Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta
Katedra organické chemie

Charles University in Prague, Faculty of Science
Department of Organic Chemistry

Doktorský studijní program: Organická chemie
Ph.D. study program: Organic Chemistry

Autoreferát disertační práce
Summary of the Ph.D. Thesis

C-H aktivace deazapurinových heterocyklů
C-H activations of deazapurine heterocycles

Ing. Martin Klečka

Školitel/Supervisor: prof. Ing. Michal Hocek CSc., DSc.

Praha, 2015

Abstract

Direct C-H borylations of 7-deazapurines (*7H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine) were developed at position 8 using B_2pin_2 and Ir catalysis. The obtained boronates were efficiently applied in the Suzuki cross-couplings with aryl halides and other functional group transformations to give diverse 6-substituted 8-aryl-7-deazapurine derivatives. Furthermore, I was also interested in the synthesis of biologically relevant 8-aryl-7-deazaadenines and -7-deazahypoxanthines. As the direct C-H borylation of 7-deazaadenines was unsuccessful and the borylation/Suzuki reaction of 6-chloro-7-deazapurine gave only low yield (20%) of the desired 8-aryl derivative, I focused on the one-pot borylation/arylation of SEM-protected 6-methylsulfanyl- or 6-methoxy-7-deazapurines. The one-pot borylation/Suzuki coupling reactions were followed either by demethylation and deprotection to yield deazahypoxanthine base, or by oxidation of sulfide to sulfone, amination and deprotection to give deazaadenines. In addition, the boronate intermediates were successfully converted to 8-halo- or 8-trifluoromethyl-7-deazapurine derivatives. While the 7-deazahypoxantine analogues were almost entirely inactive, most of the 8-subtituted 6-methoxy-7-deazapurine and 7-deazaadenines bases showed significant cytostatic activities.

Also a general method for Cu-catalysed C–H sulfenylation of purines, 7-deaza- and 9-deazapurines (*5H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidine) with aryl or alkyldisulfides was developed. In purines, the reaction occurs at position 8, in 7-deazapurines at position 7 and in 9-deazapurines at position 9, leading to new interesting arylsulfanyl derivatives of purine or deazapurine bases. The resulting 8-arylsulfanylpurines undergo the Liebesking–Srogl coupling with arylstannanes or boronic acids, whereas the (arylsulfanyl)deazapurines are not reactive under these conditions.

Later on, a series of 7-phenylsulfanyl- or 7-(2-thienyl)sulfanyl-7-deazapurine bases bearing diverse substituents at the position 6 was prepared through C-H sulfenylation of 6-chloro-7-deazapurine followed by cross-couplings or nucleophilic substitutions. The corresponding ribonucleosides (as thia-analogues of known nucleoside cytostatics) were prepared by glycosylation of 6-chloro-7-arylsulfanyl-7-deazapurines followed by the same transformations at position 6. The 7-thienylsulfanyl-7-deazapurine bases exerted micromolar cytostatic activities, whereas the nucleosides showed no significant biological effects.

Abstrakt

Nejprve byla vyvinuta přímá C-H borylace 7-deazapurinů (*7H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin) v poloze 8 za použití B_2pin_2 a Ir katalýzy. Takto získané boronáty byly efektivně využity v Suzukiho cross-coupling reakci s arylhalogenidy a jiné další transformace vedly ke vzniku různě 6-substituovaným 8-aryl-7-deazapurinům. Následným cílem práce byla syntéza potencionálně biologicky aktivních 8-aryl-7-deazaadeninů a -7-deazahypoxantinů. Vzhledem k tomu, že přímá C-H borylace 7-deazaadeninů nebyla úspěšná a "one-pot" borylace/Suzukiho reakce 6-chlor-7-deazapurinu poskytovala pouze nízký výtěžek (20%) tíženého 8-arylovaného derivátu, zaměřil jsem se na borylaci/arylaci SEM-chráněného 6-methylsulfanyl nebo 6-methoxy-7-deazapurinu. Borylace/Suzukiho reakce byla následována buď demethylací a deprotekcí za vzniku deazahypoxantinové báze, nebo oxidací sulfidu na sulfon, aminací a odstranění chránící skupiny za vzniku deazaadeninů. Kromě toho byly boronáty úspěšně převedeny na 8-halogen- nebo 8-trifluormethyl-7-deazapurinové deriváty. Zatímco 7-deazahypoxantinové analogy byly téměř úplně neaktivní, většina z 8-subtituovaných 6-methoxy-7-deazapurinů a 7- deazaadeninů měla cytostatický účinek v mikromolární koncentraci.

Dále byla vyvinuta mědí katalyzovaná C-H sulfenylace purinů, 7-deaza- a 9-deazapurinů (*5H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin) s aryl nebo alkyldisulfidy. U purinů reakce probíhá v poloze 8, u 7-deazapurinů v poloze 7 a u 9-deazapurinů v poloze 9, což vede k novým zajímavým arylsulfanyl derivátům purinových nebo deazapurinových bází. Výsledné 8-arylsulfanylpuriny reagují v Liebesking-Šrogl coupligu s arylstanany nebo boronovými kyselinami, zatímco arylsulfanyldeazapuriny za těchto podmínek nereagují.

Později byla pomocí C-H sulfenylace 6-chlor-7-deazapurinu připravena série 7-phenylsulfanyl- nebo 7-(2-thienyl)sulfanyl-7-deazapurinových bází nesoucích různé substituenty v poloze 6, které byly zavedeny pomocí cross-couplingů nebo nukleofilní substitucí. Odpovídající ribonukleosidy (jako sirné-analogy známých nukleosidových cytostatik) byly připraveny nejprve glykosylací 6-chlor-7-arylsulfanyl-7-deazapurinů, po které následovaly stejné transformace v poloze 6. 7-Thienylsulfanyl-7-deazapurinové báze mají cytostatický účinek v mikromolární koncentraci, zatímco nukleosidy neprokázaly žádnou významnou biologickou aktivitu.

List of abbreviations

Ac	acetyl
acac	acetylacetone
Ar	aryl
Bn	benzyl
B_2pin_2	bis(pinacolato)diboron
bpy	2,2'-Bipyridine
BSA	*N*,*O*-bis(trimethylsilyl)acetamide
Bu	butyl
Bz	benzoyl
COE	cyclooctene
COD	1,5-cyclooctadiene
Cp	cyclopentadienyl
CuTc	copper(I) thiophene-2-carboxylate
DCM	dichloromethane
dba	dibenzylideneacetone
DMF	*N*,*N*-dimethylformamide
DMSO	dimethylsulfoxid
dppe	1,2-bis(diphenylphosphino)ethane
dppf	1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene
dppp	1,3-bis(diphenylphosphino)propane
dtbpy	4,4′-di-tert-butyl-2,2′bipyridyl
EtOAc	ethyl-acetate
EtOH	ethanol
equiv.	equivalent
Et	ethyl
EtOH	ethanol
HPFC	high performance flash chromatography
*i*Pr	isopropyl
LDA	lithium diisopropylamide
M	metal
m.p.	melting point

*m*CPBA	*meta*-Chloroperoxybenzoic acid
Me	methyl
MeCN	acetonitrile
MeOH	methanol
MW	microwave reactor
Ph	phenyl
r.t.	room temperature
Sal	salicylate
SEM	2-(Trimethylsilyl)ethoxymethyl
*t*Bu	*tert*-butyl
TFA	trifluoroacetic acid
Togni reagent	3,3-Dimethyl-1-(trifluoromethyl)-1,2-benziodoxole
THF	tetrahydrofuran
TM	transition metal
TMSCl	trimethylsilyl chloride
TMSOTf	trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate

Contents

Abstract **2**

Abstrakt **3**

List of abbreviations **4**

Contents **6**

1 Introduction **8**

2 Specific aims of the thesis **9**

3 Results and discussion **9**

3.1 C-H Borylation of purines and deazapurines *9*

3.1.1 Application of C-H borylation in synthesis of 6,8-disubstituted 7-deazapurines 12

3.1.1.1 Synthesis of 8-aryl-7-deazapurines 12

3.1.1.2 Two-step synthesis of 6,8-disubstituted 7-deazapurines – scope and limitations 13

3.1.1.3 Synthesis of 8-aryl 7-deazahypoxantines 15

3.1.1.4 Synthesis of 8-aryl-7-deazaadenines 16

3.1.1.5 One-pot C–H borylation/Cu-catalyzed substitution 17

3.1.2 Biological activity screening 6,8-disubstituted 7-deazapurines 19

3.2 C-H sulfenylation of purines and deazapurines *21*

3.2.1 Direct C-H sulfenylation of 7-deazapurines 21

3.2.2 Direct C-H sulfenylation of 9-deazapurines 22

3.2.3 Direct C-H sulfenylation of purines 23

3.2.4 Application of C-H sulfenylation in synthesis of substituted 7-deazapurine bases and ribonucleosides 23

3.2.4.1 Synthesis of 7-arylsulfanyl-7-deazapurine bases 24

3.2.4.2 Synthesis of 7-arylsulfanyl-7-deazapurine ribonucleosides 26

3.2.5 Biological activity screening 28

4 Conclusions **29**

5 Úvod **31**

6 Cíle práce **32**

7 Výsledky a diskuze 32

7.1 C-H Borylace purinů a deazapurinů 32

7.1.1 Použití C-H borylace při syntéze 6,8-disubstituovaných 7-deazapurinů 35

7.1.1.1 Syntéza 8-aryl-7-deazapurinů 35

7.1.1.2 Dvoustupňová syntéza 6,8-disubstituovaných 7-deazapurinů - možnosti a omezení ... 36

7.1.1.3 Syntéza 8-aryl 7-deazahypoxantinů 38

7.1.1.4 Syntéza of 8-aryl-7-deazaadeninů 39

7.1.1.5 „One-pot“ C–H borylace/Cu-katalyzovaná substituce 40

7.1.2 Biologické aktivity 6,8-disubstituovaných 7-deazapurinů 42

7.2 C-H sulfenylace purinů a deazapurinů 44

7.2.1 C-H sulfenylace 7-deazapurinů 44

7.2.2 C-H sulfenylace 9-deazapurinů 45

7.2.3 C-H sulfenylace purinů 46

7.2.4 Použití C-H sulfenylace při syntéze substituovaných 7-deazapurinů a jejich ribonukleosidů 46

7.2.4.1 Syntéza 7-arylsulfanyl-7-deazapurinových bází 47

7.2.4.2 Syntéza 7-arylsulfanyl-7-deazapurinových ribonukleosidů 49

7.2.5 Studium biologických aktivit 51

8 Shrnutí 52

9 Seznam publikací - Selected publications 53

10 Konferenční příspěvky - Conference contributions 53

11 Curriculum vitae 54

12 References 54

1 Introduction

Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines (7-deazapurines)[1] are important carba-analogues of biogenic purine bases (for clarity, I will use the "purine" nomenclature and numbering throughout the text). All deazapurines have not been studied as much as purines due to the more difficult syntheses of the libraries. However, 7-deazapurines showed important biological activities: TWS119 (Chart 1) was identified to direct the differentiation of neuronal cells in mice by GSK-3b inhibition,[2] whereas PKI166 (Figure 1) and related compounds display antitumor activity through inhibition of EGFR-tyrosine kinase[3] or Bruton's tyrosine kinase.[4] Since, a high specificity in inhibition of kinases is required for medicinal applications, development of synthetic methodologies for preparation of large series or libraries of deazapurines is a very important and attractive goal.

The know methods for the synthesis of substituted 7-deazapurines mostly involve cross-coupling reactions and/or heterocyclizations. The heterocyclization approaches[5] are more laborious for synthesis of larger series of derivatives since typically several steps are needed for preparation of each compound. The regioselective cross-coupling reactions,[6] require to pre-activate starting compounds that involves the installation and subsequent disposal of stoichiometric activating agents. On the other hand, C-H activation methodologies[7] attract much current attention and are being developed into complementary techniques for efficient and straightforward functionalization of heterocycles for medicinal chemistry applications.

In recent years, direct C-H borylation[8] and C-H sulfenylation[9] has become a widely used method for the functionalization of arenes because of its ability to produce aryl organoboronate ester or arylsulfanyl derivatives. To the best of my knowledge, there were no reported examples of a direct C-H borylation or C-H sulfenylation of purines and deazapurine moiety prior to starting of my project.

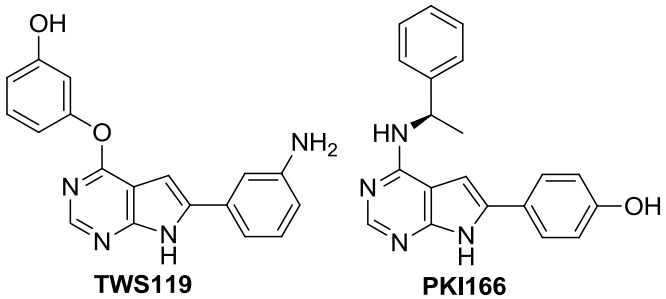


Figure 1. Examples of biologically active 6,8-disubstituted 7-deazapurines

2 Specific aims of the thesis

1. Development of the direct C-H borylation of deazapurines

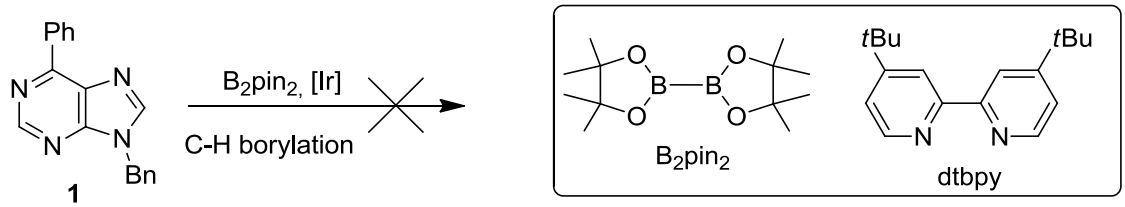
2. Development of the direct C-H sulfenylation of deazapurines

3. Combinations of C-H activations with cross-coupling reactions, nucleophilic substitutions and construction of libraries di- and trisubstituted deazapurines

3 Results and discussion

3.1 C-H Borylation of purines and deazapurines

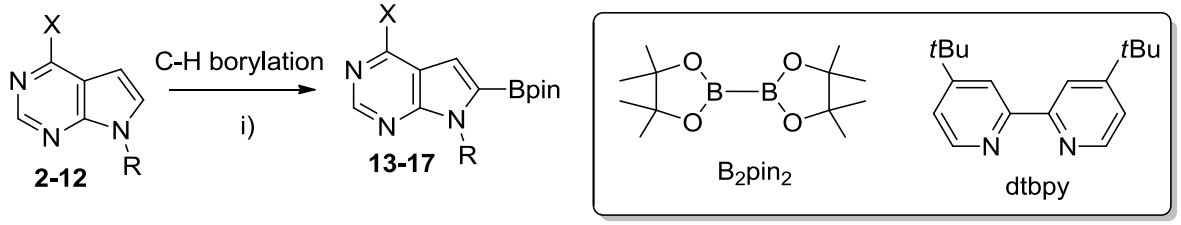
The C-H borylation of 9-benzyl-6-phenylpurine **1** failed completely probably due to the formation of a stable complex of purine with Ir catalyst at N7 or limited stability of the purine-8-boronate (mostly just the starting compound was recovered accompanied by minor byproducts).



Scheme 1. Direct C–H borylation of purines

Therefore, my further effort was focused on 7-deazapurines (lacking the N7 coordination site). The model starting compound was 9-benzyl-6-phenyl-7-deazapurine (**2**, 7-benzyl-4-phenyl-*7H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine). THF was solvent of choice due to solubility of starting compounds. The reaction of **2** with bispinacolatodiboron in presence of dtbpy and $[Ir(COD)(OMe)]_2$ proceeded well to give selectively 8-borylated product **13** in in high yield (85%, Table 1, entry 1). The regioselectivity was in accord with the literature examples of borylation of indoles.[10] Later on I found, that neither 9-unsubstituted 6-phenyl-7-deazapurine **3** nor nucleoside **4** formed the desired boronates. 6-Amino-9-benzyl-7-deazapurine (deazaadenine) **5** as well as its N-(dimethylamino)methylidene-protected derivative **6** also did not give any C-H borylation products. 9-Benzyl-6-chloro-7-deazapurine **7** gave the desired 8-borylated product **14** in moderate 53% yield, whereas the 9-unprotected 6-chloro-7-deazapurine **8** did not undergo the borylation. Apparently, the Ir-catalyzed C-H borylation only works on 9-substituted 7-deazapurines bearing functional groups lacking any acidic protons and/or coordinating nitrogens. On the other

hand, I have no plausible explanation for the lack of reactivity of nucleoside **4**. In order to access the biologically relevant substituted deazaadenine or deazahypoxanthine bases, I need to introduce a protecting group at position 9 and a suitable functional group at position 6.

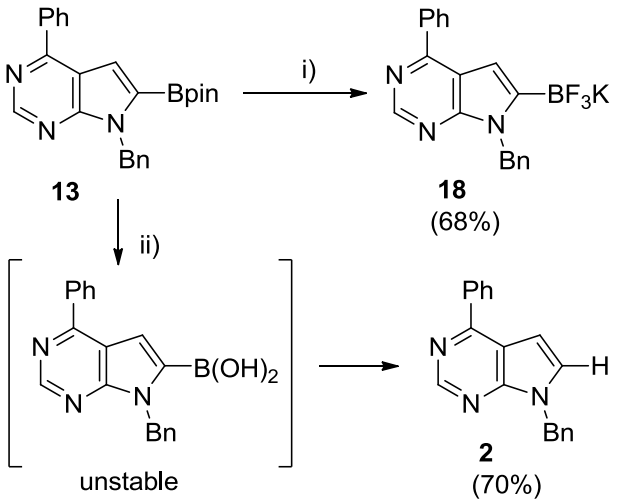


Scheme 2. Reagents and conditions: i) B_2pin_2 (1.2 equiv.), $[Ir(COD)OMe]_2$ (5%), dtbpy (10%), THF, 80°C, 20 h

Table 1. Scope and limitations of direct C-H borylation of 7-deazapurines **2-12**

Entry	Starting compound	X	R	Yield (%)
1	**2**	Ph-	Bn	**13** (85%)
2	**3**	Ph-	H	no reaction
3	**4**	Me-	2,3,5-tri-*O*-acetyl-β-D-ribofuranosyl	no reaction
4	**5**	NH_2	Bn	no reaction
5	**6**	$(CH_3)_2NCH=N$-	Bn	no reaction
6	**7**	Cl	Bn	**14** (53%)
7	**8**	Cl	H	no reaction
8	**9**	Cl	SEM	**15** (78%)
9	**10**	OMe	SEM	**16** (81%)
10	**11**	SMe	SEM	**17** (83%)
11	**12**	SO_2Me	SEM	no reaction

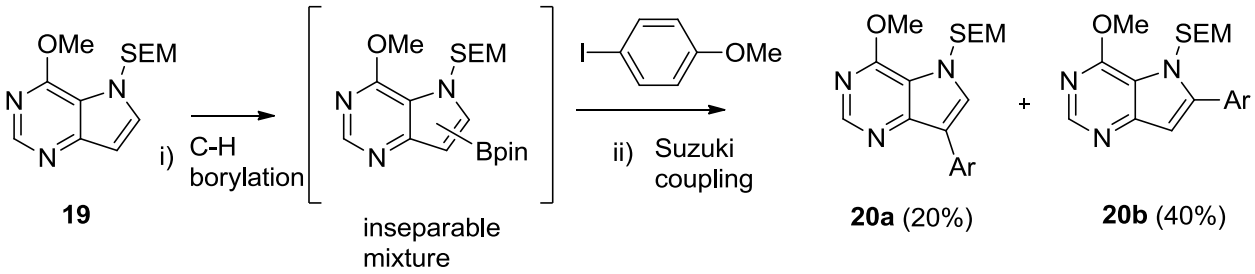
Based on my previous experience with difficult removal of *N*-benzyl group from 7-deazapurines, I choose (trimethylsilyl)ethoxymethyl (SEM) group which is easily removable by TFA followed by ammonia. As possible transformable or leaving groups at position 6, it was considered Cl, OCH_3, SCH_3 and SO_2CH_3 which should be prone to either nucleophilic substitutions or demethylations. The corresponding 9-SEM-6-substituted deazapurines **9-12** were then tested in the Ir-catalyzed C-H borylation under the same conditions as above (Table 1, entries 8-11). The 6-chloro-, 6-methoxy- and 6-methylsulfanyl-SEM-protected 7-deazapurines reacted well to give the corresponding boronates **15-17** in good yields (78-83%), whereas the sulfone **12** did not give any reaction under these conditions.



Scheme 3. Reagents and conditions: i) KHF_2 (6 equiv.), THF/H_2O (5:3), rt, 5 h; ii) $NaIO_4$ (4 equiv.), THF/H_2O (4:1), 1M HCl, rt, 1 h.

I also explored the possible conversions of the boronate **13** to either free boronic acids or trifluoroborates[11] (Scheme 3). The reaction of **13** with KHF_2 under standard conditions[12] gave the desired trifluoroborate **18** in acceptable 68% yield. However, the oxidation followed by hydrolysis under literature conditions,[12] which should give the boronic acid, gave only 8-unsubstituted deazapurine **2** as a product of protodeborylation. This is an indicator, that the corresponding deazapurine-8-boronic acid is too unstable to be isolated under these reaction conditions.

Later on, my effort was also focused on C-H borylation of 9-deazapurines applying the same conditions used for C-H borylation of 7-deazapurine, but the reation on model substrate **19** did not proceed regioselectively and two borylated (according LC-MS) unseparable products were formed. The mixture was then used in Suzuki coupling and two regioisomers were isolated **20a** (7-arylated) and **20b** (8-arylated) in 20%, respectively 40 % (Scheme 4).



