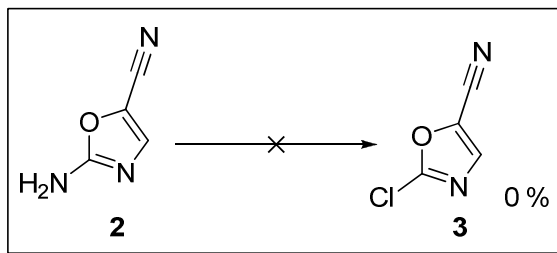


Schéma 10. Zamýšľaná syntéza chlóroxazolu **3**.

Pri syntéze chlóroxazolu **3** sme vychádzali z nami pripraveného aminooxazolu **2**. Reakciu sme uskutočnili na základe viacerých postupov prebraných z literatúry, žiadne však neviedli k želanému produktu. Podmienky prebrané zo syntézy tiazolového analógu (Ac_2O , py RT, 4 h)⁴⁶ nedali produkt a identifikovali sme iba východiskové látky. Rozhodli sme sa preto otestovať iné reakčné podmienky (iné poradie pridávania reaktantov, zvýšenie reakčnej teploty na reflux AN), tieto pokusy opäť viedli len k izolácii východiskových látok, alebo ich deštrukcii. Úspešné neboli ani štandardné podmienky úspešne používané v našej výskumnej skupine na premenu aminooxazolesteru **10** na chlóroxazaol ester **11** pomocou tBuONO / CuCl_2 . Tieto r. podmienky viedli k deštrukcii východiskovej látky a požadovaný produkt **3** sme neizolovali.

4.1.3 Príprava N-(5-kyanooxazol-2-yl)acetamidu (4) a N-(5-kyanooxazol-2-yl)-1,1,1-trifluórometánsulfónamidu (5)

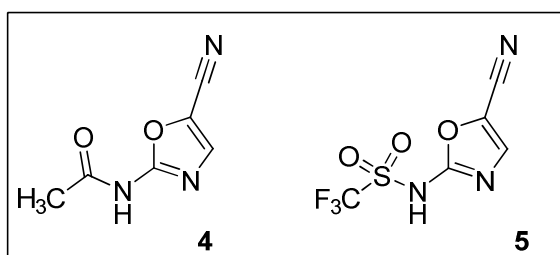


Schéma 11. Štruktúra zamýšľaných zlúčenín **4** a **5**.

Po neúspechu vyššie uvedenej diazotačnej reakcie sme hľadali podmienky na vytvorenie ľahko odstupujúcej skupiny, ktoré by umožnili využiť pripravený aminooxazol **2** a uskutočniť nukleofilnú substitúciu derivátu **4**, alebo **5** s anilínom **12**. Ako možná sa zdala byť transformácia amíno skupiny viazanej na oxazol na acetamid alebo triflát.

V prípade reakcie aminooxazolu **2** s Ac_2O alebo s Tf_2O za prítomnosti pyridínu ako bázy sme vychádzali z podmienok prevzatých z literatúry.^{47, 48} V oboch prípadoch dochádzalo, na základe TLC analýzy, k úbytku VL a ku vzniku novej škvrny na TLC. Avšak po spracovaní a následnej NMR analýze sme opäť izolovali iba VL. Naše pokusy o úpravu separačných podmienok nevedli k získaniu očakávaných produktov. Môžeme teda predpokladať, že produkty **4** a **5** nie sú stále a k ich rozkladu dochádza už počas krátkej manipulácii potrebnej pre NMR analýzu.

4.1.4 Príprava etylesteru kyseliny 2-chlór-3-oxopropánovej (**8**)

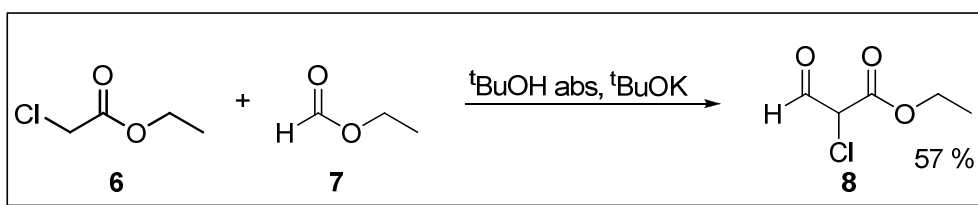


Schéma 12. Príprava 2-chlór-3-oxopropánovej **8**.

