

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**

**FARMACEUTICKÁ FAKULTA  
V HRADCI KRÁLOVÉ**

**Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv**

**Studie syntézy isozaleplonu**

Rigorózní práce

Vedoucí katedry:

Doc. RNDr. Jiří Klimeš, CSc.

Vedoucí diplomové práce:

Doc. PharmDr. Martin Doležal, Ph. D.  
Ing. Stanislav Rádl, CSc.

Praha, 2010

Mgr. Michaela Blahovcová

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

V Praze dne 13. 9. 2010

## **Poděkování**

Tímto bych chtěla poděkovat zejména p. Ing. Stanislavu Rádlovi, CSc. za odborné vedení, trpělivost a pomoc při zpracovávání této práce a dále p. Doc. PharmDr. Martinu Doležalovi, Ph. D. za cenné připomínky.

## Obsah

1	ABSTRAKT .....	5
2	ÚVODNÍ ČÁST .....	8
2.1	ZALEPLON.....	8
2.2	SYNTÉZA ZALEPLONU.....	8
2.3	NEČISTOTY A ROZKLADNÉ PRODUKTY ZALEPLONU .....	10
2.3.1	Známé nečistoty a rozkladné produkty zaleplonu .....	10
2.3.2	Další potenciální nečistoty a rozkladné produkty .....	11
3	CÍL RIGORÓZNÍ PRÁCE .....	13
4	TEORETICKÁ ČÁST .....	14
4.1	NÁVRH SYNTÉZY ISOZALEPLONU 11 .....	14
5	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	21
5.1	POUŽITÉ METODY, PŘÍSTROJE A CHEMIKÁLIE .....	21
5.2	SYNTETICKÉ POSTUPY .....	22
6	ZÁVĚR .....	34
6.1	SYNTÉZA ISOZALEPLONU .....	34
6.2	SYNTÉZA ZALEPLONU RŮZNÝMI METODAMI .....	35
6.3	ZÁVĚREČNÉ SHRUTÍ.....	36
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	37

## 1 Abstrakt

# Studie syntézy isozaleplonu

Rigorózní práce

Mgr. Michaela Blahovcová

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové,  
Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv, Heyrovského 1203,  
Hradec Králové

Tato rigorózní práce navazuje na mou diplomovou práci a dále rozvíjí téma týkající se nečistot zaleplonu. Zabývala jsem se zde zejména polohovým izomerem zaleplonu, *N*-[3-(3-kyanopyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)fenyl]-*N*-ethylacetamidem nazývaným isozaleplon, který je nejproblematictější nečistotou zaleplonu.

Cílem této práce bylo tedy dle dostupné literatury navrhnout syntézu isozaleplonu a využít ho jako standart pro stanovení obsahu této nečistoty při syntéze zaleplonu různými metodami.

Pro syntézu isozaleplonu bylo použito několik přístupů založených na Suzuki-Miyaura kaplingu odpovídajících boronových kyselin nebo jejich esterů, vesměs s 5-chlorpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-karbonitrilem. V práci jsou popsány jak postupy přípravy obou těchto komponent, tak i přístup využívající závěrečné modifikace 5-(3-aminofenyl)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-karbonitrilu připraveného taktéž Suzuki-Miyaura kaplingem. Všechny připravené sloučeniny jsou jednoznačně popsány pomocí NMR a spektrálních metod (UV, IČ, MS).

V závěru práce je uveden rozbor jednotlivých modifikací syntézy zaleplonu a srovnání HPLC profilu nečistot odpovídajících produktů.

## Abstract

# SYNTHETIC STUDIES CONNECTED WITH THE PREPARATION OF *N*-[3-(3-CYANOPYRAZOLO[1,5-*a*]PYRIMIDIN-5-YL)PHENYL]- *N*-ETHYLACETAMIDE, A ZALEPLON REGIOISOMER

Rigorous Thesis

Mgr. Michaela Blahovcová

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové,  
Department of Pharmaceutical Chemistry and Drug Control,  
Heyrovského 1203, Hradec Králové

This thesis is a continuation of my master thesis and further develops the subject of zaleplon impurities. The main subject of the work is the zaleplon regioisomer, *N*-[3-(3-cyanopyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)phenyl]-*N*-ethylacetamide called isozaleplon, which is the most problematic impurity of zaleplon.

The purpose of this thesis was to propose a synthetic way leading to isozaleplon based on the available literature. Then this substance was intended to be used as a standard for determination of this impurity in preparation of zaleplon by various methods.

The studied approaches to the isozaleplon synthesis were based on Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction of the corresponding boronic acids and/or boronates, mainly with 5-chloropyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-carbonitrile. Various methods of preparation of both components are described, as well as approaches based on the final modification of the 5-(3-aminophenyl)-pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidine-3-carbonitrile moiety prepared by Suzuki-Miyaura cross-coupling. All the prepared compounds were identified by NMR techniques. Spectral characteristics (IR, UV, MS) of these compounds are also given.

At the end of this thesis, a study of different modifications of zaleplon synthesis and comparison of the HPLC impurity profiles of the corresponding products is given.

## **Seznam použitých zkratk:**

**APCI** – chemická ionizace za atmosférického tlaku

**API** – aktivní farmaceutická ingredience

**DMFDMA** – dimethylacetal dimethylformamidu

**DMSO** – dimethylsulfoxid

**GABA** – kyselina  $\gamma$ -aminomáselná

**HPLC** – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

**HRMS** – hmotnostní spektroskopie s vysokým rozlišením

**LC-MS** – kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí

**MS** – hmotnostní spektroskopie

**NMR** – nukleární magnetická rezonance

**TLC** – tenkovrstvá chromatografie

## 2 Úvodní část

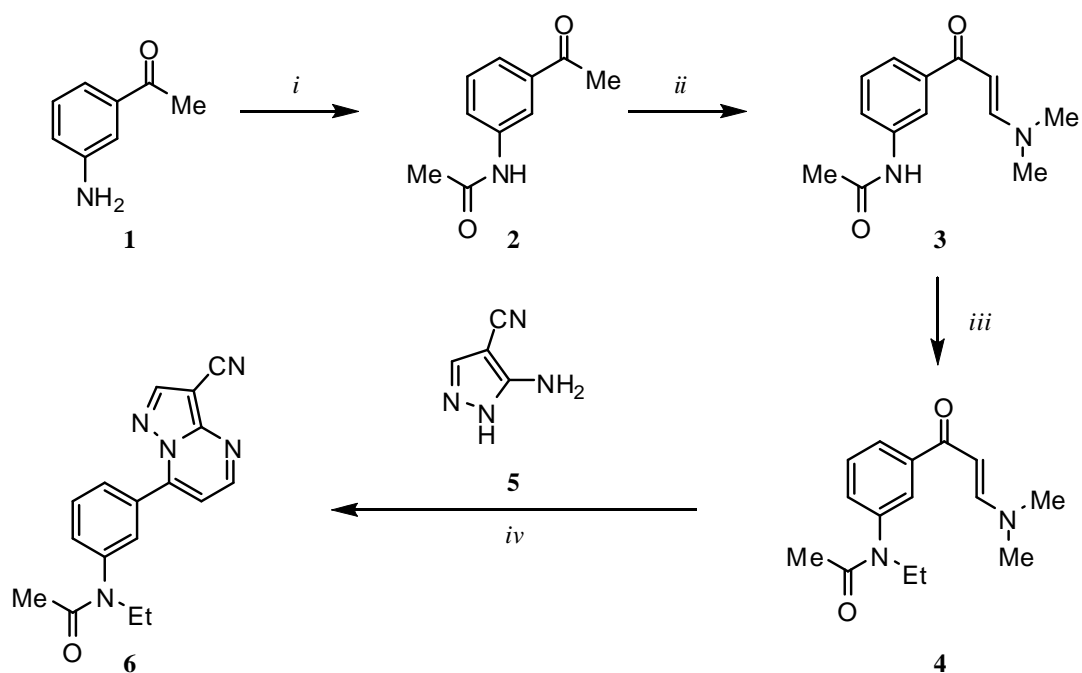
### 2.1 Zaleplon

Zaleplon (*N*-ethyl-*N*-[3-(3-methylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)fenyl]acetamid) je účinným sedativem a hypnotikem používaným k léčbě nespavosti<sup>1-7</sup>. Působí podobně jako benzodiazepiny nebo ostatní Z-hypnotika na GABA receptorový komplex. Výhodou zaleplonu je rychlý nástup a poměrně rychlé odeznění účinku. Na trh byl vyvinutý firmou American Cyanamide a nyní je distribuován firmou King Pharmaceuticals pod chráněným názvem Sonata. V některých zemích je již dostupná i generická verze léčiva, například Salofen (Adamed).

### 2.2 Syntéza zaleplonu

V literatuře je popsáno několik velice podobných syntéz uvedených ve Schématu 1. Výchozí 3-aminoacetofenon (**1**) je acetylován na příslušný anilid **2**, který reakcí s *N,N*-dimethylformamid dimethylacetalem poskytne intermediát **3**. *N*-Ethylace je prováděna většinou ethyljodidem po převedení anilidu na sodnou sůl pomocí hydridu sodného. Závěrečná kondenzace *N*-[3-(3-dimethylamino-acryloyl)-fenyl]-*N*-ethyl-acetamidu (**4**) s 5-amino-1*H*-pyrazol-4-karbonitrilem (**5**) vedoucí k zaleplonu (**6**) se podle původních patentů<sup>4,5</sup> prováděla v bezvodé kyselině octové. Později se zjistilo, že reakce probíhá rychleji a výsledný produkt je čistější, pokud se reakce provádí ve vodné kyselině octové<sup>6</sup> nebo mravenčí<sup>7</sup>. Patentováno je také provedení této reakce za použití silně kyselých ionexů<sup>8</sup>. Jak z hlediska výtěžku, tak z hlediska čistoty se zdá ale nejvýhodnějším provedení této reakce ve vodných alkoholech za použití kyseliny chlorovodíkové<sup>9,10</sup>.





Reakční podmínky: *i*, AcOH, AcONa *ii*, DMFDMA *iii*, 1. NaH/DMF, 2. EtI *iv*, **5**, AcOH, nebo HCOOH-H<sub>2</sub>O, nebo HCl/MeOH; reflux