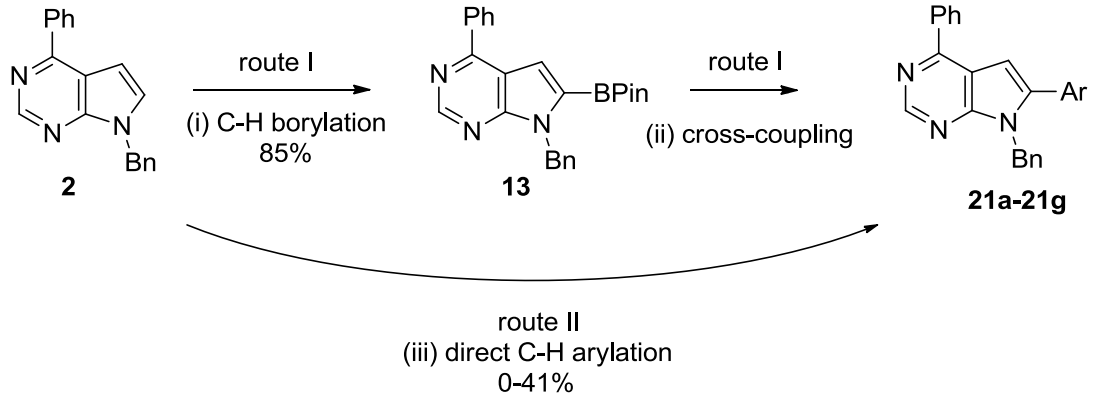
Scheme 4. Reagents and conditions: B_2pin_2 (1.2 equiv.), $[Ir(COD)OMe]_2$ (5%), dtbpy (10%), THF, 80°C, 20 h; ii) Ar-I (1.1 equiv.), $Pd(dppf)Cl_2$ (5%), K_2CO_3 (4 equiv.), DMF, 90°C, 1 h.

3.1.1 Application of C-H borylation in synthesis of 6,8-disubstituted 7-deazapurines

Having a regioselective access to the 8-subtituted 7-deazapurines, I have further explored synthetic applications of boronates. The most obvious use is in the Suzuki cross-coupling reaction or in transformation to other functional groups (halogen, cyano, CF_3) generally by the copper catalysed substitution.

3.1.1.1 Synthesis of 8-aryl-7-deazapurines

The Suzuki cross-coupling reactions were performed on model benzylated boronate **13** with diverse aryl halides under conditions previously optimized[13] for other hetarylboronates ($Pd(dppf)Cl_2$ and K_2CO_3 in DMF). Generally, all the aryl halides (diverse aryl iodides and 2-bromopyrene) reacted well to give the desired 8-aryl products **21a-21g** in very high yields (Table 2).



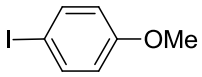
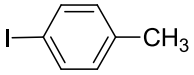
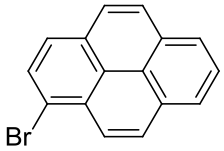
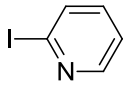
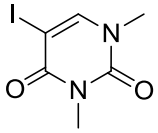
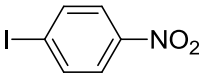
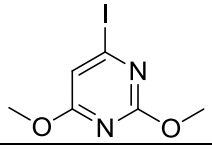
Scheme 5. Reagents and conditions: B_2pin_2 (1.2 equiv.), $[Ir(COD)OMe]_2$ (5%), dtbpy (10%), THF, 80°C, 20 h; ii) Ar-I (1.1 equiv.), $Pd(dppf)Cl_2$ (5%), K_2CO_3 (4 equiv.), DMF, 90°C, 1 h.; iii) Ar-X (2 equiv.), $Pd(OAc)_2$ (5%), Cs_2CO_3 (2.5 equiv.), CuI (3 equiv.), DMF, 160 °C, 60 h.

Interesting products **21e** and **21g** arrised from the coupling with methylated 5- or 6-iodouracils (entries 5 and 7) as novel types of Janus-nucleobases[14] or fleximers.[15] In the case of compound **21g**, the acid hydrolysis gave the free 9-benzyl-6-phenyl-8-(uracil-6-yl)-7-deazapurine **21h**. The overall yields of the 6,8-diaryl-7-deazapurines over the two steps (C-H borylation and cross-coupling, Table 2 - Route I) were very good (67-81%).

As a complementary alternative method, I have also tried direct C-H arylation of **2** with the same aryl halides under the conditions optimized[16] for arylation of purines (Table 2, Route II). However, these reactions did not proceed well giving very low yields (entries 1-3) or no reaction what so ever (entries 4-7). Comparison of the two routes to diaryl-7-deazapurines **20** revealed that the two step sequence (Route I) is much more efficient (Table

2). The coordination of Cu(I) to *N7* of purine ring is probably essential and proposed to assist the deprotonation at C-8 of purines.[17]

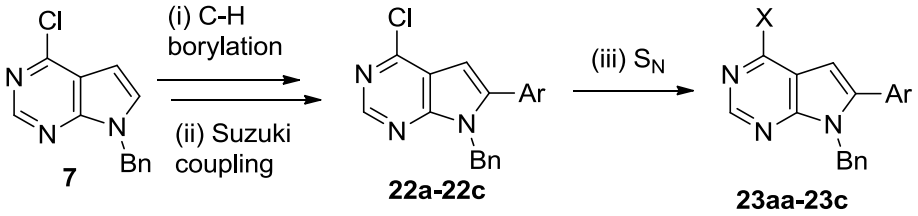
Table 2. Synthesis of 8-arylated deazapurines by C-H activation

Entry	Ar-X	Product	Route I - coupling[a] (overal yield)[b]	Route II (yield)
1		**21a**	87%[a] (74%)[b]	39%
2		**21b**	90%[a] (76%)[b]	41%
3		**21c**	79%[a] (67%)[b]	35%
4		**21d**	95%[a] (81%)[b]	traces
5		**21e**	92%[a] (78 %)[b]	0%
6		**21f**	91%[a] (77%)[b]	0%
7		**21g**	92%[a,c] (78%)[b,c]	0%

[a] cross coupling; [b] overal yield after two steps (C-H borylation and cross coupling); [c] overall yield after acidic deprotection to free uracil **21h**[18]

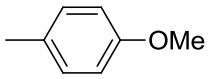
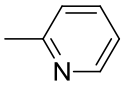
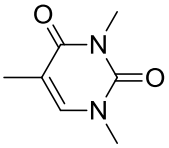
3.1.1.2 Two-step synthesis of 6,8-disubstituted 7-deazapurines – scope and limitations

I was also interested in synthesis of 8-aryl-7-deazaadenines. As the direct C-H activations of 7-deazaadenine **5** were unsuccessful, I have envisaged the use of 6-chloro derivative that can be readily transformed to 6-amino compounds (Table 3). The two-step arylation (C-H borylation followed by the Suzuki coupling) of 9-benzyl-6-chloro-7-deazapurine **7** with three different aryl iodides proceeded with acceptable 31-42% overall yields (the yield of the first step was the moderate 54% as mentioned above). The follow-up aminations of the 6-chloro-7-deazapurines **22a-22c** with methanolic ammonia gave the 8-aryl-7-deazaadenines **23aa**, **23b** and **23c** in very good yields (Table 3). Other nucleophilic substitutions were also pursued with 6-chloro-7-deazapurine **22a**. Its reactions with aniline, benzylamine, as well as with sodium phenolate gave the corresponding 6-N- or 6-O-substituted products **23ab**, **23ac** and **23ad**, respectively.

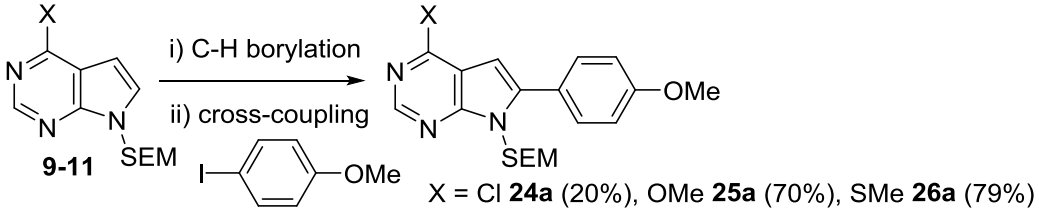


Scheme 6. Reagents and conditions: B_2pin_2 (1.2 equiv.), $[Ir(COD)OMe]_2$ (5%), dtbpy (10%), THF, 80°C, 20 h; ii) Ar-I (1.1 equiv.), $Pd(dppf)Cl_2$ (5%), K_2CO_3 (4 equiv.), DMF, 90°C, 1 h.; (iii) a) NH_3/MeOH, 120 °C, overnight b,c) R-NH_2 (3 equiv.), butanol, reflux, overnight d) phenol (1.2 equiv.), KO*t*-Bu (1.2 equiv.), K_2CO_3 (0.75 equiv.), DMF, 110 °C, 16 h.

Table 3. Two-step synthesis of 6,8-disubstituted 7-deazapurines

Entry	Ar	Product (yield)	X	Product (yield)
1		**22a** (42%)	NH_2	**23aa** (83%)
2			NH-Ph	**23ab** (65%)
3			NH-Bn	**23ac** (77%)
4			O-Ph	**23ad** (93%)
5		**22b** (31%)	NH_2	**23b** (85%)
6		**22c** (36%)	NH_2	**23c** (79%)

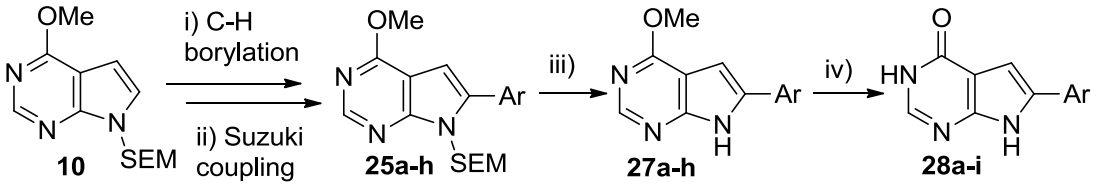
Having confirmed the reactivity of the SEM-protected deazapurines **9-11** in C-H borylations (Table 1, entries 8-10), I have further explored synthetic applicability of one-pot reaction sequence: C-H borylation/Suzuki cross-coupling with 4-iodoanisole. Whereas the borylation/Suzuki reaction of 9-benzyl-6-chloro-7-deazapurine **7** procedeed in moderate 42 % yield, the borylation/Suzuki reaction of 6-chlorodeazapurine **9** gave only low yield (20%) of the desired 8-aryl derivative **24a** because the Suzuki cross-coupling step was accompanied by competitive deborylation back to starting compound **9**. Therefore, I focused on the one-pot borylation/arylation of 6-methoxy and 6-MeS derivatives **10** and **11**. These reactions proceeded smoothly and efficiently to give the desired SEM-protected 8-arylated 7-deazapurines **25a** (70%) and **26a** (79%).



Scheme 7. Reagents and conditions: i) B_2pin_2 (1.2 equiv.), $[Ir(COD)OMe]_2$ (5%), dtbpy (10%), THF, 80°C, 20 h; ii) Ar-I (1.1 equiv.), $Pd(dppf)Cl_2$ (5%; 10% in case of **26a**), K_2CO_3 (4 equiv.), DMF, 90°C, 1 h.

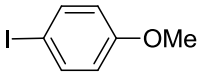
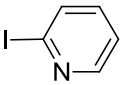
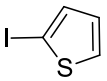
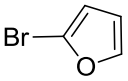
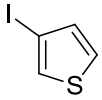
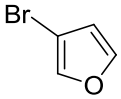
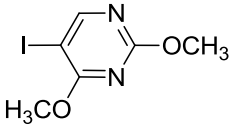
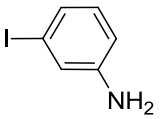
3.1.1.3 Synthesis of 8-aryl 7-deazahypoxantines

Encouraged by these successful reactions, I envisaged the use of the one-pot borylation/arylation of 6-methoxy-7-deazapurine **9** in combination with *O*-demethylation and SEM-deprotection for the synthesis of 8-aryl-7-deazahypoxanthine bases. It was performed a series of one-pot borylation/Suzuki coupling of methoxydeazapurine **10** with several aryl iodides (Scheme 8, Table 4).



Scheme 8. Reagents and conditions: i) B_2pin_2 (1.2 equiv.), $[Ir(COD)OMe]_2$ (5%), dtbpy (10%), THF, 80°C, 20 h; ii) Ar-X (1.1 equiv.), $Pd(dppf)Cl_2$ (5%), K_2CO_3 (4 equiv.), DMF, 90°C, 1 h (or 18 h); iii) TFA (2 mL), rt, 1 h, followed by aq. ammonia (25% [w/w], rt, 18 h; iv) TMSCl (5 equiv.), NaI (5 equiv.), MeCN, 80°C, 18 h.

Table 4. Synthesis of 8-aryl-7-deazahypoxantines

Entry	Ar-X	Product **25** (yield)	Product **27** (yield)	Product **28** (yield)
1		**25a** (70%)	**27a** (90%)	**28a** (85%)
2		**25b** (50%)[b]	**27b** (85%)	**28b** (71%)
3		**25c** (65%)	**27c** (90%)	**28c** (90%)
4		**25d** (45%)[b]	**27d** (80%)	**28d** (92%)
5		**25e** (77%)	**27e** (90%)	**28e** (70%)
6		**25f** (58%)	**27f** (65%)	**28f** (80%)
7		**25g** (66%)[b]	------	**28i** (97%)[a]
8		**25h** (74%)	**27h** (22%)	**28h** (75%)

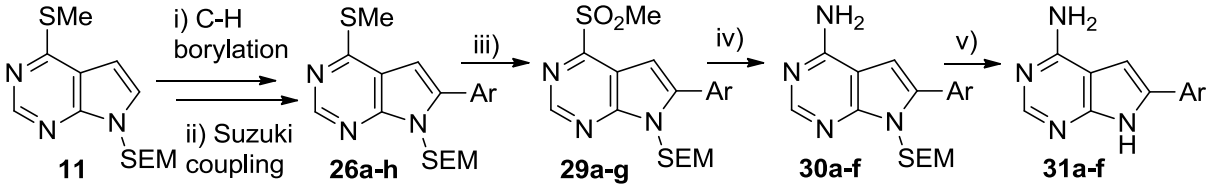
[a] Overall yield after acidic deprotection to **28i**; [b] reaction time 18 hours

Generally, the reactions proceeded very well to give the desired SEM-protected 8-(het)aryl-6-methoxy-7-deazapurines **25a–h** in high yields (Scheme 8, Table 4). Deprotection[19]

of the SEM group using trifluoroacetic acid (TFA) followed by aqueous ammonia furnished free 8-aryl-6-methoxy-7-deazapurine bases **27a-f** in good yields of 65–90 % (Scheme 8, Table 4). In the case of compound **25g**, the deprotection of SEM group was directly followed by the acid hydrolysis[18] to the free 8-(uracil-5-yl)-7-deazahypoxantine **28i**. The final cleavage of methyl ethers **27a-h** was performed with *in situ* generated iodotrimethylsilane (from TMSCl and NaI)[20] in acetonitrile to give 8-(het)aryl-7-deazahypoxantine **28a-h** in high yields.

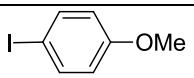
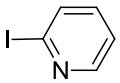
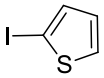
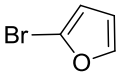
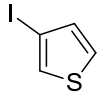
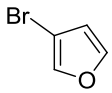
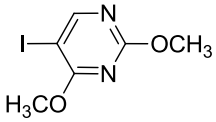
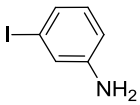
3.1.1.4 Synthesis of 8-aryl-7-deazaadenines

In synthesis of the corresponding 8-aryl-7-deazaadenines, I started by an analogous one-pot borylation/arylation of SEM-protected 6-MeS-7-deazapurine **11** with a series of aryl halides.



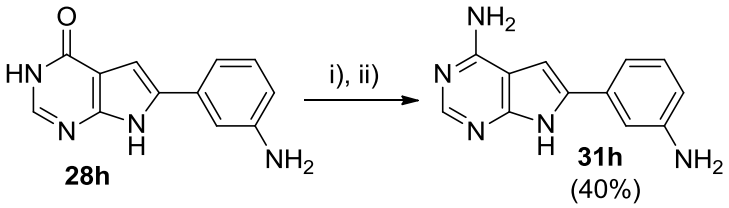
Scheme 9. Reagents and conditions: i) B_2pin_2 (1.2 equiv.), $[Ir(COD)OMe]_2$ (5%), dtbpy (10%), THF, 80°C, 20 h; ii) Ar-X (1.1 equiv.), $Pd(dppf)Cl_2$ (10%), K_2CO_3 (4 equiv.), DMF, 90°C, 1 h (or 18 h); iii) *m*CPBA (2 equiv.), CH_2Cl_2, r.t., 1 h; iv) aq. ammonia (25% [w/w]), dioxane, 50 °C, 18 h; v) TFA (2 mL), rt, 1 h, followed by aq. ammonia (25% [w/w], rt, 18 h.

Table 5. Synthesis of 8-aryl-7-deazaadenines

Entry	Ar-X	Product **26** (yield)	Product **29** (yield)	Product **30** (yield)	Product **31** (yield)
1		**26a** (79%)	**29a** (77%)	**30a** (83%)	**31a** (80%)
2		**26b** (64%)[b]	**29b** (65%)	**30b** (94%)	**31b** (74%)
3		**26c** (69%)	**29c** (89%)	**30c** (91%)	**31c** (74%)
4		**26d** (62%)	**29d** (76%)	**30d** (85%)	**31d** (79%)
5		**26e** (70%)[b]	**29e** (62%)	**30e** (84%)	**31e** (72%)
6		**26f** (50%)[b]	**29f** (62%)	**30f** (71%)	**31f** (65%)
7		**26g** (39%)[b]	**29g** (86%)	**30g** (93%)	**31i** (77%)[a]
8		**26h** (78%)	complex mixture	-------	--------

[a] Overall yield after acidic deprotection to **31i;** [b] 18 hours

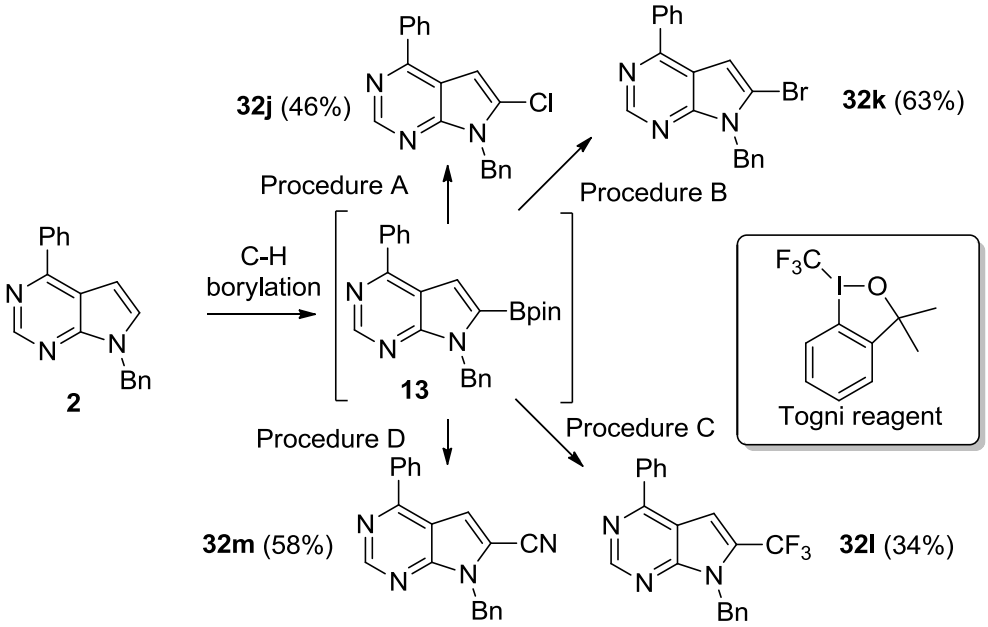
The reaction proceeded well as to give the desired 8-(het)aryl products **26a-h** in high yields (Scheme 9, Table 5). The second step was the oxidation[21] of methylsulfanyl derivatives **26a-h** methylsulfones **29a-g** (which are more reactive electrophiles for nucleophilic substitution). Deprotection of SEM group using trifluoroacetic acid (TFA) followed by aqueous ammonia furnished free 8-substituted 7-deazaadenines **31a-f** in 65–80 % yields. In the case of compound **30g**, the deprotection of SEM group was directly followed by the acid hydrolysis to the free 8-(uracil-5-yl)-7-deazaaadenine **31i**. As the above reaction sequence didn't work for preparation the 8-(3-aminophenyl)-7 deazaadenine **31h**, I used an alternative synthetic protocol to give the desired deazaadenine in 40% overall yield (Scheme 10).



Scheme 10. Reagents and conditions: i) $POCl_3$ (5 equiv.), $BnEt_3N^+Cl$ (2 equiv.), $PhNMe_2$ (1.1 equiv.), MeCN, reflux, 4 h; ii) aq. ammonia (25% [w/w]), dioxane, 120 °C, 18 h.

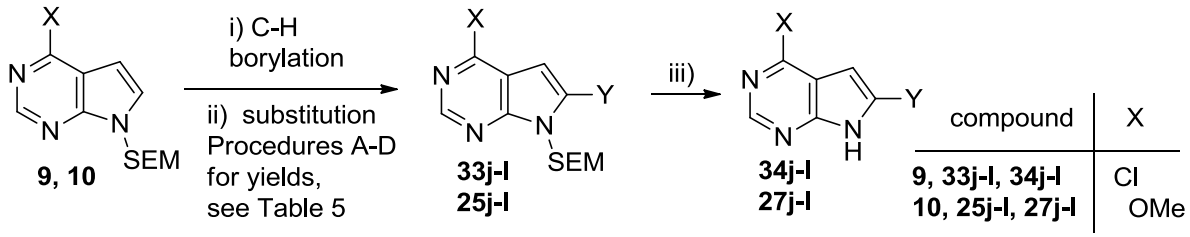
3.1.1.5 One-pot C–H borylation/Cu-catalyzed substitution

Having an easy access to 8-borylated 7-deazapurines, I also explored the possibility of their conversion to other functional groups.