Po predošlých neúspešných pokusoch o prípravu ligandu **15** z aminooxazolu **2** sme sa rozhodli pre jeho prípravu spôsobom, ktorý bol vyvinutý v našej výskumnej skupine počas riešenia dizertačnej práce Mgr. L. Kováčikovej.⁵⁰

Pri príprave chlór oxopropionátu **8** sme vychádzali z komerčne dostupného chlór etylacetátu **6** a etylformiátu **7**, ktoré za podmienok Claisenovej kondenzácie v prítomnosti $t\text{BuOK}$ v $t\text{BuOH}$ poskytujú želaný produkt **8**. Zistili sme, že reaktanty je nutné do reakčnej zmesi pridávať postupne v podobe ich spoločného roztoku v Et_2O . V opačnom prípade dochádza k zníženiu výťažku produktu **8**, ako aj k vzniku neželaných vedľajších produktov. Produkt reakcie **8** je možné prečistiť viacnásobnou extrakciou EtOAc po jeho rozpustení vo vode, keďže vedľajšie produkty reakcie sú v porovnaní s produktom **8** oveľa menej rozpustné v organických rozpúšťadlách. Tento spôsob separácie vyvinul počas jeho Mgr. DP Bc. Peter Šramel. Uvedeným spôsobom sa nám podarilo pripraviť produkt **8** vo výťažku 57 %.

4.1.5 Príprava etylesteru kyseliny 2-aminooxazolkarboxylovej (**10**)

Pri príprave aminooxazolesteru **10**, sme vychádzali z nami pripraveného chlór oxopropionátu **8**. Syntézu sme uskutočnili podľa postupu z literatúry.⁵⁰ Reakciu sme

uskutočnili z **8** a močoviny (**9**) za refluxu vo vode. Produkt sme prečistili pomocou FLC na SiO₂ a získali látku **10** vo výťažku 58 %.

4.1.6 Príprava etylesteru kyseliny 2-chlóroxazolkarboxylovej (**11**)

Reakciu sme uskutočnili podľa postupu z literatúry,⁵⁰ pričom sme vychádzali z nami pripraveného aminooxazol esteru **10**. Diazotačnú reakciu sme uskutočnili s ^tBuONO pri 60 – 80 °C, pričom sme zistili, že použitý AN, ^tBuONO, ako aj CuCl₂ musia byť suché. V opačnom prípade reakcia dávala nízky výťažok, alebo vôbec neprebiehala. Pri spracovaní je nutné, aby bola reakčná zmes ochladená na RT, v opačnom prípade produkt **11** prenáša nečistoty kontaminované med'ou, ktoré znižujú výťažok nasledujúceho kroku pre syntézu látky **13**. Nečistoty s med'ou je možné odstrániť filtráciou cez krátky stĺpec SiO₂ a filtrácia musí byť uskutočnená rýchlo, nakoľko sa chlóroxazol **11** na SiO₂ rozkladá. Uvedeným postupom sme získali produkt **11** v 78 % výťažku.

4.1.7 Príprava etyl 2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-karboxylátu (**13**)

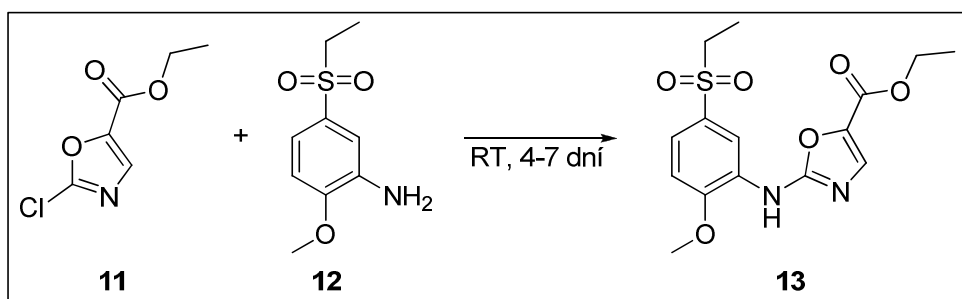


Schéma 13. Príprava arylaminooxazolesteru **13**.