**Schéma 1**

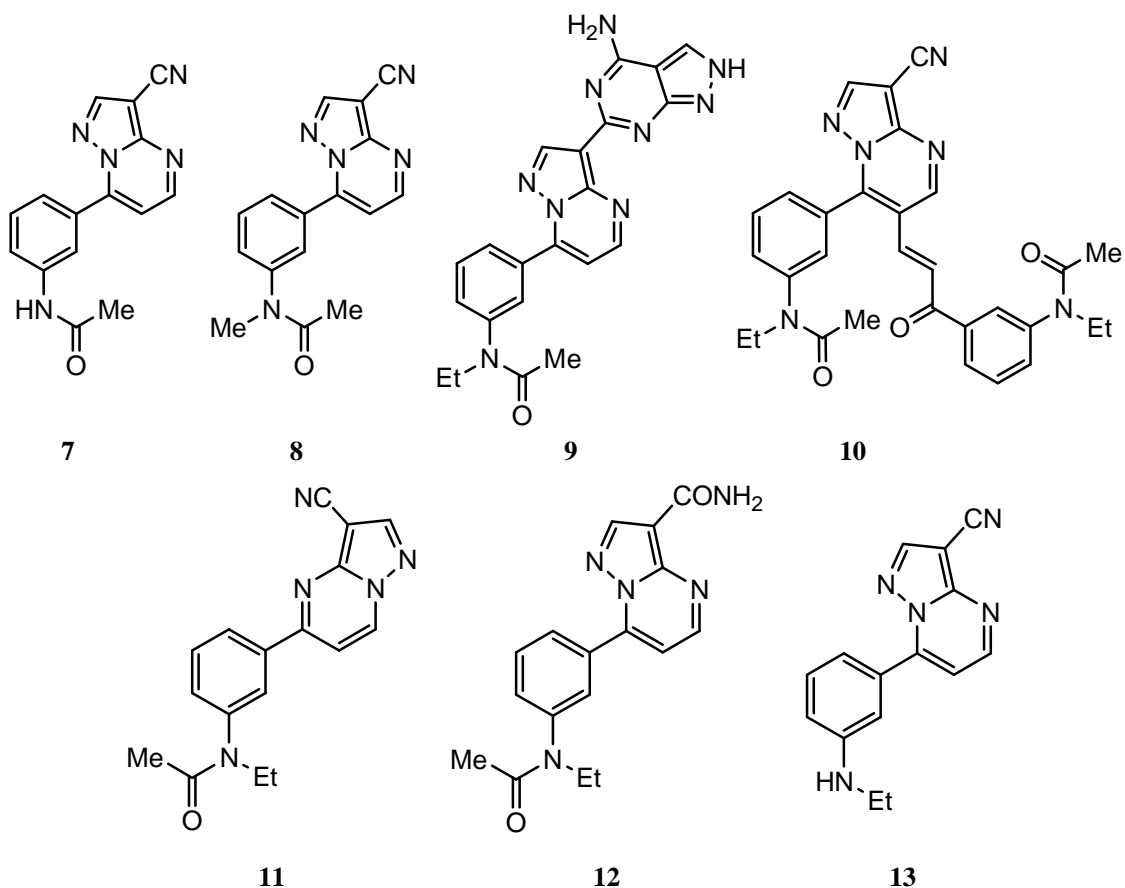
V patentu firmy Cilag<sup>11</sup> je popsána modifikace syntézy zaleplonu, která místo dimethylaminoderivátu **4** používá sodnou sůl 3-(*N*-acetyl-*N*-ethylamino)- $\beta$ -oxofenylpropanalu, získanou reakcí *N*-(3-acetylfenyl)-*N*-ethylacetamidu s ethylformiátem za přítomnosti ethanolátu sodného. Jde o příklad patentu, který nepřináší oproti původnímu patentu žádné zásadní výhody.

## 2.3 Nečistoty a rozkladné produkty zaleplonu

### 2.3.1 Známé nečistoty a rozkladné produkty zaleplonu

Jediná publikace<sup>12</sup> popisující nečistoty a rozkladné produkty zaleplonu byla zveřejněna po zahájení diplomové práce. Publikace popisuje jako potenciální nečistoty meziprodukty **4** a **5** a dále 7 neznámých nečistot (**7-13**). Nečistoty byly identifikovány a izolovány na základě preparativní vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) na reverzní fázi a jejich molekulová hmotnost byla určena pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (LC-MS). Žádná z nečistot nebyla syntetizována.

Vznik nečistoty **7** si lze jednoduše vysvětlit tak, že intermediát **4** použitý k syntéze zaleplonu obsahoval jako nečistotu nenaethylovanou látku **3**. Podobně tvorba látky **8** je zřejmě výsledkem přítomnosti příslušného N-methylderivátu v intermediátu **4**. Vznik tohoto N-methylderivátu vysvětluje publikace<sup>12</sup> přítomností methylhalidu v bromo nebo jodoetanu použitém k alkylaci látky **3**. Vzhledem k tomu, že je popsána<sup>13-16</sup> methylace řady heterocyklů, zvláště majících charakter cyklických amidů, zahříváním s dimethylacetalem dimethylformamidu (DMFDMA), je možno vysvětlit vznik tohoto N-methylderivátu již při reakci meziprojektu **2** s tímto činidlem. Autoři zmíněného článku<sup>12</sup> vysvětlují vznik látky **9** v důsledku kondenzace dimeru výchozí látky **5** a intermediátu **4**. Vznik nečistoty **10** je pak vysvětlován tím, že v průběhu syntézy zaleplonu dochází k jeho elektrofilní substituci v poloze 6 intermediátem **4**. Nečistota číslo **11** je polohový izomer zaleplonu. Liší se od něj polohou *N*-ethyl-*N*-acetylfenyl skupiny na kondenzovaném heterocyklickém systému. Vznik tohoto isomeru je vysvětlován Michaelovou adicí dusíku 1 v aminopyrazolu **5** na intermediát **4** spolu s eliminací dimethylaminu a následnou cyklizací aminoskupiny v poloze 5 pyrazolového jádra s ketoskupinou látky **4**. Nečistota **12** je produktem hydrolyzy kyanoskupiny v molekule zaleplonu, zatímco nečistota **13** je produktem hydrolyzy *N*-acetylové skupiny zaleplonu.



### 2.3.2 Další potenciální nečistoty a rozkladné produkty

Popsané nečistoty můžeme rozdělit na nezreagované meziproducty (látky **4** a **5**), na nečistoty vzniklé reakcí nečistot meziproductů **4** a **5** (látky **7** a **8**), na nečistoty vzniklé vedlejší reakcí intermediátů **4** a **5** (isomer **11**, látky **9** a **10** formálně vzniklé reakcí 3 molekul těchto meziproductů v molárním poměru 2:1, respektive 1:2) a na rozkladné produkty vzniklé hydrolyzou zaleplonu (látky **12** a **13**). Kromě zmíněných nečistot a rozkladných produktů se dá předpokládat v alkalickém i v kyselém prostředí vznik produktů hydrolytického rozkladu, který by se měl hlavně odehrávat na nitrilové a amidové skupině. Hydrolyzou nitrilové skupiny zaleplonu vzniklý amid **12** by mohl další hydrolyzou poskytnout příslušnou kyselinu **14** a její následnou dekarboxylací by mohla vzniknout látka **15**. Hydrolyzou amidové skupiny zaleplonu vzniklý rozkladný produkt **13** by obdobně postupnou hydrolyzou nitrilové skupiny mohl poskytnout rozkladné produkty **16-18**. Amid **16** by mohl vznikat i hydrolyzou amidu **12**. Předpokládaný rozklad je uveden ve Schématu 2.

V průběhu mojí diplomové práce se nám podařilo připravit jak známé nečistoty **7**, **8**, **12** a **13**, tak potenciální nečistoty **14-18**. Také se nám podařilo provedením zátěžových testů prokázat, že některé z těchto látek, např. **12**, **13**, **15**, **16** a **18** skutečně jako degradační produkty vznikají.

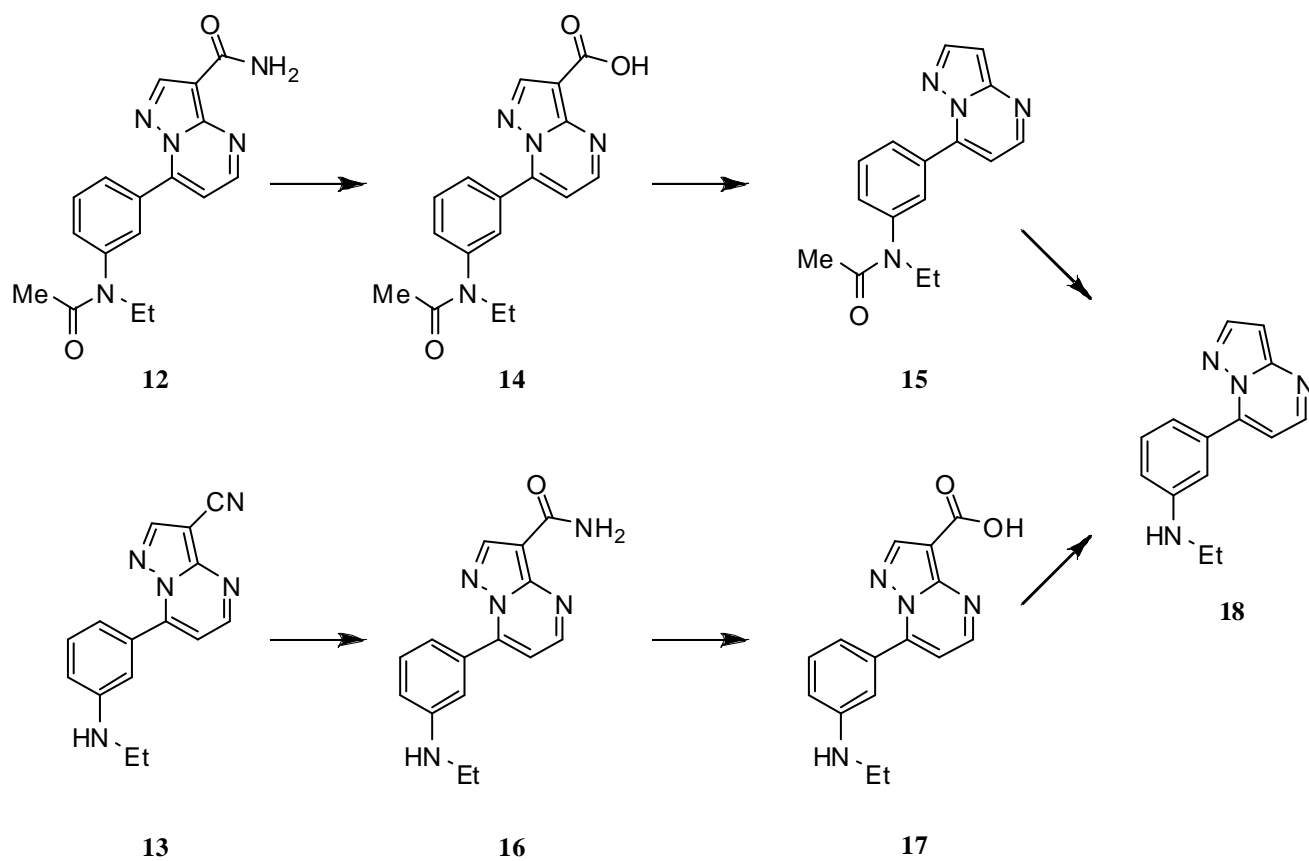


Schéma 2

### **3 Cíl rigorózní práce**

Ve své diplomové práci<sup>36</sup> jsem se zabývala syntézou zaleplonu a jeho známých či potenciálních nečistot. Jednou z nečistot je i izomer zaleplonu, jehož příprava se ukázala být náročnější.

Cílem mé rigorózní práce bylo tedy navrhnout postup syntézy isozaleplonu a pokusit se o jeho syntézu.

## 4 Teoretická část

### 4.1 Návrh syntézy isozaleplonu 11

V rámci této rigorózní práce jsme se rozhodli zaměřit na látky **9-11**, kterým jsme se v rámci diplomové práce nezabývali a jejichž syntéza dosud nebyla popsána. Isozaleplon **11** je nejproblematictější nečistotou zaleplonu, a proto jsme se zaměřili na vyvinutí syntézy této látky. Vzhledem k tomu, že látky s molekulovou hmotností odpovídající strukturám **9** a **10** se při vývoji substance zaleplonu ve firmě Zentiva nikdy nepodařilo pomocí LC-MS v surových reakčních směsích identifikovat, dále jsme se jimi nezabývali.

Pro syntézu isomeru zaleplonu **11** se nabízí využití Suzukiho kaplingu boronové kyseliny **19** s příslušným halogenderivátem, s výhodou s chloridem **20**. Pro syntézu boronové kyseliny se zdál nejjednodušší přístup přes bromderivát **21**. Chlorderivát **20** by měl být zase přístupný z oxosloučeniny **22**. Retrosyntetické znázornění je uvedeno ve Schématu 3.