Scheme 11. Reagents and conditions: A: $CuCl_2$ (3 equiv.), acetone/H_2O (1:1), 80°C, 3h; B: $CuBr_2$ (3 equiv.), acetone/H_2O (1:1), 80°C, 3h; C: Togni reagent (1.1 equiv.), CuTc (10%), 1,10-phenantroline (20%), $LiOH.H_2O$ (2 equiv.), CH_2Cl_2, 45°C, 18 h; D: $Cu(NO_3)_2$ (2 equiv.), $Zn(CN)_2$ (3 equiv.), CsF (1 equiv.), acetone/H_2O (2,5:1), 100°C, 2 h.

I tested the reactions of model 8-borylated 9-benzyl-deazapurine **13** generated in situ from **2** and directly functionalized by copper catalyzed substitutions (Scheme 11). Halogenation[22] of the boronate **13** with cupric halides formed 8-chlorodeazapurine **32j** (46%) or 8-bromo-derivative **32k** (63%). The boronate **13** was also converted to 8-trifluoromethyl derivative **32l** by treatment with the Togni reagent,[23] but the yield was only 34% due to competitive protodeborylation. Treatment of **13** with $Zn(CN)_2$ in presence of $Cu(NO_3)_2$ and CsF[24] gave the 8-cyano-derivative **32m** in 58%. This reaction sequence C-H borylation/Cu-catalyzed substitution was then applied on SEM-protected 6-chloro- and 6-methoxy-7-deazapurines **9** and **10**. The halogenations and trifluoromethylations proceeded in modest yields 32-56% to give the desired 8-substituted products **25j-l** and **33j-l** (Scheme 12, Table 6).



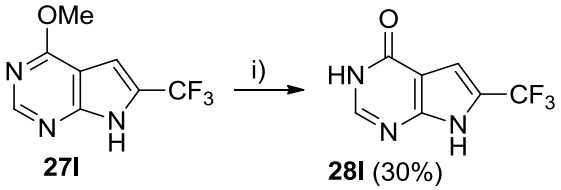
Scheme 12. Reagents and conditions: i) B_2pin_2 (1.2 equiv.), $[Ir(COD)OMe]_2$ (5%), dtbpy (10%), THF, 80°C, 20 h; ii) A: $CuCl_2$ (3 equiv.), acetone/H_2O (1:1), 80°C, 3h; B: $CuBr_2$ (3 equiv.), acetone/H_2O (1:1), 80°C, 3h; C: Togni reagent (1.1 equiv.), CuTc (10%), 1,10-phenantroline (20%), $LiOH.H_2O$ (2 equiv.), CH_2Cl_2, 45°C, 18 h; D: $Cu(NO_3)_2$ (2 equiv.), $Zn(CN)_2$ (3 equiv.), CsF (1 equiv.), acetone/H_2O (2,5:1), 100°C, 2 h; iii) TFA (2 mL), rt, 1 h, followed by aq. ammonia (25% [w/w], rt, 18 h; iv) TMSCl (5 equiv.), NaI (5 equiv.), MeCN, 80°C, 18 h.

Table 6. One-pot C–H borylation/Cu-catalyzed substitution of SEM-protected deazapurines followed by deprotection

Entry	Starting comp.	Procedure	X	Y	Product **33** or **25** (yield)	Product **34** or **27** (yield)
1	**9**	A	Cl	-Cl	**33j** (55%)	**34j** (66%)
2	**9**	B	Cl	-Br	**33k** (56%)	**34k** (75%)
3	**9**	C	Cl	$-CF_3$	**33l** (38%)	**34l** (73%)
4	**9**	D	Cl	-CN	no reaction	----------
5	**10**	A	OMe	-Cl	**25j** (47%)	**27j** (55%)
6	**10**	B	OMe	-Br	**25k** (34%)	**27k** (50%)
7	**10**	C	OMe	$-CF_3$	**25l** (32%)	**27l** (75%)
8	**10**	D	OMe	-CN	no reaction	----------

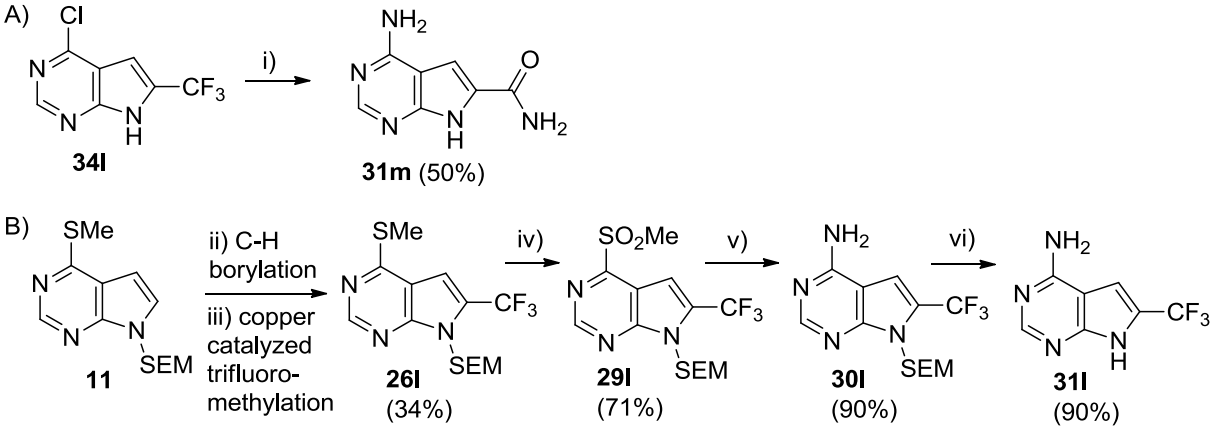
On the other hand, the cyanation did not proceed at all and only the recovery of starting materials was observed. Cleavage of SEM groups using trifluoroacetic acid (TFA) followed by aqueous ammonia furnished the corresponding free 8-substituted 7-deazapurine bases **27j-l** and **34j-l** (Scheme 12, Table 6).

The last goal was the preparation of 8-trifluoromethyl-7-deazahypoxanthine **28l** and 8-trifluoromethyl-7-deazaadenine **31l**. The former was easily prepared by cleavage of methyl ether **27l** with in situ generated iodotrimethylsilane (from TMSCl and NaI) in acetonitrile in low 30% yield (Scheme 13).



Scheme 13. Reagents and conditions: i) TMSCl (5 equiv.), NaI (5 equiv.), MeCN, 80°C, 18 h.

More difficult was the preparation of the corresponding 8-trifluoromethyl-7-deazaadenine **31l** (Scheme 14). In obvious way (amination of 6-chloro derivative **34l**) formation of unexpected amide **31m** was found. Therefore, I used a longer sequence based on borylation/trifluoromethylation of **11**, followed by oxidation, amination and final deprotection to give 8-trifluoromethyl-7-deazaadenine **31l**.



Scheme 14. Reagents and conditions: i) aq. ammonia (25% [w/w]), dioxane, 120 °C, 18 h; ii) B_2pin_2 (1.2 equiv.), $[Ir(COD)OMe]_2$ (5%), dtbpy (10%), THF, 80°C, 20 h; iii) Togni reagent (1.1 equiv.), CuTc (10%), 1,10-phenantroline (20%), $LiOH.H_2O$ (2 equiv.), CH_2Cl_2, 45°C, 18 h; iv) *m*CPBA (2 equiv.), CH_2Cl_2, r.t., 1h; v) aq. ammonia (25% [w/w]), dioxane, 50 °C, 18 h; vi) TFA (2 mL), r.t., 1 h, followed by aq. ammonia (25% [w/w], r.t., 18 h.

3.1.2 Biological activity screening 6,8-disubstituted 7-deazapurines

In vitro cytotoxic/cytostatic activity all final nucleobases **27a-27l, 28a-28l, 31a-31h, 34j-34l** was initially evaluated against seven cell lines derived from human solid tumors including lung (A549 cells) and colon (HCT116 and HCT116p53-/-) carcinomas, as well as leukemia cell lines (CCRF-CEM, CEM-DNR, K562 and K562-TAX) and, for

comparison, non-malignant BJ and MRC-5 fibroblasts. All cytostatic/cytotoxic activity screening were performed by our collaborators from the group of Dr. Hana Mertlikova-Kaiserova and from the group of prof. Hajdúch.

Selected results are summarized in Table 7. Surprisingly, most of the 8-substituted-7-deazahypoxantines **28a-28l** were entirely inactive in these assays with the exception of 8-(3-thienyl)-7-deazahypoxantine **28e** showing moderate cytotoxic activities at > 20 μM concentrations. On the other hand, the 6-methoxy-7-deazapurine and 7-deazaadenine bases bearing diverse het(aryl) substituents at the position 8 showed significant cytostatic effects at micromolar concentrations. The most active were 2-furyl-, 3-thienyl-, 3-aminophenyl-6-methoxy-7-deazapurines (**27d,e,h**) and 2-pyridyl-, 2-thienyl-, 3-thienyl-7-deazaadenine (**31b,c,e**) derivatives having IC_{50} values in low micromolar range. In addition to that these compounds (**27h, 31b, 31e**) were non-toxic to BJ and MRC-5 fibroblasts showing promising therapeutic index.

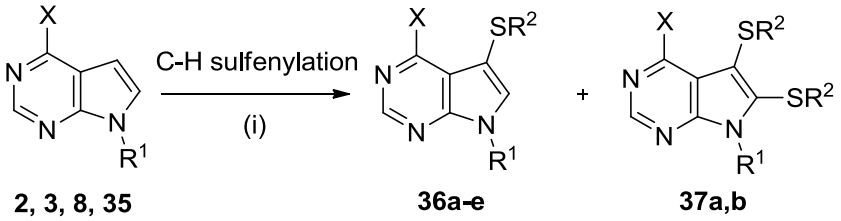
Table 7. Cytostatic activities of selected compounds

	IC_{50} (μM)											
	A549	CCRF-CEM	CEM-DNR	HCT116	HCT116p53--	K562	K562-TAX	HepG2	HL60	HeLa S3	BJ	MRC-5
27c	44.62	>50	45.73	25.2	37.38	9.1	27.56	>10	>10	>10	>50	46.07
27d	42.13	>50	49.28	32.66	48.5	8.07	37	>10	>10	>10	>50	45.02
27e	11.97	24.62	19.68	13.29	12.73	6.33	11.33	>10	>10	>10	46.55	20.97
27f	36.84	44.1	29.71	18.66	35.53	25.48	19.39	>10	>10	>10	>50	36.05
27h	33.12	30	9.05	21.61	22.26	7.15	18.56	>10	>10	>10	>50	>50
28e	>50	>50	>50	>50	>50	21.64	>50	>10	>10	>10	>50	>50
31a	>50	>50	17.47	>50	>50	12.6	13.5	>10	>10	>10	>50	27.8
31b	>50	>50	32.93	>50	>50	25.47	8.86	>10	>10	>10	>50	>50
31c	>50	18.91	10.9	25.28	32.83	0.26	7.36	>10	>10	>10	>50	29.87
31d	>50	>50	25.16	>50	>50	28.92	17.11	>10	>10	>10	>50	>50
31e	>50	44.02	9.29	>50	>50	8.74	5.56	>10	>10	>10	>50	>50
31f	>50	27.04	>50	>50	>50	36.97	17.92	>10	>10	>10	>50	>50
31h	>50	>50	31.11	>50	>50	39.28	15.25	>10	>10	>10	>50	>50
34l	>50	18.81	>50	>50	>50	>50	>50	>10	>10	>10	>50	>50

3.2 C-H sulfenylation of purines and deazapurines

3.2.1 Direct C-H sulfenylation of 7-deazapurines

I have started by testing several literature catalytic systems and conditions for direct C–H sulfenylation[25]on the model starting compound 6-phenyl-7-deazapurine (**3**). The most efficient was the reaction of **3** with disulphides in the presence of copper(I) catalyst (by analogy to the literature[25d]) giving the desired 7-substituted product **36a** in excellent yield (96%, Table 8, entry 1). These optimised conditions were then used for the synthesis of three other examples, 7-alkyl- or -arylsulfanyl derivatives in high yields (**36b** and **36c**, 71% and 91%, respectively, entries 2, 3) or moderate yield (36d, 47%, entry 4). Also the reaction of 7-deazaadenine (**35**) proceeded under the same conditions to give 7-(phenylsulfanyl)-7-deazaadenine (**36e**) in good yield (79%, entry 5). In case of 6-chloro-7-deazapurine **8**, the C–H sulfenylation proceeded well to give the desired product **44a** in high (90%) yield (entry 6) without any trace of nucleophilic substitution at position 6. The reaction with 9-benzylated 6-phenyl-7-deazapurine **2** gives the 7-substituted product **53a** in poor yield (20%, entry 7) due to low conversion. Apparently, the free NH at position 7 is crucial for the efficiency of this reaction. (Scheme 16).



44a (X = Cl, R^1 = H, R^2 = Ph)
53a (X = Ph, R^1 = Bn, R^2 = Ph)

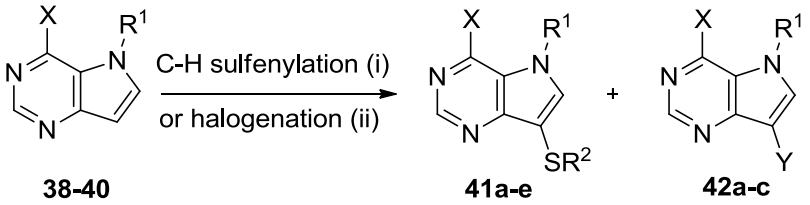
Scheme 16. Reagents and conditions: i) R^2S-SR^2 (0.75 equiv.), CuI (10%), air, DMF, 110 °C, 18-60 h.

Table 8. Direct C-H Sulfenylation of 7-Deazapurines

Entry	starting compound	R^1	X	R^2	Product (yield)
1	**3**	H	Ph-	Ph-	**36a** (96%) + **37a** (3%)
2[a]	**3**	H	Ph-	Me-	**36b** (71%) + **37b** (15%)
3	**3**	H	Ph-	4-MeO-Ph-	**36c** (91%)
4	**3**	H	Ph-	4-NO_2-Ph-	**36d** (47%)
5	**35**	H	NH_2-	Ph-	**36e** (79%)
6[a]	**8**	H	Cl-	Ph-	**44a** (90%)
7[b]	**2**	Bn	Ph-	Ph-	**53a** (20%)[b]

[a]5 equiv of R^2S-SR^2; [b]2.5 equiv of R^2S-SR^2 and recovery of starting compound (71%).

3.2.2 Direct C-H sulfenylation of 9-deazapurines



38-40 **41a-e** **42a-c**

Scheme 17. Reagents and conditions: i) R^2S-SR^2 (1.5 equiv.), CuI (10%), air, bpy or dtbpy (0.2 equiv.), DMF, 110 °C, 48-90 h; ii) CuI or $CuBr_2$ (1.1 equiv.), air, DMF, 110 °C, 18 h.

The same C–H sulfenylation protocol was then tested on 9-deazapurines (*5H*-pyrrolo[3,2 *d*]pyrimidines, Scheme 17). However, in this case a competitive iodination of the heterocycle by CuI occurred (Table 9, entry 1). The halogenation was suppressed by complexation of the copper catalyst by a 2,2′-dipyridine (bpy) ligand. The reaction of 6-phenyl-9-deazapurine (**38**) with diphenyl disulfide in the presence of CuI + bpy (entry 2) gave quantitatively the desired 9-phenylsulfanyl derivative **41a**. The reaction with other disulfides allowed me to synthesize the target 9-alkyl- or -arylsulfanyl derivatives in moderate (**41b** and **41d**, 30% and 50%, respectively, entries 3, 5) or high yields (**41c**, 85%, entry 4). The reaction with 9-benzyl-6-phenyl-9-deazapurine (**39**) did not proceed at all (entry 6). The C–H sulfenylation of 6-chloro-9-deazapurine (**40**) under standard conditions gave a complex mixture of products (TLC, entry 7). Therefore, I tried the reaction in the presence of a more bulky and electron-rich ligand dtbpy to give the desired product **41e** in good 90% yield (entry 8).

Table 9. Direct C-H Sulfenylation of 9-Deazapurines

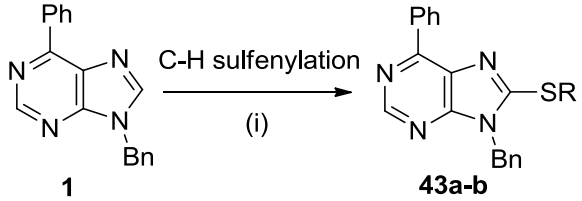
Entry	Starting compound	Ligand	R^1	X	R^2 (or Y)	Product (yield)
1	**38**	-	H	Ph	Ph	**41a** (14%) + **42a** (9%)
2	**38**	bpy	H	Ph	Ph	**41a** (98%)
3	**38**	bpy	H	Ph	Me	**41b** (30%)[a]
4	**38**	bpy	H	Ph	4-MeO-Ph	**41c** (85%)
5	**38**	bpy	H	Ph	4-NO_2-Ph	**41d** (50%)
6	**39**	bpy	Bn	Ph	Ph	No reaction
7	**40**	bpy	H	Cl	Ph	Complex mixture
8[b]	**40**	dtbpy	H	Cl	Ph	**41e** (90%)
9	**38**	dtbpy	H	Ph	Ph	**41a** (98%)
10	**38**	dtbpy	H	Ph	Me	**41b** (25%)
11	**38**	dtbpy	H	Ph	4-MeO-Ph	**41c** (41%)
12	**38**	dtbpy	H	Ph	4-NO_2-Ph	No reaction
13[c]	**38**	-	H	Ph	Y = I	**42a** (81%)
14[c]	**38**	-	H	Ph	Y = Br	**42b** (75%)
15[c]	**40**	-	H	Cl	Y = I	**42c** (65%)

[a] Recovery of starting compound (40%). [b] 7 equiv. of R^2S-SR^2. [c] Conditions ii) applied.

The dtbpy ligand was then also tested in the reactions of **38** with diverse disulfides. The phenylsulfenylation proceeded with quantitative conversion (as with bpy) but in the case of other disulfides, the yields of products were lower than with bpy (entries 10–12). Therefore, the dtbpy ligand was only practical for the reaction of 6-chloro derivative **40**. On the other hand, using a stoichiometric amount of CuI or $CuBr_2$ in the absence of bpy led to the formation of 9-halogenated products **42a-c** in high yields (entries 13-15). The same reaction with CuCl or $CuCl_2$ proceeded as well but only in poor yield.

3.2.3 Direct C-H sulfenylation of purines

Later on, my further efforts focused on the direct C–H sulfenylation of purines. Unfortunately, employing the same catalytic systems as above, no sulfenylation was observed. Using an alternative protocol based on a Lewis acid activation,[9f] the reaction proceeded to give 8-(phenylsulfanyl)purine **43a** in moderate ~40% yield. Finally, the sulfenylation in the presence of *t*BuOLi[9e] in dioxane at 130 °C for 120 h gave the desired product **43a** in acceptable 60% yield (Scheme 18, Table 10, entry 1). An analogous reaction with electron-rich bis-(methoxyphenyl)disulphide proceeded well to give **43b** in 56% (entry 2), whereas the reaction with electron-poor bis(nitrophenyl)disulfide did not work.



1 **43a-b**

Scheme 18. Reagents and conditions: RS-SR (2.5 equiv), *t*BuOLi (3 equiv), 1,4-dioxane, 130 °C, 120 h.

Table 10. Direct C-H Sulfenylations of Purine **1**

Entry	X	R	Product (yield)
1	Ph-	Ph-	**43a** (60 %)
2	Ph-	4-MeO-Ph-	**43b** (56 %)
3	Ph-	4-NO_2-Ph-	no reaction

3.2.4 Application of C-H sulfenylation in synthesis of substituted 7-deazapurine bases and ribonucleosides

Recently, in our group has been discovered new types nucleoside cytostatics: 6-hetaryl-7-deazapurine,[26] 7-hetaryl-7-deazaadenine[27] and 6-substituted 7-hetaryl-7-deazapurine[28] ribonucleosides and they all showed cytostatic effect at nanomolar concentrations. In all three series, the most active were derivatives bearing thiophene or furan (Figure 2).

Recentely reported C-H sulfenylation of 7-deazapurines gave me access to 7-arylsulfanyl-7-deazapurine bases,[29] which can be considered extended thia-analogues of 7-aryl-7-deazapurines that are components of the above mentioned nucleoside cytostatics.[27,28] Therefore, I decided to prepare a series of 7-phenylsulfanyl- and 7-(2-thienyl)sulfanyl-7-deazapurine 7-deazapurine bases and ribonucleosides for screening of their anticancer activity.