Pri príprave arylaminooxazolesteru **13** sme vychádzali z dizertačnej práce Mgr. L. Kováčikovej.⁵⁰ Vychádzali sme z nami pripraveného chlóroxazolu **11** a anilínu **12**, ktorý bol dostupný v našej výskumnej skupine. Aminoskupina anilínu nukleofilne atakuje chlór z chlóroxazolu **11** v prostredí ⁱPrOH (Ad - El mechanizmus). Reakciu sme uskutočnili pri RT a jej priebeh sme sledovali TLC analýzou. Nakoľko sa aj po 4 dňoch v reakčnej zmesi stále nachádzal východiskový anilín **12**, pridali sme ďalší ekvivalent chlóroxazolu **11**. Produkt sme prečistili kryštalizáciou zo zmesi H / EtOAc. Pozorovali sme, že ak surový produkt obsahuje väčšie množstvo východiskového chlóroxazolu **11**, produkt **12** dobre nekryštalizuje a je nutné ho izolovať pomocou FLC. Tento problém je, ako sa neskôr

ukázalo, možné obísť kryštalizáciou z EtOH. Tento spôsob separácie vyvinul Bc. Peter Šramel. Uvedeným spôsobom sa nám podarilo pripraviť zlúčeninu **13** v 58 % výťažku.

4.1.8 Príprava amidu kyseliny 2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-karboxylovej (**14**)

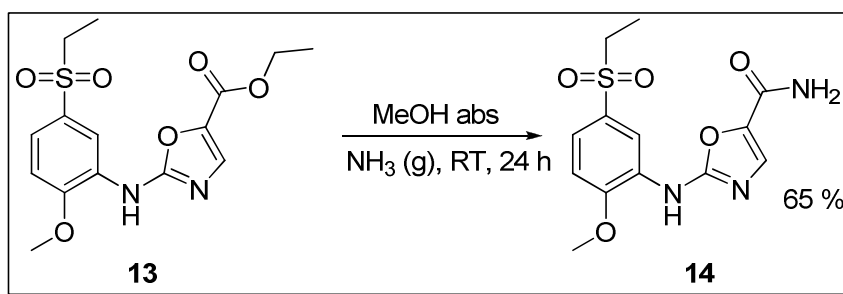


Schéma 14. Príprava arylaminooxazol amidu **14**.

Pri príprave arylaminooxazolamidu **14** sme vychádzali z nami pripraveného arylaminooxazolesteru **13**. Reakciu sme uskutočnili na základe postupu z literatúry,⁵³ zavádzaním plynného amoniaku do roztoku východiskovej látky v metanole. Voľba metanolu sa ukázala byť veľmi výhodná, nakoľko produkt **14** je v MeOH len veľmi málo rozpustný, čo umožňovalo získať dobrý výťažok a jednoducho izolovať produkt. Separácia produktu spočívala v jeho odfiltrovaní z reakčnej zmesi. Takto sme pripravili produkt **14** v 65 % výťažku. Zlúčenina **14** je zle rozpustná vo väčšine bežných rozpúšťadiel, čo nám spôsobilo čiastočné problémy pri ďalšej syntéze.

4.1.9 Príprava 2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino]oxazol-5-karbonitrilu (**15**)

Arylaminooxazolkarbonitril **15** predstavuje dôležitú zlúčeninu, nakoľko sa jedná o prekursor určený na prípravu viacerých počítačom predpovedaných triazínových VEGFR2 inhibítorov. Pri jeho príprave sme vychádzali z postupu z literatúry.⁵³

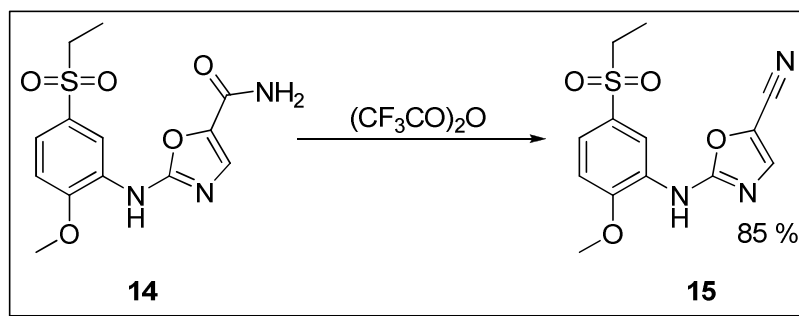


Schéma 15. Príprava nízkomolekulového ligantu **15**.