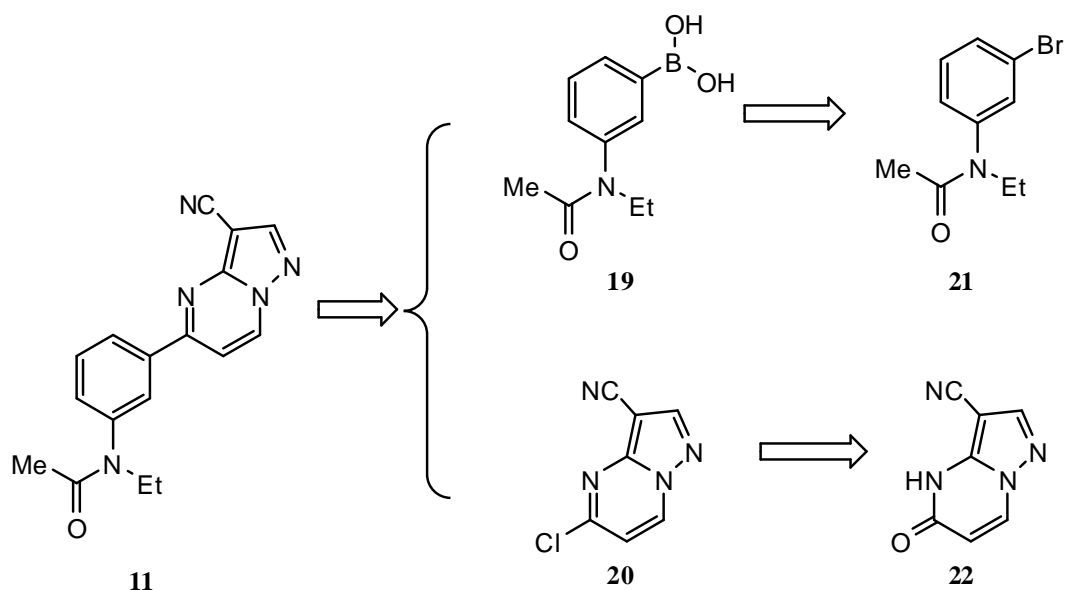
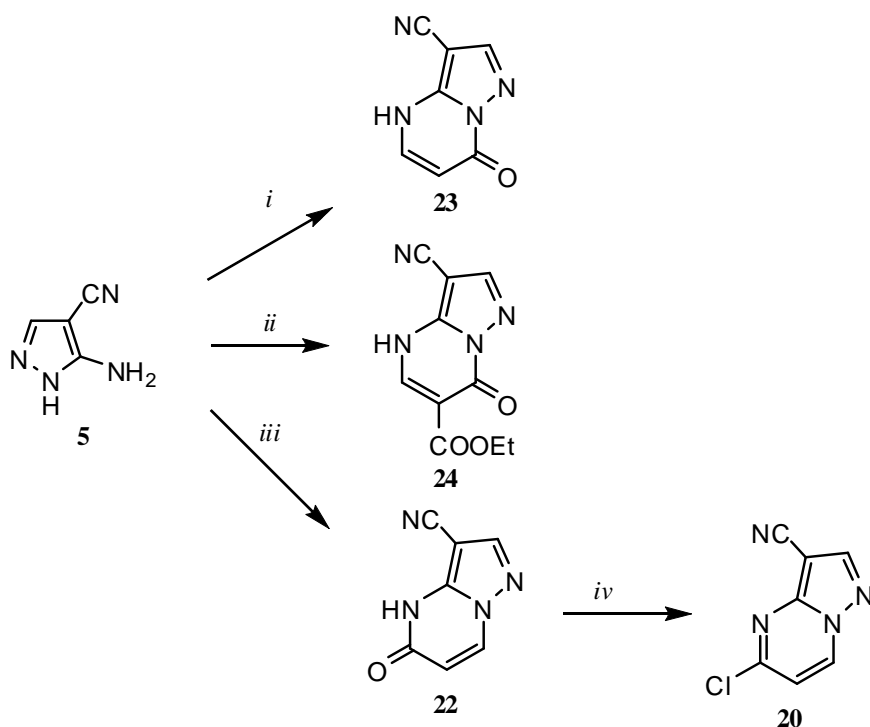


Schéma 3

V literatuře<sup>17,18</sup> je popsána kondenzace 5-amino-1*H*-pyrazol-4-karbonitrilu (**5**) s methyl propiolátem vedoucí k pro nás nežádoucímu 7-oxo-4,7-dihydropyrazolo[1,5-

a]pyrimidinu **23**. Podobně reakce **5** s ethoxymethylenmalonátem ethylnatým poskytuje látku **24**<sup>19</sup>, jejíž hydrolyzou a dekarboxylací bychom dostali opět nežádoucí isomer **23**. Nedávno bylo pro podobné 3-aminopyrazoly publikováno<sup>20</sup>, že zahříváním s 3-ethoxyakrylátem v dimethylformamidu za přítomnosti uhličitanu cesného dochází výhradně k tvorbě 5-oxo-4,5-dihydropyrazolo[1,5-a]pyrimidinů, i když reakcí těchto látek s ethoxymethylenmalonátem ethylnatým vznikají odpovídající 7-oxo-4,7-dihydroderiváty. Použitím této metodiky jsme skutečně získali látku **22** jako jediný produkt. Identifikace byla jednoznačně provedena na základě dat publikovaných pro podobné 5- a 7-arylderiváty<sup>20,21</sup>. Převodění látky **22** na chlorderivát **20** bylo provedeno zahříváním s oxidochloridem fosforečným (Schéma 4).



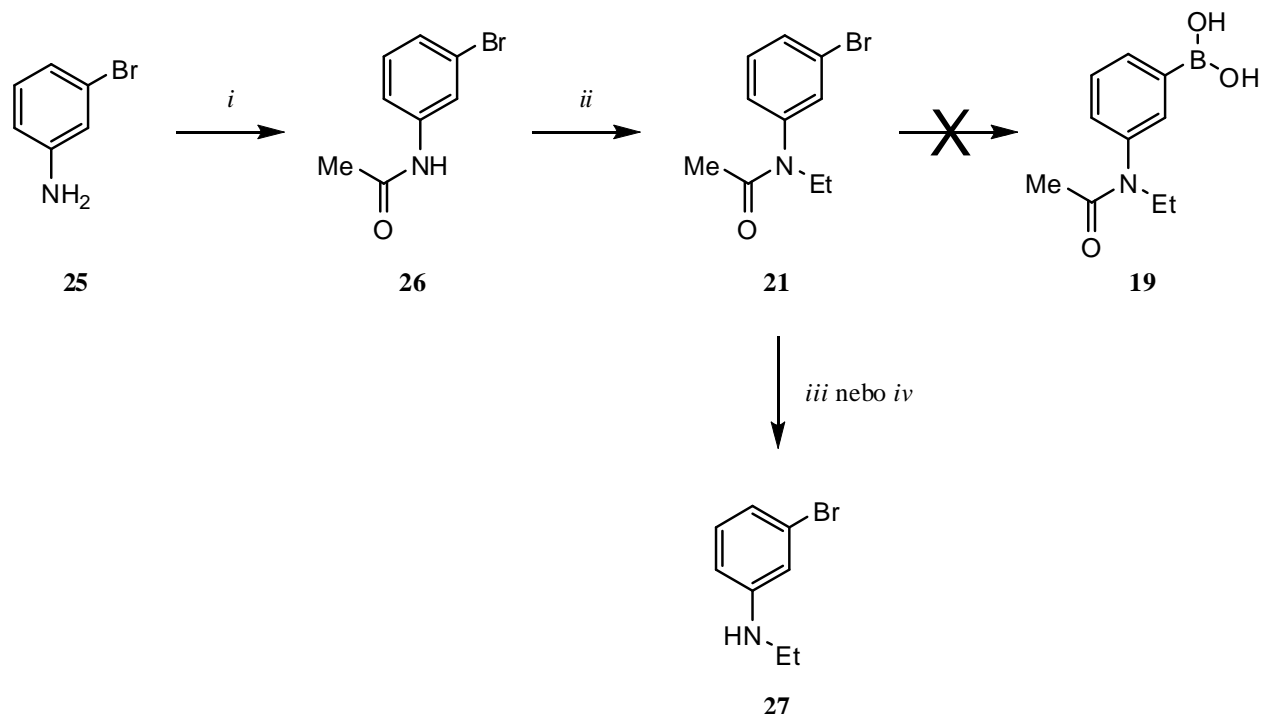
**Schéma 4**

Acetylací 3-bromanilinu (**25**) acetanhydridem v kyselině octové byl připraven *N*-(3-bromfenyl)acetamid (**26**) a jeho ethylací ethyljodidem v dimethylformamidu za použití hydridu sodného byl získán *N*-(3-bromfenyl)-*N*-ethylacetamid (**21**). Pokusy o jeho převedení na boronovou kyselinu **19** použitím butyllithia a methyl nebo isopropylborátu poskytly po zpracování směs látek, v níž byl jako hlavní produkt identifikován 3-brom-*N*-ethylanilin (**27**). Nedávno byl publikován postup<sup>22</sup> pro syntézu boronových kyselin z aromatických halogenderivátů obsahujících citlivé funkční

skupiny spočívající v převedení halogenderivátu na příslušné Grignardovo činidlo pomocí isopropylmagnesium chloridu v tetrahydrofuranu za přítomnosti bis[2-(*N,N*-dimethylamino)ethyl]etheru a v následující reakci s trimethylborátem. Za těchto podmínek byl po chromatografickém čištění získán anilin **27** jako hlavní produkt.

Deacetylace látky **21** varem s chlorovodíkovou kyselinou proběhla prakticky kvantitativně za vzniku hydrochloridu látky **27** (Schéma 5).

Po neúspěchu těchto pokusů o získání boronové kyseliny jsme se rozhodli vhodným způsobem ochránit NH skupinu. Překvapivě tato oblast nebyla blíže prozkoumána. Schrer a kol. připravovali anilinboronové kyseliny převedením halogenovaných anilinů na příslušné *N,N*-dibenzylderiváty, které potom nechali reagovat postupně s metalačním činidlem za vzniku esteru kyseliny boronové<sup>23</sup>. Nedávno byl uveřejněn postup<sup>24</sup> popisující přípravu 4-amino-3-fluorfenylboronové kyseliny převedením výchozího 4-brom-2-fluoranilinu na odpovídající bis-TMS derivát adicí TMSCl za přítomnosti dvou ekvivalentů butyllithia. Za těchto podmínek při využití jednoho ekvivalentu butyllithia došlo pouze k částečné záměně Br – Li. Pokusili jsme se reakci opakovat za mírnějších podmínek s TMSCl a Et<sub>3</sub>N<sup>25</sup> nebo TMSA<sup>26</sup>, ale v obou případech došlo pouze k částečné silylaci.