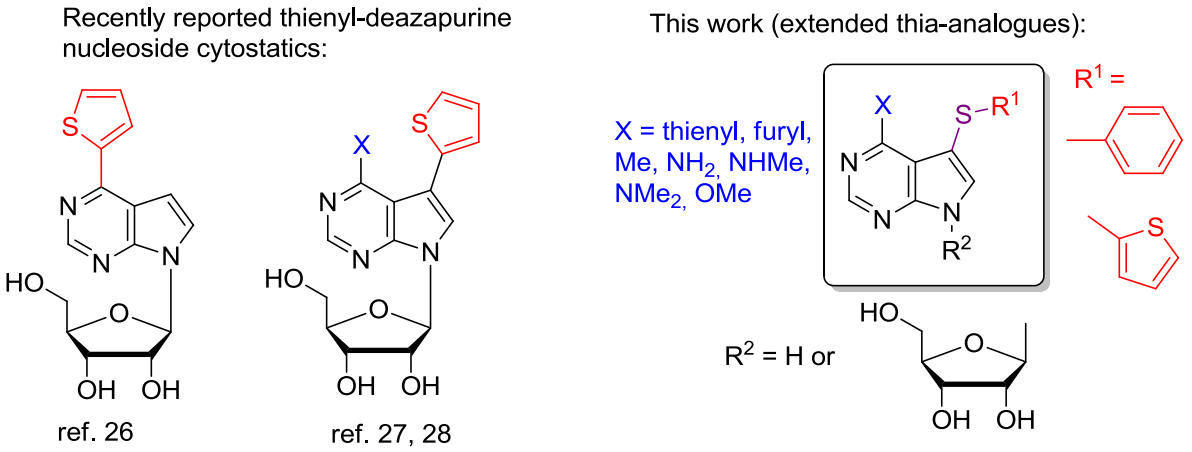
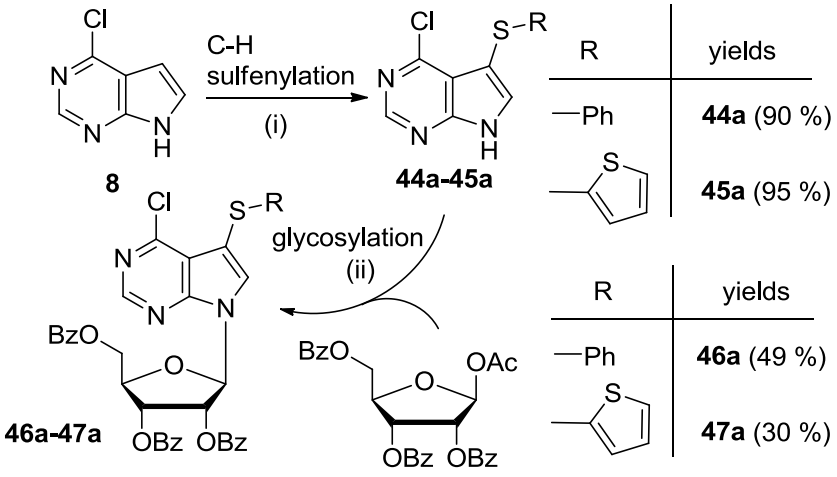


Figure 2. Previously reported nucleoside cytostatics and the design of their thia-analogues

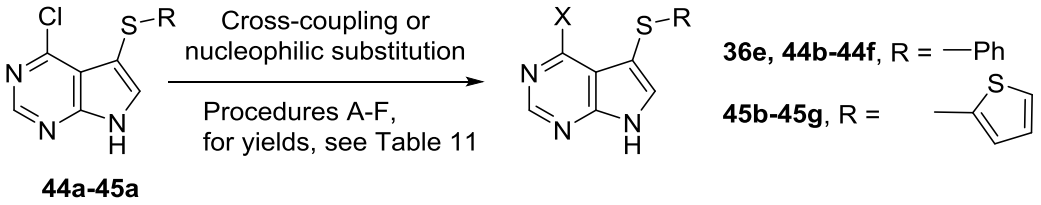
3.2.4.1 Synthesis of 7-arylsulfanyl-7-deazapurine bases

The synthetic approach to target 7-arylsulfanyl-7-deazapurines was based on recently developed direct C-H sulfenylation of 6-chloro-7-deazapurine (**8**) catalysed by CuI and dtbpy under oxygen atmosphere. This modified procedure (oxygen atmosphere and dtbpy) gave better results than previously published methods developed for related heterocycles.[29]



Scheme 19. Reagents and conditions: i) RS-SR (1 equiv.), CuI (10%), dtbpy (20%), O_2, DMF, 110°C, 18h. ii) 1. BSA (1 or 2 equiv.) , MeCN, 15 min, rt, 2. TMSOTf (2 equiv.), sugar (1 equiv.), 80 °C, 6 h.

By the reaction with diphenyldisulfide and bis(2-thienyl)disulfide, two modified 7-(het)arylsulfanyl-7-deazapurines **44a** and **45a** were synthesized in excellent yield 90 % or 95% (Scheme 19). After one-pot silylation by N,O-bis(trimethylsilyl)acetamide (BSA) of **44a** followed by glycosylation using commercially available 1-O-acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranose, in analogy to the modified Vorbrüggen procedure,[30] the desired protected 7-sulfanyl-7-deazapurine ribonucleoside intermediates **46a and 47a** were obtained in moderate yield 49% or 30% (Scheme 19). In order to synthesize a series of target 6-substituted 7-deazapurine nucleobase analogues, 6-chlorodeazapurine intermediates **44a** and **45a** were modified at the position 6. The first goal was to introduce thiophene and furan substituents (previously reported[26] in cytostatic nucleosides). Since attempted Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions with the corresponding thienyl- or furylboronic acids gave very low conversions (<10%), I further focused on the Stille coupling. Thus the Stille reactions of **44a** or **45a** with thienyl- or furyl(tributyl)stannanes under standard conditions in presence of $PdCl_2(PPh_3)_2$ in DMF proceeded smoothly to give desired 6-hetaryl derivatives **44b-44c** and **45b-45c** in good yields (57–87%) (Scheme 20, Table 11, entries 1,2,7,8).



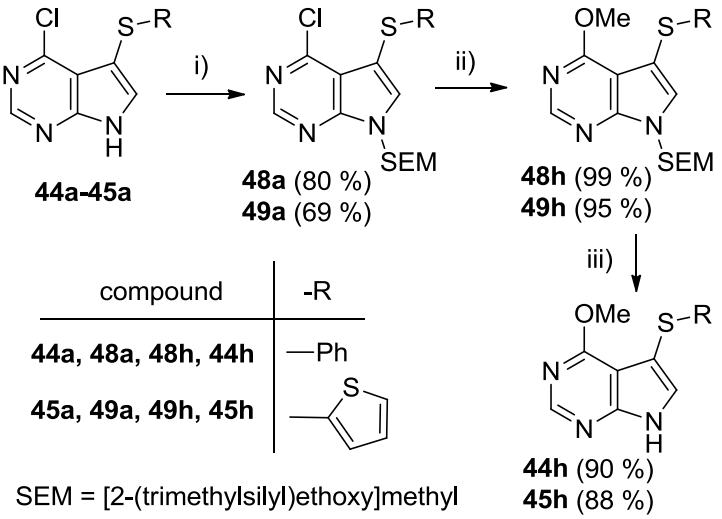
44a-45a

Scheme 20. Reagents and conditions, A: 2-thienylSnBu$_3$ (1.2 equiv.), $PdCl_2(PPh_3)_2$ (5%), DMF, 100°C, 18 h; B: 2-furylSnBu$_3$ (1.2 equiv.), $PdCl_2(PPh_3)_2$ (5%), DMF, 100°C, 18 h; C: Me_3Al (3 equiv.), $Pd(PPh_3)_4$ (5%), THF, 70°C, 12 h; D: Me_2NH in THF (3 equiv.), propan-2-ol, 70°C, 24 h; E: aq. methylamine (40% [w/w]), dioxane, 120 °C, 18 h; F: aq. ammonia (25% [w/w]), dioxane, 120 °C, 18 h.

Table 11. Yields of the transformations of 7-deazapurine bases

Entry	Proced.	Reagent	X-	R-	Product (yield %)
1	A	2-thienylSnBu$_3$	2-thienyl-	Ph-	**44b** (80%)
2	B	2-furylSnBu$_3$	2-furyl-	Ph-	**44c** (87%)
3	C	Me_3Al	Me-	Ph-	**44d** (73%)
4	D	Me_2NH	Me_2N-	Ph-	**44e** (84%)
5	E	$MeNH_2$	MeNH-	Ph-	**44f** (83%)
6	F	NH_3	NH_2-	Ph-	**36e** (85%)
7	A	2-thienylSnBu$_3$	2-thienyl-	2-thienyl-	**45b** (57%)
8	B	2-furylSnBu$_3$	2-furyl-	2-thienyl-	**45c** (72%)
9	C	Me_3Al	Me-	2-thienyl-	**45d** (66%)
10	D	Me_2NH	Me_2N-	2-thienyl-	**45e** (63%)
11	E	$MeNH_2$	MeNH-	2-thienyl-	**45f** (58%)
12	F	NH_3	NH_2-	2-thienyl-	**45g** (85%)

Methyl group was introduced through Pd-catalysed cross-coupling of **44a** or **45a** with Me_3Al to give **44d**, **45d** in good yields (entries 3,9). Finally, dimetylamino, methylamino and amino groups were introduced through aromatic nucleophilic substitution of 6-chloro-derivatives **44a** or **45a** with amines or ammonia to give **36e**, **44e-44f** and **45e-45g** in good yields (58-85%, entries 4-6,10-12).



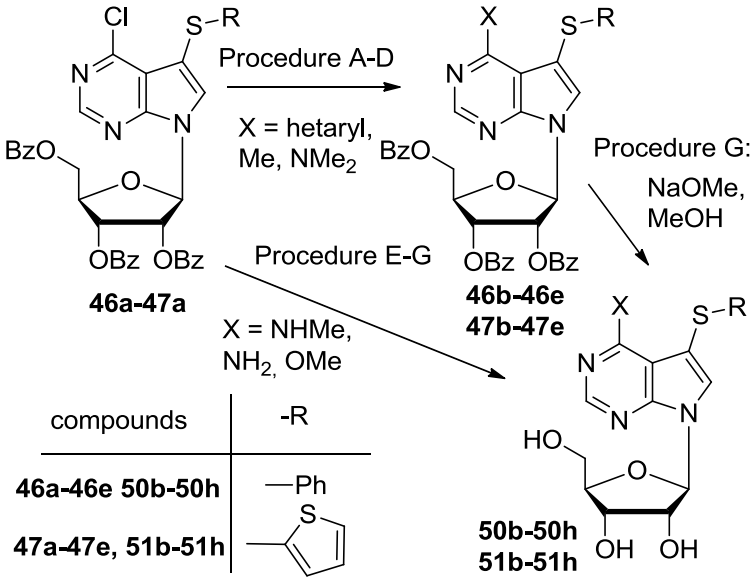
Scheme 21. Reagents and conditions: i) NaH (60 wt%, 1.1 equiv.), SEM-Cl (1.1 equiv.), DMF, 0°C to rt, 30 min.; ii) 1 M MeONa in MeOH (2 equiv.), acetone, rt., 18 h; iii) 1.CF_3COOH, rt, 18h, 2. aq. ammonia (25% [w/w]), rt, 18 h.

On the other hand, direct methoxylation of **44a-45a** by reaction with NaOMe in MeOHwas not successful. Therefore, I firstly protected the NH at position 9 by SEM group and then the methoxylation of **48a** or **49a** by MeONa proceeded quantitatively to give intermediates **48h** and **49h**. Final cleavage of the SEM groups by TFA afforded the desired 6-methoxy-7-deazapurines **44h** and **45h** in high yields (Scheme 21).

3.2.4.2 Synthesis of 7-arylsulfanyl-7-deazapurine ribonucleosides

The target nucleoside analogues were prepared by analogous modifications of 6-chloro-7-(het)aryl-7-deazapurine nucleoside intermediates **46a** and **47a** (Scheme 22, Table 12). The Stille coupling reactions with thienyl- or furylstannanes gave the corresponding benzoylated 6-hetaryl-7-deazapurine nucleosides **46b,c** and **47b,c**, whereas the couplings with trimethylaluminum afforded 6-methyl derivatives **46d** and **46d**. The reactions with trimethylamine furnished 6-(dimethylamino)-7-deazapurine nucleosides **46e** and **47e**. Final Zemplén deprotection using sodium methoxide in methanol furnished free 6,7-disubstituted nucleosides **50b-50e** and **51b-51e** in 59–87 % yields (Scheme 22, Table 12).

Nucleophilic substitutions of protected nucleoside intermediates **46a** or **47a** with methylamine, ammonia or NaOMe proceeded with concomitant de-benzoylation to give directly unprotected 6-methylamino-, 6-amino or 6-methoxy-7-(het)arylsulfanyl-7-deazapurine ribonucleosides **50f**-**50h** and **51f**-**51h** in good yields.



Scheme 22. Reagents and conditions, A: 2-thienylSnBu$_3$ (1.2 equiv.), PdCl$_2$(PPh$_3$)$_2$ (5%), DMF, 100°C, 18 h; B: 2-furylSnBu$_3$ (1.2 equiv.), PdCl$_2$(PPh$_3$)$_2$ (5%), DMF, 100°C, 18 h; C: Me$_3$Al (3 equiv.), Pd(PPh$_3$)$_4$ (5%), THF, 70°C, 12h; D: Me$_2$NH in THF (3 equiv.), propan-2-ol, 70°C, 24 h; E: aq. methylamine (40% [w/w]), dioxane, 120 °C, 18 h; F: aq. ammonia (25% [w/w]), dioxane, 120 °C, 18 h; G: 1 M MeONa in MeOH (1.5 equiv.), MeOH, rt., 18 h.

Table 12. Yields of the transformations of 7-deazapurine nucleosides

Proced	Reagent	X-	R-	Product (yield %)	Deprotect product (yield %)
A	thienylSnBu$_3$	2-thienyl-	Ph-	**46b** (72%)	**50b** (75%)
B	furylSnBu$_3$	2-furyl-	Ph-	**46c** (92%)	**50c** (78%)
C	Me$_3$Al	Me-	Ph-	**46d** (55%)	**50d** (87%)
D	Me$_2$NH	Me$_2$N-	Ph-	**46e** (88%)	**50e** (87%)
E	MeNH$_2$	MeNH-	Ph-	-	**50f** (90%)
F	NH$_3$	NH$_2$-	Ph-	-	**50g** (86%)
G	NaOMe	MeO-	Ph-	-	**50h** (75%)
A	thienylSnBu$_3$	2-thienyl-	2-thienyl-	**47b** (78%)	**51b** (59%)
B	furylSnBu$_3$	2-furyl-	2-thienyl-	**47c** (41%)	**51c** (57%)
C	Me$_3$Al	Me-	2-thienyl-	**47d** (67%)	**51d** (64%)
D	Me$_2$NH	Me$_2$N-	2-thienyl-	**47e** (88%)	**51e** (65%)
E	MeNH$_2$	MeNH-	2-thienyl-	-	**51f** (75%)
F	NH$_3$	NH$_2$-	2-thienyl-	-	**51g** (70%)
G	NaOMe	MeO-	2-thienyl-	-	**51h** (77%)

3.2.5 Biological activity screening

In vitro cytotoxic/cytostatic activity all final nucleobases **44b-44h** and **45b-45h**, as well as nucleosides **50b-50h** and **51b-51h**, was initially evaluated against seven cell lines derived from human solid tumors including lung (A549 cells) and colon (HCT116 and HCT116p53-/-) carcinomas, as well as leukemia cell lines (CCRF-CEM, CEM-DNR, K562 and K562-TAX) and, for comparison, non-malignant BJ and MRC-5 fibroblasts.

All cytostatic/cytotoxic activity screening and antiviral screening were performed by our collaborators from Gilead Sciences, from the group of Dr. Hana Mertlikova-Kaiserova and from the group of prof. Hajdúch.

Table 19. Cytostatic activities of selected compounds

	IC_{50} (μM)											
	A549	CCRF-CEM	CEM-DNR	HCT116	HCT116p53--	K562	K562-TAX	HepG2	HL60	HeLa S3	BJ	MRC-5
45b	16.19	10.55	17.67	13.03	5.06	5.14	21.664	>25	21.1	>25	23.38	54.48
45c	11.43	7.73	20.83	6.75	19.53	4.26	18.90	>25	7.63	8.49	22.06	32.87
45d	> 50	> 50	> 50	38.12	29.10	13.99	> 50	>25	>25	>25	> 150	135.50
45e	19.80	14.63	35.25	11.01	27.54	3.83	22.14	>25	>25	>25	144.56	> 150
45f	28.58	14.72	26.15	18.98	45.30	4.95	21.00	>25	13.5	17.6	132.24	148.21
45g	22.82	16.68	20.34	22.79	> 50	17.88	17.92	>25	13.9	17.9	> 150	135.71
45h	21.47	18.23	> 50	17.15	> 50	> 50	43.95	>25	>25	23.9	122.60	148.13
50g	22.91	33.96	> 50	20.80	22.41	23.09	29.62	>25	>25	>25	67.88	67.70
51g	43.76	64.66	> 100	36.72	23.18	23.43	55.77	>25	>25	>25	93.59	138.24

Selected results are summarized in Table 19. Surprisingly, most of the nucleosides **50** and **51** were entirely inactive in these assays with the exception of 6-amino-7-deazapurine nucleosides **50g** and **51g** showing moderate cytotoxic activities at > 20 μM concentrations. Also none of the 7-(phenylsulfanyl)-7-deazapurine bases **44b-44h** exerted any significant cytostatic activity. On the other hand, all the 7-(2-thienylsulfanyl)-7-deazapurine bases bearing diverse substituents at the position 6 showed significant cytostatic effects at micromolar concentrations. The most active were 6-hetaryl- (**45b,c**) and 6-methylamino and –dimethylamino (**45e,f**) derivatives having IC_{50} values in low micromolar range. Compounds **45e,f** were non-toxic to BJ and MRC-5 fibroblasts showing promising therapeutic index.

Since the nucleosides **50** and **51** were inactive with the exception of moderately active adenosine analogues **50g** and **51g** (thia-analogues of cytostatic 7-aryl-7-deazaadenosines[27]), it can be concluded that replacement of the (het)aryl group at position

7 by extended (het)arylsulfanyl group is not tolerated by the biological target(s) of the previously developed nucleoside cytostatics.[26-28] Further studies will be necessary to explain the significant cytostatic effect of the 7-(thienylsulfanyl)-7-deazapurine bases which is apparently caused by a different mechanism (presumably by kinase inhibition).

In addition, all compounds were also tested on antiviral activity (HCV 1B and 2A replicon and RSV), antimicrobial activity (panel of gram-positive and gram-negative bacteria) and antifungal activity (several strains of *Candida* species) but did not show any significant activity in these assays.

4 Conclusions

The Ir-catalyzed C-H borylation of 7-deazapurines proceeded selectively in position 8. The follow-up Suzuki cross-coupling reactions can be efficiently used for introduction of aryl groups to position 8. This is the first efficent methodology for 8-arylation of important 7-deazapurines (so far the 8-substituted 7-deazapurines were prepared only by multistep heterocyclizations).[31] In contrast, the borylation of 9-deazapurines did not proceed regioselectively and two borylated products were formed. The C-H borylation of purines failed completely (probably due to the formation of a stable complex of purine with Ir catalyst at N7 or limited stability of the purine-8-boronate).

I used a general approach for the synthesis of biologically relevant 6,8-disubstituted 7-deazapurines (4,6-disubstituted *7H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines) based on a one-pot, two-step Ir-catalyzed C-H borylation of 9-substituted or SEM-protected followed by Pd-catalyzed Suzuki coupling with aryl halides. Manipulation of substituents at position 6, gave the desired 8-aryl-7-deazahypoxanthines, or -7-deazaadenines, respectively, after cleavage of the SEM protection group. The 8-pinacolboronate intermediates were also converted to 8-chloro-, 8-bromo and 8-trifluoromethyl-7-deazapurines by the Cu-catalyzed displacements. The approach gives easy access to an underexplored group of biologically relevant modified deazapurine bases which could be further N-alkylated or glycosylated to a variety of nucleoside and nucleotide analogues. While the 7-deazahypoxantine analogues were almost entirely inactive, most of the 8-subtituted 6-methoxy-7-deazapurine and 7-deazaadenines bases showed significant cytostatic activities.

The Cu-catalyzed C–H sulfenylation of 7- and 9-deazapurines proceeded very well and selectively at position 7 or 9, respectively, to give novel and interesting (arylsulfanyl)-

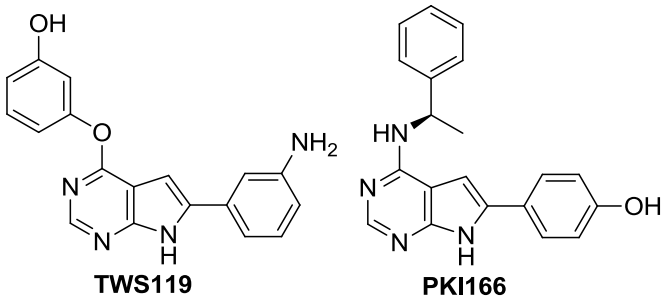
deazapurine derivatives. On the other hand, the C–H sulfenylation of purines was less efficient, and the conditions had to be changed. All these C–H sulfenylations can be performed with 6-chloro(deaza)purines, so I used this potential in combination with classical cross-couplings in the synthesis of libraries of new di- and trisubstituted 7-deazapurine derivatives combining aryl(alkyl)sulfanyl and aryl or amino substituents for biological activity screening. While the ribonucleoside analogues were almost entirely inactive, most of the 7-(thienylsulfanyl)-7-deazapurine bases showed significant cytostatic activities.

5 Úvod

Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidiny (7-deazapuriny)[1] jsou důležité carba-analogy biogenních purinových bází (pro přehlednost budu v celém textu používat "purinové" názvosloví a číslování). Deazapuriny nebyly ještě tak důkladně studovány jako puriny, vzhledem k obtížnější syntéze knihoven sloučenin. Nicméně, 7-deazapuriny již ukázaly celou řadu biologických aktivit: TWS119 (Obrázek 1) řídí diferenciaci nervových buněk u myší pomocí GSK-3b inhibice[2], PKI166 (Obrázek 1) a jemu příbuzné sloučeniny vykazují protinádorový účinnek inhibicí EGFR-tyrosin kinázy[3] nebo Bruton tyrosin kinázy.[4] Vzhledem k tomu, že je pro lékařské aplikace požadována vysoká specifičnost při inhibici kináz, je vývoj syntetických metod pro přípravu velkých sérií nebo knihoven deazapurinů velmi důležitým a atraktivním cílem.

Dosud známé metody pro syntézu substituovaných 7-deazapurinů jsou hlavně založeny na cross-coupling reakci a / nebo heterocyklizaci. Heterocyklizace[5] není vhodnou metodou pro syntézu větších sérií látek, protože typicky několik kroků je potřeba pro přípravu každé sloučeniny. A regioselektivní cross-coupling reakce[6] vyžadují, aby výchozí sloučeniny byly předem stechiometricky aktivovány, což zahrnuje instalaci a následné odstranění daných aktivačních činidel. Naproti tomu, C-H aktivace[7] v současné době přitahují velkou pozornost a jsou vyvíjeny ve srovnatelné techniky s cross-couplingy a umožňují efektivní a přímé funkcionalizace heterocyklů.

V posledních letech se přímé C-H borylace[8] a C-H sulfenylace[9] staly široce používanou metodou pro funkcionalizaci aromátů, protože jejich s pomocí snadno vznikají arylboronáty nebo arylsulfanyl deriváty. Před zahájením mého projektu, podle mého nejlepšího vědomí, nebyly známy žádné příklady přímé C-H borylace nebo C-H sulfenylace purinů a deazapurinů.