Pri príprave nízkomolekulového ligantu **15** sme použili dehydratačnú reakciu s $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ za prítomnosti py abs. Východisková látka **14** je zle rozpustná vo väčšine bežných rozpúšťadiel. Po hľadaní podmienok sme zistili, že VL **14** je rozpustná v acetóne pri RT. Pri pokusoch o zopakovanie reakcie sme však museli reakčnú zmes mierne zahriať, nakoľko sa VL v acetóne rozpúšťala len v lete. V zime nebola laboratórna teplota na jej rozpustenie dostatočná. Produkt reakcie **15** sme čistili kryštalizáciou z MeOH a získali ho v 85 % výťažku.

4.1.10 Príprava 5-[4,6-di(pyridín-2-yl)-1,3,5-triazín-2-yl]-N-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxifenyl]oxazol-2-amínu (**17**)

Pri syntéze počítačom navrhnutého VEGFR2 inhibítora **17** sme vychádzali zo známych podmienok cyklotrimerizačných reakcií, ktoré sú opísané v literatúre.^{57,58,59}

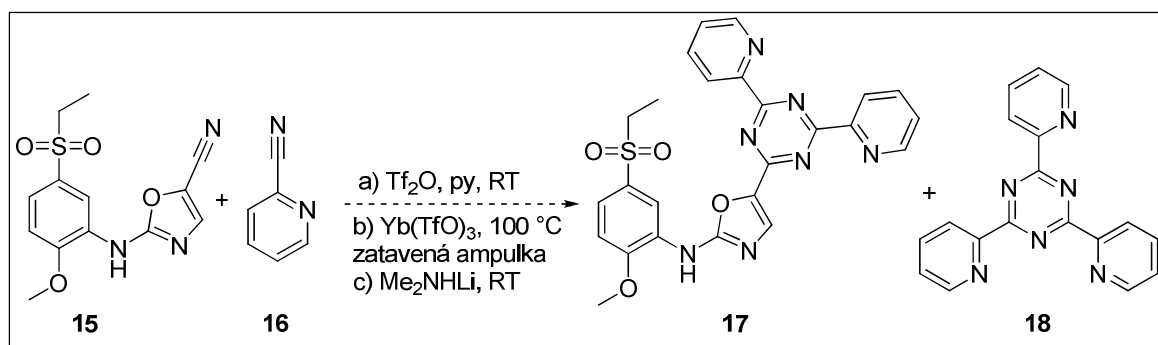


Schéma 16. Skúšané spôsoby prípravy inhibítora **17** a vedľajšieho produktu **18**.

a/ Ako prvé cyklizačné činidlo sme použili Tf_2O . Vychádzali sme z podmienok opísaných v literatúre.⁵⁷ Reakciu sme uskutočnili pri RT. Tieto podmienky nevedli

k vytvoreniu želaného produktu **17** a ani k vzniku predpokladaného vedľajšieho produktu **18**. Zlúčeninu **18** sme si pripravili ako štandard reakciou pikolínnitrilu **16** v pyridíne za katalýzy $\text{Yb}(\text{TfO})_3$ v zatavenej ampuli pri $100\text{ }^\circ\text{C}$ vo výťažku 83 %. Naše pokusy na prípravu inhibítora **17** pomocou Tf_2O neboli úspešné ani po snahe o optimalizáciu reakčnej teploty. Teplotu sme zvyšovali o $20\text{ }^\circ\text{C}$ až na teplotu refluxu toulénu. VL zostala za daných podmienok nepoškodená. Predpokladáme že Tf_2O nebol schopný za daných podmienok vytvoriť reaktívny intermediát **T18** (triflát namiesto Cl, Obrázok 7), pikolínnitril **16** nemohol byť atakovaný reaktívnym intermediátom a cyklická trimerizácia neprebehla. Táto metóda sa, aj napriek jej používaniu v literatúre, zdá byť nevhodnou pre náš substrát **15**.

b/ Istý úspech sa nám podarilo dosiahnuť v prípade cyklotrimerizačnej reakcie katalyzovanej $\text{Yb}(\text{SO}_2\text{CF}_3)_3$, ktorej postup sme prebrali z literatúry.⁵⁸ Reakciu sme uskutočnili v zatavenej ampuli pod Ar pri $100\text{ }^\circ\text{C}$. V tomto prípade reakcia neposkytla želaný produkt **17**, ale len očakávaný vedľajší cyklotrimerizačný produkt **18**. Želaný produkt sa nám nepodarilo pripraviť ani v prípade, ak sme reakciu uskutočnili pri vyššej teplote, ktorú sme postupne zvyšovali o $20\text{ }^\circ\text{C}$ až na $160\text{ }^\circ\text{C}$. Pikolínnitril sme pridávali postupne tak, aby sme zabezpečili jeho prítomnosť v r. zmesi len vo veľkom zriedení. VL zostala za daných podmienok nepoškodená.