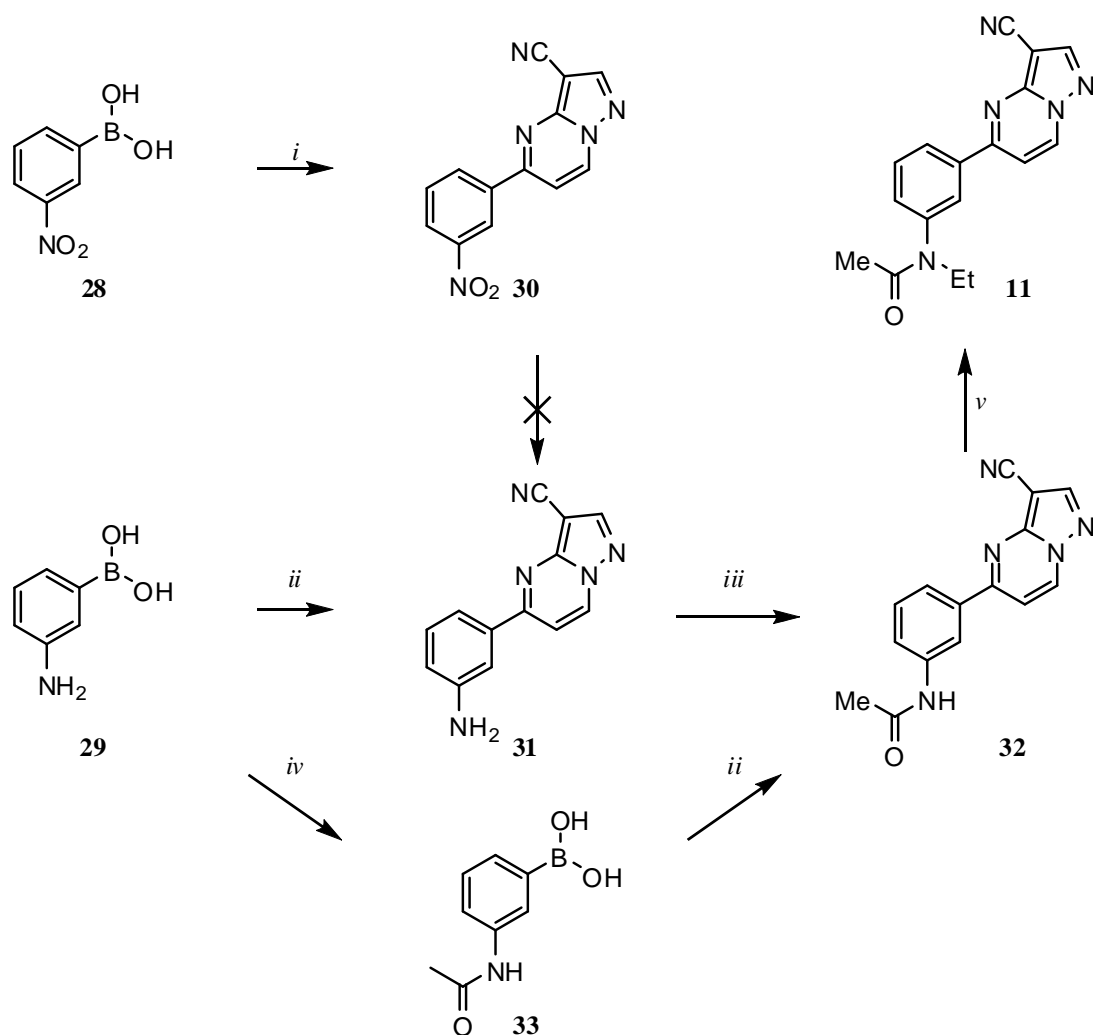
Reakční podmínky: *i*, Ac<sub>2</sub>O, AcOH; *ii*, NaH, DMF, EtI; *iii*, a) *i*-PrMgCl, THF, (Me<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O, b) B(OMe)<sub>3</sub>; *iv*, a) HCl, EtOH, H<sub>2</sub>O, b) Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

**Schéma 5**



Po neúspěšných pokusech o syntézu boronové kyseliny **19** jsme se rozhodli využít komerčně dostupných boronových kyselin **28** a **29**. Reakce nitroderivátu **28** za použití klasických podmínek ( $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , DMF,  $100^\circ\text{C}$ ) poskytla požadovanou látku **30**, kterou se ale pro nerozpustnost ve všech zkoušených rozpouštědlech nepodařilo kvantitativně zredukovat na aminoderivát **31**. Za podmínek použitých pro kapling nitroderivátu **28** aminoderivát **29** poskytl bohatou směs látek, z nichž žádná látka dle LC-MS neodpovídala požadované látce **31**. V literatuře je zmíněno několik úspěšných pokusů o Suzuki-Miyaura kapling 3-aminofenylboronové kyseliny (**29**) ve vodném prostředí za přítomnosti ve vodě rozpustného ligandu, např. trifenylofosfin-3,3',3''-trifenylosulfonátu trisodného (TPPTS)<sup>27,28</sup>. Provedením reakce za zmíněných podmínek jsme získali v dobrém výtěžku látku **31** jako jediný produkt. Tato látka byla ale také nerozpustná ve vhodných rozpouštědlech a pokus o její acetylaci zahříváním s acetanhydridem v kyselině octové vedl ke směsi látek obsahující látku **32** pouze ve stopovém množství. Nakonec se podařilo tento acetylderivát získat mícháním aminoderivátu **31** v acetanhydridu za laboratorní teploty.

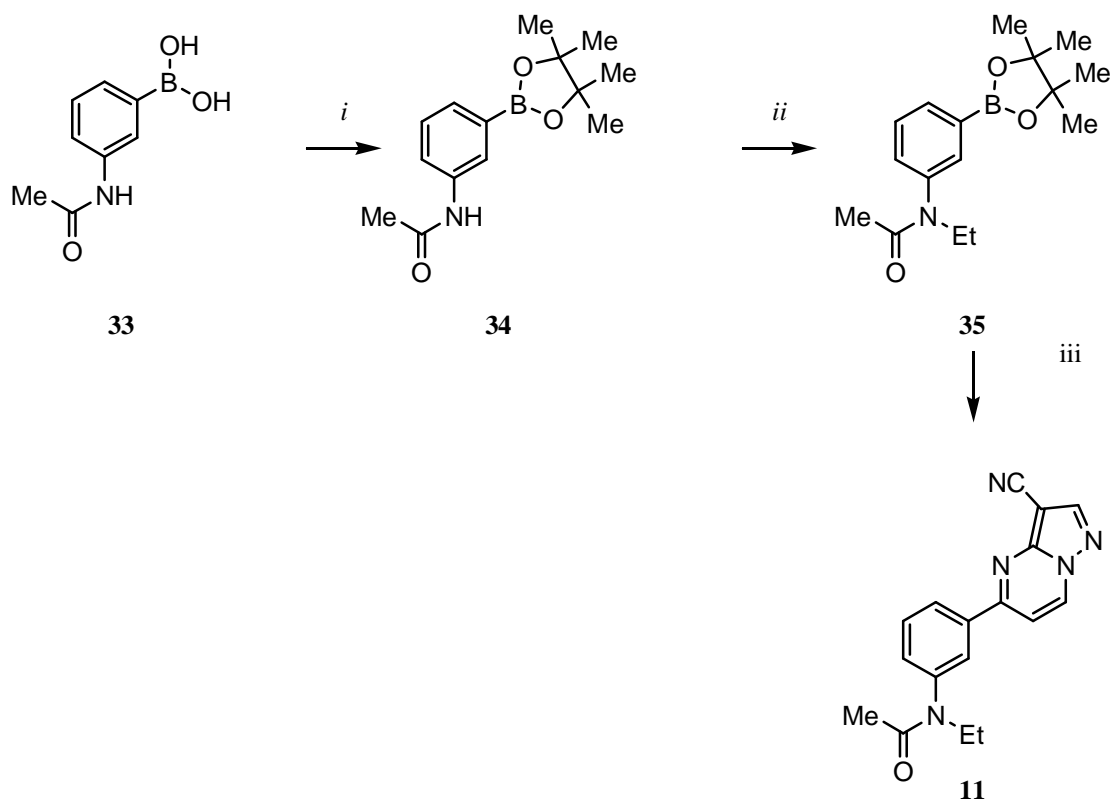
3-Aminofenylboronová kyselina byla acetylována acetanhydridem na příslušný *N*-acetylderivát **33**. Suzuki-Miyaura kapling tohoto *N*-acetylderivátu s látkou **20** ve vodném acetonitrilu poskytl látku **32**. Její následnou alkylací ethyljodidem, za generování příslušné sodné soli *in situ* reakcí s hydridem sodným v DMF, byl získán požadovaný izomer zaleplonu **11** (Schéma 6). Ukázalo se ale, že tento postup je málo robustní. Ačkoli byl tento pokus o ethylaci látky **32** několikrát opakován za použití různých množství NaH a EtI a několika rozpouštědel, požadovaného výsledku se již nepodařilo dosáhnout. Výsledkem byla buď nedostatečná konverze, nebo tvorba směsi látek, popřípadě k ethylaci vůbec nedošlo.



*i*, **20**, (Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>Pd, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, 100 °C; *ii*, **20**, Pd(OAc)<sub>2</sub>, TPPTS, Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, aq. MeCN; *iii*, Ac<sub>2</sub>O, r.t.; *iv*, Ac<sub>2</sub>O, AcOH, r.t.; *v*, (a) NaH, DMF, (b) EtI

### Schéma 6

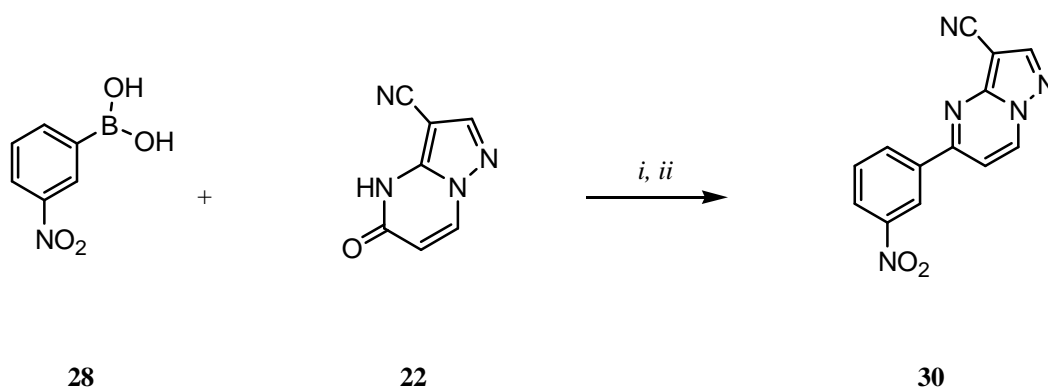
V další fázi jsme námi připravený N-acetylderivát **33** podrobili reakci s pinakolem za vzniku látky **34**. Ta byla dále ethylována obvyklým postupem za využití NaH a ethyljodidu na látku **35**. Suzuki-Miyaura kapling tohoto esteru s chlorderivátem **20** při použití Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub> jako katalyzátoru a Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> poskytl požadovaný izomer zaleplonu **11** (Schéma 7).



*i*, pinakol, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, r.t.; *ii*, (a) NaH, DMF, (b) EtI; *iii*, **20**, (Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>Pd, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, toluen

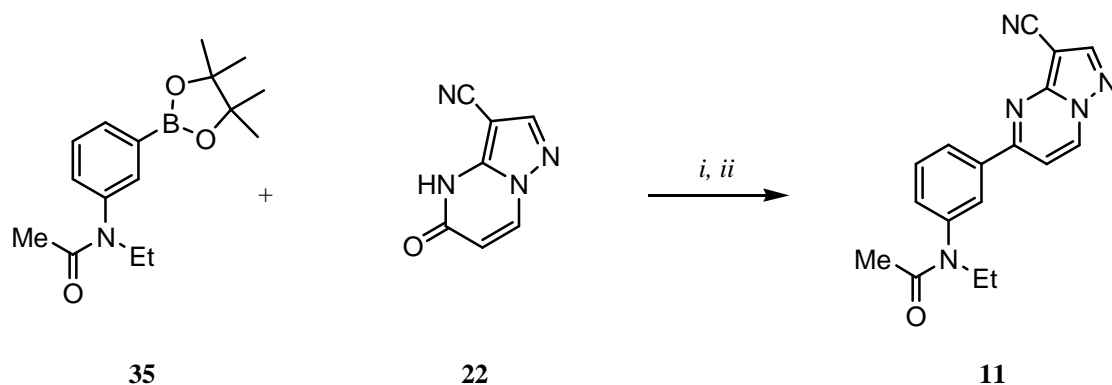
### Schéma 7

Nedávno byla publikována práce<sup>29</sup> popisující přímou arylaci “tautomerizovatelných“ heterocyklů arylboronovými kyselinami za využití palladiových katalyzátorů a fosfoniových solí. Nejdříve jsme tento postup vyzkoušeli na reakci oxoderivátu **22** s 3-nitrofenylboronovou kyselinou. Výsledná surová směs obsahovala dle TLC požadovaný produkt a neznámou nečistotu v poměru zhruba 2 : 1. Kvůli špatné rozpustnosti se nám ale nepodařilo produkt vyčistit.