Obrázek 1. Příklady bilologicky aktivních 6,8-disubstituovaných 7-deazapurinů

6 Cíle práce

1. Vývoj přímé C-H borylace deazapurinů
2. Vývoj přímé C-H sulfenylace deazapurinů
3. Kombinace C-H aktivací s cross-coupling reakcemi, nukleofilními substitucemi pro přípravu knihoven di- a trisubstituovaných deazapurinů

7 Výsledky a diskuze

7.1 C-H Borylace purinů a deazapurinů

C-H borylace 9-benzyl-6-phenylpurinu **1** vůbec neprobíhala, pravděpodobně v důsledku tvorby stabilního N7 purin komplexu s Ir katalyzátorem nebo díky omezené stabilitě purinového-8-boronátu (většinou byla získána zpět jen výchozí sloučenina s malým množstvím vedlejších produktů).

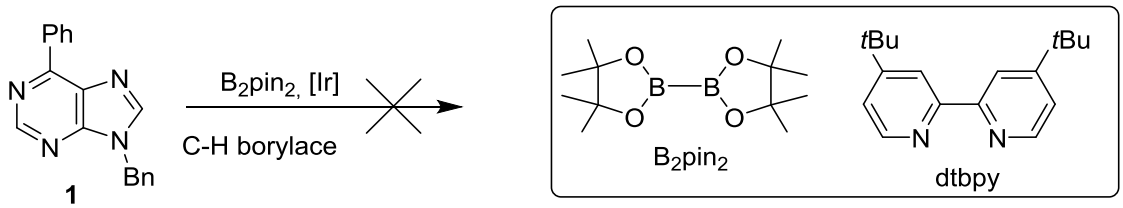


Schéma 1. Příma C–H borylace purinů

Proto bylo moje další úsilí zaměřeno na 7-deazapuriny (nemající koordinační místo N7) a modelovou výchozí sloučeninou byl zvolen 9-benzyl-6-fenyl-7-deazapurin (**2**, 7-benzyl-4-fenyl-*7H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin). S ohledem na rozpustnost výchozích sloučenin bylo vybráno THF. Reakcí **2** s bispinacolatodiboronem v přítomnosti dtbpy a [Ir (COD)(OMe)]$_2$ byl selektivně ve vysokém výtěžku získán 8-borylovaný produkt **13** (85%, tabulka 1, řádek 1). Regioselektivita probíhá v souladu s příklady známých z literatury popisující borylaci indolů[10]. Později jsem zjistil, že ani 9-nesubstituovaný 6-fenyl-7-deazapurin **3** ani nukleosid **4** nereagují za vzniku požadovaných boronátů. 6-Amino-9-benzyl-7-deazapurin (deazaadenin) **5**, jakožto i jeho N-(dimethylamino)methyliden-chráněný derivát **6** také neposkytl žádné produkty C-H borylace. 9-Benzyl-6-chlor-7-deazapurin **7** poskytuje požadovaný 8-borylaný produkt **14** v průměrném výtěžku 53%, zatímco 9-nechráněný 6-chlor-7-deazapurin **8** nereaguje. Zdá se, že Ir-katalyzovaná C-H borylation funguje pouze na 9-substituovaných 7-deazapurinech nesoucích funkční skupiny, které postrádají jakékoli kyselé protony a/nebo koordinující atomy dusíku. Na druhou stranu, nemám žádné logické vysvětlení pro

nereaktivitu nukleosidu **4**. Při syntéze 8-substituovaných deazaadeninů nebo deazahypoxantinů, je třeba zavést chránící skupinu do polohy 9 a v poloze 6 mít vhodnou funkční skupinu.

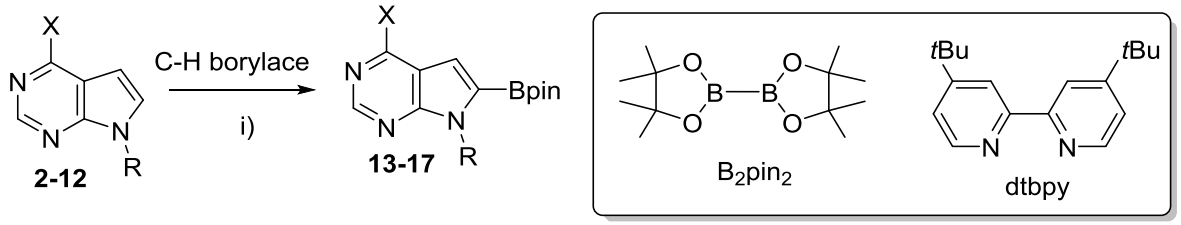


Schéma 2. Reagenty a podmínky: i) B_2pin_2 (1.2 equiv.), $[Ir(COD)OMe]_2$ (5%), dtbpy (10%), THF, 80°C, 20 h

Tabulka 1. C-H borylace 7-deazapurinů **2-12**

Řádek	Výchozí látky	X	R	Výtěžek (%)
1	**2**	Ph-	Bn	**13** (85%)
2	**3**	Ph-	H	Bez reakce
3	**4**	Me-	2,3,5-tri-*O*-acetyl-β-D-ribofuranosyl	Bez reakce
4	**5**	NH_2	Bn	Bez reakce
5	**6**	$(CH_3)_2NCH=N$-	Bn	Bez reakce
6	**7**	Cl	Bn	**14** (53%)
7	**8**	Cl	H	Bez reakce
8	**9**	Cl	SEM	**15** (78%)
9	**10**	OMe	SEM	**16** (81%)
10	**11**	SMe	SEM	**17** (83%)
11	**12**	SO_2Me	SEM	Bez reakce

Na základě svých předchozích zkušeností s obtížným odstraněním N-benzylové skupiny ze 7-deazapurinů jsem zvolil (trimethylsilyl) ethoxymethyl (SEM) skupinu, která je snadno odstranitelná TFA a následně amoniakem. V poloze 6 je možno jako reaktivní nebo odstupující skupinu zvolit Cl, OCH_3, SCH_3 a SO_2CH_3, které by měly být náchylné buď k nukleofilní substituci nebo demetylaci. Odpovídající 9-SEM-6-substituované deazapuriny **9-12** byly potom testovány v Ir-katalyzované C-H borylaci za stejných podmínek, jak je uvedeno výše (Tabulka 1, řádky 8-11). Zatímco 6-chlor, 6-methoxy-a 6-methylsulfanyl-SEM chráněné 7-deazapuriny reagují dobře za vzniku odpovídajících boronáty **15-17** v dobrých výtěžcích (78 až 83%), sulfon **12** za těchto podmínek nereaguje.

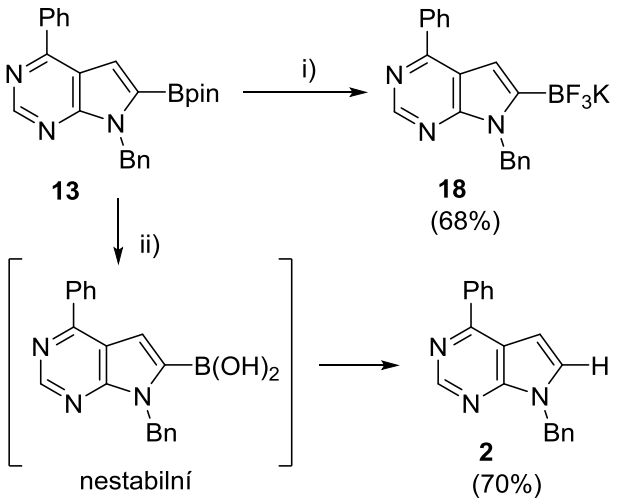


Schéma 3. Reagenty a podmínky: i) KHF_2 (6 equiv.), THF/H_2O (5:3), rt, 5 h; ii) $NaIO_4$ (4 equiv.), THF/H_2O (4:1), 1M HCl, rt, 1 h.

Také jsem dále prozkoumal možnou přeměnu boronátu **13** buď na boronovou kyselinu nebo na trifluoroboronát[11] (Schéma 3). Reakcí **13** s KHF_2 se za standardních podmínek[12] získá požadovaný trifluoroboronát **18** v přijatelném výtěžku 68%. Nicméně oxidací a následnou hydrolýzou[12] se získá pouze 8-nesubstituovaný deazapurin **2** jako produkt protodeborylace. To je indikátorem, že odpovídající boronová kyselina je příliš nestabilní na to, aby mohla být izolována za těchto reakčních podmínek.

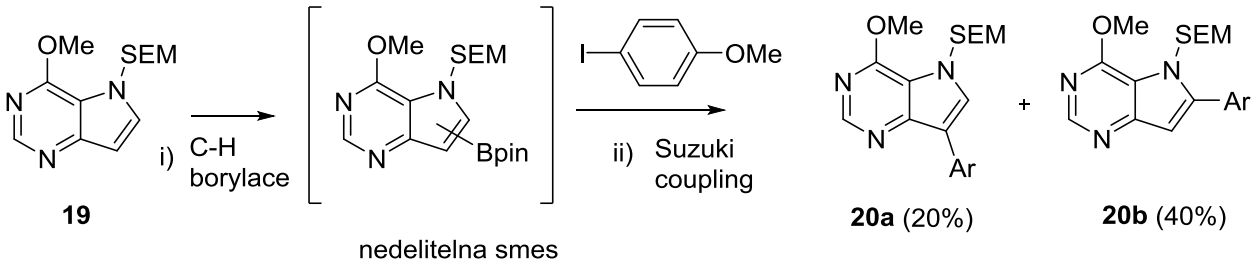


Schéma 5. Reagenty a podmínky: B_2pin_2 (1.2 equiv.), $[Ir(COD)OMe]_2$ (5%), dtbpy (10%), THF, 80°C, 20 h; ii) Ar-I (1.1 equiv.), $Pd(dppf)Cl_2$ (5%), K_2CO_3 (4 equiv.), DMF, 90°C, 1 h.

Později bylo také mé úsilí zaměřeno na C-H borylaci 9-deazapurinů, pro které jsem použil stejné reakční podmínky jako při C-H borylaci 7-deazapurinů. Reakce na modelové látce **19** neprobíhala regioselektivně a byly zjištěny dva (podle LC-MS) chromatograficky nedělitené boronáty. Předpokládaný vznik dvou regioisomerů **20a** (20%) a **20b** (40%) byl potvrzen v následucí reakci s 4-iodoanisolem.

7.1.1 Použití C-H borylace při syntéze 6,8-disubstituovaných 7-deazapurinů

Vzhledem k regioselektivnímu přístupu k 8-substituovaným 7-deazapurinům jsem se dále zabýval syntetickým uplatněním těchto boronátů. Zřejmě nejznámějším jejich použitím je Suzukiho cross-coupling reakce nebo mědí katalyzované substituce na různé funkční skupiny (halogen, kyanoskupina, CF_3).

7.1.1.1 Syntéza 8-aryl-7-deazapurinů

Za podmínek ($Pd(dppf)Cl_2$ a K_2CO_3 v DMF) již dříve optimalizovaných[13] pro jiné hetarylboronáty byla Suzuki cross-coupling reakce prováděna s různými arylhalogenidy na modelovém boronátu **13**. Obecně platí, že všechny arylhalogenidy (rozdílné aryl jodidy a 2-bromopyren) reagují dobře, čímž jsou získány požadované 8-aryl produkty **21a-21g** ve velmi vysokém výtěžku (viz Tabulka 2).

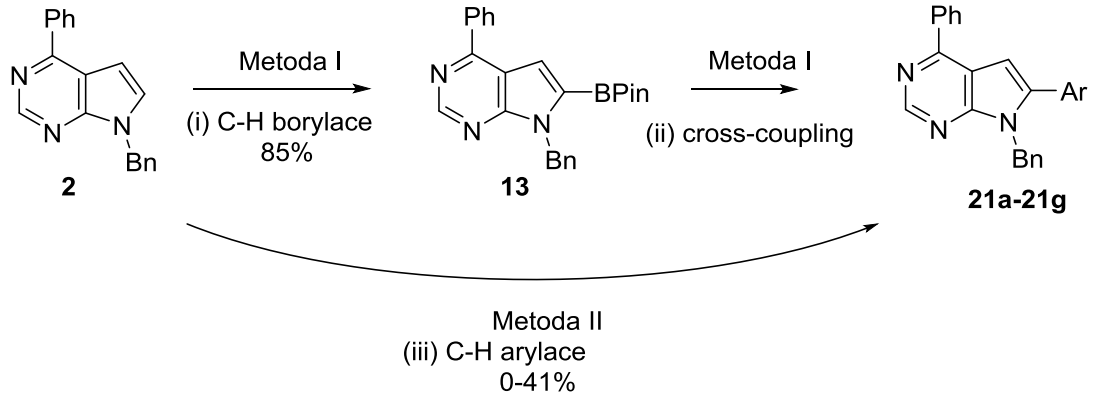
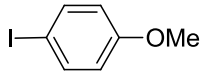
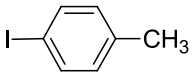
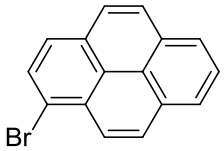
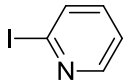
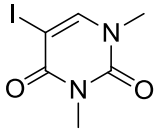
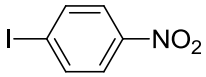
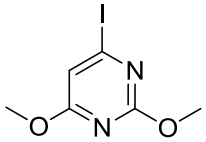


Schéma 5. Reagenty a podmínky: B_2pin_2 (1.2 equiv.), $[Ir(COD)OMe]_2$ (5%), dtbpy (10%), THF, 80°C, 20 h; ii) Ar-I (1.1 equiv.), $Pd(dppf)Cl_2$ (5%), K_2CO_3 (4 equiv.), DMF, 90°C, 1 h.; iii) Ar-X (2 equiv.), $Pd(OAc)_2$ (5%), Cs_2CO_3 (2.5 equiv.), CuI (3 equiv.), DMF, 160 °C, 60 h.

Reakcí s methylovaným 5- nebo 6-jóduracilem (řádek 5 a 7) vznikly nové typy Janus-nucleobází[14] nebo fleximerů[15] **21e** a **21g**. V případě sloučeniny **21g** byl její kyselinou hydrolýzou získán volný 9-benzyl-6-fenyl-8-(uracil-6-yl)-7-deazapurin **21h**. Celkové výtěžky 6,8-diaryl-7-deazapurinů byly v průběhu dvou kroků (C-H borylace a cross-coupling, Tabulka 2 - metoda I) velmi dobré (67-81%).

Jako alternativní metodu jsem také vyzkoušel přímou C-H arylaci **2** se stejnými arylhalogenidy a za podmínek dříve optimalizovaných[16] pro arylaci purinů (tabulka 2, meto II). Nicméně, tato metoda poskytovala nízké výtěžky (řádek 1-3) nebo vůbec žádnou reakci (řádek 4-7).

Tabulka 2. Syntéza 8-aryl-7-deazapurinů přímou C-H aktivací

Řádek	Ar-X	Produkt	Metoda I - coupling[a] (celkový výtěžek)[b]	Metoda II (výtěžek)
1		**21a**	87%[a] (74%)[b]	39%
2		**21b**	90%[a] (76%)[b]	41%
3		**21c**	79%[a] (67%)[b]	35%
4		**21d**	95%[a] (81%)[b]	Stopy
5		**21e**	92%[a] (78 %)[b]	0%
6		**21f**	91%[a] (77%)[b]	0%
7		**21g**	92%[a,c] (78%)[b,c]	0%

[a] cross coupling; [b] celkový výtěžek po dvou krocích (C-H borylace and cross coupling); [c] celkový výtěžek po kyselém odchránění na volný uracil **21h**[18]

Srovnání obou metod syntézy diaryl-7-deazapurinů **21** jasně ukázalo, že dvoustupňová sekvence (Metoda I) je mnohem účinnější (Tabulka 2). Je pravděpodobné, že zásadní význam má N7 purinového kruhu, který napomáhá koordinací Cu při deprotonaci purinů v poloze C-8.[17]

7.1.1.2 Dvoustupňová syntéza 6,8-disubstituovaných 7-deazapurinů - možnosti a omezení

Dalším cílem byla také syntéza 8-aryl-7-deazaadeninů. Jelikož přímé C-H aktivace 7-deazaadeninu **5** nebyly úspěšné, tak je možno využít 6-chlor derivát, který může být snadno transformován na 6-amino sloučeniny (Tabulka 3). Dvoustupňová arylace (C-H borylace/Suzuki reakce) 9-benzyl-6-chlor-7-deazapurinu **7** se třemi různými arylovými jodidy probíhala v přijatelných celkových výtěžcích 31%-42% (výtěžek v prvním kroku byl akceptovatelných 54%, jak je uvedeno výše). Následnou aminací z 6-chlor-7-deazapurinů **22a**-**22c** methanolickým amoniakem se získají 8-aryl-7-deazaadeniny **23aa**, **23b** a **23c** ve velmi dobrých výtěžcích (Tabulka 3). Další nukleofilní substituce byly také prováděny s 6chlor-7-deazapurinem **22a**. Jeho reakce s anilinem, benzylaminem, stejně jako s fenolátem sodným poskytovala odpovídající 6-N-nebo 6-O-substituované produkty **23ab**, **23ac** a **23ad**.

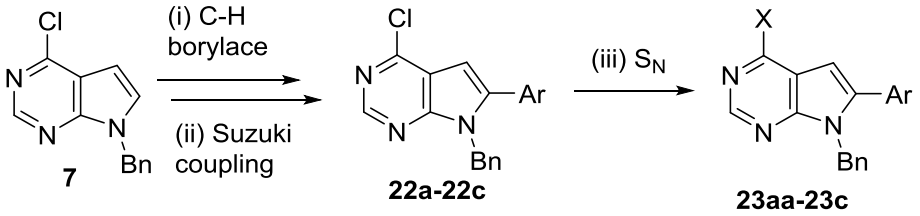
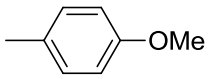
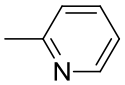
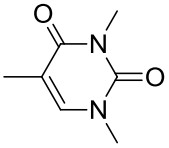


Schéma 6. Reagenty a podmínky: B_2pin_2 (1.2 equiv.), $[Ir(COD)OMe]_2$ (5%), dtbpy (10%), THF, 80°C, 20 h; ii) Ar-I (1.1 equiv.), $Pd(dppf)Cl_2$ (5%), K_2CO_3 (4 equiv.), DMF, 90°C, 1 h.; (iii) a) NH_3/MeOH, 120 °C, přes noc b,c) R-NH_2 (3 equiv.), butanol, reflux, přes noc d) phenol (1.2 equiv.), KO*t*-Bu (1.2 equiv.), K_2CO_3 (0.75 equiv.), DMF, 110 °C, 16 h.

Tabulka 3. Dvoukroková syntéza 6,8-disubstituovaných 7-deazapurinů

Řádek	Ar	Produkt (výtěžek)	X	Produkt (výtěžek)
1		**22a** (42%)	NH_2	**23aa** (83%)
2			NH-Ph	**23ab** (65%)
3			NH-Bn	**23ac** (77%)
4			O-Ph	**23ad** (93%)
5		**22b** (31%)	NH_2	**23b** (85%)
6		**22c** (36%)	NH_2	**23c** (79%)

Na základě reaktivit v C-H borylacích u SEM-chráněných deazapurinů **9-11** (Tabulka 1, řádky 8-10) jsem dále zkoumal jejich syntetickou použitelnost v „one pot“ reakční sekvenci: C-H borylace/Suzuki cross-coupling s 4-jódanisolem. I přesto, že borylace/Suzuki reakce 9-benzyl-6-chlor-7-deazapurinu **7** probíhala v uspokojivém 42% výtěžku, borylace/Suzuki reakce 9-SEM-6-chloro7-deazapurinu **9** poskytovala pouze nízký 20% výtěžek požadovaného 8-aryl derivátu **24a**, protože Suzuki cross-coupling byl doprovázen konkurenční deborylací zpět na výchozí sloučeninu **9**. Proto se zaměřil v „one pot“ borylace/arylace na 6-methoxy a 6-MeS deriváty **10** a **11**. Tyto reakce probíhaly snadno za vzniku požadovaných SEM-chráněných 8-arylovaných 7-deazapurinů **25a** (70%) a **26a** (79%).

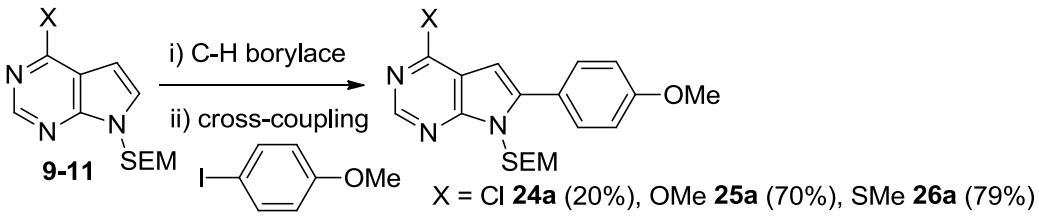


Schéma 7. Reagenty a podmínky: i) B_2pin_2 (1.2 equiv.), $[Ir(COD)OMe]_2$ (5%), dtbpy (10%), THF, 80°C, 20 h; ii) Ar-I (1.1 equiv.), $Pd(dppf)Cl_2$ (5%; 10% v případě **26a**), K_2CO_3 (4 equiv.), DMF, 90°C, 1 h.

7.1.1.3 Syntéza 8-aryl 7-deazahypoxantinů

Na základě předchozí úspěšné přípravy **25a** jsem se rozhodl využít „one-pot" borylaci/arylací 6-methoxy-7-deazapurinu **10** v kombinaci s O-demethylací a SEM-deprotekcí pro syntézu série 8-aryl-7-deazahypoxantinů s několika arylovými halogenidy (Schéma 8, Tabulka 4).