c/ Rovnakú príčinu zlyhania cyklotrimerizačnej reakcie, ako v prípade katalýzy s Tf_2O predpokladáme aj v prípade bázycky katalyzovanej reakcie. Po použití Me_2NHLi sa pravdepodobne nevytvoril reaktívny intermediát **T24** (Me_2N - namiesto NH_2 , Obrázok 8) a tento nemohol atakovať molekulu pikolínnitrilu **16**. Ani v tomto prípade cyklotrimerizačná reakcia neprebíhala. Po neúspechu pôvodných podmienok sme sa snažili o optimalizáciu reakčných podmienok s cieľom získať želaný produkt **17**. DCM sme nahradili toulénom a reakčnú teplotu sme postupne zvyšovali až na reflux. Pikolínnitril **16** sme pridávali postupne pri veľkom zriedení. Priebeh reakcie sme sledovali pomocou TLC analýzy. Žiadne zmeny podmienok neviedli k získaniu produktu **17**.

Z uvedených experimentov môžeme usudzovať, že zlúčenina **15** nie je dostatočne reaktívna pre uskutočnenie [2+2+2] cyklotrimerizácie. Pre cyklotrimerizáciu je nevyhnutné zvýšiť reaktivitu látky **15**, napríklad zmenou elektrónových vlastností karbonitrilu chránením mostíkovej $-\text{NH}-$ skupiny pomocou Boc skupiny. Takéto chránenie sme úspešne použili a osvedčilo sa nám pri zmene reaktivity esteru **19** použitom neskôr pri príprave zlúčeniny **24**. Z dôvodu nedostatku času sme cyklotrimerizáciu Boc chráneného prekursoru **15** neuskutočnili.

4.2 Príprava počítačom navrhnutého VGEFR2 inhibítora 25

4.2.1 Príprava N-(3-brómfenyl)-2-[5-(etylsulfonyl)-2-metoxypenylamino]oxazol-5-karboxamidu (22)

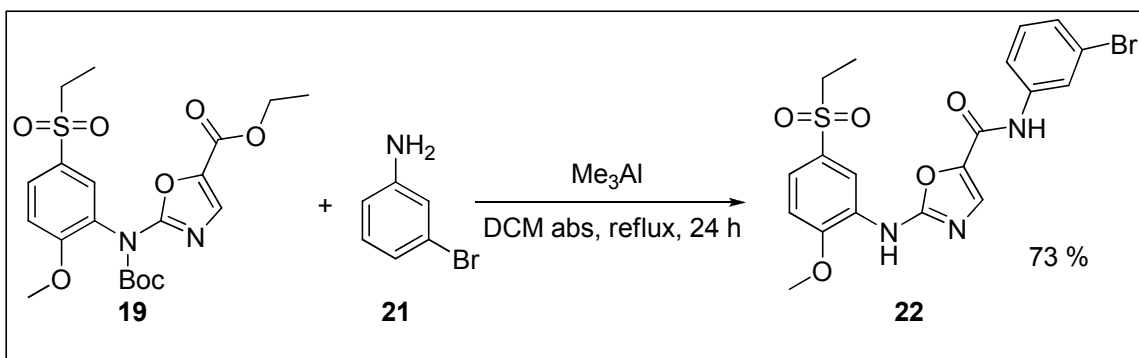


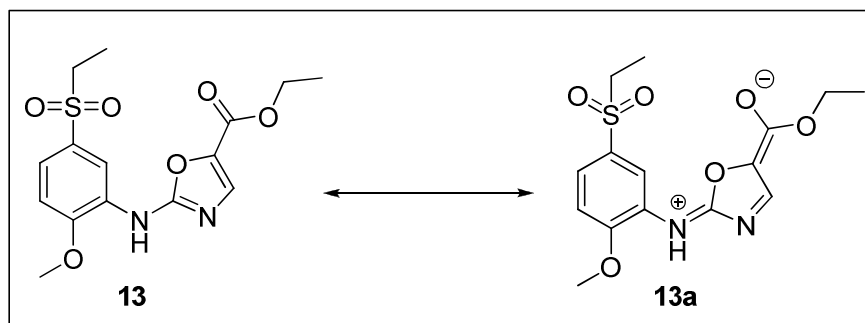
Schéma 17. Príprava arylaminooxazolu 22.