*i*, PyBroP, Et<sub>3</sub>N, dioxane; *ii*, **13**, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O

Poté jsme se pokusili stejný postup aplikovat na reakci oxoderivátu **22** a pinakolesteru **35** za přítomnosti brom-tris-pyrolidininfosfonium hexafluorofosfátu (PyBroP). Zatímco v původní práci byly používány dva ekvivalenty boronové kyseliny, my jsme použili pouze mírný přebytek (1,05 ekvivalentu) a získali jsme požadovaný produkt v 76 % výtěžku. Jedinou nevýhodou tohoto postupu se zdá být vysoká cena používaných reagensů.



*i*, PyBroP, Et<sub>3</sub>N, dioxane; *ii*, **13**, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O

### Schéma 8

## 5 Experimentální část

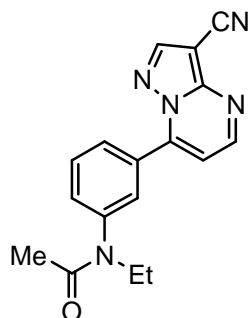
### 5.1 Použité metody, přístroje a chemikálie

Body tání byly měřeny na Koflerově bloku Franz Küstner Nachf. KG, HMK 68/2043 a nejsou korigovány. Infračervená spektra byla změřena na přístroji Perkin Elmer Spectrum BX FT-IR v kyvetách z KBr. Vlnové délky jsou udávány v  $\text{cm}^{-1}$ . Ultrafialová spektra byla změřena na spektrofotometru Hewlett-Packard 8452A v ethanolu. Rozpětí vlnových délek bylo 190 – 400 nm.  $^1\text{H-NMR}$  a  $^{13}\text{C}$  byla změřena na přístroji Bruker při 500,13 MHz ( $^1\text{H}$ ), 125,77 MHz ( $^{13}\text{C}$ ). Všechna měření byla prováděna v  $\text{CDCl}_3$  nebo dimethylsulfoxidu (DMSO) při teplotě 303,2 K. Chemický posun je udáván v ppm ( $\delta$ ), interakční konstanty ( $J$ ) jsou uvedeny v Hz. V experimentální části jsou uváděny následující zkratky: singlet (s), dublet (d), triplet (t), kvartet (g), multiplet (m), široký singlet (bs). Hmotnostní spektra byla změřena jednak za použití přístroje Sciex API 3000 s pozitivní ionizací za atmosférického tlaku (Turbolonspray) a dvojitým kvadrupólem, jednak za použití techniky hmotnostní spektroskopie s vysokým rozlišením (HRMS = high-resolution MS) na spektrometru LTQ Orbitrap Hybrid Mass Spectrometer s přímým nástřikem do APCI zdroje v pozitivním módu (APCI - atmospheric pressure chemical ionization; chemická ionizace za atmosférického tlaku).

Sloupcová flash chromatografie byla prováděna na silikagelu Merck (velikost částic 0,04-0,063 mm), složení mobilní fáze je vždy uvedeno u konkrétního případu. Průběh reakcí a čistota látek byly sledovány tenkovrstvou chromatografií (TLC) na silikagelu (P KG F 254, Merck) s UV vizualizací při 254 nm. Odstředivou silou urychlovaná axiální TLC chromatografie byla prováděna na přístroji CycloGraph II (Analtech) s použitím komerčních rotorů s vrstvou silikagelu o tloušťce 2 mm.

Použité chemikálie a rozpouštědla od firmy Aldrich Chemical Company nebyly dále čištěny, pokud není poznamenáno jinak.

## 5.2 Syntetické postupy



### ***N*-[3-(3-Kyanopyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)fenyl]-*N*-ethylacetamid (6), ZALEPLON**

*Postup A*) Směs 5-amino-1*H*-pyrazol-4-karbonitrilu (**5**, 1,1 g, 10 mmol), *N*-{3-[3-(dimethylamino)prop-2-enoyl]fenyl}-*N*-ethylacetamidu (**4**, 2,6 g, 10 mmol), koncentrované kyseliny chlorovodíkové (1 ml) v ethanolu (50 ml) a vodě (20 ml) byla vařena pod zpětným chladičem 1 hodinu. Po doreagování (reakce sledována TLC) byla směs míchána za chlazení. Vyloučila se pevná látka, která byla následně odsáta. Bylo získáno 2,65 g bílých krystalů (87 %) o t.t. 183-185 °C. Lit.<sup>4</sup> uvádí t.t. 186-187 °C.

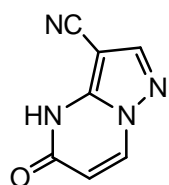
*Postup B*)<sup>4</sup> Směs 5-amino-1*H*-pyrazol-4-karbonitrilu (**5**, 0,11 g, 1 mmol), *N*-{3-[3-(dimethylamino)prop-2-enoyl]fenyl}-*N*-ethylacetamidu (**4**, 0,26 g, 1 mmol) v octové kyselině (10 ml) byla vařena pod zpětným chladičem 8 hodin. Směs byla odpařena k suchu a analyzována HPLC a LC-MS. Výsledky jsou shrnuty v Tabulce 1.

*Postup C*)<sup>6</sup> Směs 5-amino-1*H*-pyrazol-4-karbonitrilu (**5**, 0,11 g, 1 mmol), *N*-{3-[3-(dimethylamino)prop-2-enoyl]fenyl}-*N*-ethylacetamidu (**4**, 0,26 g, 1 mmol) ve směsi octové kyseliny (0,65 ml) a vody (1,25 ml) byla zahřívána na 50 °C 2 hodiny. Směs byla odpařena k suchu a analyzována HPLC a LC-MS. Výsledky jsou shrnuty v Tabulce 1.

*Postup D*)<sup>30</sup> Směs 5-amino-1*H*-pyrazol-4-karbonitrilu (**5**, 0,11 g, 1 mmol), *N*-{3-[3-(dimethylamino)prop-2-enoyl]fenyl}-*N*-ethylacetamidu (**4**, 0,26 g, 1 mmol) ve směsi mravenčí kyseliny (1 ml) a vody (2,5 ml) byla zahřívána na 50 °C 2 hodiny. Směs byla odpařena k suchu a analyzována HPLC a LC-MS. Výsledky jsou shrnuty v Tabulce 1.

*Postup E*)<sup>9,10</sup> Směs 5-amino-1*H*-pyrazol-4-karbonitrilu (**5**, 0,11 g, 1 mmol), *N*-{3-[3-(dimethylamino)prop-2-enoyl]fenyl}-*N*-ethylacetamidu (**4**, 0,26 g, 1 mmol) ve směsi methanolu (2 ml) a vody (3,5 ml) a koncentrované kyseliny chlorovodíkové (0,1 ml) byla zahřívána na 50 °C 2 hodiny. Směs byla odpařena k suchu a analyzována HPLC a LC-MS. Výsledky jsou shrnuty v Tabulce 1.

<sup>1</sup>H NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1,18 t, 3H, *J* = 7,2 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,94 q, 3H *J* = 7,2 (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>); 3,83 q, 2H, *J* = 7,2 (NCH<sub>2</sub>); 7,23 d, 1H, *J* = 5,0 (H-6); 7,45-8,01 m, 4H (Ar-H); 8,44 s, 1H (H-2); 8,82 d, 1H, *J* = 5,0 (H-5). <sup>13</sup>C NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 13,13; 23,00; 44,08; 83,68; 109,89; 112,53; 128,68; 129,59; 130,35; 130,96; 131,54; 143,44; 146,99; 147,11; 151,35; 152,63; 169,74. IR (KBr) cm<sup>-1</sup>: ν(CH) 3054, 2972, ν(C=N) 2228, ν(C=O) 1644, ν(C=C) + (C=N) 1613, 1547, 1486. UV λ<sub>max</sub> (log ε): 204 (4,40), 232 (4,54), 338 (3,81). HRMS pro C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>O (M+H)<sup>+</sup> vypočteno: 306,13548, nalezeno: 306,13477.

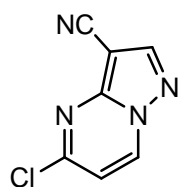


### 5-Oxo-4,5-dihydropyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-karbonitril (**22**)

5-Amino-1*H*-pyrazol-4-karbonitril (**5**, 2,45 g, 22,7 mmol) byl rozpuštěn za laboratorní teploty v dimethylformamidu (115 ml) a postupně byl přidán ethyl-3-ethoxyakrylát (5 ml, 35 mmol) a uhlíčitan cesný (11,4 g, 35 mmol). Vše bylo mícháno pod dusíkem při 110 °C 2 hodiny. Reakce byla sledována TLC (toluen-ethanol-dioxan-amoniak 5:2:4:1). Poté byla směs ochlazená, odpařena a odparek rozpuštěn ve vodě (100 ml). Dále byl přidán led (30 g) a směs byla okyselená 10% kyselinou

chlorovodíkovou. Došlo k prudkému vývoji pěny, po jehož ukončení byl odsát pevný podíl. Bylo získáno 3,52 g bílých krystalů (97 %) o t.t. 293 – 305°C.

Pro C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>N<sub>4</sub>O (160,13) vypočteno: 52,50 %C, 2,52 %H, 34,99 %N; nalezeno: 52,67 %C, 2,71 %H, 34,52 %N. <sup>1</sup>H NMR (250 MHz, DMSO): 6,28 d, 1H J=7,3 (H-6), 8,68 s, 1H (H-8), 8,73 d, 1H J=7,3 (H-7). <sup>13</sup>C NMR: 74,60, 107,54, 112,62, 138,78, 145,62, 160,68. IR (KBr) cm<sup>-1</sup>: ν(CH) 3073, 2929, 2882, ν(CN) 2237, ν(C=O) 1705, 1680, ν(C=C) + ν(C=N) 1586, 1507, 1475, ν(C-N), 1355, 1181, δ(CH) 826. UV λ<sub>max</sub> (log ε): 208 (4,15), 234 (4,45), 264 (3,93). HRMS pro C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>N<sub>4</sub>O (M+H)<sup>+</sup> vypočteno: 161,04634, nalezeno: 161,04596.

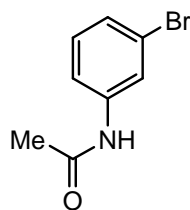


### 5-Chloropyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-karbonitril (20)

5-Oxo-4,5-dihydropyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-karbonitril (**22**, 1,6 g, 10 mmol) byl míchán ve víálce 30 minut při teplotě 150 °C s fosforoxychloridem (3 ml). Poté byl roztok ochlazen a nalit na 5% roztok hydroxidu sodného (50 ml) s ledem. Po chvíli se vyloučila sraženina, která byla odsáta a překrystalována z isopropanolu s přidavkem aktivního uhlí. Bylo získáno 1,1 g bílých krystalů (62,6 %) o t.t. 138 – 142°C .

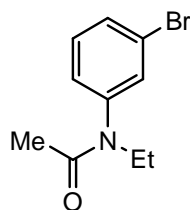
Pro C<sub>7</sub>H<sub>3</sub>ClN<sub>4</sub> (178,58) vypočteno: 47,08 %C, 1,69 %H, 19,85 %Cl, 31,37 %N, nalezeno: 46,88 %C, 1,51 %H, 19,53 %Cl, 31,42 %N. <sup>1</sup>H NMR (250 MHz, DMSO): 7,50 d, 1H J=7,3 (H-6), 8,85 s, 1H (H-8), 9,41 d, 1H J=7,3 (H-7). <sup>13</sup>C NMR: 80,98, 112,24, 112,64, 139,82, 148,33, 148,90, 154,40. IR (KBr) cm<sup>-1</sup>: ν(CH) 3109, 3091, ν(CN) 2233, ν(C=C) + ν(C=N) 1619, 1543, 1514, 1401, ν(CCl) 1074, δ(CH) 814. UV λ<sub>max</sub> (log ε): 208 (4,21), 234 (4,51), 266 (3,85). HRMS pro C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>ClN<sub>4</sub> (M+H)<sup>+</sup> vypočteno: 179,01245, nalezeno: 179,01307.