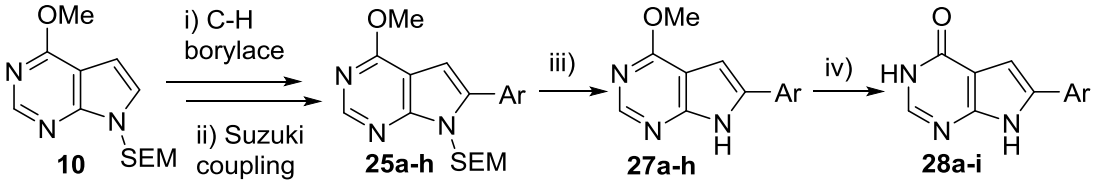
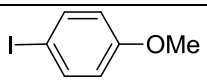
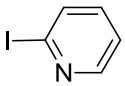
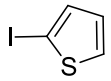
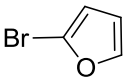
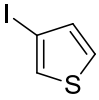
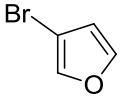
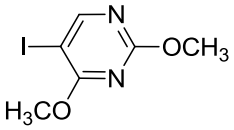
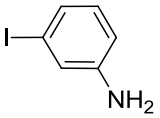


Schéma 8. Reagenty a podmínky: i) B_2pin_2 (1.2 equiv.), $[Ir(COD)OMe]_2$ (5%), dtbpy (10%), THF, 80°C, 20 h; ii) Ar-X (1.1 equiv.), $Pd(dppf)Cl_2$ (5%), K_2CO_3 (4 equiv.), DMF, 90°C, 1 h (nebo 18 h); iii) TFA (2 mL), rt, 1 h, následované aq. ammonia (25% [w/w], rt, 18 h; iv) TMSCl (5 equiv.), NaI (5 equiv.), MeCN, 80°C, 18 h.

Tabulka 4. Syntéza 8-aryl-7-deazahypoxantinů

Řádek	Ar-X	Produkt **25** (výtěžek)	Produkt **27** (výtěžek)	Produkt **28** (výtěžek)
1		**25a** (70%)	**27a** (90%)	**28a** (85%)
2		**25b** (50%)[b]	**27b** (85%)	**28b** (71%)
3		**25c** (65%)	**27c** (90%)	**28c** (90%)
4		**25d** (45%)[b]	**27d** (80%)	**28d** (92%)
5		**25e** (77%)	**27e** (90%)	**28e** (70%)
6		**25f** (58%)	**27f** (65%)	**28f** (80%)
7		**25g** (66%)[b]	------	**28i** (97%)[a]
8		**25h** (74%)	**27h** (22%)	**28h** (75%)

[a] Celkový výtěžek po kyselé deprotekci **28i**; [b] reakční čas 18 h

Obecně platí, že reakce probíhala velmi dobře za vzniku požadovaných SEM-chráněných 8-(het)aryl-6-methoxy-7-deazapurinů **25a-h** ve vysokých výtěžcích (Schéma 8, Tabulka 4). Odstranění chránicí SEM skupiny[19] za použití trifluoroctové kyseliny (TFA) následované reakcí s vodným roztokem amoniaku poskytl volné 8-aryl-6-methoxy-7-deazapuriny **27a-f** v

dobrých výtěžcích 65-90% (Schéma 8, Tabulka 4). V případě sloučeniny **25g** bylo odstranění chránicí skupiny SEM přímo následováno kyselou hydrolýzou[18] na volný 8-(uracil-5-yl)-7-deazahypoxantine **28i**. Závěrečné štěpení methyletherů **27a-h** bylo provedeno pomocí *in situ* generovaného jodtrimethylsilanu (z TMSCl a NaI) v acetonitrilu[20], čímž se získají 8-(het)aryl-7-deazahypoxantine **28a-h** ve vysokých výtěžcích.

7.1.1.4 Syntéza of 8-aryl-7-deazaadeninů

U syntézy odpovídajících 8-aryl-7-deazaadeninů jsem začal analogickou „one pot" borylací / arylací SEM-chráněného 6-MeS-7-deazapurinu **11** s řadou arylhalogenidů za vzniku požadovaných 8-(het)arylových produktů **26a-h** ve vysokých výtěžcích (schéma 9, tabulka 5).

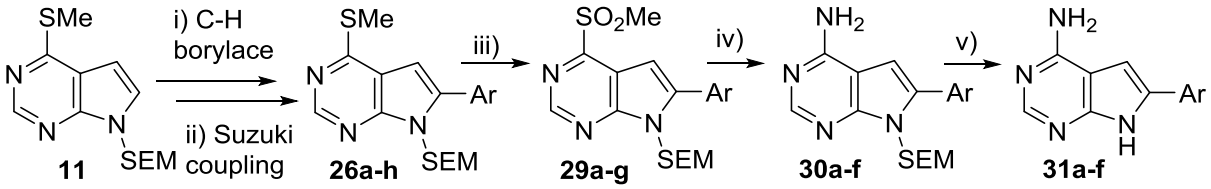
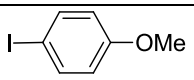
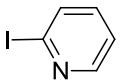
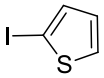
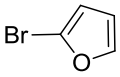
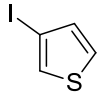
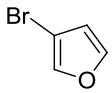
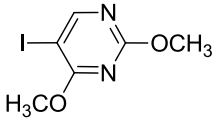
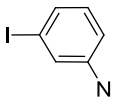


Schéma 9. Reagenty a podmínky: i) B_2pin_2 (1.2 equiv.), $[Ir(COD)OMe]_2$ (5%), dtbpy (10%), THF, 80°C, 20 h; ii) Ar-X (1.1 equiv.), $Pd(dppf)Cl_2$ (10%), K_2CO_3 (4 equiv.), DMF, 90°C, 1 h (nebo 18 h); iii) *m*CPBA (2 equiv.), CH_2Cl_2, r.t., 1 h; iv) aq. ammonia (25% [w/w]), dioxan, 50 °C, 18 h; v) TFA (2 mL), rt, 1 h, následované aq. ammonia (25% [w/w], rt, 18 h.

Tabulka 5. Syntéza 8-aryl-7-deazaadeninů

Řádek	Ar-X	Produkt **26** (výtěžek)	Produkt **29** (výtěžek)	Produkt **30** (výtěžek)	Produkt **31** (výtěžek)
1		**26a** (79%)	**29a** (77%)	**30a** (83%)	**31a** (80%)
2		**26b** (64%)[b]	**29b** (65%)	**30b** (94%)	**31b** (74%)
3		**26c** (69%)	**29c** (89%)	**30c** (91%)	**31c** (74%)
4		**26d** (62%)	**29d** (76%)	**30d** (85%)	**31d** (79%)
5		**26e** (70%)[b]	**29e** (62%)	**30e** (84%)	**31e** (72%)
6		**26f** (50%)[b]	**29f** (62%)	**30f** (71%)	**31f** (65%)
7		**26g** (39%)[b]	**29g** (86%)	**30g** (93%)	**31i** (77%)[a]
8		**26h** (78%)	Směs produktů	-------	--------

[a] Celkový výtěžek po kyselé deprotekci **31i;** [b] reakční čas 18 h

Druhým krokem byla oxidace[21] methylsulfanyl derivátů **26a-h** na methylsulfony **29a-g**, které jsou reaktivnější během nukleofilní substituce. Odstranění chránicí SEM skupiny za použití trifluoroctové kyseliny (TFA) následované reakcí s vodným roztokem amoniaku poskytl volné 8-substituované 7-deazaadenines **31a-f** v 65-80% výtěžku. V případě sloučeniny **30 g** bylo odstranění chránicí skupiny SEM přímo následováno kyselou hydrolýzou na volný 8-(uracil-5-yl)-7-deazaaadenine **31i.** Jelikož se výše popsaný sled reakcí neosvědčil pro přípravu 8-(3-aminofenyl)-7-deazaadeninu **31 h**, použil jsem alternativní syntetický protokol za vzniku požadovaného deazaadeninu v celkovém 40% výtěžku (Schéma 10).

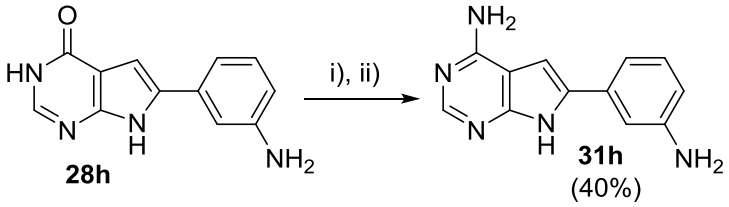


Schéma 10. Reagenty a podmínky: i) $POCl_3$ (5 equiv.), $BnEt_3N^+Cl$ (2 equiv.), $PhNMe_2$ (1.1 equiv.), MeCN, reflux, 4 h; ii) aq. ammonia (25% [w/w]), dioxane, 120 °C, 18 h.

7.1.1.5 „One-pot“ C–H borylace/Cu-katalyzovaná substituce

Díky snadnému přístupu k 8-borylovaným 7-deazapurinům jsem se následně zaměřil na možnost jejich přeměny na jiné funkčních skupiny.

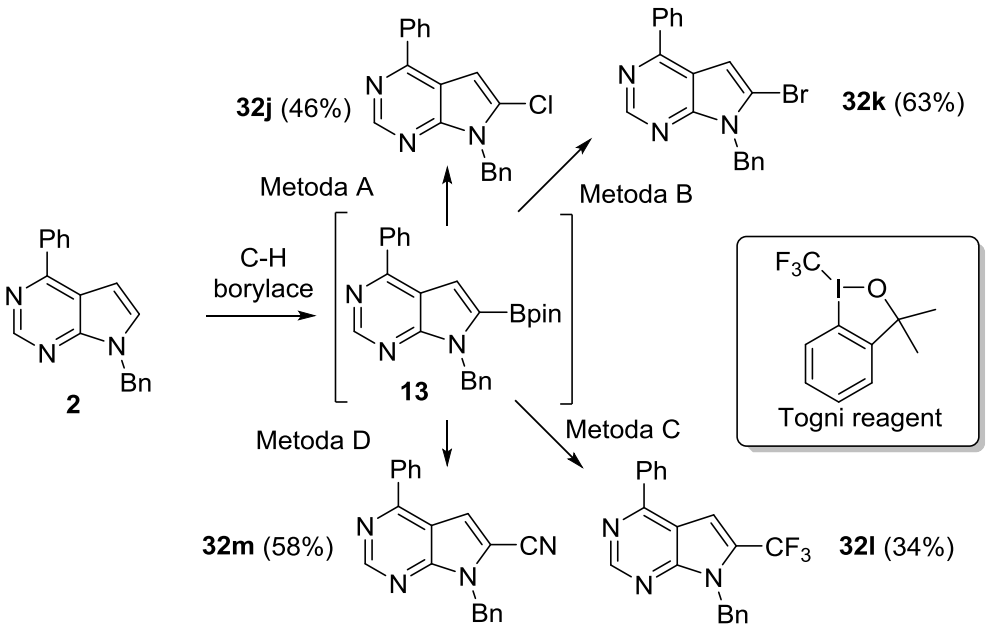


Schéma 11. Reagenty a podmínky: A: $CuCl_2$ (3 equiv.), aceton/H_2O (1:1), 80°C, 3h; B: $CuBr_2$ (3 equiv.), aceton/H_2O (1:1), 80°C, 3h; C: Togni činidlo (1.1 equiv.), CuTc (10%), 1,10-fenantrolin (20%), $LiOH.H_2O$ (2 equiv.), CH_2Cl_2, 45°C, 18 h; D: $Cu(NO_3)_2$ (2 equiv.), $Zn(CN)_2$ (3 equiv.), CsF (1 equiv.), aceton/H_2O (2,5:1), 100°C, 2 h.

Reakce jsem testoval na 8-borylovaném 9-benzyl-deazapurinu **13** a jeho reakce s měďnatými halogenidy[22] poskytovala 8-chlordeazapurin **32j** (46%), nebo 8-brom-derivát **32k** (63%). Boronát **13** byl také převeden na 8-trifluormethyl derivát **32l** zpracováním s Togni činidlem,[23] ale výtěžek byl pouze 34% v důsledku konkurenční protodeborylace. Reakcí **13** s Zn $(CN)_2$ v přítomnosti $Cu(NO_3)_2$ a C_SF[24] byl připraven 8-kyano-derivát **32m** ve výtěžku 58%.

Tato reakční sekvence C-H borylace/Cu-katalyzovaná substituce byla pak aplikována na SEM-chráněné 6-chlor a 6-methoxy-7-deazapuriny **9** a **10**. Halogenace a trifluoromethylace probíhala ve výtěžcích 32-56%, čímž byly získány požadované 8-substituované produkty **25j-l** a **33j-l** (Schéma 12, Tabulka 6). Naproti, kyanace neprobíhala vůbec a byla získána zpět pouze výchozí látka. Odstranění chránicí SEM skupiny za použití trifluoroctové kyseliny (TFA) následované reakcí s vodným roztokem amoniaku poskytlo 8-substituované 7-deazapuriny **27j-l** a **34j-l** (Schéma 12, Tabulka 6).

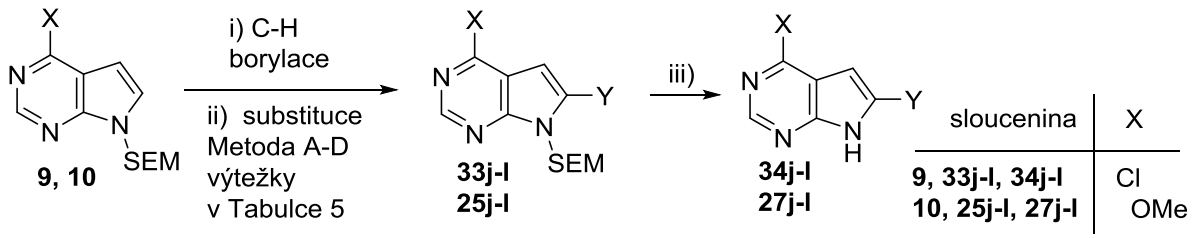


Schéma 12. Reagenty a podmínky: i) B_2pin_2 (1.2 equiv.), $[Ir(COD)OMe]_2$ (5%), dtbpy (10%), THF, 80°C, 20 h; ii) A: $CuCl_2$ (3 equiv.), acetone/H_2O (1:1), 80°C, 3h; B: $CuBr_2$ (3 equiv.), acetone/H_2O (1:1), 80°C, 3h; C: Togni činidlo (1.1 equiv.), CuTc (10%), 1,10-fenantrolin (20%), $LiOH.H_2O$ (2 equiv.), CH_2Cl_2, 45°C, 18 h; D: $Cu(NO_3)_2$ (2 equiv.), $Zn(CN)_2$ (3 equiv.), CsF (1 equiv.), aceton/H_2O (2,5:1), 100°C, 2 h; iii) TFA (2 mL), rt, 1 h, následované aq. ammonia (25% [w/w], rt, 18 h; iv) TMSCl (5 equiv.), NaI (5 equiv.), MeCN, 80°C, 18 h.

Tabulka 6. „One-pot“ C-H borylace/Cu-katalyzované substituce

Řádek	Výchozí látka	Metoda	X	Y	Produkt **33** nebo **25** (výtěžek)	Produkt **34** nebo **27** (Výtěžek)
1	**9**	A	Cl	-Cl	**33j** (55%)	**34j** (66%)
2	**9**	B	Cl	-Br	**33k** (56%)	**34k** (75%)
3	**9**	C	Cl	$-CF_3$	**33l** (38%)	**34l** (73%)
4	**9**	D	Cl	-CN	bez reakce	----------
5	**10**	A	OMe	-Cl	**25j** (47%)	**27j** (55%)
6	**10**	B	OMe	-Br	**25k** (34%)	**27k** (50%)
7	**10**	C	OMe	$-CF_3$	**25l** (32%)	**27l** (75%)
8	**10**	D	OMe	-CN	bez reakce	----------

Posledním cílem byla příprava 8-trifluormethyl-7-deazahypoxantinu **28l** a 8-trifluormethyl-7-deazaadeninu **31l**. První z nich byl připraven pomocí *in situ* generovaného jodtrimethylsilanu (z TMSCl a NaI) v acetonitrilu v nízkém 30% výtěžku (Schéma 13).

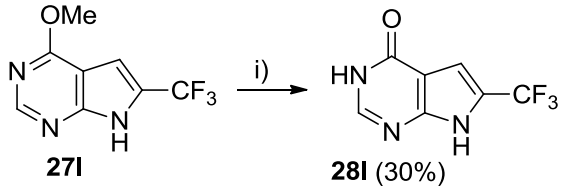


Schéma 13. Reagenty a podmínky: i) TMSCl (5 equiv.), NaI (5 equiv.), MeCN, 80°C, 18 h.

Obtížnější byla příprava odpovídajícího 8-trifluormethyl-7-deazaadeninu **31l** (Schéma 14). Aminací 6-chloro derivátu **34l** byl připraven neočekávaný amid **31 m.** Proto jsem zvolil delší reakční sekvenci založenou na borylaci/trifluoromethylaci **11**, následované oxidací, aminací a konečné odstraněním chránicí skupiny za vzniku 8-trifluormethyl-7-deazaadeninu **31l.**

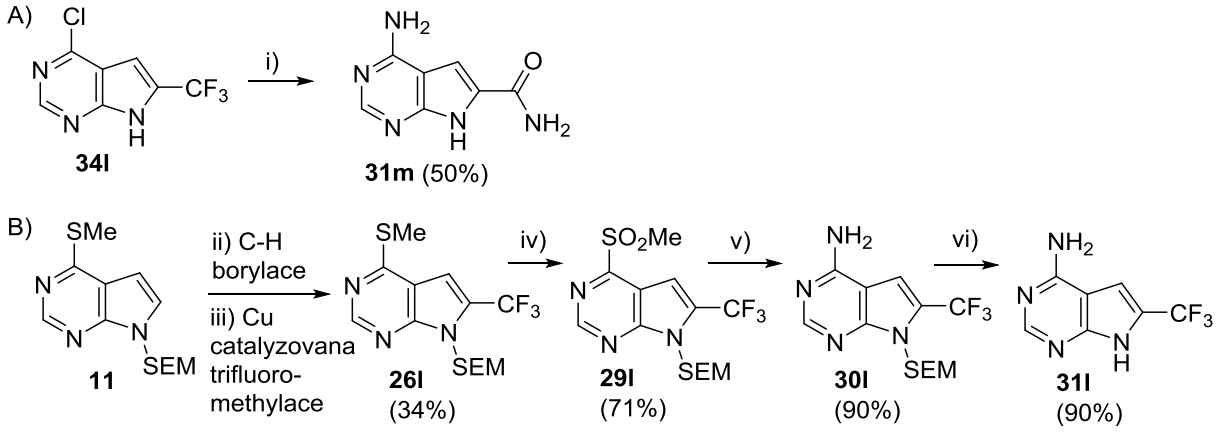


Schéma 14. Reagenty a podmínky: i) aq. ammonia (25% [w/w]), dioxane, 120 °C, 18 h; ii) B_2pin_2 (1.2 equiv.), $[Ir(COD)OMe]_2$ (5%), dtbpy (10%), THF, 80°C, 20 h; iii) Togni činidlo (1.1 equiv.), CuTc (10%), 1,10-fenantrolin (20%), $LiOH.H_2O$ (2 equiv.), CH_2Cl_2, 45°C, 18 h; iv) *m*CPBA (2 equiv.), CH_2Cl_2, r.t., 1h; v) aq. ammonia (25% [w/w]), dioxan, 50 °C, 18 h; vi) TFA (2 mL), r.t., 1 h, následované aq. ammonia (25% [w/w], r.t., 18 h.

7.1.2 Biologické aktivity 6,8-disubstituovaných 7-deazapurinů

In vitro cytotoxické/cytostatické aktivity všech konečných látek **27a-27l**, **28a-28l**, **31a-31l**, **34j-34l** byly testovány na sedmi buněčných liniích získaných z lidských solidních nádorů včetně rakoviny plic (A549 buňky), karcinomům tlustého střeva (HCT116 a HCT116p53-/-), stejně jako liniím leukemických buněk (CCRF-CEM, CEM-DNR, K562 a K562-TAX) a pro srovnání, non-maligním BJ a MRC-5 fibroblastech. Všechny

cytostatické/cytotoxické testy aktivit byly provedeny našimi spolupracovníky ze skupiny Dr. Hany Mertlíkové-Kaiserové a ze skupiny prof. Hajdúcha.

Vybrané výsledky jsou shrnuty v tabulce 7. Překvapivě, většina z 8-substituovaných-7-deazahypoxantinů **28a-28l** byla zcela neaktivní v těchto testech s výjimkou 8-(3-thienyl)-7-deazahypoxantinu **28e**, který vykazuje mírnou cytotoxickou aktivitu (> 20 µm koncentrace). Naproti tomu, 6-methoxy-7-deazapuriny, 7-deazaadeniny nesoucí různé het (arylové) substituenty v pozici 8 ukázaly výrazné cytostatické účinky v mikromolárních koncentracích. Nejaktivnější z nich byly 2-furyl-, 3-thienyl-, 3-aminofenyl-6-methoxy-7-deazapuriny (**27d, e, h**) a 2-pyridyl, 2-thienyl-, 3-thienyl-7-deazaadenin (**31b, c, e**) deriváty s hodnotami IC_{50} v nízkých mikromolárních hotnotách. Díky tomu, že jsou tyto sloučeniny (**27h**, **31b**, **31e**) netoxické pro BJ a MRC-5 fibroblasty ukazují slibný terapeutický index.