Pri príprave amidového derivátu arylaminooxazolu **22** sme vychádzali z viacerých reaktantov použili sme pritom rôzne reakčné podmienky. Štúdiom literatúry sme zistili, že pri príprave amidov sa najčastejšie používajú estery, karboxylové kyseliny, alebo chloridy karboxylových kyselín. Rozhodli sme sa vychádzať z nami pripraveného arylaminooxazolesteru **13** a jeho reakciu s anilínom **21** sme uskutočnili na základe podmienok z literatúry.⁶¹ Ako činidlo sme použili Me_3Al , ktorý vytvára s anilínom alumíniuianilid, ktorý následne atakuje kyslík etoxyskupiny. Reakciu sme uskutočnili v DCM pri RT počas 24 h, pričom sme do zmesi arylaminooxazolu **13** a **21** postupne prikvapkávali roztok Me_3Al v hexáne. Uvedené podmienky však neposkytli požadovaný produkt **22**.

Potom sme sa rozhodli vychádzať s karboxylovej kyseliny **20**, ktorú sme pripravili bázičnou hydrolýzou arylaminooxazolesteru **13** LiOH pri rt počas 72 h. DCC sme použili ako kondenzačné činidlo reakcie kyseliny **20** s anilínom **21**. Reakciu sme uskutočnili na základe podmienok z literatúry⁶² v DCM pri RT. No ani pri tejto reakcii sme nepozorovali vznik požadovaného produktu **22**. Optimalizáciu reakčných podmienok sme nerobili.

Na základe skúseností z predošlých reakcií sme si uvedomili, že arylaminooxazolový ester **13** nie je dostatočne reaktívny. Jeho nízku reaktivitu spôsobuje

pravdepodobne voľný elektrónový pár mostíkovej NH- skupiny, ktorý môže mezomérne deaktivovať karbonylový uhlík esteru.



Obrázok 10. Rezonančná štruktúra **13** a deaktivovaného arylaminooxazolesteru **13a**.

Z uvedeného dôvodu sme sa rozhodli pre chránenie mostíkovej NH-skupiny Boc skupinou, ktorú sme zaviedli pomocou Boc_2O za prítomnosti DMAP v THF za 24 refluxu v 85 % výťažku. Štruktúru chráneného esteru **19** sme potvrdili ^1H NMR spektroskopiou surovej reakčnej zmesi nakoľko priama identifikácia vznikajúceho chráneného esteru **19** pomocou TLC analýzy bola komplikovaná, nakoľko R_f hodnota chráneného **19** a nechráneného esteru **13** bola v danom eluente takmer totožná. Relatívne spoľahlivá možnosť identifikácie týchto látok je prostredníctvom viacnásobného vyvolania TLC platničky v menej polárnej zmesi. Pri zmeraní ^1H -NMR spektra chráneného esteru **19** v DMSO sme získali spektrum vyššieho rádu. Tento problém bolo možné odstrániť meraním spektra **19** v CDCl_3 .

Po úspešnej príprave chráneného arylaminooxazolu **19** sme sa rozhodli znovu testovať neúspešné podmienky prípravy arylaminooxazolu **22** s Me_3Al . K zmesi arylaminoesteru **19** a anilínu **21** v DCM sme postupne prikvapkali roztok Me_3Al v hexáne a reakčnú zmes následne refluxovali 24 h. Získaný arylaminooxazolamid **22** sme čistili kryštalizáciou z EtOAc. ^1H -NMR analýzou sme zistili, že za týchto reakčných podmienok dochádza zároveň k odstráneniu Boc chrániacej skupiny. Táto skutočnosť bola výhodná, nakoľko vzniknutý produkt **22** bolo možné použiť do ďalšej syntézy bez potreby uskutočniť deprotekcii Boc skupiny. ^1H -NMR spektrum arylaminooxazolu **22** v DMSO je opäť vyššieho rádu. V tomto prípade arylaminooxazol **22** nie je rozpustný v CDCl_3 a preto nebolo možné získať jednoducho jeho spektrum v chloroforme, ako sme to urobili v prípade chráneného esteru **19**.