### ***N*-(3-Bromfenyl)acetamid (26)**

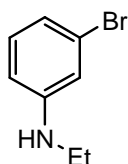
Ke směsi acetanhydridu (20 ml) s kyselinou octovou (20 ml) v trojhrdlé baňce byl postupně během jedné hodiny přikapán 3-bromanilin (17,2 g, 0,1 mol). Směs byla míchána 1 hodinu za chlazení vodou a poté odpařena. Bylo získáno 23,59 g tekutiny, která ztuhla. Odparek byl překrystalován z vody a nerozpuštěný olej z vodného roztoku ethanolu. Celkem bylo získáno 15,81 g bílých krystalů (74 %) o t.t. 82-86 °C (lit.<sup>31</sup> udává t.t. 87 °C).



### ***N*-(3-Bromfenyl)-*N*-ethylacetamid (21)**

Ke směsi 50% hydridu sodného (3 g) s dimethylformamidem (160 ml), která byla míchána pod dusíkem za laboratorní teploty, byl postupně přikapáván roztok *N*-(3-bromfenyl)acetamidu (**40**, 10,51 g, 49 mmol) v dimethylformamidu (40 ml). Po hodině míchání za laboratorní teploty byla směs ochlazená pomocí ledu a vody a postupně během jedné hodiny byl přikapán roztok ethyljodidu (50 g, 0,32 mol) v dimethylformamidu (10 ml). Vše bylo mícháno dalších 5 hodin. Reakce byla sledována TLC (hexan/acetone 7:3). Následně byla směs nalita na vodu (500 ml) a extrahována dichlormethanem (1 x 200 a 4 x 100 ml). Poté byla promyta solankou a sušena nad síranem hořečnatým. Odpařením vzniklo 12,49 g žluté tekutiny s olejovými skvrnami, která byla přečištěna s aktivním uhlím a dále destilována za sníženého tlaku. Celkem bylo získáno 10,11 g slabě nažloutlé tekutiny (85 %) o b.v. 88 °C při 0,093 torr.

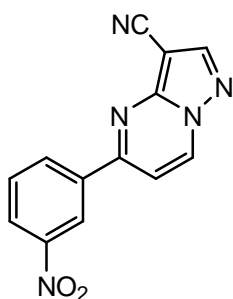
HRMS pro C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>BrNO (M+H)<sup>+</sup> vypočteno: 242,01805, nalezeno: 242,01786.



### 3-Brom-*N*-ethylanilin (27)

Směs *N*-(3-bromfenyl)-*N*-ethylacetamidu (**37**, 38,2 g, 0,158 mol), ethanolu (160 ml) a konc. kyseliny chlorovodíkové (160 ml) byla vařena pod zpětným chladičem 24 hodin. Poté byla směs odpařena, rozpuštěna v horké vodě, ochlazená a zalkalizována 10 % NaOH. Směs byla extrahována diethyletherem, extrakt byl sušen síranem hořečnatým a zbytek po odpaření rozpouštědla byl vakuově destilován. Bylo získáno 25,1 g (78,8 %) nažloutlého oleje o t.v. 62-64°C/4,8 Pa (lit.<sup>32</sup> udává t.v. 124-127 °C/0,67 kPa).

HRMS pro C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>BrN (M+H)<sup>+</sup> vypočteno: 200,00749, nalezeno: 200,00731. <sup>1</sup>H NMR (500,13 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ, ppm: 1,27 t, 3H, *J* = 7,2 (CH<sub>3</sub>); 3,15 q, 2H, *J* = 7,2 (CH<sub>2</sub>); 3,69 s, 1H (NH); 6,51-7,02 m, 4H (Ar-H).

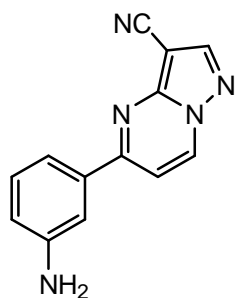


### 5-(3-Nitrofenyl)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-karbonitril (30)

Směs 3-nitrofenylboronové kyseliny (0,5 g, 3 mmol), 5-chlorpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-karbonitrilu (0,5 g, 2,8 mmol), uhličitanu sodného (0,75 g) a tetrakstrifenyfosfinpaladia (0,1 g) v dimethylformamidu (15 ml) byla míchána pod argonem při teplotě 100 °C po dobu 3 dní. Poté byla směs nalita na 50 ml 10% uhličitanu sodného a ponechána v chladu. Nerozpustný podíl byl odsát a takto bylo získáno 4,4 g béžových krystalů, které byly následně míchány s vodou (25 ml) a

vzniklý nerozpustný podíl byl opět odsát. Bylo získáno 0,54 g žlutého prášku (68 %) o t.t. 272-278°C.

Pro  $C_{13}H_7N_5O_2$  (265,23) vypočteno: 58,87 %C, 2,66 %H, 26,41 %N; nalezeno: 58,64 %C, 2,87 %H, 26,73 %N.  $^1H$  NMR (500,13 MHz, DMSO): 7,82 – 8,15 m, 1H (Ar-H), 8,20 d, 1H  $J=7,4$  (H-6), 8,30 – 8,80 m, 2H (Ar-H), 8,84 s, 1H (H-2), 9,02 s, 1H (H-2'), 9,53 d, 1H  $J=7,4$  (H-7).  $^{13}C$  NMR (125,77MHz, DMSO)  $\delta$ , ppm: 81,32, 108,46, 113,27, 122,03, 123,12, 125,88, 130,82, 131,49, 133,88, 136,88, 148,46, 149,32, 156,91. IR (KBr)  $cm^{-1}$ :  $\nu(CH)$  3078,  $\nu(CN)$  2235,  $\nu(C=C) + \nu(C=N)$  1613,  $\nu(NO)$  1518,  $\nu(NO) + \nu(CN)$  1355,  $\delta(CH)$  738. UV  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ): 218 (4,35), 258 (4,48), 300 (3,98). HRMS pro  $C_{13}H_7N_5O_2$  (M+H) $^+$  vypočteno: 266,06780, nalezeno: 266,06823.

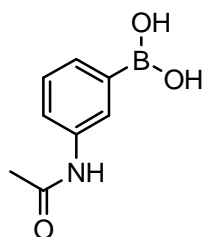


### 5-(3-Aminofenyl)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-karbonitril (31)

K roztoku 3-aminofenylboronové kyseliny (**45**, 0,78 g, 5 mmol), 5-chlorpyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-karbonitrilu (**36**, 0,86 g, 4,8 mmol) a uhličitanu cesného (4 g) ve směsi vody (20 ml) a acetonitrilu (15 ml) byl přidán palladium acetát (0,056 g, 0,29 mmol) a TPPTS (trifenylfosfin-3,3',3''-trifenylsulfonátu trisodného, 0,71 g) ve směsi vody (10 ml) a acetonitrilu (5 ml). Vše bylo zahříváno pod zpětným chladičem v argonové atmosféře 1 h. Po ochlazení byla k reakční směsi přidána voda (50 ml) a směs byla ještě míchána po dobu 2 hodin při 0°C. Nerozpustný podíl byl následně odsát, promyt studenou vodou (20 ml) a vysušen. Celkem bylo získáno 1,05 g nažloutlých krystalů (89 %) o t.t. 160-165 °C.

Pro  $C_{13}H_9N_5$  (235,24) vypočteno: 66,37 %C, 3,86 %H, 29,77 %N; nalezeno: 66,51 %C, 3,72 %H, 29,92 %N.  $^1H$  NMR (500,13 MHz, DMSO): 5,43 s, 2H (NH<sub>2</sub>), 6,80 ddd, 1H  $J=0,9; 2,4; 7,9$  (H-4'), 7,23 t, 1H  $J=7,9$  (H-5'), 7,37-7,53 m, 2H (Ar-H),

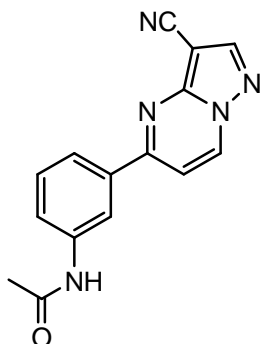
7,80 d, 1H  $J=7,4$  (H-6), 8,77 s, 1H (H-2), 9,32 d, 1H  $J=7,4$  (H-7).  $^{13}\text{C}$  NMR (125,77 MHz, DMSO): 80,54, 108,25, 112,12, 113,54, 113,65, 115,42, 117,34, 129,58, 137,67, 140,09, 148,02, 149,43, 159,98. IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ :  $\nu(\text{NH})$  3391, 3300,  $\nu(\text{CH})$  2916, 2848,  $\nu(\text{CN})$  2225,  $\nu(\text{C}=\text{C}) + \nu(\text{C}=\text{N}) + \delta(\text{NH})$  1604,  $\nu(\text{C}=\text{C}) + \nu(\text{C}=\text{N})$  1550, 1410,  $\delta(\text{CH})$  764. UV  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ): 218 (4,41), 270 (4,37), 298 (4,08). HRMS pro  $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_5$  (M+H) $^+$  vypočteno: 236,09362, nalezeno: 236,09719.



### 3-Acetamidofenyl boronová kyselina (33)

Směs 3-aminofenylboronové kyseliny (**29**, 2,5 g, 18,3 mmol), acetanhydridu (4,8 ml), kyseliny octové (16 ml) a 4-dimethylaminopyridinu (0,04 g) byla míchána za laboratorní teploty 24 h. Vzniklá suspenze byla odpařena na vakuové odparce a odparek byl triturován s diethyletherem (25 ml), směs byla odpařena a triturována opět s diethyletherem (10ml). Nerozpustný podíl byl odsát, promyt ethyletherem a vysušen. Bylo získáno 2,12 g pevné bílé látky (98 %) o t.t. 290-293 °C. (lit. <sup>33</sup> uvádí 274-275 (H<sub>2</sub>O)).

Pro  $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{BNO}_3$  (178,98) vypočteno: 53,68 %C, 5,63 %H, 6,04 %B, 7,83 %N; nalezeno: 53,49 %C, 5,87 %H, 7,50 %N.  $^1\text{H}$  NMR (500,13 MHz, DMSO): 2,04 s, 3H (CH<sub>3</sub>), 7,21-7,95 m, 4H (Ar-H), 9,81-9,87 m, 2H (2xOH), 11,92 bs, 1H (NH).  $^{13}\text{C}$  NMR (63 MHz, DMSO): 23,94, 120,55, 124,33, 127,58, 128,32, 138,55, 168,15, 171,98. IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ :  $\nu(\text{NH})$  3306,  $\nu(\text{C}=\text{O})$  1710, 1652,  $\nu(\text{C}=\text{C}) + \nu(\text{C}=\text{N})$  1486, 1414,  $\delta(\text{NH})$  1553,  $\nu(\text{BO})$  1339, 1258,  $\delta(\text{CH})$  721. UV  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ): 212 (4,48), 244 (4,12), 284 (3,51). HRMS pro  $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{BNO}_3$  (M+H) $^+$  vypočteno: 180,08320, nalezeno: 180,08247.