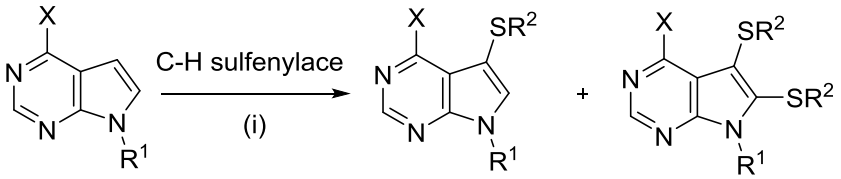
Tabulka 7. Cytostatické aktivity vybraných sloučenin

	IC_{50} (µM)											
	A549	CCRF-CEM	CEM-DNR	HCT116	HCT116p53--	K562	K562-TAX	HepG2	HL60	HeLaS3	BJ	MRC-5
27c	44.62	>50	45.73	25.2	37.38	9.1	27.56	>10	>10	>10	>50	46.07
27d	42.13	>50	49.28	32.66	48.5	8.07	37	>10	>10	>10	>50	45.02
27e	11.97	24.62	19.68	13.29	12.73	6.33	11.33	>10	>10	>10	46.55	20.97
27f	36.84	44.1	29.71	18.66	35.53	25.48	19.39	>10	>10	>10	>50	36.05
27h	33.12	30	9.05	21.61	22.26	7.15	18.56	>10	>10	>10	>50	>50
28e	>50	>50	>50	>50	>50	21.64	>50	>10	>10	>10	>50	>50
31a	>50	>50	17.47	>50	>50	12.6	13.5	>10	>10	>10	>50	27.8
31b	>50	>50	32.93	>50	>50	25.47	8.86	>10	>10	>10	>50	>50
31c	>50	18.91	10.9	25.28	32.83	0.26	7.36	>10	>10	>10	>50	29.87
31d	>50	>50	25.16	>50	>50	28.92	17.11	>10	>10	>10	>50	>50
31e	>50	44.02	9.29	>50	>50	8.74	5.56	>10	>10	>10	>50	>50
31f	>50	27.04	>50	>50	>50	36.97	17.92	>10	>10	>10	>50	>50
31h	>50	>50	31.11	>50	>50	39.28	15.25	>10	>10	>10	>50	>50
34l	>50	18.81	>50	>50	>50	>50	>50	>10	>10	>10	>50	>50

7.2 C-H sulfenylace purinů a deazapurinů

7.2.1 C-H sulfenylace 7-deazapurinů

Nejdříve jsem začal testováním z literatury známých katalytických systémů pro přímé C-H sulfenylace[25] na modelové výchozí sloučenině 6-fenyl-7-deazapurinu (**3**). Nejúčinnější byla reakce s disulfidy v přítomnosti měďného katalyzátoru, (analogicky k literatuře[25d]), která dává požadovaný 7-substituovaný produkt **36a** ve vynikajícím výtěžku (96%, Tabulky 8, řádek 1). Takto optimalizované podmínky byly potom použity pro syntézu dalších příkladů, 7-alkyl- nebo -arylsulfanyl derivátů ve vysokém výtěžku (**36b** a **36c**, 71% a 91%, řádek 2, 3), nebo průměrném výtěžku (**36d**, 47 %, řádek 4). Také reakce 7-deazaadeninu (**35**) probíhající za stejných podmínek poskytovala 7-(fenylsulfanyl)-7-deazaadenin (**36e**) v dobrém výtěžku (79%, řádek 5). V případě 6-chlor-7-deazapurinu **8** C-H sulfenylace probíhala stejně, čímž se získá požadovaný produkt **44a** ve vysokém výtěžku (90%, řádek 6) beze stop nukleofilní substituce v poloze 6. 9-Benzylovaný-6-fenyl-7-deazapurin **2** poskytuje 7-substituovaný produktu **53a** ve špatném výtěžku (20%, řádek 7) v důsledku nízké konverze. Zdá se, že volná NH skupina je rozhodující pro účinnost této reakce (Schéma 16).



2, 3, 8, 35 **36a-e** **37a,b**

44a (X = Cl, R^1 = H, R^2 = Ph)
53a (X = Ph, R^1 = Bn, R^2 = Ph)

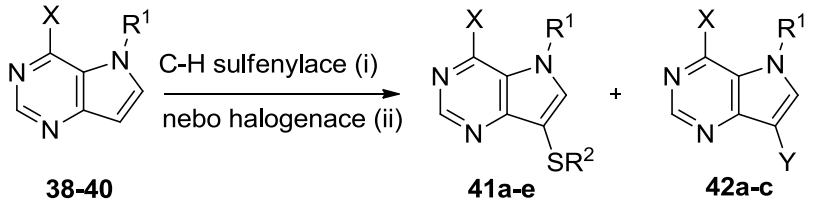
Schéma 16. Reagenty a podmínky: i) R^2S-SR^2 (0.75 equiv.), CuI (10%), vzduch, DMF, 110 °C, 18-60 h.

Tabulka 8. C-H Sulfenylace 7-Deazapurinů

Řádek	Výchozí látka	R^1	X	R^2	Produkt (výtěžek)
1	**3**	H	Ph-	Ph-	**36a** (96%) + **37a** (3%)
2[a]	**3**	H	Ph-	Me-	**36b** (71%) + **37b** (15%)
3	**3**	H	Ph-	4-MeO-Ph-	**36c** (91%)
4	**3**	H	Ph-	4-NO_2-Ph-	**36d** (47%)
5	**35**	H	NH_2-	Ph-	**36e** (79%)
6[a]	**8**	H	Cl-	Ph-	**44a** (90%)
7[b]	**2**	Bn	Ph-	Ph-	**53a** (20%)[b]

[a]5 equiv. R^2S-SR^2; [b]2.5 equiv R^2S-SR^2 a výchozí látka zpět (71%).

7.2.2 C-H sulfenylace 9-deazapurinů



38-40 **41a-e** **42a-c**

Schéma 17. Reagenty a podmínky: i) R^2S-SR^2 (1.5 equiv.), CuI (10%), vzduch, bpy nebo dtbpy (0.2 equiv.), DMF, 110 °C, 48-90 h; ii) CuI nebo $CuBr_2$ (1.1 equiv.), vzduch, DMF, 110 °C, 18 h.

Stejný protokol pro C-H sulfenylaci byl poté testován na 9-deazapurinech (*5H*-pyrrolo[3,2 *d*]pyrimidin, Schéma 17). Nicméně, v tomto případě se objevila konkurenční jodace heterocyklu díky CuI (Tabulka 9, řádek 1). Halogenace byla potlačena komplexací měděného katalyzátoru pomocí 2,2'-dipyridin (bpy) ligandu. Reakce 6-fenyl-9-deazapurinu (38) s difenyldisulfidem v přítomnosti CuI + bpy (řádek 2) poskytovala požadovaný 9-fenylsulfanyl derivát **41a** kvantitativně. Reakcí s jinými disulfidy byly syntetizovány cílové 9-alkyl- nebo -arylsulfanyl deriváty v průměrném (**41b** a **41d**, 30% a 50%, řádky 3, 5) nebo vysokém výtěžku (**41c**, 85%, řádek 4). Reakce s 9-benzyl-6-fenyl-9-deazapurinem (**39**) neprobíhala vůbec (řádek 6). C-H sulfenylací 6-chlor-9-deazapurinu (**40**) za standardních podmínek se získá komplexní směs produktů (TLC, řádek 7). Proto jsem pro reakci zvolil přítomnost objemnějšího a elektronově bohatého dtbpy ligandu, čímž se získá požadovaný produkt **41e** v dobrém výtěžku 90% (řádek 8).

Tabulka 9. C-H Sulfenylace 9-Deazapurinů

Řádek	Výchozí látka	Ligand	R^1	X	R^2 (nebo Y)	Produkt (výtěžek)
1	**38**	-	H	Ph	Ph	**41a** (14%) + **42a** (9%)
2	**38**	bpy	H	Ph	Ph	**41a** (98%)
3	**38**	bpy	H	Ph	Me	**41b** (30%)[a]
4	**38**	bpy	H	Ph	4-MeO-Ph	**41c** (85%)
5	**38**	bpy	H	Ph	4-NO_2-Ph	**41d** (50%)
6	**39**	bpy	Bn	Ph	Ph	Bez reakce
7	**40**	bpy	H	Cl	Ph	Směs produktů
8[b]	**40**	dtbpy	H	Cl	Ph	**41e** (90%)
9	**38**	dtbpy	H	Ph	Ph	**41a** (98%)
10	**38**	dtbpy	H	Ph	Me	**41b** (25%)
11	**38**	dtbpy	H	Ph	4-MeO-Ph	**41c** (41%)
12	**38**	dtbpy	H	Ph	4-NO_2-Ph	Bez reakce
13[c]	**38**	-	H	Ph	Y = I	**42a** (81%)
14[c]	**38**	-	H	Ph	Y = Br	**42b** (75%)
15[c]	**40**	-	H	Cl	Y = I	**42c** (65%)

[a] Výchozí látka zpět (40%). [b] 7 equiv. of R^2S-SR^2. [c] Použity podmínky ii).

Dtbpy ligand byl potom také testován v reakcích **38** s různými disulfidy. Fenylsulfenylace poskytovala kvantitativní konverze (jako s bpy), ale v případě ostatních disulfidů byly výtěžky nižší než u bpy (řádek 10-12). Proto byl dtbpy ligand praktický pouze pro reakci 6-chlor derivátu **40**. Naproti tomu použití stechiometrického množství CuI nebo $CuBr_2$ v nepřítomnosti bpy vedlo k vytvoření 9-halogenovaných produktů **42a-c** ve vysokých výtěžcích (řádky 13-15). Reakce s CuCl nebo $CuCl_2$ probíhala stejně, ale jen ve špatném výtěžku.

7.2.3 C-H sulfenylace purinů

Mé další úsilí bylo později zaměřeno na přímou C-H sulfenylaci purinů. Bohužel při použití stejných katalytických systémů uvedených výše nebyla pozorována žádná sulfenylace. Použitím alternativního protokolu založeného na aktivaci Lewisovou kyselinou[9f] byl získán 8-(fenylsulfanyl)purin **43a** v průměrném ~40% výtěžku. Sulfenylací v přítomnosti *t*BuOLi[9e] v dioxanu při teplotě 130 ° C po dobu 120 hodin byl získán požadovaný produkt **43a** v přijatelném výtěžku 60% (Schéma 18, Tabulka 10, řádek 1). Analogická reakce s na elektrony bohatým bis(methoxyfenyl)disulfidem poskytovala **43b** v 56% (řádek 2), zatímco reakce s elektronově chudým bis(nitrofenyl)disulfidem nefunguje.

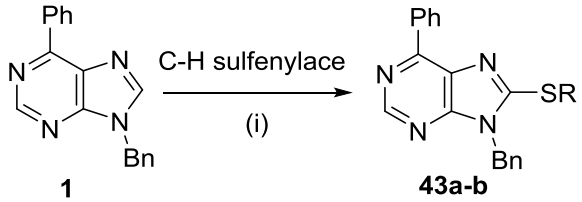


Schéma 18. Reagenty a podmínky: RS-SR (2.5 equiv), *t*BuOLi (3 equiv), 1,4-dioxan, 130 °C, 120 h.

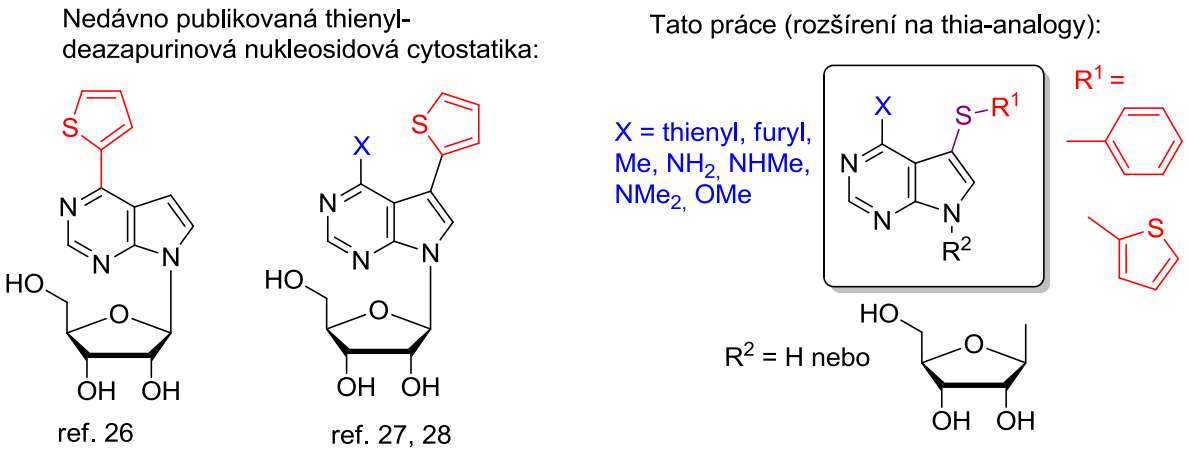
Tabulka 10. C-H Sulfenylace Purinu **1**

Řádek	X	R	Produkt (výtěžek)
1	Ph-	Ph-	**43a** (60 %)
2	Ph-	4-MeO-Ph-	**43b** (56 %)
3	Ph-	4-NO_2-Ph-	Bez reakce

7.2.4 Použití C-H sulfenylace při syntéze substituovaných 7-deazapurinů a jejich ribonukleosidů

V nedávné době byly naší skupinou objeveny nové typy nukleosidových cytostatik: 6-hetaryl-7-deazapuriny[26], 7-hetaryl-7-deazaadeniny[27] a 6-substituované 7-hetaryl-7-deazapuriny[28] ribonukleosidy, které všechny vykazují cytostatický účinek v nanomolárních koncentracích.

Ve všech třech sériích byly nejaktivnějšími deriváty ty, které obsahovaly thiofen nebo furan (Nákres 1). Dříve vyvinutá C-H sulfenylace[29] 7-deazapurinů mi umožnila snadný přístup k 7-arylsulfanyl-7-deazapurinovým bázím, které lze považovat za thia-analogy výše zmíněných 7-aryl-7-deazapurinových nukleosidových cytostatik.[27,28] Proto jsem se rozhodl připravit série 7-phenylsulfanyl- a 7- (2-thienyl) sulfanyl-7-deazapurin 7-deazapurinových bazí a ribonukleosidů pro biologické testy.



Obrázek 2. Nedávno publikovaná nuckleosidová cytostatika a návrh jejich thia-analogů

7.2.4.1 Syntéza 7-arylsulfanyl-7-deazapurinových bází

Syntetický přístup k cílovým 7-arylsulfanyl-7-deazapurinům byl založena na přímé C-H sulfenylaci 6-chlor-7-deazapurinu (**8**), katalyzované CuI a dtbpy v kyslíkové atmosféře. Tento modifikovaný postup (kyslík atmosféra a dtbpy) poskytuje lepší výsledky než dříve publikovaná metoda.[29]

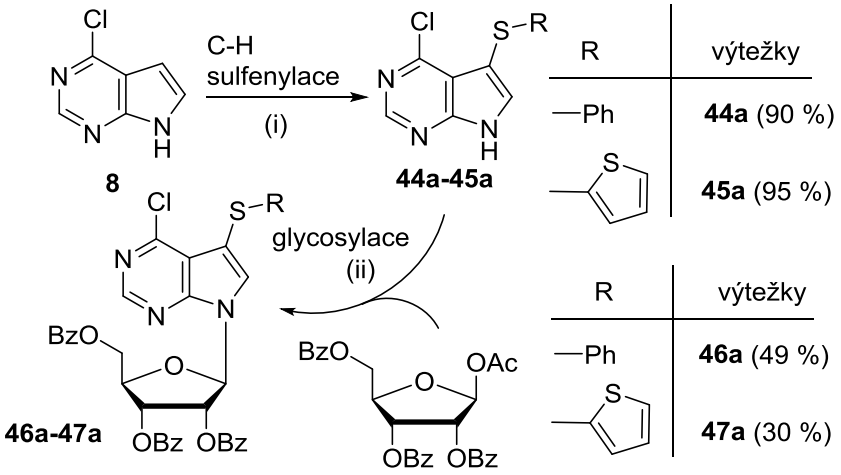
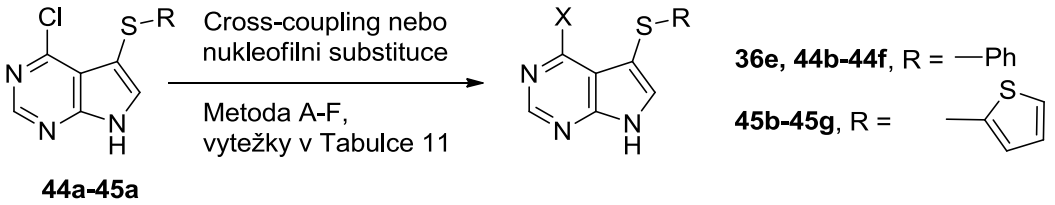


Schéma 19. Reagenty a podmínky: i) RS-SR (1 equiv.), CuI (10%), dtbpy (20%), O_2, DMF, 110°C, 18h. ii) 1. BSA (1 nebo 2 equiv.) , MeCN, 15 min, rt, 2. TMSOTf (2 equiv.), cukr (1 equiv.), 80 °C, 6 h.

Reakcí difenyldisulfidu a bis(2-thienyl)disulfidu byly syntetizovány dva modifikované 7-(het)arylsulfanyl-7-deazapuriny **44a** a **45a** ve vynikajícím výtěžku 90%, nebo 95% (Schéma 19). Po "one-pot" silylaci pomocí N, O-bis(trimethylsilyl)acetamidu (BSA) následuje glykosylace za použití komerčně dostupného 1-O-acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-p-D-ribofuranózy a požadované chráněné 7-sulfanyl-7-deazapurin ribonukleosidové meziprodukty **46a** a **47a** byly získány v průměrném výtěžku 49% nebo 30% (Schéma 19). Aby bylo možné syntetizovat cílové 6-substituované 7-deazapurinové nukleové analogy byly 6-chlorodeazapurinové meziprodukty **44a** a **45a** modifikovány v poloze 6. Prvním cílem bylo zavedení thiofenu a furanu (na základě dříve publikovaných[26] cytostatických aktivit nukleosidů). Vzhledem k tomu, že pokusy o Suzuki-Miyaura cross-coupling reakce s odpovídajícími thienyl- nebo furylboronové kyselinami probíhaly s nízkou konverzí (<10%) jsem se dále zaměřil Stille-coupling. Stilleho reakce **44a** nebo **45a** s thienyl-, nebo furylovou skupinu v přítomnosti $PdCl_2(PPh_3)_2$ v DMF probíhala za standardních podmínek hladce za vzniku požadovaných 6-heteroaryl derivátů **44b**-**44c** a **45b**-**45c** v dobrých výtěžcích (57-87%) (Schéma 20, Tabulka 11, řádek 1,2,7,8).



44a-45a

Schéma 20. Reagenty a podmínky, A: 2-thienylSnBu$_3$ (1.2 equiv.), $PdCl_2(PPh_3)_2$ (5%), DMF, 100°C, 18 h; B: 2-furylSnBu$_3$ (1.2 equiv.), $PdCl_2(PPh_3)_2$ (5%), DMF, 100°C, 18 h; C: Me_3Al (3 equiv.), $Pd(PPh_3)_4$ (5%), THF, 70°C, 12 h; D: Me_2NH v THF (3 equiv.), propan-2-ol, 70°C, 24 h; E: aq. methylamin (40% [w/w]), dioxan, 120 °C, 18 h; F: aq. ammonia (25% [w/w]), dioxan, 120 °C, 18 h.

Tabulka 11. Výtěžky transformace 7-deazapurinů

Řádek	Metoda	Reagenty	X-	R-	Produkt (výtěžek %)
1	A	2-thienylSnBu$_3$	2-thienyl-	Ph-	**44b** (80%)
2	B	2-furylSnBu$_3$	2-furyl-	Ph-	**44c** (87%)
3	C	Me_3Al	Me-	Ph-	**44d** (73%)
4	D	Me_2NH	Me_2N-	Ph-	**44e** (84%)
5	E	$MeNH_2$	MeNH-	Ph-	**44f** (83%)
6	F	NH_3	NH_2-	Ph-	**36e** (85%)
7	A	2-thienylSnBu$_3$	2-thienyl-	2-thienyl-	**45b** (57%)
8	B	2-furylSnBu$_3$	2-furyl-	2-thienyl-	**45c** (72%)
9	C	Me_3Al	Me-	2-thienyl-	**45d** (66%)
10	D	Me_2NH	Me_2N-	2-thienyl-	**45e** (63%)
11	E	$MeNH_2$	MeNH-	2-thienyl-	**45f** (58%)
12	F	NH_3	NH_2-	2-thienyl-	**45g** (85%)

Methylová skupina byla zavedena pomocí Pd-katalyzovaného cross-couplingu **44a** nebo **45a** s Me_3Al za vzniku **44d**, **45d** v dobrých výtěžcích (řádek 3,9). A konečně dimetylamino, methylamino-skupina a aminoskupina byly zavedeny aromatickou nukleofilní substitucí 6-chlor-derivátů **44a** nebo **45a** s aminy nebo amoniakem za vzniku **36e**, **44e-44f** a **45e-45g** v dobrých výtěžcích (58-85%, řádek 4- 6,10-12).

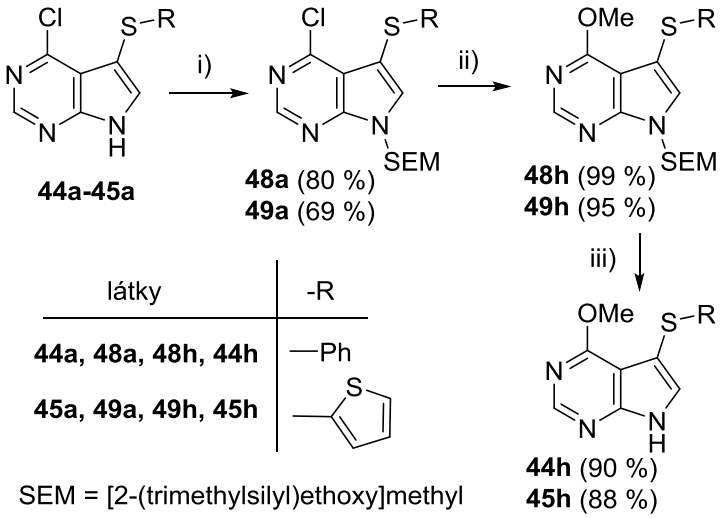


Schéma 21. Reagenty a podmínky: i) NaH (60 wt%, 1.1 equiv.), SEM-Cl (1.1 equiv.), DMF, 0°C to rt, 30 min.; ii) 1 M MeONa/MeOH (2 equiv.), aceton, rt., 18 h; iii) 1.CF_3COOH, rt, 18h, 2. aq. ammonia (25% [w/w]), rt, 18 h.

Naproti tomu přímá methoxylace **44a-45a** s NaOMe v MeOH neprobíhala. Proto bylo nejdříve nutné ochránit volnou NH v pozici 9 pomocí skupiny SEM a poté methoxylace **48a** a **49a** s MeONa probíhala kvantitativně za vzniku meziproduktů **48h** a **49h**. Odchráněním SEM skupiny pomocí TFA byly získány požadované 6-methoxy-7-deazapuriny **44h** a **45h** ve vysokém výtěžku (Schéma 21).