4.2.2 Príprava 2-(5-(etylsulfonyl)-2-metoxyfenylamino)-N-(3-(pyridín-2-yl)fenyl) oxazol-5-karboxamidu

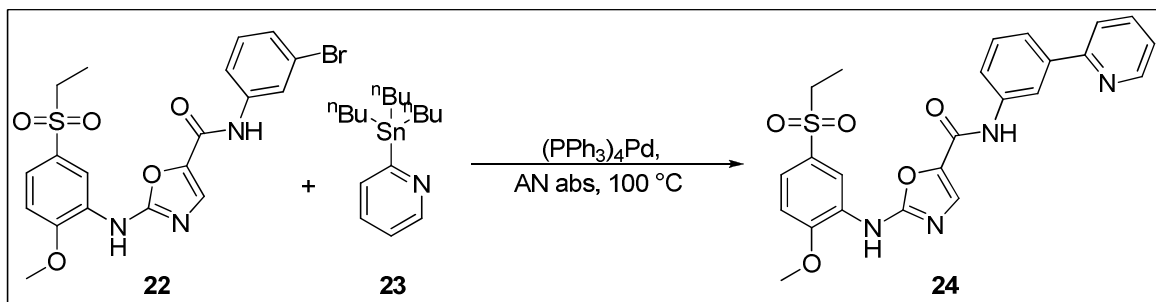


Schéma 18. Príprava arylaminooxazolu **24**.

Poslednú reakciu, ktorú sme doposiaľ uskutočnili, predstavuje Stilleho coupling arylaminooxazolu **22** s $\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{py-2-yl})$ ovým činidlom **23**. Pri reakcii sme vychádzali z postupu z dizertačnej práce Mgr. L. Lintnerovej. Reakciu sme uskutočnili v zatavenej ampuli, ako katalyzátor sme použili $(\text{PPh}_3)_4\text{Pd}$. Reakciu sme uskutočnili v zatavenej ampuli pri $100\text{ }^\circ\text{C}$ a získali sme produkt **24** v 23 % výťažku. Produkt sme sa opakovane pokúšali vyčistiť pomocou FLC. Látka aj naďalej obsahuje nečistoty a jej štruktúra sa stala zavedením ďalšieho aromatického jadra viac komplikovanou. Z uvedeného dôvodu nie je možné uspokojivo potvrdiť jej štruktúru len z $^1\text{H-NMR}$ spektroskopie. Spektrum v DMSO je navyše čiastočne aj vyššieho poriadku a niektoré signály aromatickej oblasti sa prekrývajú. Produkt sme preto identifikovali aj na základe LC-MS spektra v pozitívnom mode, kde sme jasne identifikovali protonizovaný molekulový pík. Neskôr sme produkt identifikovali aj $^1\text{HNMR}$ spektrom, ktoré sme merali pri 600 MHz. Na uskutočnenie ďalších spektrálnych analýz, ako aj posledného kroku syntézy inhibítora **25**, je nutné syntézu pyridínového arylaminooxazolu **24** zopakovať a pripraviť jeho väčšie množstvo.

5 Záver

Počas diplomovej práce sme na základe štúdia literatúry vypracovali návrh syntézy a následne uskutočnili syntézu ligandu **15** a prekursoru inhibítora tumorovej angiogenézy **24**.

Nízkomolekulový ligand **15** sme sa najprv pokúsili pripraviť trojstupňovou syntézou, ktorá vychádzala z akrylonitrilu **1**. Počas tejto syntézy sa nám one-pot syntézou podarilo pripraviť aminooxazolkarbonitril **2**. Naše pokusy o transformáciu aminoskupiny oxazolu **2** na ľahko odstupujúcu skupinu (Cl **3**, AcNH **4** a TfNH **5**) neboli úspešné, preto sme nemohli túto syntézu dokončiť. Zlúčeninu **15** sme nakoniec pripravili šesťstupňovou syntézou, pri ktorej sme využili štvorstupňovú syntézu arylaminooxazolesteru **13**. Esterovú skupinu aryl aminooxazolu **13** sme pomocou amoniaku transformovali na amidickú za vzniku aryl aminooxazolamidu **14**. Cieľový nízkomolekulový ligand **15** sme pripravili v 85 % výťažku dehydratačnou reakciou z aryl aminooxazolamidu **14** pomocou $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$.

Ďalším cieľom práce bola príprava potenciálneho inhibítora tumorovej angiogenézy **17**, ktorý sme chceli pripraviť z nízkomolekulového ligandu **15** pomocou cyklickej trimerizácie. Počas tejto syntézy sa nám úspešne podarilo pripraviť predpokladaný symetrický vedľajší produkt **18**, ktorý poslúžil ako štandard na sledovanie priebehu cyklotrimerizačných reakcií. Samotná príprava inhibítora **17** nebola úspešná. Vyskúšali sme viacero reakčných podmienok cyklotrimerizácie a vyslovili predpoklad, že na úspešnú syntézu je potrebné zmeniť reaktivitu zlúčeniny **15**, napr. zavedením Boc-chrániacej skupiny do jeho skeletu.