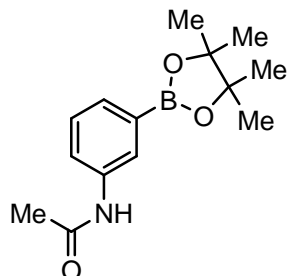
### ***N*-(3-(3-Kyanopyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)fenyl)acetamid (32)**

Postup A) Suspenze 5-(3-aminofenyl)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidine-3-karbonitrilu (**31**, 0,28 g, 1 mmol) v Ac<sub>2</sub>O (10 ml) byla míchána za laboratorní teploty 24 hodin. Poté byla k reakční směsi přidána ledová voda (50 ml) a směs byla dále míchána 1 hod. Poté byl nerozpustný podíl odsát a takto bylo získáno 0,23 g béžových krystalů o t. t. 253 – 255 °C. Malý vzorek látky byl krystalován z kyseliny octové za vzniku bílých krystalů o t. t. 255 – 256 °C.

Postup B) K roztoku 3-acetamidofenylboronové kyseliny (**33**, 0,45 g, 2,5 mmol), 5-chlorpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-karbonitrilu (**20**, 0,45 g, 2,5 mmol) a uhličitanu cesného (2 g) ve směsi vody (10 ml) a acetonitrilu (5 ml) byl přidán paladiumacetát (10 mg, 0,05 mmol) a TPPTS (trifenylfosfin-3,3',3''-trifenylsulfonátu trisodného, 0,15 g) taktéž ve směsi vody (5 ml) a acetonitrilu (2,5 ml). Vše bylo zahříváno pod zpětným chladičem v argonové atmosféře 2 h. K ochlazené reakční směsi byla přidána voda (25 ml) a vyloučený nerozpustný podíl byl poté odsát, promyt studenou vodou (10 ml) a vysušen. Bylo získáno 0,58 g béžových krystalů (83 %) o t.t. 253-256 °C.

Pro C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>N<sub>5</sub>O (277,28) vypočteno: 64,97 %C, 4,00 %H, 25,26 %N; nalezeno: 64,39 %C, 4,45 %H, 25,55 %N. <sup>1</sup>H NMR (500,13 MHz, DMSO) δ, ppm: 2,09 s, 3H (CH<sub>3</sub>), 7,51 t, 1H *J*=7,9 (Ar-H), 7,86 d, 1H *J*=7,4 (H-6), 7,90-8,42 m, 3H (Ar-H), 8,80 s, 1H (H-2), 9,38 d, 1H *J*=7,4 (H-7), 10,23 s, 1H (NH). <sup>13</sup>C NMR (125,77 MHz, DMSO) δ, ppm: 23,95, 80,81, 108,23, 113,54, 117,65, 122,12, 122,50, 129,52, 135,76, 138,05, 140,13, 148,20, 149,50, 159,06, 168,58. IR (KBr) cm<sup>-1</sup>; ν(NH) 3340, ν(CH) 3072, ν(CN) 2227, ν(C=O) 1682, 1682, ν(C=C) + ν(C=N) 1620, 1596, δ(NH)

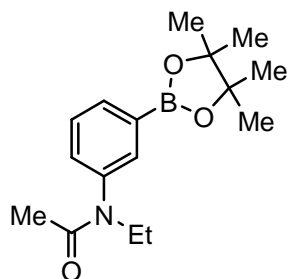
1551,  $\delta(\text{CH})$  785. UV  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ): 220 (4,36), 262 (4,55), 304 (4,00). HRMS pro  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}$  (M+H)<sup>+</sup> vypočteno: 278,10419, nalezeno: 278,10355.



### ***N*-(3-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)fenyl)acetamid (34)**

K suspenzi 3-acetamidofenylboronové kyseliny (**33**, 0,9 g, 5 mmol) v dichlormethanu (25 ml) byl přidán pinakol (0,6 g, 5 mmol). Směs byla míchána za laboratorní teploty cca 18 hodin a poté byla odpařena k suchu. Odparek byl povařen s hexanem (10 ml) a vzniklý pevný podíl byl odsát. Takto bylo získáno 1,1 g bílých krystalů (84%) o t.t. 188-190 °C.

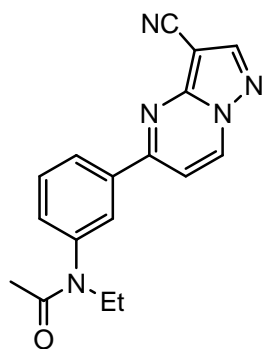
Pro  $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{BNO}_3$  (261,12): 64,39 %C, 7,72 %H, 5,36 %N, nalezeno: 64,13 %C, 7,56 %H, 5,21 %N.  $^1\text{H}$  NMR (500.13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ , ppm: 1,32 s, 12H ( $\text{CH}_3$ ), 2,15 s, 3H ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 7,32-7,70 m, 4H (Ar-H), 11.02 bs, 1H (NH).  $^{13}\text{C}$  NMR (125,77 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ , ppm: 24,41, 24,81, 83,84, 123,13, 125,95, 128,44, 130,49, 137,44, 168,53, 172,13. IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ :  $\nu(\text{NH})$  3322,  $\nu(\text{CH})$  2975,  $\nu(\text{C}=\text{O})$  1661,  $\delta(\text{NH})$  1548, (COBOC) 1355, 1138. UV  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ): 216 (4,49), 246 (4,08), 286 (3,02). HRMS pro  $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{BNO}_3$  (M+H)<sup>+</sup> vypočteno: 262,16145, nalezeno: 262,16086.



### ***N*-Ethyl-*N*-(3-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)fenyl)acetamid (35)**

K roztoku *N*-(3-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)fenyl)acetamidu (**34**, 1,3 g, 5 mmol) v suchém THF (20 ml) byl přidán hydrid sodný (50 %, 0,3 g, 6,25 mmol) a směs byla míchána 1 hod. v dusíkové atmosféře. Poté byl přidán ethyljodid (1 ml, 12,5 mmol) a směs byla opět míchána za laboratorní teploty po 24 hod. Zbytek po odpaření byl smíchan s vodou (25 ml) a extrahován dichlormethanem. Extrakt byl promyt solankou a sušen na MgSO<sub>4</sub>. Olejovitý odparek (1,05 g, 73 %) byl analyzován LC-MS a použit v dalším kroku bez přečištění.

HRMS pro C<sub>16</sub>H<sub>25</sub>BNO<sub>3</sub> (M+H)<sup>+</sup> vypočteno: 290,19275, nalezeno: 290,19212.



### ***N*-(3-(3-Kyanopyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)fenyl)-*N*-ethylacetamid (11)**

Postup A) K roztoku *N*-(3-(3-kyanopyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)fenyl)acetamidu (**48**, 0,28 g, 1 mmol) v DMF (3 ml) byl přidán hydrid sodný 50 % (0,1 g, 2 mmol) a směs byla míchána za laboratorní teploty 1 h. Poté byl přidán ethyljodid (0,4 ml, 5 mmol) a směs byla míchána dalších 24 h. Reakční směs byla odpařena, smíchaná s vodou (5 ml) a extrahována dichlormethanem (4 x 5 ml). Extrakt byl promyt vodou (5 ml) a sušen síranem hořečnatým. Zbytek po odpaření (0,4 g) byl přečištěn axiální TLC na

přístroji CycloGraph (dichlormethan-aceton, 20:1). Takto bylo získáno 0,17 g (56 %) látky **11** o t.t. 194-198 °C.

Postup B) Směs *N*-Ethyl-*N*-(3-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)fenyl)acetamidu (**35**, 0,28 g, 1 mmol), 5-chlorpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-karbonitrilu (**20**, 0,18 g, 1 mmol), (Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>Pd (0,06 g, 5 mol %), uhličitanu sodného (0,25 g, 2,4 mmol) a toluenu (3 ml) byla míchána v reakční víálce při 100 °C po dobu 10-ti hodin. Poté byla směs odpařena a odparek smíchán s vodou (5 ml). Ten byl dále extrahován dichlormethanem (4 x 5 ml) a sušen nad MgSO<sub>4</sub>. Krystalizací z methanolu bylo získáno 0,25 g látky **11** o t.t. 197-199 °C.

Pro C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O (305,33) vypočteno: 66,87 %C, 4,95 %H, 22,94 %N; nalezeno: 67,03 %C, 5,09 %H, 22,78 %N. <sup>1</sup>H NMR (500,13 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ, ppm: 1,17 t, 3H, *J* = 7,2 (CH<sub>3</sub>), 1,87 s, 3H, (CH<sub>3</sub>CO), 3,84 q, 2H, *J* = 7,2 (CH<sub>2</sub>), 7,38 d, 1H, *J* = 7,8 (H-4'), 7,54 d, 1H, *J* = 7,4 (H-6), 7,64 t, 1H, *J* = 7,8 (H-5'), 8,05 s, 1H (H-2'), 8,19 d, 1H, *J* = 7,8 (H-6'), 8,41 s, 1H (H-2), 8,82 d, 1H, *J* = 7,4 (H-7). <sup>13</sup>C NMR (125,77 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ, ppm: 13,2 (CH<sub>3</sub>), 22,9 (CH<sub>3</sub>CO), 44,0 (CH<sub>2</sub>), 83,4 (C-3), 107,6 (C-6), 1127 (CN), 127,1 (C-6'), 127,4 (C-2'), 130,6 (C-5'), 131,6 (C-4'), 136,5 (C-7), 137,4 (C-1'), 144,1 (C-3'), 148,2 (C-2), 149,9 (C-3a), 158,4 (C-5), 169,6 (CO). IR (KBr) cm<sup>-1</sup>: ν(CH) 3103, 2922, 2853, ν(CN) 2227, ν(C=O) 1652, ν(C=C) + ν(C=N) 1626, 1601, 1553, 1522, δ(CH) 700. UV λ<sub>max</sub> (log ε): 204 (4,40), 262 (4,48), 302 (3,95). HRMS pro C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>O (M+H)<sup>+</sup> vypočteno: 306,13549, nalezeno: 306,13495.

Postup C) K roztoku 5-oxo-4,5-dihydropyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-karbonitrilu (**22**, 0,16 g, 1 mmol) v suchém dioxanu (8 ml) a triethylaminu (0,3 g) v tlakové zkumavce s argonem byl přidán PyBroP (Bromo-tris-pyrolidino-fosfoniumhexafluorofosfát, 0,56 g, 5 mmol) a směs byla míchána 2 hodiny. Poté byl přidán *N*-(3-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)fenyl)acetamid (**34**, 0,275 g, 0,95 mmol), uhličitan sodný (0,53 g, 5 mmol), PdCl<sub>2</sub>(Ph<sub>3</sub>P)<sub>2</sub> (50 mg, 7 mol %) a voda (2 ml) a vše bylo nadále mícháno další 2 hodiny v tlakové zkumavce s argonem. Dále byla reakční směs ponechána míchat přes noc za laboratorní teploty. Tekutý podíl byl poté smíchán s EtOAc (25 ml). Nerozpustný podíl na stěnách zkumavky byl povařen také s EtOAc (2 x 25 ml) a horké roztoky byly smíchány a přidány k původnímu roztoku, který byl dále promyt vodou a sušen nad MgSO<sub>4</sub>. Odparek (1,2 g) byl přečištěn axiální TLC na



přístroji CycloGraph ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  – aceton v poměru od 20 : 1 po 5 :1). Takto bylo získáno 0,22 g (76 %) izozaleplonu o t. t. 194 – 197 °C.

## 6 Závěr

### 6.1 Syntéza isozaleplonu

Po zadání tématu této rigorózní práce byla provedena literární rešerše a na jejím základě byl vypracován postup pro syntézu isozaleplonu.

Podstatou přípravy isozaleplonu je Suzukiho kapling boronové kyseliny **19** s příslušným halogenderivátem **20**.