7.2.4.2 Syntéza 7-arylsulfanyl-7-deazapurinových ribonukleosidů

Cílové nukleosidové analogy byly připraveny obdobnými reakcemi 6-chlor-7-(het)aryl-7-deazapurinových nukleosidových meziproduktů **46a** a **47a** (Schéma 22, Tabulka 12).
Stilleho cross-coupling s thienyl- nebo furylstanany poskytuje odpovídající 6-benzoylované hetaryl-7-deazapurin nukleosidy **46b, c** a **47b, c**, zatímco coupling s Me_3Al poskytuje 6-methyl deriváty **46d** a **47d**. Reakcí s dimethylaminem vznikájí 6-(dimethylamino)-7-deazapurinové nukleosidy **46e** a **47e**. Závěrečnou Zemplénovou deprotekcí za použití methoxidu sodného v methanolu vznikají volné 6,7-disubstituované nukleosidy **50b**-**50e** a **51b**-**51e** ve výtěžcích 59-87% (Schéma 22, Tabulka 12).

Nukleofilní substituce chráněných nukleosidových meziproduktů **46a** nebo **47a** s methylaminem, amoniakem nebo NaOMe probíhala v dobrých výtěžcích současně s debenzoylací za přímého vzniku odchráněných 6-methylamino-, 6-amino, nebo 6-methoxy-7-(het)arylsulfanyl-7-deazapurinových ribonukleosidů **50f** -**50h** a **51f**-**51h**.

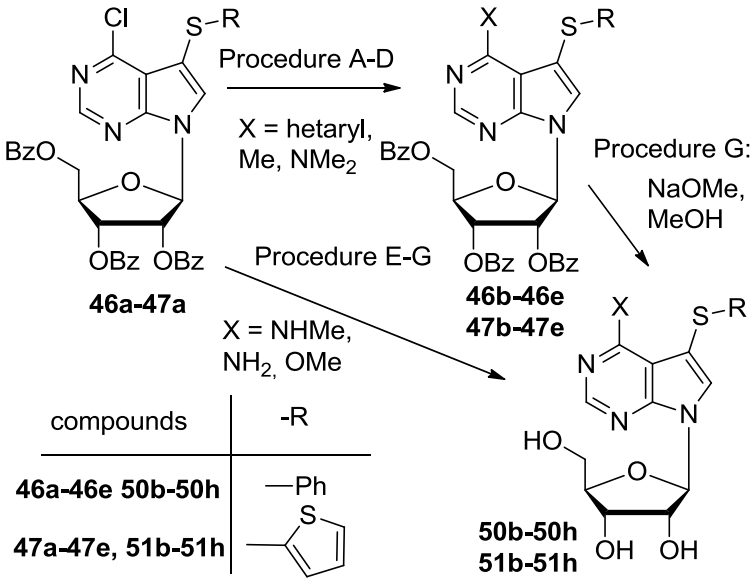


Schéma 22. Reagenty a podmínky, A: 2-thienylSnBu$_3$ (1.2 equiv.), PdCl$_2$(PPh$_3$)$_2$ (5%), DMF, 100°C, 18 h; B: 2-furylSnBu$_3$ (1.2 equiv.), PdCl$_2$(PPh$_3$)$_2$ (5%), DMF, 100°C, 18 h; C: Me$_3$Al (3 equiv.), Pd(PPh$_3$)$_4$ (5%), THF, 70°C, 12h; D: Me$_2$NH in THF (3 equiv.), propan-2-ol, 70°C, 24 h; E: aq. methylamine (40% [w/w]), dioxane, 120 °C, 18 h; F: aq. ammonia (25% [w/w]), dioxane, 120 °C, 18 h; G: 1 M MeONa/MeOH (1.5 equiv.), MeOH, rt., 18 h.

Tabulka 12. Výtěžky transformace 7-deazapurinových nukleosidů

Metoda	Reagent	X-	R-	Produkt (výtěžek %)	Odchráněný produkt (výtěžek %)
A	thienylSnBu$_3$	2-thienyl-	Ph-	**46b** (72%)	**50b** (75%)
B	furylSnBu$_3$	2-furyl-	Ph-	**46c** (92%)	**50c** (78%)
C	Me$_3$Al	Me-	Ph-	**46d** (55%)	**50d** (87%)
D	Me$_2$NH	Me$_2$N-	Ph-	**46e** (88%)	**50e** (87%)
E	MeNH$_2$	MeNH-	Ph-	-	**50f** (90%)
F	NH$_3$	NH$_2$-	Ph-	-	**50g** (86%)
G	NaOMe	MeO-	Ph-	-	**50h** (75%)
A	thienylSnBu$_3$	2-thienyl-	2-thienyl-	**47b** (78%)	**51b** (59%)
B	furylSnBu$_3$	2-furyl-	2-thienyl-	**47c** (41%)	**51c** (57%)
C	Me$_3$Al	Me-	2-thienyl-	**47d** (67%)	**51d** (64%)
D	Me$_2$NH	Me$_2$N-	2-thienyl-	**47e** (88%)	**51e** (65%)
E	MeNH$_2$	MeNH-	2-thienyl-	-	**51f** (75%)
F	NH$_3$	NH$_2$-	2-thienyl-	-	**51g** (70%)
G	NaOMe	MeO-	2-thienyl-	-	**51h** (77%)

7.2.5 Studium biologických aktivit

In vitro cytotoxické/cytostatické aktivity všech konečných látek **44b-44h**, **45b-45h**, stejně jako nukleosidů **50b-50h a 51b-51h** byly testovány na sedmi buněčných liniích získaných z lidských solidních nádorů včetně rakoviny plic (A549 buňky), karcinomům tlustého střeva (HCT116 a HCT116p53-/-), stejně jako liniím leukemických buněk (CCRF-CEM, CEM-DNR, K562 a K562-TAX) a pro srovnání, non-maligním BJ a MRC-5 fibroblastech. Všechny cytostatické/cytotoxické testy aktivit byly provedeny našimi spolupracovníky ze skupiny Dr. Hany Mertlíkové-Kaiserové a ze skupiny prof. Hajdúcha.

Tabulka 19. Cytostatické aktivity vybraných sloučenin

	IC_{50} (μM)											
	A549	CCRF-CEM	CEM-DNR	HCT116	HCT116p53--	K562	K562-TAX	HepG2	HL60	HeLa S3	BJ	MRC-5
45b	16.19	10.55	17.67	13.03	5.06	5.14	21.664	>25	21.1	>25	23.38	54.48
45c	11.43	7.73	20.83	6.75	19.53	4.26	18.90	>25	7.63	8.49	22.06	32.87
45d	> 50	> 50	> 50	38.12	29.10	13.99	> 50	>25	>25	>25	> 150	135.50
45e	19.80	14.63	35.25	11.01	27.54	3.83	22.14	>25	>25	>25	144.56	> 150
45f	28.58	14.72	26.15	18.98	45.30	4.95	21.00	>25	13.5	17.6	132.24	148.21
45g	22.82	16.68	20.34	22.79	> 50	17.88	17.92	>25	13.9	17.9	> 150	135.71
45h	21.47	18.23	> 50	17.15	> 50	> 50	43.95	>25	>25	23.9	122.60	148.13
50g	22.91	33.96	> 50	20.80	22.41	23.09	29.62	>25	>25	>25	67.88	67.70
51g	43.76	64.66	> 100	36.72	23.18	23.43	55.77	>25	>25	>25	93.59	138.24

Vybrané výsledky jsou shrnuty v tabulce 19. Překvapivě, většina z nukleosidů **50** a **51** byla zcela neaktivních v těchto testech, s výjimkou 6-amino-7-deazapurinových nukleosidů **50g** a **51g**, ukazující mírné cytotoxické aktivity (> 20 μM koncentrace). Rovněž žádný z 7-(fenylsulfanyl)-7-deazapurinů **44b-44h** nevykazoval žádnou významnou cytostatickou aktivitu. Naproti tomu všechny 7-(2-thienylsulfanyl)-7-deazapuriny s různými substituenty v poloze 6 ukázaly výrazné cytostatické účinky v mikromolárních koncentracích. Nejaktivnější byly 6-hetaryl- (**45b**, **c**) , 6-methylamino- a dimethylamino- (**45e**, **f**) deriváty, které mají hodnoty IC_{50} v nízkých mikromolárních hotnotách. Sloučeniny **45e**, **f** nejsou navíc toxické pro BJ a MRC-5 fibroblasty a ukazují slibný terapeutický index. Vzhledem k tomu, že nukleosidy **50** a **51** nebyly aktivní, s výjimkou mírných aktivit adenosinových analogů **50g** a **51g** (thia-analoga cytostatických 7-aryl-7-deazaadenosinů[27]), lze dojít k závěru, že prodloužení (het)arylové skupiny v poloze 7 za (het)arylsulfanylovou skupinu není tolerováno biologickými cíly pro dříve vyvinuté nukleosidové cytostatika.[26-28] Budou ještě nutné další studie k vysvětlení významného cytostatického účinku 7-(thienylsulfanyl)-7-deazapurinových

bází, který je zřejmě způsoben jiným mechanismem (pravděpodobně inhibicí kinázy). Kromě toho, všechny sloučeniny byly také testovány na antivirovou aktivitu (HCV 1B a 2A replikonu a RSV), antimikrobiální aktivitu (panel z gram-pozitivních a gram-negativních bakterií) a fungicidní účinek (několika kmenů Candida), ale v těchto testech nevykazovaly významnou aktivitu.

8 Shrnutí

Ir-katalyzovaná C-H borylace 7-deazapurinů probíhala selektivně v poloze 8. Následná Suzukiho cross-coupling reakce může být účinně použita pro zavedení arylové skupiny do polohy 8. Jedná se o první metodiku účinnou pro 8-arylací důležitých 7-deazapurinů (8-substituované 7-deazapuriny byly dosud připravovány pouze pomocí vícestupňových heterocyklizací).[31] Naproti tomu borylace 9-deazapurinů probíhala neselektivně za tvorby dvou borylovaných produktů. C-H borylace purinů neprobíhala vůbec (pravděpodobně v důsledku tvorby stabilního při N7 komplexu purinu s Ir katalyzátorem nebo v důsledku omezené stability purinového-8-boronátu).

Dále byla vyvinuta obecná metoda pro syntézu potencionálně biologicky zajímavých 6,8-disubstituovaných 7-deazapurinů (4,6-disubstituovaných *7H*-pyrrolo[2,3-*d*] pyrimidinů). Ta je založena na "one pot" Ir katalyzované C-H borylaci SEM-chráněných 7-deazapurinů následované Pd-katalyzovaným Suzukiho cross-couplingem s arylhalogenidy. Manipulací se substituenty v poloze 6 a po odštěpení chránící skupiny SEM se získájí požadované 8-aryl-7-deazahypoxantiny nebo -7-deazaadeniny. 8-Pinacolboronátové meziprodukty byly také převedeny na 8-chlor-, 8-brom a 8-trifluormethyl-7-deazapuriny pomocí Cu-katalyzované substituce. Tato metoda umožňuje snadný přístup k neprozkoumané skupině biologicky modifikovaných deazapurinových bází, které by mohly být dále N-alkylovány nebo glykosylované za vzniku různých analogů nukleosidů a nukleotidů. Zatímco 7-deazahypoxantinová analoga byly téměř úplně neaktivní, většina z 8-substituovaných 6-methoxy-7-deazapurinů a -7-deazaadeninů ukázala výrazné cytostatické aktivity.

Cu-katalyzovaná C-H sulfenylace 7- a 9-deazapurinů probíhala velmi dobře a selektivně v poloze 7 nebo 9, čímž se získájí nové a zajímavé (arylsulfanyl)-deazapurinové deriváty. Naproti tomu, C-H sulfenylace purinů byla méně účinná, a podmínky musely být změněny. Všechny tyto C-H sulfenylace mohou být prováděny s 6-chlor(deaza)puriny, takže bylo využit tento potenciál v kombinaci s klasickými cross-coupligy při syntéze knihoven nových di- a trisubstituovaných 7-deazapurinových derivátů pro studium jejich

biologické aktivity. Zatímco ribonukleosidové analogy byly téměř úplně neaktivní, většina z 7-(thienylsulfanyl)-7-deazapurinových bází ukázala výrazné cytostatické aktivity.

9 Seznam publikací - Selected publications

1. Klečka, M.; Pohl, R.; Klepetářová, B.; Hocek, M.: "Direct C–H borylation and C–H arylation of pyrrolo[2,3-d]pyrimidines: synthesis of 6,8-disubstituted 7-deazapurines" *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 866-868.

2. Klečka, M.; Pohl, R.; Čejka, J.; Hocek, M.: "Direct C–H sulfenylation of purines and deazapurines" *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 5189-5193.

3. Klečka, M.; Slavětínská, L.; Tloušťová, E.; Džubák, P.; Hajdúch, M.; Hocek, M.: "Synthesis and cytostatic activity of 7-arylsulfanyl-7-deazapurine bases and ribonucleosides" *Med. Chem. Commun.* **2015**, *6*, 576–580.

4. Klečka, M.; Slavětínská, L.; Hocek, M.: " Modification of pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines by C-H borylation followed by cross-coupling or other transformations. Synthesis of 6,8-disubstituted 7-deazapurine bases " *Eur.J. Org. Chem.* in press

10 Konferenční příspěvky - Conference contributions

- 6th EFMC International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry, Rehovot, Israel, 15-18 November 2015 (poster)
- 15th Tetrahedron Symposium - Challenges in Bioorganic & Organic Medicinal Chemistry, Singapore, 28 - 31 October 2014 (poster)
- Heterocycles in Bio-organic Chemistry, Riga, Latvia, May 27-30, 2013 (poster)
- 13th Tetrahedron Symposium - Challenges in Bioorganic & Organic Medicinal Chemistry, Taipei, Taiwan, 27 - 30 November 2012 (poster)

11 Curriculum vitae

2007- **PhD study – Organic chemistry**

Faculty of Science, Charles University in Prague

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry AS CR, Prague

Ph. D. thesis: *C-H activations of deazapurine heterocycles*

Supervisor: *Prof. Michal Hocek, Ph.D., DSc.*

2001 - 2007 **undergraduate study – Organic chemistry**

Institute of Chemical Technology, Prague, MS degree

Diploma work: *Preparation of new allyl- and alkenyl- purines*

Supervisor: *Prof. D. Dvořák, CSc.*

12 References

[1] Review: S. Tumkevicius, J. Dodonova, *Chem. Heterocycl. Comp.* **2012**, *48*, 258-279.

[2] S. Ding, T. Y. H. Wu, A. Brinker, E. C. Peters, W. Hur, N. S. Gray, P. G. Schultz, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2003**, *100*, 7632-7637.

[3] P. Traxler, P. R. Allegrini, R. Brandt, J. Brueggen, R. Cozens, D. Fabbro, K. Grosios, H. A. Lane, P. McSheehy, J. Mestan, T. Meyer, C. Tang, M. Wartmann, J. Wood, G. Caravatti, *Cancer Res.*, **2004**, *64*, 4931-4941.

[4] X. Zhao, W. Huang, Y. Wang, M. Xin, Q. Jin, J. Cai, F. Tang, Y. Zhao, H. Xiang, *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 891-901.

[5] (a) A. Mayasundari, N. Fujii, *Tetrahedron Lett.*, **2010**, *51*, 3597-3598. (b) V. Prieur, N. Heindler, J. Rubio-Martinez, G. Guillaumet, M. D. Pujol, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 1207-1214. (c) S. J. Kaspersen, Ch. Sorum, V. Willassen, E. Fuglseth, E. Kjobli, G. Bjorkoy, E. Sundby, B. H. Hoff, *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 6002-6014.

[6] (a) S. Tumkevicius, J. Dodonova, K. Kazlauskas, V. Masevisius, L. Skardziute, S. Jursenas, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 3902-3906. (b) R. V. Urbonas, V. Poskus, J. Bucevicius, J. Dodonova, S. Tumkevicius, *Synlett* **2013**, *24*, 1383-1386. (c) J. Dodonova, S. Tumkevicius, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 35966-35974. (d) X. Zhao, W. Huang, Y. Wang, M. Xin, Q. Jin, J. Cai, F. Tang, Y. Zhao, H. Xiang, *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 891-901.

[7] (a) Ritleng. V.; Sirlin, C.; Pfeffer, M. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 1731-1769. (b) Labinger, J. A.; Bercaw, J. E. *Nature* **2002**, *417*, 507-514. (c) Kakiuchi, F.; Chatani, N. *Adv. Synth. Catal.* **2003**, *345*, 1077-1101. (d) Godula, K.; Sames, D. *Science* **2006**, *312*, 67-72.

[8] Mkhalid, I. A. I.; Barnard, J. H.; Marder, T. B.; Murphy, J. M.; Hartwig, J. F. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 890–931.

[9] (a) Maeda, Y.; Koyabu, M.; Nishimura, T.; Uemura, S. *J.Org.Chem* **2004**, *69*, 7688-7693. (b)Yadav, J. S.; Reddy, B. V. S.; Reddy, Y. J.; Preneeth, K. *Synthesis* **2009**, 1520-1524. (c) Fang, X.-L.; Tang, R.-Y.; Zhong, P.; Li, J.-H. *Synthesis* **2009**, 4183-4189. (d) Li, Z.; Hong, J.; Li, X. Z. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 3690-3697. (e) Zou, L.; Reball, J.; Mottweiler, J.; Bolm, C. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 11307-11309. (f) Dai, Ch.; Xu, Z.; Huang, F.; Yu, Z.; Gao, Y.-F. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 4414-4419.

[10] (a)Mertins, K.; Zapf, A.; Beller, M. *J. Mol. Catal. A* **2004**, *207*, 21-25. (b) Takagi, J.; Sato, K.; Hartwig, J. F.; Ishiyama, T.; Miyaura, N. *Tetrahedron Letters* **2002**, *43*, 5649-5651.

[11] Molander, G. A.; Ellis, N. *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 275-286.

[12] Murphy, J. M.; Tzschucke, C. C.; Hartwig, J. F. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 757-760.

[13] Vrábel, M.; Hocek, M.; Havran, L.; Fojta, M.; Votruba, I.; Klepetářová, B.; Pohl, R.; Rulíšek, L.; Zendlová, L.; Hobza, P.; Shih, I.; Mabery, E.; Mackman, R. *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2007**, *12*, 1752-1769.

[14] Asadi, A.; Patrick, B. O.; Perrin, D. M. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 466-475. (b) Asadi, A.; Patrick, B. O.; Perrin, D. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12860-12861.

[15] Seley, K. L.; Salim, S.; Zhang, L.; O'Daniel, P. I. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1612-1619. (b) Seley, K. L.; Salim, S.; Zhang, L. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 63-66.

[16] Čerňa, I.; Pohl, R.; Klepetářová, B.; Hocek, M. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5389-5392.

[17] Storr, T. E.; Baumann, C. G.; Thatcher, R. J.; De Ornellas, S.; Whitwood, A. C.; Fairlamb, I. J. S. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5810-5821.

[18] Nencka, R.; Šála, M.; Dejmek, M.; Dračínský, M.; Holý, A.; Hřebabecký, H. *Synthesis* **2010**, *23*, 4119 - 4130.

[19] Muchowski, J. M.; Solas, D. R. *J. Org. Chem.* **1984,** *49*, 203-205.

[20] Olah, G. A.; Narang, S. C.; Gupta, B. G. B.; Malhotra, R. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 1247-1251.

[21] Rosemeyer, H.; Seela, F. *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 1573-1585.

[22] Murphy, J. M.; Liao, X.; *Hartwig, J. F. J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 15434-15435.

[23] Liu, T.; Shao, X.; Wu, Y.; Shen, Q. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, *51*, 540-543.

[24] Liskey, C. W.; Liao, X.; *Hartwig, J. F. J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 11389–11391.

[25] (a) Maeda, Y.; Koyabu, M.; Nishimura, T.; Uemura, S. *J.Org.Chem* **2004**, *69*, 7688-7693. (b) Yadav, J. S.; Reddy, B. V. S.; Reddy, Y. J.; Preneeth, K. *Synthesis* **2009**, 1520-1524. (c) Fang, X.-L.; Tang, R.-Y.; Zhong, P.; Li, J.-H. *Synthesis* **2009**, 4183-4189. (d) Li, Z.; Hong, J.; Li, X. Z. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 3690-3697. (e)Zou, L.; Reball, J.; Mottweiler, J.; Bolm, C. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 11307-11309. (f) Dai, Ch.; Xu, Z.; Huang, F.; Yu, Z.; Gao, Y.-F. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 4414-4419.

[26] Nauš, P.; Pohl, R.; Votruba, I.; Džubák, P.; Hajdúch, M.; Ameral, R.; Birkus, G.; Wang, T.; Ray, A.S.; Mackman, R.; Cihlar, T.; Hocek, M. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 460-470.

[27] Bourderioux, A.; Nauš, P.; Perlíková, P.; Pohl, R.; Pichová, I.; Votruba, I.; Džubák, P.; Konečný, P.; Hajdúch, M.; Stray, K. M.; Wang, T.; Ray, A. S.; Feng, J. Y.; Birkus, G.; Cihlar, T.; Hocek, M. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 5498-5507.

[28] Nauš, P.; Caletková, O.; Konečný, P.; Džubák, P.; Bogdanová, K.; Kolář, M.; Vrbková, J.; Slavětínská, L.; Tloušťová, E.; Perlíková, P.; Hajdúch, M.; Hocek, M. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 1097-1110.

[29] Klečka, M.; Pohl, R.; Čejka, J.; Hocek, M. *Org. Biomol. Chem.***2013**, *11*, 5189-5193.

[30] Ming, X.; Seela, F. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 9850-9861.

[31] (a)Kaspersen, S. J.; Sorum, C.; Willassen, V.; Fuglseth, E.; Hoff, B. H.; Kjobli, E.; Bjorkoy, G.; Sundby, E. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 6002-6014. (b) Mayasundari, A.; Fujii, N. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 3597-3598. (c) Prieur, V.; Rubio-Martınez, J.; Font-Bardia, M.; Guillaumet, G.; Pujol, M. D. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 1514-1524.