Posledným cieľom práce bola príprava prekursoru navrhnutého VEGFR2 inhibítora **22**. Tento sme sa najprv pokúsili pripraviť z arylaminooxazolu **13** a brómanilínu **21** pomocou Me_3Al . Uvedená syntéza však nebola úspešná. S cieľom pripraviť prekursor **22**, sme pripravili kyselinu **20**, ktorú sme chceli pomocou kondenzačného činidla DCC a brómanilínu **21** transformovať na **22**. Ani táto reakcia však nebola úspešná. Zistili sme, že na úspešnú prípravu prekursoru **22** je nutné zvýšenie reaktivity arylaminooxazolesteru **13** zmenou jeho elektrónových vlastností. Túto zmenu sme uskutočnili zavedením Boc-chrániacej skupiny na mostíkovú aminoskupinu **13**. Potom sme z pripraveného chráneného derivátu **19** pripravili prekursor **22** pomocou Me_3Al . Zistili sme, že počas reakcie výhodne odchádza aj Boc skupina a pripravenú látku **22** bolo možné použiť priamo bez potreby odchránenia..

Pomocou Stilleho couplingu aryl aminooxazolu **22** s $\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{py-2-yl})$ sme pripravili požadovaný prekurzor **24**.

V priebehu syntézy sme pripravili celkovo 7 nových látok. S výnimkou zlúčeniny **24** sa nám podarilo všetky nové látky komplexne spektrálne opísať.

6 Summary

When working on the diploma thesis we have created a synthetic methodology according the literature sources and performed the synthesis of ligand **15** and a precursor of an inhibitor of tumor angiogenesis **24**.

We have tried to prepare the low molecular weight ligand **15** by three-step reaction which went from acrylonitrile **1**. By this synthesis we have managed to prepare aryl aminooxazolecarbonitrile **2**. Our attempts to transform the amino group of oxazole **2** to an easily removable leaving group (Cl **3**, AcNH **4**, TfNH **5**) remained unsuccessful; therefore we were unable to complete this synthesis. Eventually, compound **15** was prepared by six-step synthesis, in which we have used four-step synthesis known for aryl aminooxazole ester **13**. The ester group of aryl aminooxazole **13** was transformed by ammonia to amidic group creating aryl aminooxazoleamide **14**. The target low molecular weight ligand **15** was prepared in 85 % yield by dehydration reaction of aryl aminooxazoleamide **14** using $(\text{CF}_3)_2\text{O}$.

Another goal of our work was the preparation of potential inhibitor of tumor angiogenesis **17**, which was planned to be prepared starting from low molecular weight ligand **15** by cyclotrimerization. By this synthesis we have successfully prepared the expected symmetrical byproduct **18**, which served as a standard for monitoring the course of cyclotrimerization reactions. However, the preparation of inhibitor **17** was not successful. We have tried several different reaction conditions for cyclotrimerizations and hypothesized that for performing a successful synthesis, the reactivity of compound **15** has to be changed, for instance by introducing the Boc-protecting group into its scaffold.

The final goal of our project was the preparation of designed precursor of VEGFR2 inhibitor **22**. We have tried to prepare it from aryl aminooxazole **13** and bromoaniline **21** using Me_3Al . However, this synthesis was not successful. In order to prepare precursor **22** we have prepared acid **20**, which we intended to transform to **22** by condensation with bromoaniline **21** and DCC, though this was not successful. We have found out that for successful preparation of precursor **22** it is necessary to increase the reactivity of aryl aminooxazoleester **13** by changing its electron properties. This change was realized by introduction of a Boc-protecting group on the bridge aminogroup of **13**. Consequently we have prepared precursor **22** by Me_3Al from prepared protected derivative **19**. We have discovered that during this reaction the Boc-protecting group is preferably leaving,

therefore the prepared compound **22** could have been used directly without any deprotection.

Using Stille coupling of aryl aminooxazole **22** with $\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{py-2-yl})$ **23** we have prepared the required precursor **24**.

During the synthesis we have prepared 7 new compounds. Except for the compound **24** we were able to fully characterise and comprehensively describe the spectral data.

Prílohy