Výchozí látkou pro přípravu halogenderivátu **20** byl 5-amino-1*H*-pyrazol-4-karbonitril (**5**). Ten zahříváním s 3-ethoxyakrylátem v dimethylformamidu za přítomnosti uhličitanu cesného poskytl pro nás žádoucí izomer **22**, který mohl být zahříváním s fosforoxychloridem převeden na látku **20**.

Boronovou kyselinu jsme chtěli připravit z 3-bromanilinu (**25**), který jsme nejprve naacetylovali a následně naethylovali obvyklým způsobem. Vzniklý *N*-(3-bromfenyl)-*N*-ethylacetamid (**21**) jsme se pokoušeli převést pomocí butyllithia a methyl nebo isopropylborátu na příslušnou boronovou kyselinu, avšak všechny pokusy selhaly. Vždy došlo pouze k deacetylaci za vzniku 3-brom-*N*-ethylanilin (**27**). Proto jsme se rozhodli ochránit citlivou NH skupinu buď dibenzylací a nebo pomocí TMSCl, ale ani tyto pokusy nevedly ke kýženému výsledku. Nakonec jsme využili komerčně dostupné boronové kyseliny **28** a **29**. Suzuki-Miyaura kapling kyseliny **28** s příslušným halegoenderivátem poskytl požadovaný 5-(3-Nitrofenyl)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-karbonitril (**30**), který však kvůli špatné rozpustnosti ve všech zkoušených rozpouštědlech nebylo možno redukovat na žádaný 5-(3-aminofenyl)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-karbonitril (**31**). Výhodnější se ukázalo být použití boronové kyseliny **29**. Ta byla nejprve naacetylována na látku **33** a následný Suzukiho kapling poskytl látku **32**, která byla ethylována na výsledný isozaleplon **11**. Postup, kdy byl nejprve proveden kapling látky **29** s halogenderivátem **20** a poté acetylace, není tak výhodný. Nejvýhodnějším se zdá další postup syntézy isozaleplonu **11**, který vedl přes *N*-acetyl derivát kyseliny **29**, který byl podroben reakci s pinakolem za vzniku příslušného pinakolesteru **34**, který byl dále obvyklým postupem ethylován. Kapling této látky s chlorderivátem **20** poskytl opět isozaleplon **11**. Isozaleplon byl získán též reakcí pinakolesteru **35** s oxoderivátem **22** za přítomnosti brom-tris-pyrolidinofosfonium hexafluorofosfátu (PyBroP). Nevýhodou tohoto postupu je vysoká cena reagensů.

## 6.2 Syntéza zaleplonu různými metodami

Byla provedena syntéza zaleplonu podle pěti dostupných postupů popsaných v jednotlivých patentech lišících se hlavně použitými rozpouštědly (viz Experimentální část). U každého z postupů byl pomocí HPLC sledován výskyt potenciálních nečistot a jejich kvantitativní zastoupení v každé směsi. V prvním případě (metoda A) byla reakce prováděna varem ve vodně-ethanolické kyselině chlorovodíkové. HPLC analýza vzniklých krystalů ( $A_1$ ) ukázala prakticky kvantitativní zastoupení požadované látky – tedy zaleplonu. Po odpaření matečného louhu byl v odparku ( $A_2$ ) zjištěn taktéž zaleplon a dále jeho polohový izomer. Ve druhém postupu (metoda B) byla použita kyselina octová jako rozpouštědlo a v surové reakční směsi byl identifikován zaleplon, opět jeho izomer a zbytek výchozí látky **4**. Pro pokus číslo 3 (metoda C) byla použita směs kyseliny octové a vody. V reakční směsi byl opět přítomen majoritně zaleplon, dále isozaleplon a další nečistota, která byla identifikována jako látka **18**. Vznik této nečistoty lze vysvětlit tak, že za podmínek reakce dochází jednak k deacetylaci zaleplonu na látku **13**, jednak k hydrolyze nitrilu až na příslušnou kyselinu, která ale vzhledem ke své nestabilitě samovolně dekarboxylovala na nečistotu **18**. V metodě D byla použita kyselina mravenčí a voda a analýzou byla zjištěna přítomnost zaleplonu, isozaleplonu a 2 dalších nečistot. Jednou z nich je desacetylzaleplon **13** a opět nečistota **18**. Poslední metoda E byla prováděna za použití methanolu, vody a koncentrované kyseliny chlorovodíkové. Ve směsi byl identifikován pouze zaleplon a jeho izomer.

Z hlediska čistoty se ukázaly být nejvýhodnější metody A (ethanol, voda, HCl) a E (methanol, voda, HCl), které obě spočívají v zahřívání ve vodně alkoholických roztocích kyseliny chlorovodíkové. Zastoupení zaleplonu zde bylo nejvyšší a dále se zde vyskytovala v malém množství pouze jedna nečistota a to polohový izomer zaleplonu, přičemž tato nečistota po ochlazení a vykrystalování zaleplonu zůstává v matečných loužích (viz metoda A). Při použití bezvodé kyseliny octové jako rozpouštědla (metoda B) byl procentuální obsah zaleplonu v reakční směsi nejnižší a byl zde významný podíl nezreagované výchozí látky **4** (15,92 %). Vzhledem k tomu, že v reakční směsi nebyl přítomen aminopyrazol **5**, zřejmě za podmínek reakce dochází k jeho přeměně na polymerní produkty, která nebyly HPLC metodou zjištělné. Tomu napovídala i tmavá barva reakční směsi. U metod B a C byl zjištěn

nejvyšší výskyt izomeru zaleplonu, 4,38%, resp. 4,08%. V případě metod C a D byla jako nečistota zjištěna i látka **18**, u metody D byla přítomna i látka **13**.

Tabulka 1. Složení surové reakční směsi syntézy zaleplonu metodami A-E

Sloučenina (%)	RT (min)	Metoda					
		A <sub>1</sub> <sup>*</sup>	A <sub>2</sub> <sup>**</sup>	B	C	D	E
Zaleplon	8,901	100,00	99,08	79,70	95,45	98,46	99,53
Izomer	9,250	---	0,92	4,38	4,08	1,21	0,47
Výchozí l. <b>4</b>	5,037	---	---	15,92	---	---	---
Nečistota <b>18</b>	Cca 10,4	---	---	---	0,47	0,15	---
Nečistota <b>13</b>	Cca 12	---	---	---	---	0,18	---

### 6.3 Závěrečné shrnutí

Tato rigorózní práce spolu s předchozí diplomovou prací rozvíjí téma syntézy nečistot hypnotika zaleplonu. Syntetické práce popisující syntézu nečistot účinných farmaceutických substancí mohou být velice důležité při získávání standardů těchto nečistot. Z tohoto hlediska je podstatné, že hlavní poznatky obou prací byly nedávno také publikovány<sup>34,35</sup>. Zvláště nás potěšilo, že syntéza isozaleplonu, která je založena na Suzuki-Miyaura kaplingu, byla publikována v mimořádném čísle časopisu *Heterocycles* věnovaném 80. narozeninám profesora Akira Suzukiho.

## 7 Seznam použité literatury

1. Anon.: *Drug Data Reports*, **1987**, 9, 520.
2. Anon.: *Drug Data Reports*, **1995**, 17, 605.
3. Anon.: *Drugs of the Future*, **1996**, 21, 37.
4. Dusza J. P., Tomcuřcik A. S., Albright J. D. (American Cyanamide): *US* 4626538 (1985); *Chem. Abstr.* **1986**, 105, 72777.
5. Dusza J. P., Tomcuřcik A. S., Albright J. D. (American Cyanamide): *EP* 208846 (1985); *Chem. Abstr.* **1986**, 105, 72777.
6. Thurajrajan P. (American Cyanamide): *US* 5714607 (1995); *Chem. Abstr.* **1998**, 128, 154095.
7. Thurajrajan P. (American Cyanamide): *EP* 776898 (1995); *Chem. Abstr.* **1997**, 127, 81460.
8. Hradil P., Jendřichovský J., Grepl M., Grepl F., Novotný J. (Farmak): *CZ* 292869 (2003); *Chem. Abstr.* **2003**, 143, 59992.
9. Korodi, F., Feher E., Magyar E. (TEVA Pharmaceuticals) *WO* 100828 (2002); *Chem. Abstr.* **2002**, 138, 24725.
10. Rádł S. (Zentiva) *WO* 37824 (2004); *Chem. Abstr.* **2004**, 143, 43894.
11. Horns S. (Cilag A.-G.): *WO* 03/068775 (2003); *Chem. Abstr.* **2003**, 139, 197499.
12. Bharathi Ch., Prabahar K. J., Prasad Ch. S, Karavana K. M., Magesh S., Handa V. K., Ramesh N., Naidu A.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2007**, 77, 101.
13. Gloede J., Costisella B.: *J. Prakt. Chem. (Leipzig)* **1971**, 313, 277.
14. Stanovnik B., Tisler M., Hribar A., Barlin G. B., Brown D. J.: *Austr. J. Chem.* **1981**, 34, 1729.
15. Bulychev Yu. N., Preobrazhenskaya M. N.: *Khim. Getherotsikl. Soed.* **1988**, 1526.
16. Janin Y., Huel C., Flad G., Thiroť S.: *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 1763.
17. Deeb A., El-Mobayed M., El-Hamid A. Adel, El-Hamid A. Atef: *Pol. J. Chem.* **1992**, 66, 449-455.
18. Deeb A., El-Mobayed M., Essawy A. A., El-Hamid A. Adel, El-Hamid A. Atef: *Rev. Roum. Chim.* **1993**, 38, 303-309.
19. Sunthankar S. V., Vaidya, S. D.: *Ind. J. Chem., Sect. B: Org. Chem. Incl. Med. Chem.* **1977**, 15B, 349-351.

20. Gavrin L. K., Lee A., Provencher B. A., Masefski W. W., Huhn S. D., Ciszewski G. M., Cole D. C., McKew J. C.: *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 1043-1046.
21. Mustazza C., Del Giudice M. R., Borioni A., Gatta F.: *J. Heterocycl. Chem.* **2001**, 38, 1119-1129.
22. Wang X.-J., Sun X., Zhang L., Xu Y., Krishnamurthy D., Senanayake C.: *Org. Lett.* **2006**, 8, 305-307.
23. Scherer S., Meudt A., Lehnemann B., Kalinin A., Snieckus V. (Archimica): EP 1479686 (2004); *Chem. Abstr.* **2004**, 141, 424290. 23.
24. Das, V. L. Alexeev, A. C. Sharma, Gleib S. J., Aster S. A.: *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 7719.
25. Snatzke G., Vlahov J.: *Liebigs Ann. Chem.* **1985**, 439.
26. Klebe J. F., Finkbeiner H., White D. M.: *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 3390.
27. Cahová H., Havran L., Brázdilová P., Pivoňková H., Pohl R., Fojta M., Hocek M.: *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2008**, 47, 2059.
28. Čapek P., Vrábel M., Hasník Z., Pohl R., Hocek M.: *Synthesis* **2006**, 3515.
29. Kang F.-A., Sui Z., Murray W. V.: *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 11300.
30. Korycinska M., Stawinski T., Wieczorek M. (Adamed): WO 95456 (2003); *Chem. Abstr.* **2003**, 139, 381506
31. Peltier D., Pichevin A., Bonnin A.: *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1961**, 1619-1621.
32. Dickey J. B. (Eastman Kodak) US 2618631; *Chem. Abstr.* **1953**, 47, 23881
33. W. Seaman, J. R. Johnson: *J. Amer. Chem. Soc.* **1931**, 53, 711–723
34. Rádl S., Blahovcová M., Plaček L., Pekárek T., Havlíček J.: *J. Heterocycl. Chem.* **2010**, 47, 276-283.
35. Rádl S., Blahovcová M., Havlíček J., Tkadlecová, M.: *Heterocycles* **2010**, 80, 1359-1379.
36. Blahovcová M.: *Diplomová práce*, KFCHKL Faf UK, 2009.